



**UNIVERSITÀ
DI PARMA**

DIPARTIMENTO DI MEDICINA E CHIRURGIA

**CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN
PSICOBIOLOGIA E NEUROSCIENZE COGNITIVE**

**IMITAZIONE DI AZIONI COMPLESSE
IN PAZIENTI CON MALATTIA DI
ALZHEIMER E SUA POSSIBILE
RELAZIONE CON IL SISTEMA
MIRROR: UNO STUDIO
COMPORIMENTALE E DI fMRI**

Relatore:

***Chiar.mo Prof.* LEONARDO FOGASSI**

Controrelatori:

***Chiar.mo Dott.* MARCO SPALLAZZI**

***Chiar.mo Dott.* ANTONINO ERRANTE**

Laureando:

GIUSEPPE CIULLO

ANNO ACCADEMICO 2021 – 2022

INDICE

ABSTRACT.....	4
1. INTRODUZIONE – LA MALATTIA DI ALZHEIMER (AD).....	6
1.1. Descrizione generale e breve storia della Malattia di Alzheimer (AD) con cenni epidemiologici.....	9
1.2. Eziopatogenesi	9
1.3. Alterazioni neuropatologiche.....	15
1.4. Fasi cliniche, criteri diagnostici e utilizzo dei biomarkers.....	23
1.5. Profilo neuropsicologico con correlati neuropatologici	33
1.6. Il lobo parietale e la Malattia di Alzheimer.....	37
2. INTRODUZIONE – IL SISTEMA MIRROR E LA AD.....	43
2.1. Il sistema mirror nella scimmia.....	43
2.2. Il sistema mirror nell'uomo.....	47
2.3. Il ruolo del sistema mirror nell'imitazione.....	54
2.4. Il sistema mirror nella Malattia di Alzheimer.....	60
2.5. Titolo dello studio sperimentale: "Imitazione di azioni complesse in pazienti con Malattia di Alzheimer e sua possibile relazione con il sistema mirror: uno studio comportamentale e di fMRI".....	66
2.5.1. Obiettivi e scopi.....	66
2.5.2. Ipotesi dello studio.....	67
3. MATERIALI E METODI.....	69
3.1. Studio comportamentale.....	69
3.1.1. Partecipanti.....	69
3.1.2. Valutazione clinica comportamentale.....	70
3.1.3. Paradigma comportamentale.....	72
3.1.4. Procedura sperimentale "Origami Online".....	75
3.1.5. Procedura sperimentale "Tinker Online".....	76
3.1.6. Procedura sperimentale "Tinker Post".....	78
3.1.7. Scoring comportamentale.....	79
3.1.8. Elaborazione e analisi statistica dei dati comportamentali.....	84

3.2. La Risonanza Magnetica funzionale (fMRI).....	84
3.3. Studio fMRI.....	85
3.3.1. Partecipanti.....	85
3.3.2. Validazione del paradigma fMRI su gruppo di controllo.....	87
3.3.3. Valutazione neuropsicologica.....	87
3.3.4. Disegno sperimentale fMRI.....	90
3.3.5. Compito di osservazione di azioni (OBS).....	90
3.3.6. Compito di imitazione di azioni (IMI).....	92
3.3.7. Procedura sperimentale.....	94
3.3.8. Acquisizione delle immagini di Risonanza Magnetica.....	97
3.3.9. Preprocessing dei dati fMRI.....	97
3.3.10. Analisi statistica dei dati fMRI del gruppo di soggetti giovani (validazione paradigma).....	98
3.3.11. Analisi statistica dei dati fMRI del gruppo di pazienti (MCI e AD) e del gruppo di adulti sani (CTRL).....	99
3.3.12. Analisi trattografica del paziente 1 (MCI).....	99
4. RISULTATI.....	103
4.1. Risultati studio comportamentale.....	103
4.2. Risultati studio fMRI su gruppo di soggetti giovani (validazione paradigma).....	112
4.3. Descrizione strutturale morfologica dell'atrofia corticale nei pazienti.....	115
4.4. Valutazione neuropsicologica dei pazienti e degli adulti sani sottoposti al task fMRI.....	116
4.5. Risultati catch trials su pazienti e controlli adulti.....	119
4.6. Risultati studio fMRI sul gruppo di pazienti (MCI e AD) e sul gruppo di adulti sani (CTRL).....	120
4.7. Performance al task fMRI del paziente 1 (MCI).....	127
4.8. Risultati DTI su paziente 1 (MCI).....	128
5. DISCUSSIONE.....	132
5.1. Gestione e organizzazione delle informazioni visuospatiali nei pazienti MCI e AD durante l'imitazione di un modello.....	133
5.2. Attivazione del sistema mirror durante l'osservazione e l'imitazione di azioni complesse bimanuali in soggetti giovani.....	135
5.3. Attivazioni corticali durante l'osservazione e l'imitazione di azioni nei pazienti MCI e AD confrontati con adulti sani.....	137
5.4. Relazione tra performance di imitazione in fMRI e quadro morfologico nel paziente 1 (MCI).....	139

5.5. Confronto dei dati del presente studio con la letteratura esistente.....	140
BIBLIOGRAFIA.....	144

ABSTRACT (ITA)

La Malattia di Alzheimer (AD) è la più comune causa di demenza nel mondo. Essa è caratterizzata primariamente dalla presenza di deficit cognitivi e comportamentali progressivi che intaccano, soprattutto nelle fasi iniziali, la memoria episodica, per poi estendersi successivamente agli altri domini portando di conseguenza ad una compromissione del funzionamento quotidiano. La AD è tipicamente preceduta dalla fase clinica di Mild Cognitive Impairment (MCI) che si caratterizza per la presenza di un deficit cognitivo, perlopiù isolato, con una preservazione delle autonomie quotidiane. Strutturalmente la AD è caratterizzata da un'atrofia corticale a livello delle aree temporo-mesiali (ippocampo) ma soprattutto parietali (precuneo): è infatti tipico della patologia la presenza di un gradiente postero-anteriore con relativa conservazione delle aree frontali. Un aspetto interessante della AD, e ad oggi poco studiato, riguarda il comportamento motorio di questi pazienti e soprattutto la capacità di imitazione, la quale dipende, dal punto di vista neurofisiologico, dalla presenza e dall'integrità del sistema fronto-parietale dei neuroni mirror (MNS). Pochissimi studi in letteratura hanno indagato in questi pazienti le abilità comportamentali imitative e i rispettivi correlati neurofisiologici. Nella prima parte del presente lavoro verrà fornito un quadro approfondito sulla AD e sul ruolo del MNS nell'imitazione, descrivendo i dati attualmente presenti in letteratura sul funzionamento di tale sistema in questi pazienti. Successivamente, verranno descritti la parte metodologica e i risultati dello studio sperimentale. Esso consiste in uno studio comportamentale preliminare e in alcuni esperimenti di risonanza magnetica funzionale (fMRI). Lo studio comportamentale era costituito da tre compiti differenti (Origami online, Tinker online e Tinker post), ideati appositamente per indagare le abilità imitative dei pazienti MCI e AD. Il primo esperimento fMRI consisteva in uno studio pilota su un gruppo di soggetti giovani ed era volto alla validazione del paradigma sperimentale da usare successivamente nei pazienti. Il secondo esperimento, basato su tale paradigma, era volto a indagare l'attivazione cerebrale del MNS in pazienti MCI, in pazienti AD di grado lieve e in individui sani di pari età, durante un compito di osservazione-imitazione di azioni complesse bimanuali (pieghe su un foglio di carta per formare un origami). Nel complesso i risultati del presente studio mostrano che i pazienti AD e MCI sono in grado di imitare azioni complesse e che il compito di imitazione attiva il MNS, sebbene in modo diverso rispetto ai soggetti sani. Nella discussione, oltre ad un commento critico sui risultati e un confronto con la letteratura riguardante compiti di imitazione, viene proposto un possibile utilizzo della terapia basata sull'osservazione/ripetizione di azioni (AOT) anche nei pazienti appartenenti al continuum della malattia di Alzheimer.

ABSTRACT (ENG)

Alzheimer's disease (AD) is the most common cause of dementia in the world. It is characterized primarily by the presence of progressive cognitive and behavioral deficits that affect episodic memory, especially in the initial stages, and then extend to other domains, leading to compromise normal daily life. AD is typically preceded by the clinical phase of Mild Cognitive Impairment (MCI), which is characterized by the presence of cognitive impairment, mostly isolated, with a preservation of daily autonomy. Structurally, AD is characterized by cortical atrophy at the level of the temporo-mesial areas (hippocampus) but above all parietal (precuneus): the presence of a postero-anterior gradient with relative preservation of the frontal areas is indeed typical of the pathology. An interesting aspect of AD, actually poorly investigated, concerns the motor behavior of these patients and above all the ability to imitate, which depends, from a neurophysiological point of view, on the presence and integrity of the fronto-parietal system of mirror neurons (MNS). Very few studies in the literature have investigated imitative behavioral abilities and their respective neurophysiological correlates in these patients. In the first part of this study, an in-depth description of AD and the role of the MNS in imitation will be provided, describing the data currently available in the literature on the functioning of this system in these patients. Subsequently, the methodological part and the results of the experimental study will be described. They consist in a preliminary behavioral study and some functional magnetic resonance imaging (fMRI) experiments. The behavioral study was constituted by three different tasks (Origami online, Tinker online and Tinker post), specifically designed to investigate the imitative abilities of MCI and AD patients. The first fMRI experiment consisted in a pilot study on a group of young subjects and was aimed at validating the experimental paradigm to be used later in patients. The second experiment, based on this paradigm, was aimed at investigating the brain activation of MNS in MCI patients, in mild AD patients and in healthy individuals of comparable age, during an observation-imitation task of complex bimanual actions (folds on a sheet of paper to form an origami). Overall, the results of the present study show that AD and MCI patients are able to imitate complex actions and that the imitation task activates the MNS, although in a different way with respect to healthy subjects. In the discussion, in addition to comment on the results and on the comparison with the literature related to imitation tasks, is also proposed the possibility to use a therapy based on observation/reproduction of actions (AOT) in patients belonging to the Alzheimer's disease continuum.

INTRODUZIONE – LA MALATTIA DI ALZHEIMER (AD)

1.1 DESCRIZIONE GENERALE E BREVE STORIA DELLA MALATTIA DI ALZHEIMER (AD) CON CENNI EPIDEMIOLOGICI

La Demenza è definita come un'alterazione cognitiva progressiva tale da impattare sufficientemente sulle attività quotidiane della persona, oltre che sul comportamento e sullo stato emotivo, rappresentando una delle principali cause di disabilità e morte a livello mondiale (sesta causa di morte negli USA). La più comune causa di demenza nel mondo è la Malattia di Alzheimer (Alzheimer Disease, AD) la quale rappresenta da sola il 50-70% delle diagnosi complessive di questa condizione (Lane et al., 2018). Sebbene il concetto di demenza esista da centinaia di anni, le manifestazioni cliniche e i cambiamenti neurodegenerativi ad esse associate sono state scoperte e descritte solo agli inizi del secolo scorso.

A tal proposito, la AD è stata delineata per la prima volta nel 1907 da Alois Alzheimer (dal quale deriva il nome della malattia) il quale descrisse minuziosamente il caso di una sua paziente di 51 anni con evidenti problemi di memoria, di linguaggio ed esecutivi, Auguste Deter (Fig.1), dando così alla patologia la sua prima caratterizzazione clinica e neuropsicologica. Quando la paziente morì nel 1911, Alzheimer esaminò con opportune tecniche istologiche il suo cervello al microscopio rilevando la presenza, già all'epoca, di placche senili, ammassi neurofibrillari e angiopatia amiloide. Tali reperti, insieme alla morte neuronale, rappresentano tuttora gli *hallmarks* neuropatologici della patologia (Bondi et al., 2017).

Dal punto di vista epidemiologico, i dati più recenti mostrano come ci siano oltre 50 milioni di persone nel mondo affette da demenza delle quali la maggior parte sono diagnosticate come AD. Rispetto a ciò, l'Alzheimer Disease International ha recentemente stimato che

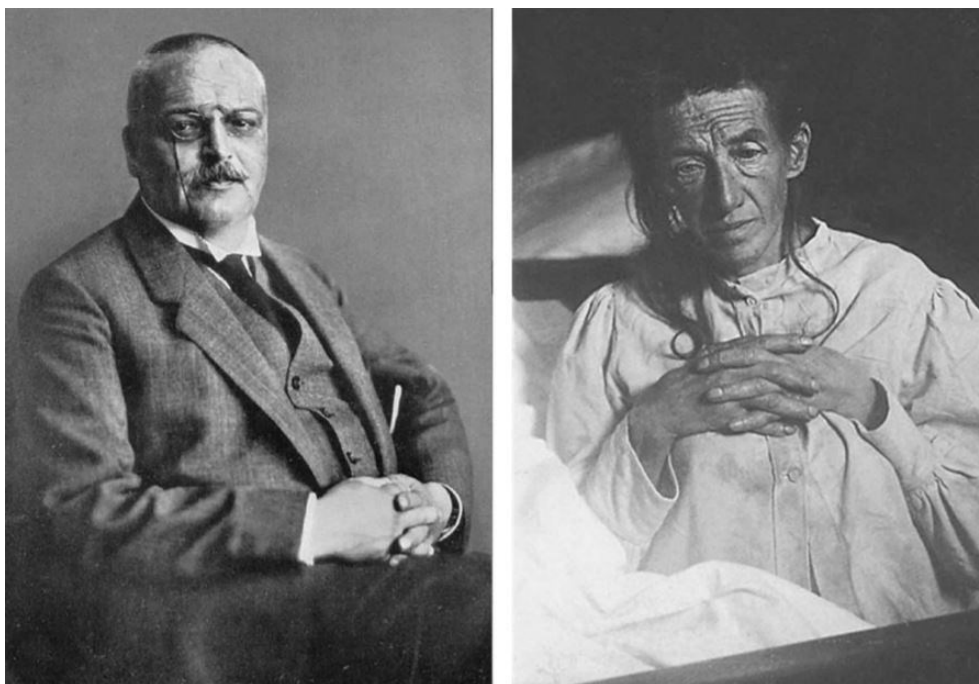


Figura 1 Alois Alzheimer (sinistra) insieme alla paziente Auguste Deter (destra). Immagine tratta da Bondi et al., 2017.

nel 2050 il numero di pazienti con demenza sia destinato a triplicare raggiungendo circa 82 milioni nel 2030 e ben 153 milioni nel 2050.

Scheltens ha inoltre evidenziato come la prevalenza per la AD sia tre volte più alta di quella teorizzata se ci si basa su una diagnosi biologica della malattia piuttosto che clinica. Tale stima pessimistica è dovuta principalmente al fatto che la popolazione geriatrica, e quindi l'età media generale e la proporzione di persone anziane nel mondo, aumenta anno dopo anno soprattutto nei paesi in via di sviluppo e ciò si riflette di conseguenza sul fatto che ogni anno vengono diagnosticati 10 milioni di nuovi casi di demenza nel mondo ossia un nuovo caso ogni circa 3 secondi (www.alzint.org, Dementia

Statistics in 2020; Scheltens et al., 2021). Tutto ciò è correlato al fatto che la prevalenza della AD incrementa esponenzialmente in entrambi i sessi all'aumentare dell'età, dai 50 agli 80 anni, raddoppiando ogni 5 anni dopo i 65 anni di età (Fig.2) (Nichols et al., 2019).

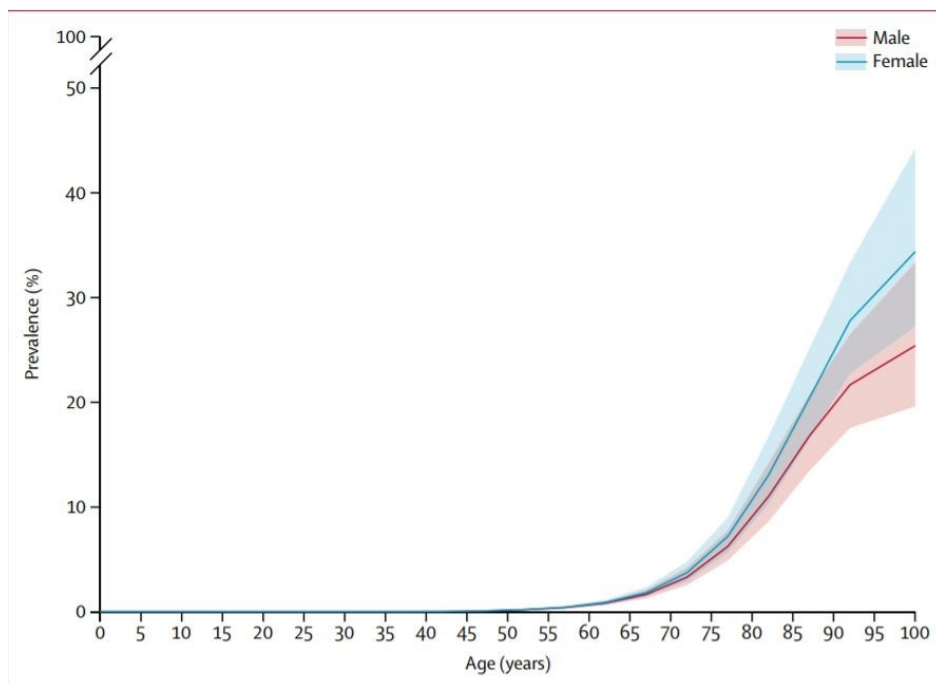


Figura 2 Prevalenza della AD in funzione dell'età negli uomini e nelle donne. Immagine tratta da Nichols et al., 2019.

La demenza infine presenta un notevole impatto economico per i diversi paesi. Dati recenti del 2015 hanno stimato per questa patologia un costo annuale nei soli USA pari a 818 miliardi di dollari (con un incremento del 35% rispetto al 2010) che include le spese dovute all'assistenza familiare (promossa da familiari, 20% del totale), all'assistenza sociale (fornita da personale opportunatamente formato nel campo, 40% del totale) e alle cure mediche necessarie per il paziente (trattamento della demenza come condizione primaria ma anche delle sue conseguenze secondarie, 40% del totale) (www.alzint.org, Dementia Statistics in 2020).

L'incremento del numero di casi di demenza nel mondo rappresenta quindi un problema cruciale che bisogna considerare soprattutto alla luce dell'assenza attuale di farmaci o

trattamenti disease-modifying efficaci per questa patologia. Se infatti la mortalità per patologie più comuni come malattie cardiovascolari, ictus e cancro alla prostata tende a diminuire significativamente nel corso degli anni grazie all'utilizzo di nuove metodiche terapeutiche, la mortalità per la AD continua ad aumentare nel tempo. Solo implementando la ricerca scientifica, è possibile migliorare le nostre conoscenze sull'eziologia della malattia al fine di mettere in atto strategie di trattamento e prevenzione sempre più "cucite" sul singolo paziente, e funzionali a ridurre i costi sociali complessivi di gestione del disturbo (Robinson et al., 2017).

Date però le difficoltà inerenti all'efficacia e ai costi del trattamento della demenza, la comunità scientifica degli ultimi anni è maggiormente orientata alla prevenzione della patologia. A tal proposito un report pubblicato su Lancet nel 2017 ha illustrato come fattori di rischio "modificabili" quali ipoacusia, istruzione, fumo, depressione, inattività fisica, isolamento sociale, diabete e obesità possano contribuire notevolmente a determinare (o ritardare) l'insorgere della patologia. Tuttavia, la difficoltà nell'identificare accuratamente gli individui affetti da demenza nello stato prodromico, nel quale l'efficacia del trattamento è massima, complica di gran lunga lo studio dei possibili fattori di rischio per la malattia e ciò riveste uno dei motivi fondamentali per i quali non esistono attualmente linee guida internazionali sullo stile di vita da seguire per prevenire la patologia sebbene si sia dimostrato in diversi studi che le migliori possibilità di prevenzione riguardino l'attività fisica e la dieta mediterranea (Nichols et al., 2019).

1.2 EZIOPATOGENESI

L'AD, nella sua forma sporadica (che rappresenta circa il 99% dei casi) è una malattia degenerativa a genesi multifattoriale che si caratterizza per la deposizione progressiva a livello cerebrale di 2 proteine, beta-amiloide e Tau.

Studi sui gemelli hanno dimostrato che la AD presenta un rischio del 60-80% dipendente da fattori genetici ereditabili che causano la patologia in congiunta con numerosi fattori di rischio ambientali (Scheltens et al., 2021). Da questo punto di vista la formazione scolastica e l'attività fisica svolgerebbero un effetto protettivo nei confronti della malattia mentre l'ipertensione e il diabete, insieme agli altri fattori di rischio cardio- e cerebrovascolari, incrementerebbero il rischio di sviluppare la AD (Lane et al., 2018).

Soprattutto la Malattia di Alzheimer ad esordio precoce (EOAD, Early Onset Alzheimer Disease) e molto meno quella ad esordio tardivo (LOAD, Late Onset Alzheimer Disease) presentano una componente genetica con un pattern di eredità mendeliano a penetranza età-dipendente. Studi di associazione sull'intero genoma umano (GWAS, Genome Wide Associated Studies) hanno identificato numerosi geni (e relativi polimorfismi) associati ad un maggiore rischio di sviluppare la AD. A tal proposito, Karch e Goate hanno descritto in una review i principali geni codificanti proteine coinvolti nella patologia suddividendoli nelle seguenti categorie (Fig.3) (Karch e Goate, 2015):

- APP (Proteina precorritrice della β -amiloide le cui mutazioni possono causare direttamente la EOAD o aumentare notevolmente il rischio per la LOAD), PSEN1 (Presenilina 1 le cui mutazioni possono causare direttamente la EOAD) e PSEN2 (Presenilina 2 le cui mutazioni possono causare direttamente la EOAD). Queste tre proteine risultano essere alla base dell'eziopatogenesi della AD secondo l'ipotesi Amiloide per la quale in condizioni normali il clivaggio sequenziale della APP, mediato dal complesso delle γ -secretasi, delle quali la PSEN1 e la PSEN2 sono due componenti centrali, produce l'A β (beta-amiloide): cambiamenti nella APP e/o nell'omeostasi dell'A β ,

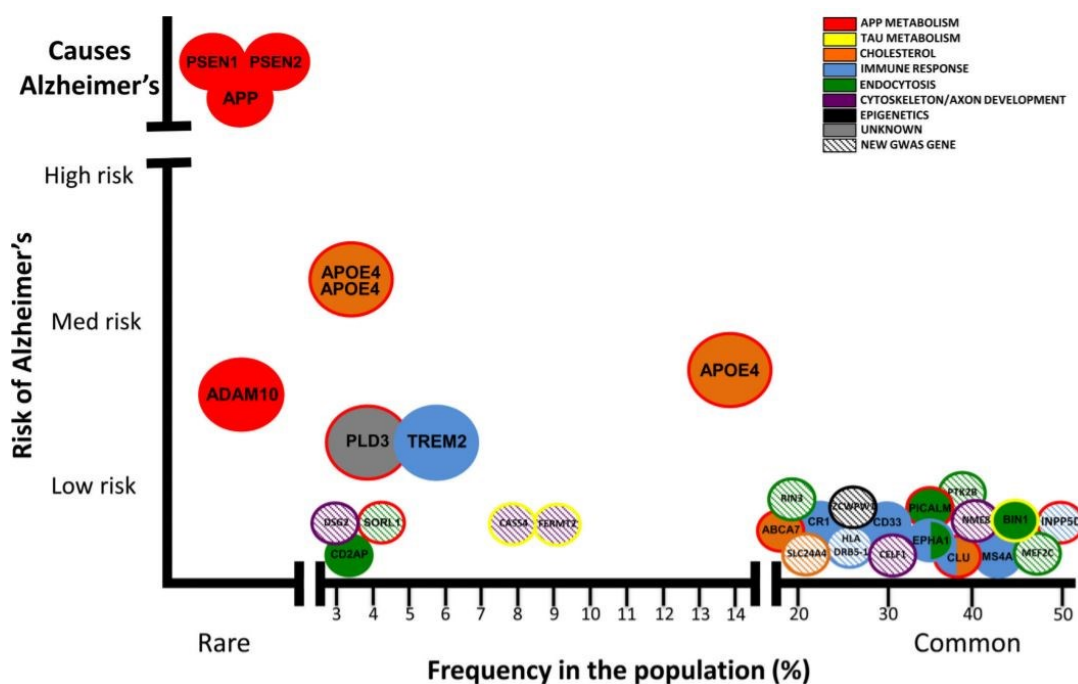


Figura 3 Geni coinvolti nella AD. Immagine tratta da Karch e Goate, 2015.

in condizioni patologiche, portano all'aggregarsi patologico di quest'ultima proteina e ai depositi delle placche amiloidi (dette anche placche senili) dando così inizio alla cascata di disregolazioni e alterazioni patologiche tipiche della AD. I geni APP, PSEN1 e 2, sono responsabili delle forme monogeniche della AD, che complessivamente rappresentano solo circa l'1% di tutta la popolazione di AD.

- Geni coinvolti nel metabolismo del colesterolo quali il gene APOE (Apolipoproteina E, principale trasportatore del colesterolo a livello cerebrale e anche regolatore indiretto del metabolismo dell'Aβ) il quale rappresenta il fattore di rischio maggiore per la LOAD (ma anche per la AD in generale). In particolare va sottolineato il fatto che l'allele APOEε4 spiega una sostanziale parte dell'ereditarietà della patologia incrementando il rischio di sviluppare la AD nei soggetti in omozigosi fino a 9-12 volte rispetto ai soggetti non portatori. In questa classe rientra inoltre anche la clusterina (CLU che influenza la clearance dell'Aβ e i depositi amiloidi) e l'ABCA7 (ATP-binding cassette transporter A7)

- Geni coinvolti nella risposta immunitaria e/o neuroinfiammatoria come la CR1 (Recettore del complemento 1), la CD33 (proteina recettore che svolge un importante ruolo nella clearance dell'A β), la MS4A e la TREM2
- Geni coinvolti nell'endocitosi la quale è un processo fondamentale per il normale processamento della APP. In questa classe ritroviamo la BIN1 (Bridging integrator 1 che svolge un ruolo nel processamento della proteina tau anch'essa coinvolta nell'eziopatogenesi della AD), la PICALM (Phosphatidylinositol binding clathrin assembly protein che influenza l'accumulo di A β nel cervello dei pazienti AD), la CD2AP (Proteina associata CD2), l'EPHA1 (Recettore EPH A1) e la SORL1 (Recettore correlato alla sortilina L che svolge un ruolo nella produzione dell'A β , nel controllo del clivaggio dell'APP e nell'assorbimento dell'APOE)

Tali alterazioni genetiche, quando presenti in maniera isolata, conferiscono un moderato aumento del rischio di sviluppare la patologia ma quando tuttavia si presentano in maniera combinata, in un quadro poligenico, tale rischio tende a diventare quasi il doppio rispetto a quello precedente (Scheltens et al., 2021; Lane et al., 2018).

Dal punto di vista eziopatogenetico, al giorno d'oggi sono presenti diverse teorie che cercano di spiegare il meccanismo fisiologico che causa la malattia. La più classica delle ipotesi sul tema, formulata all'inizio degli anni '90, è la già precedentemente citata ipotesi Amiloide (Fig. 4) secondo la quale la causa primaria della AD è l'accumulo dell'A β nel cervello dei pazienti (in particolare dell'A β 42 che è la forma neurotossica della proteina caratterizzata da proprietà idrofobiche e prodotta principalmente da cellule microgliali e dagli astrociti) al quale segue la formazione di placche amiloidi insolubili ed uno squilibrio tra la produzione di questa proteina e la sua clearance che genera infine tutte le alterazioni neuropatologiche caratteristiche della patologia come la diffusione della tauopatia correlata appunto alla proteina Tau (la quale è una proteina cerebrale che

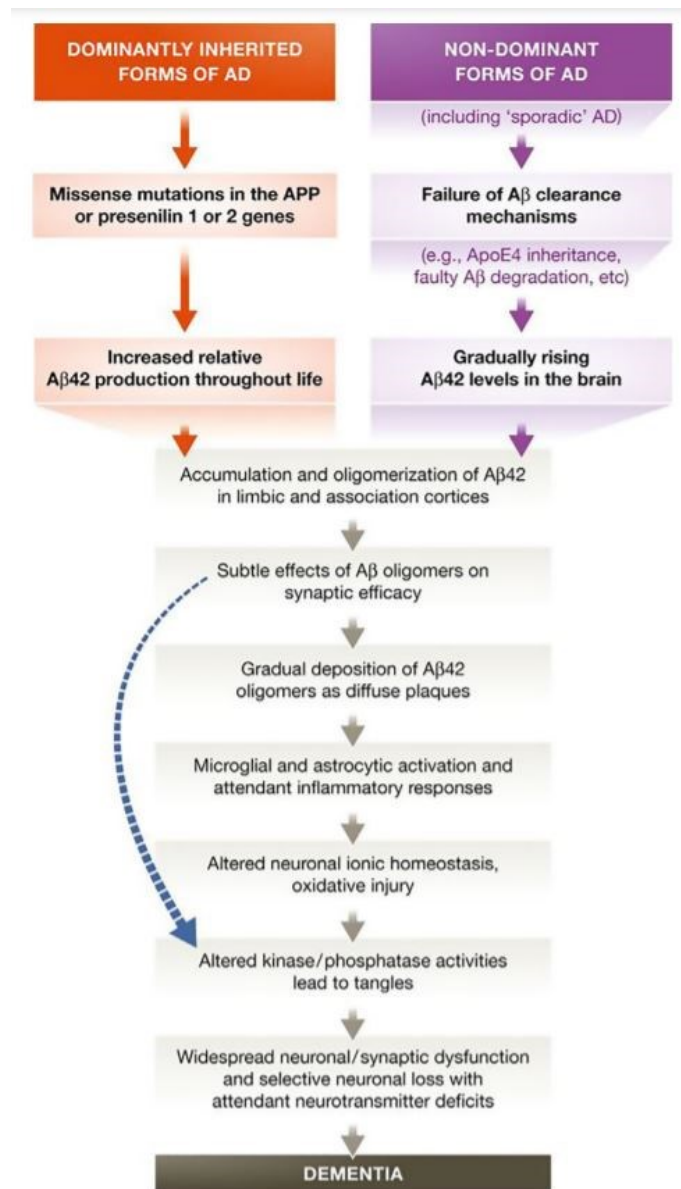


Figura 4 Meccanismo dettagliato della catena di eventi che portano all'insorgere della AD secondo l'ipotesi Amiloide. Immagine tratta da Lane et al., 2018.

stabilizza i microtubuli), la neurodegenerazione e gli ammassi neurofibrillari (Rabbito et al., 2020; Hardy e Selkoe, 2002).

Tuttavia, sebbene la presenza di A β nel cervello sia necessaria per la diagnosi di AD e si sviluppi molti anni prima delle manifestazioni dei sintomi clinici nel paziente, il fatto che un cospicuo numero di persone anziane muoia con un notevole deposito cerebrale di A β

senza aver mai sviluppato nel corso della vita sintomi riconducibili alla demenza, dimostra che tale sovraccarico amiloide non è sufficiente da solo per causare la AD. Infatti, nel processo patologico in questione svolge un ruolo fondamentale anche la proteina Tau che nella sua forma iperfosforilata causa la formazione di grovigli neurofibrillari intraneuronali. Lo squilibrio tra la fosforilazione e la defosforilazione della proteina Tau porta all'alterazione del legame di questa proteina ai microtubuli neuronali e di conseguenza alla formazione degli ammassi neurofibrillari.

Tuttavia, numerose evidenze scientifiche hanno dimostrato come nella patogenesi della Malattia di Alzheimer l'amiloidopatia sia a monte e inneschi, modulando l'azione delle proteine chinasi e fosfatasi, la conversione della proteina Tau dalla sua forma normale nella sua forma tossica la quale, a sua volta, incrementa la tossicità dell'A β in un processo a loop attraverso un meccanismo di feedback portando di conseguenza alla disfunzione sinaptica e alla morte neuronale responsabili delle alterazioni cognitive caratteristiche dei pazienti AD (Fig. 5) (Bloom, 2014).

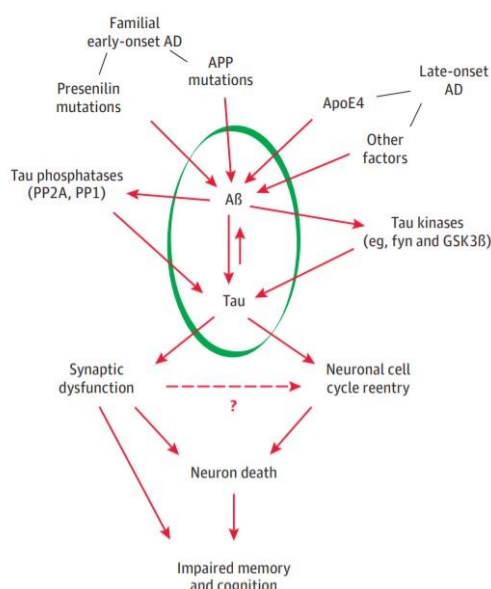


Figura 5 Meccanismo dettagliato di interazione tra l'amiloidopatia e la tauopatia che causano insieme la AD. Immagine tratta da Bloom, 2014.

Infine, tra gli elementi più recenti da considerare nella eziologia multifattoriale dell'AD rientra anche il Sistema Glinfatico che svolge un ruolo fondamentale nella clearance delle sostanze di scarto come l'A β 42 durante il sonno e sarebbe quindi disfunzionale nei pazienti AD (Rabbito et al., 2020).

1.3 ALTERAZIONI NEUROPATOLOGICHE

Le principali micro-alterazioni neuropatologiche della AD includono sia lesioni “positive” quali ammassi neurofibrillari, placche amiloidi, neuropili eccessivi, neuriti distrofici, astrogliosi e attivazione microgliale, e sia lesioni “negative” quali morte neuronale e sinaptica.

Gli ammassi neurofibrillari sono costituiti principalmente da proteine Tau mal ripiegate e iperfosforilate. Nel corso della patologia tali grovigli compaiono primariamente nella corteccia entorinale per poi diffondersi al campo CA1 dell'ippocampo e, successivamente, alle strutture limbiche (subiculum, amigdala, talamo, claustrum) e infine alle aree isocorticali, con le aree associative primariamente e più severamente intaccate rispetto alle aree primarie sensoriali, motorie e visive. Diversi studi hanno a tal proposito dimostrato come la quantità e lo sviluppo di questi ammassi correlino con la severità e la durata della demenza con forma AD ma anche con i sintomi comportamentali. Le alterazioni della memoria episodica manifestate all'esordio della malattia sono spiegate dall'iniziale coinvolgimento patologico selettivo delle strutture temporo-mediali (corteccia entorinale e ippocampo) seguite, successivamente, dal coinvolgimento delle aree isocorticali che comporta delle alterazioni progressive nei diversi domini cognitivi, quali disfunzioni esecutive (corteccia prefrontale), deficit nella navigazione visuospatiale (corteccia occipito-parietale), aprassia (corteccia parietale), deficit visuoperceptivi (corteccia occipito-temporale), deficit di memoria semantica (corteccia temporale

anteriore). Al contrario, il tardivo coinvolgimento patologico delle aree isocorticali primarie motorie, sensoriali e visive spiega la preservazione delle relative funzioni motorio-sensori-visive primarie in questi pazienti.

Le placche amiloidi derivano principalmente da un anormale accumulo extracellulare di A β 42. Tali placche possono essere distinte in due forme quali placche diffuse o placche a nucleo denso: sebbene le placche amiloidi diffuse siano comunemente presenti nel cervello di persone anziane cognitivamente nella norma, le placche a nucleo denso, costituite da neuriti distrofici insieme a filamenti elicoidali e mitocondri abnormi, si ritrovano maggiormente nei pazienti AD. Queste formazioni amiloidee si accumulano, nel corso della malattia, principalmente nell'isocorteccia con un maggior coinvolgimento patologico delle aree associative multimodali rispetto alle aree motorie, sensoriali e visive primarie che vengono quindi parzialmente preservate. Riguardo alla loro distribuzione topografica, secondo Thal e colleghi queste placche si formerebbero primariamente nell'isocorteccia per poi svilupparsi nell'allocorteccia o nelle strutture del sistema limbico (corteccia entorinale, ippocampo, amigdala, insula e corteccia cingolata) e successivamente nelle strutture sottocorticali (striato, nuclei colinergici basali, talamo, ipotalamo, nucleo rosso, substantia nigra, formazione reticolare, collicolo, ponte e cervelletto). Tuttavia, diversi studi hanno dimostrato come l'amiloidopatia non correli con la severità e la durata della demenza.

L'angiopatia amiloide cerebrale è invece dovuta principalmente all'accumulo di A β 40 che dal punto di vista patologico intacca principalmente i capillari corticali, le piccole e medie arterie e le arterie leptomeningee delle aree parietali rispetto alle aree frontali e temporali che in questo processo patologico sembrerebbero essere maggiormente preservate (Serrano-Pozo et al., 2011) (Fig. 6).

Agli inizi degli anni '90 i coniugi Braak, studiando post mortem i cervelli di pazienti AD, hanno evidenziato due diversi pattern di fasi neuropatologiche altamente caratteristiche la cui sequenza riflette il decorso clinico della malattia.

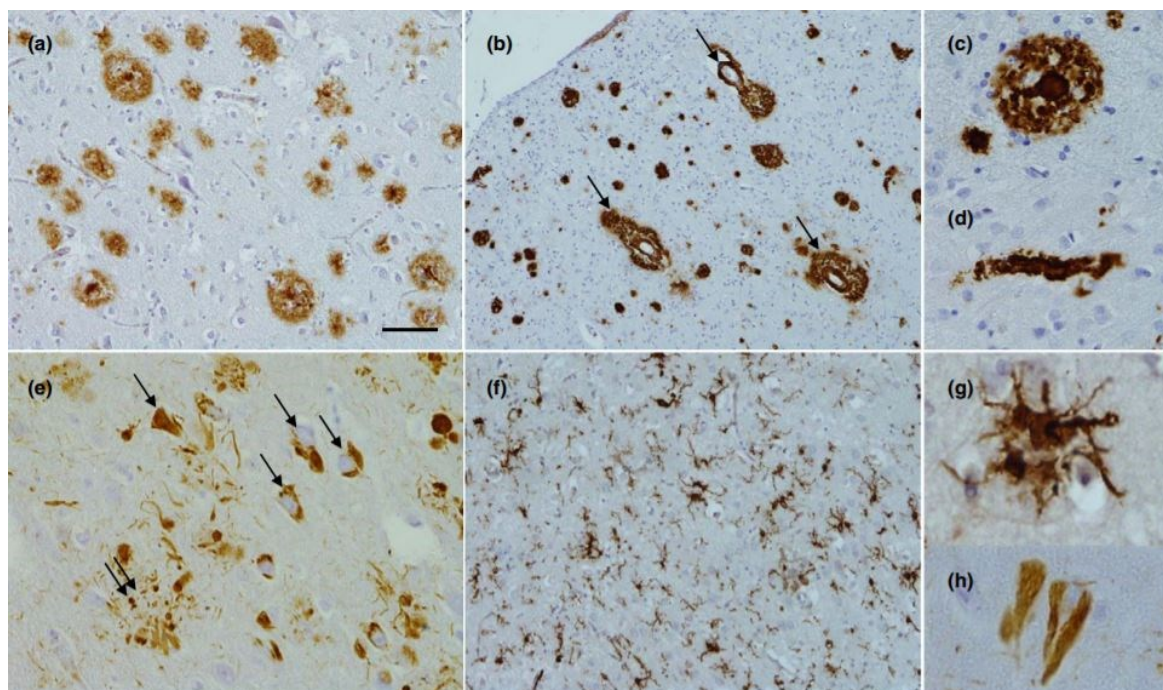


Figura 6 Alterazioni neuropatologiche caratteristiche della AD. È possibile notare la presenza di placche amiloidi (a, c) con la compresenza dell'angiopatia amiloide (b, d). La figura illustra anche gli ammassi neurofibrillari (e) e la neuroinfiammazione della microglia tipica della patologia (f, g, h). Immagine tratta da Lane et al., 2018.

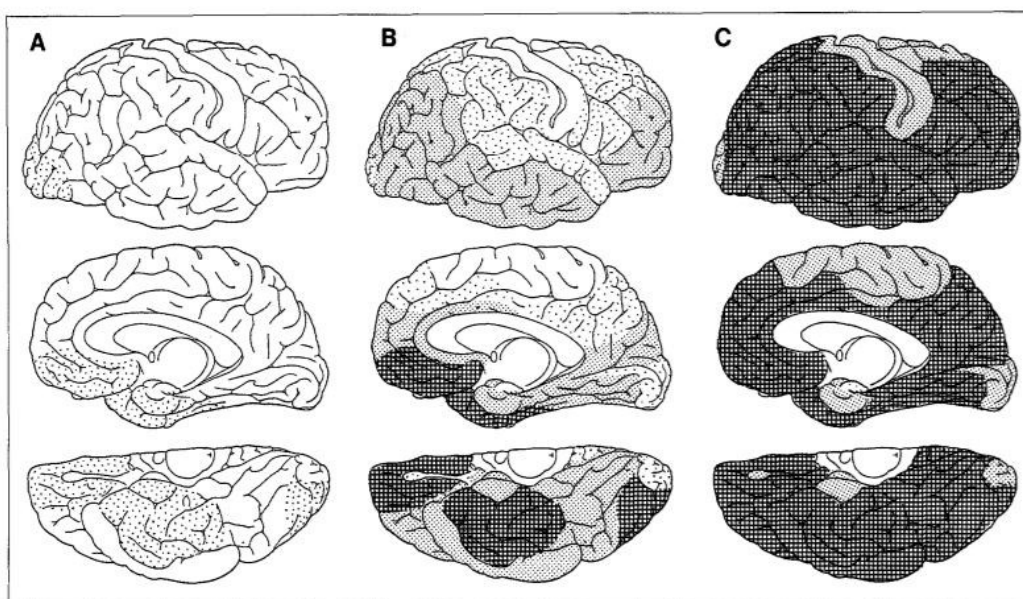
Il primo pattern riguarda a tal proposito i depositi amiloidi che si sviluppano secondo le seguenti tre fasi:

- Fase A -> i depositi amiloidi si presentano inizialmente nell'isocorteccia dei lobi frontale, temporale e occipitale
- Fase B -> i depositi amiloidi sono presenti in tutte le aree associative isocorticali senza tuttavia intaccare le aree primarie sensitive e motorie che rimangono preservate

dal processo patologico. La formazione ippocampale (campo CA1, subiculum, giro dentato e corteccia entorinale) è mediamente coinvolta

- Fase C -> tutte le aree isocorticali, incluse quelle sensori-motorie primarie, presentano i depositi amiloidi. Risultano essere inoltre coinvolte diverse strutture sottocorticali come lo striato, i nuclei talamici, subtalamici, ipotalamici, rossi e la corteccia cerebellare

Questi depositi amiloidi, altamente variabili tra gli individui nelle dimensioni e nella distribuzione, sono le prime alterazioni cerebrali che si manifestano nei pazienti AD (Fig. 7).



Amyloid

Figura 7 Distribuzione cerebrale dei depositi amiloidi nei pazienti AD secondo Braak e Braak. Immagine tratta da Braak e Braak, 1991.

Il secondo pattern riguarda invece le alterazioni neurofibrillari le quali sono costituite principalmente da ammassi neurofibrillari (osservabili nel soma e nei dendriti dei neuroni)

e da filamenti di neuropilo (osservabili nei dendriti neuronali) che si sviluppano secondo le seguenti sei fasi:

- Fase I -> le alterazioni neurofibrillari si presentano inizialmente nella corteccia transentorinale
- Fase II -> peggioramento del pattern neuropatologico transentorinale della fase precedente con un iniziale coinvolgimento della formazione ippocampale (campo CA1)
- Fase III -> coinvolgimento delle regioni transentorinale ed entorinale. La formazione ippocampale risulta essere mediamente coinvolta (campo CA1 e subiculum) e vi è un iniziale alterazione a carico dei nuclei proencefalici magnocellulari, dei nuclei talamici anterodorsali e dell'amigdala
- Fase IV -> le regioni transentorinale ed entorinale risultano essere pienamente coinvolte dal processo patologico in questione così come il campo CA1 della formazione ippocampale ma non il subiculum che rimane ancora parzialmente intatto. Inoltre risultano essere colpiti in maniera moderata i nuclei basolaterali dell'amigdala, i nuclei talamici anterodorsali ed il claustrum
- Fase V -> le alterazioni neurofibrillari sono pienamente presenti in tutta la formazione ippocampale. Tuttavia questa fase è caratterizzata principalmente dal coinvolgimento patologico di tutte le aree associative dell'isocorteccia, in particolare dei lobi temporale e occipitale, dell'insula e della corteccia orbitofrontale. Le strutture sottocorticali descritte nella fase precedente subiscono un ulteriore peggioramento
- Fase VI -> le alterazioni neurofibrillari sono massicciamente presenti nell'isocorteccia, nella formazione ippocampale e nelle strutture sottocorticali. Inoltre, in questa fase risulta essere coinvolto nel processo patologico anche il sistema extrapiramidale (striato, substantia nigra)

Va sottolineato a tal proposito che, in base alle strutture e alle regioni cerebrali principalmente intaccate, le fasi I e II sono dette “transentorinali” e corrispondono alla fase preclinica “silente” della AD, quelle III e IV “limbiche” e corrispondono all’esordio clinico della AD, mentre quelle V e VI “isocorticali” e corrispondono alla AD completamente sviluppata e conclamata.

Tali alterazioni neurofibrillari possono portare alla morte neuronale e di conseguenza ai deficit funzionali che contribuiscono all’insorgenza dei sintomi clinici tipici della AD (Fig. 8) (Braak e Braak, 1991).

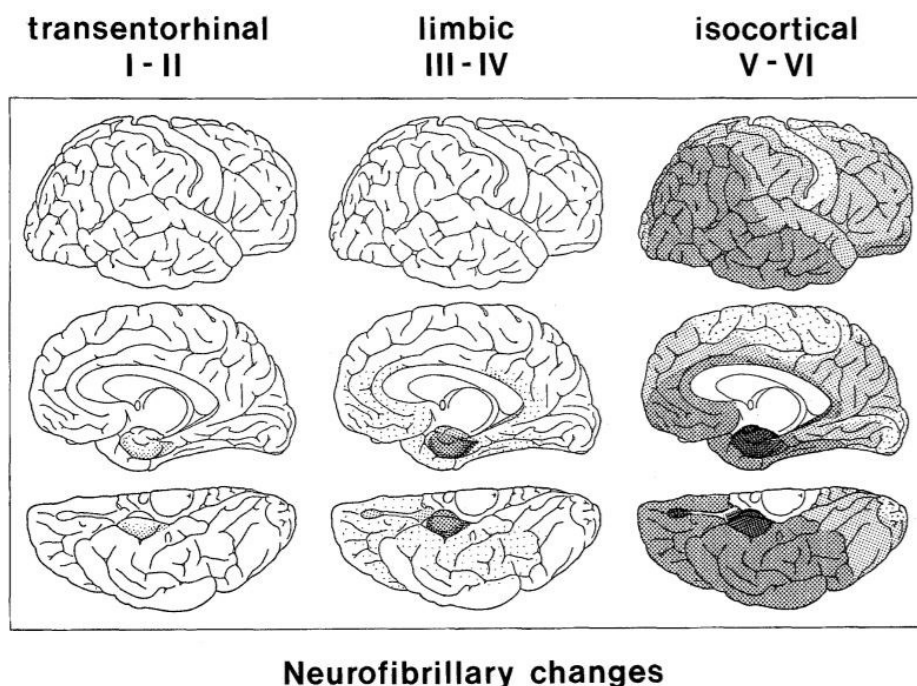


Figura 8 Distribuzione spaziale delle alterazioni neurofibrillari nei pazienti AD secondo Braak e Braak. Immagine tratta da Braak e Braak, 1991.

Tre ulteriori lesioni “positive” che si ritrovano nel cervello dei pazienti AD risultano essere la degenerazione granulovascolare, caratterizzata dalla presenza di piccoli vacuoli intraneuronali citoplasmatici, i corpi di Hirano, costituiti da aggregati intracellulari di actina e proteine associate, e le risposte gliali, definite dalle attivazioni degli astrociti e delle cellule microgliali durante tutto il decorso della malattia.

Per quanto riguarda invece le lesioni “negative”, come già accennato prima ritroviamo la morte neuronale, che è il principale substrato patologico dell’atrofia corticale e un ottimo correlato dei deficit cognitivi, e la morte sinaptica, la quale contribuisce anch’essa all’atrofia corticale facendo sì che la densità sinaptica risulti essere un ottimo correlato neuropatologico del declino cognitivo nella AD.

Va sottolineato, tuttavia, che numerosi studi hanno dimostrato come la formazione delle placche amiloidi si verifichi molto prima dell’esordio dei deficit cognitivi nel paziente Alzheimer mentre gli ammassi neurofibrillari, la morte neuronale e sinaptica seguono in parallelo la progressione del declino cognitivo della patologia.

Per quanto riguarda le macro-alterazioni neuropatologiche della AD risulta essere abbastanza stereotipico un pattern simmetrico di atrofia corticale, che intacca principalmente i lobi temporali mediali (corteccia entorinale e ippocampo) e le aree parieto-occipitali posteriori, il quale può associarsi all’iperdilatazione dei ventricoli laterali, alla malattia dei piccoli vasi e alla demielinizzazione della sostanza bianca periventricolare. Tali alterazioni possono essere facilmente individuate in seguito ad esami di neuroimaging come la risonanza magnetica (MRI, Magnetic Resonance Imaging) strutturale la quale viene comunemente utilizzata a fini diagnostici in questi pazienti consentendo di rilevare alterazioni circoscritte a carico della sostanza grigia fornendo un ottimo contrasto, a livello osservazionale, tra questa sostanza e la sostanza bianca. Infatti, il pattern cerebrale ottenuto dalla MRI si è dimostrato discriminare molto bene i pazienti AD rispetto a pazienti con altri disordini cerebrali (Fig. 9) (Serrano-Pozo et al., 2011).

Diversi studi hanno a tal proposito dimostrato che, da una prospettiva strutturale, nei pazienti AD la perdita di volume cerebrale avviene principalmente nella corteccia

prefrontale, nell'ippocampo (in particolare nel campo CA1 e CA3), nel subiculum e nella corteccia entorinale. Tuttavia, va sottolineato il fatto che tale perdita volumetrica a livello

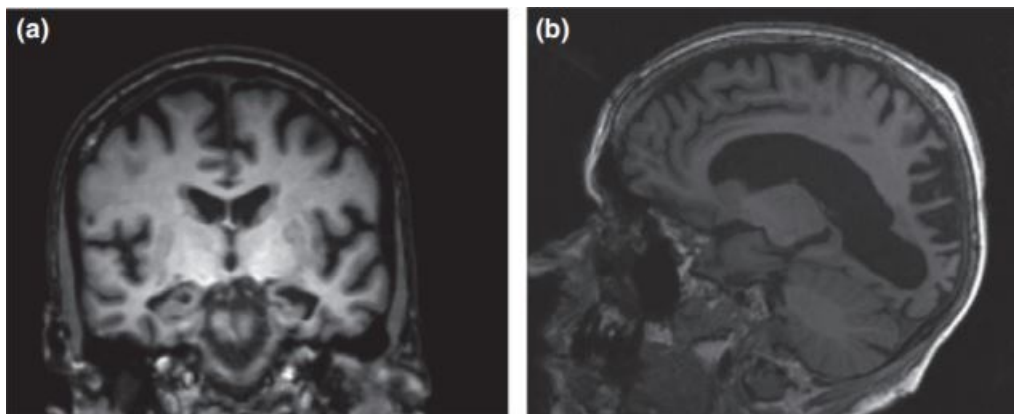


Figura 9 Atrofia corticale ippocampale (a) e parieto-occipitale posteriore (b) caratteristiche di pazienti AD mostrate su piano sagittale e coronale di un'immagine MRI T1. Immagine tratta da Lane et al., 2018.

cerebrale viene preceduta dalla riduzione dello spessore corticale nella corteccia entorinale, prima, e nell'ippocampo successivamente (Marquez e Yassa, 2019).

In quest'ottica, dal punto di vista spazio-temporale, all'inizio della patologia l'atrofia corticale si presenta in alcune strutture del lobo temporale mediale (corteccia entorinale e ippocampo) per poi diffondersi, successivamente, all'intero lobo intaccando così il giro temporale mediale, il paraippocampo, il giro fusiforme, il giro paraippocampale e il polo temporale. In questa fase risultano inoltre essere colpite dall'atrofia diverse strutture del sistema limbico quali amigdala, giro del cingolo, talamo e bulbo olfattivo. Infine, con il progredire della patologia, l'atrofia si diffonde a livello corticale nei lobi frontale, parietale e temporale ma anche a livello sottocorticale coinvolgendo il putamen, i nuclei colinergici prosencefalici, il cervelletto e il tronco dell'encefalo.

I principali tratti di sostanza bianca maggiormente intaccati dalla neurodegenerazione di tipo AD, e che quindi presentano una significativa riduzione dell'anisotropia frazionaria (FA, Fractional Anisotropy) la quale è un indice di integrità anatomica di questi fasci (un

alto valore si riferisce ad un'ottima integrità e viceversa), risultano essere il fornice, che collega l'ippocampo con l'ipotalamo, e il cingolo (soprattutto quello posteriore) che collega il giro del cingolo e il giro paraippocampale con l'area settale del lobo frontale. Infine, oltre a questi due fasci, risultano essere neurobiologicamente alterati in questi pazienti i seguenti tratti limbici, commissurali e associativi di sostanza bianca: fasci talamo-temporali (soprattutto quelli che partono dai nuclei talamici anteriori e terminano nel polo temporale), corpo calloso (soprattutto le formazioni del ginocchio e dello splenio), il fascicolo uncinato, il fascicolo longitudinale inferiore (ILF) e superiore (SLF) ed il giro paraippocampale. La tecnica di neuroimaging utilizzata per studiare l'integrità dei fasci di sostanza bianca in questi pazienti è la trattografia con tensore di diffusione (DTI, Diffusion Tensor Imaging) (Lo Buono et al., 2020).

1.4 FASI CLINICHE, CRITERI DIAGNOSTICI E UTILIZZO DEI BIOMARKERS

Nel 2011 il NIA-AA (National Institute on Aging and Alzheimer's Association) ha definito una serie di linee guida per la diagnosi clinica della Malattia di Alzheimer suddividendola in tre diverse fasi progressive: fase preclinica (asintomatica), MCI (Mild Cognitive Impairment), caratterizzata dalla presenza di un deficit cognitivo, perlopiù isolato, con una preservazione delle autonomie quotidiane, e demenza di tipo AD, ciascuna delle quali viene quindi intesa come un'entità clinica a sé stante.

Negli ultimi anni diversi studi hanno tuttavia dimostrato come nella patologia sia il declino cognitivo che la progressione dei biomarkers (depositi di A β , tauopatia, neurodegenerazione) siano un processo continuo che comincia molti anni prima della manifestazione dei sintomi nel paziente. La principale motivazione che ha spinto gli esperti dell'ambito ad aggiornare i criteri del 2011 riguarda proprio il ruolo cardine svolto a fini diagnostici dai biomarkers: studi combinati di neuroimaging e autopsia cerebrale

hanno infatti dimostrato che la PET (Positron Emission Tomography) è un valido indicatore in vivo dei depositi amiloidi così come l' A β 42 rilevato nel CSF (Cerebrospinal Fluid) mentre le comuni misure di neurodegenerazione utilizzate nella diagnosi di AD (MRI, PET FDG e CSF T-Tau) non sono specifiche per la patologia in esame ma sono invece indici di un danno cerebrale causato potenzialmente da molteplici possibili fattori. Sulla base di queste premesse, nel 2018 le linee guida per la Malattia di Alzheimer sono state aggiornate al fine di considerare la patologia come un continuum. Tali linee guida, costituiscono un "research framework" e dovrebbero essere applicate solo agli ambiti di ricerca.

Secondo questi criteri aggiornati del 2018 la demenza non è un disturbo a sé stante ma è una sindrome caratterizzata da segni e sintomi specifici che possono avere alla base diverse eziopatogenesi, di cui la AD è la più frequente. A tal proposito, sono numerosi gli studi che evidenziano come il 10-30% degli individui con diagnosi clinica (basata sui sintomi cognitivo-comportamentali clinici) di AD non presentino alterazioni neuropatologiche caratteristiche della malattia. In aggiunta a ciò, le alterazioni neuropatologiche caratteristiche della AD sono spesso presenti nelle persone anziane in assenza di segni o sintomi. Queste evidenze suggeriscono quindi che i sintomi cognitivi clinici non rappresentano al giorno d'oggi il gold standard per la diagnosi di AD la quale, nell'ottica delle linee guida aggiornate del 2018, è definita biologicamente sulla base delle alterazioni neuropatologiche caratteristiche della malattia rilevate dai biomarkers in-vivo indipendentemente dai sintomi clinico-comportamentali riportati dal paziente. I biomarkers coinvolti nella diagnosi della AD sono raggruppati nella tabella sottostante (Tab. 1) secondo lo schema AT(N).

A (placche di A β e/o amiloidopatia): basso CSF A β 42 o rapporto A β 42/A β 40 (stato patologico associato alla formazione di placche amiloidi), PET amiloide positiva (misura del carico amiloide)
T (ammassi neurofibrillari e/o taupatia): alto CSF tau fosforillata (stato patologico associato alla formazione di ammassi neurofibrillari), PET tau positiva (misura dei depositi tau)
(N) (neurodegenerazione): atrofia corticale MRI (morte neuronale e sinaptica), ipometabolismo FDG PET (alterazione funzionale neuronale), elevato valore di CSF Total-tau (indice di verosimile taupatia)

Tabella 1 Profilo AT(N) introdotto dal research framework per la diagnosi biologica di AD.

Mentre l'amiloidopatia, A, e la taupatia, T, sono alterazioni neuropatologiche specifiche per la Malattia di Alzheimer, la neurodegenerazione, (N), può essere presente, oltre che nella AD, in tantissime diverse condizioni patologiche e perciò non è un aspetto caratterizzante esclusivo e distintivo della patologia. Ai fini della diagnosi biologica basata sui biomarkers (indipendentemente dai sintomi clinici manifestati), perciò, un individuo classificato come AD deve necessariamente presentare un profilo AT(N) caratterizzato dalla presenza specifica di un'amiloidopatia, A+, ed una taupatia, T+, con l'aggiunta aspecifica di una neurodegenerazione, (N)+, o meno, (N)-. Ulteriori dettagli diagnostici vengono forniti nella tabella sottostante (Tab. 2).

Profilo AT(N)	Categoria biomarker
A-T-(N)-	Soggetto nella norma
A+T-(N)-	Alterazione AD patologica
A+T+(N)-	AD (AD continuum)
A+T+(N)+	AD (AD continuum)
A+T-(N)+	Alterazione patologica concomitante AD e non-AD (AD continuum)
A-T+(N)-	Alterazione patologica non-AD
A-T-(N)+	Alterazione patologica non-AD
A-T+(N)+	Alterazione patologica non-AD

Tabella 2 Categoria diagnostica definita biologicamente in base al profilo AT(N). Per ciascun biomarker se esso è positivo viene contrassegnato con il segno "+" mentre se negativo con il segno "-".

Alla luce di ciò è possibile dedurre quindi che i biomarkers A β determinano se un individuo è nel continuum della AD, i biomarkers tau determinano se un individuo che è nel continuum AD ha effettivamente la AD, mentre i biomarkers di neurodegenerazione e i sintomi cognitivi, (C), nessuno dei quali è specifico per la AD, vengono utilizzati solo per definire la severità della malattia e non la presenza del continuum patologico. Più biomarkers sono alterati e più avanzata è la patologia e di conseguenza più rapido dovrebbe essere il declino cognitivo del paziente (Jack et al., 2018).

Una review del 2016 scritta da Olsson e collaboratori ha evidenziato a tal proposito che i migliori biomarkers in grado di differenziare diagnosticamente i pazienti AD dai soggetti non-AD (MCI e soggetti sani senza alterazioni cognitive) sono i CSF T-tau, P-tau, A β 42, NFL (neurofilamenti a catena leggera) e, per quanto riguarda i marcatori plasmatici, i valori di T-tau (Olsson et al., 2016). Tuttavia, va sottolineato il fatto che i biomarcatori sono surrogati delle alterazioni neuropatologiche, e, seppur accurati, nessuno dei biomarkers descritti è sensibile dal punto di vista diagnostico come lo è l'esaminazione diretta del tessuto cerebrale post morte mediante l'autopsia (Jack et al., 2018).

Nel 2010 Jack e collaboratori hanno introdotto un modello esplicativo basato sui biomarkers il quale illustra come il primo evento che si manifesta nella patogenesi della AD risulti essere l'accumulo di A β nel cervello (basso CSF A β 42 e positività alla PET amiloide) con il soggetto che non mostra alcun deficit cognitivo.. Elevati livelli di CSF tau non sono tuttavia specifici per la AD ma possono essere considerati come biomarker di danno neuronale. Dopo un periodo di tempo (in media circa 10 anni), che varia da paziente a paziente (a causa dell'influenza sul processo della riserva cognitiva e dell'eventuale coesistenza di altre condizioni patologiche), comincia a presentarsi la disfunzione neuronale/sinaptica prima (ipometabolismo temporoparietale) e la neurodegenerazione poco dopo (atrofia corticale mediotemporale, paralimbica e temporoparietale) le quali correlano entrambe a sua volta con l'esordio e poi con la

progressione dei sintomi clinici cognitivi riportati dall'individuo nelle fasi di MCI e di demenza di tipo AD. Tuttavia, nessuno di questi biomarkers è statico in quanto essi cambiano nel corso del tempo e della patologia seguendo un decorso non lineare (Fig. 10) (Jack et al., 2010; Sperling et al., 2011).

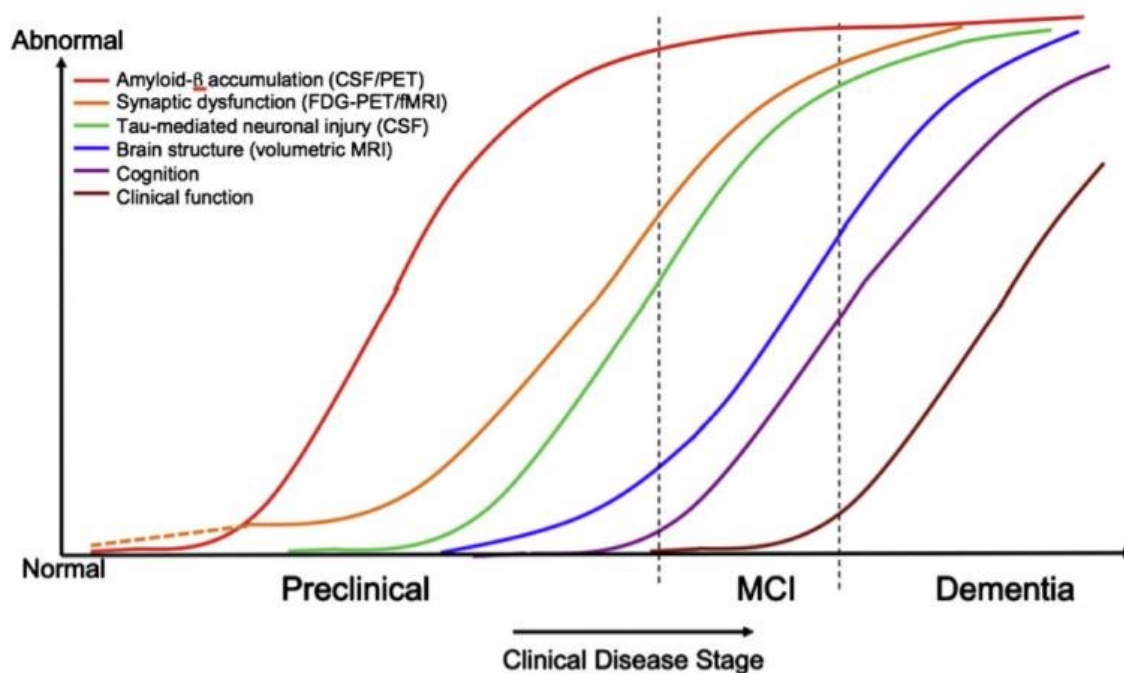


Figura 10 Modello ipotetico dei biomarkers dinamici riguardanti le diverse fasi della AD: fase preclinica, MCI e demenza. Immagina tratta da Sperling et al., 2011.

Attraverso studi neuropatologici e di neuroimaging, Ferreira e collaboratori hanno identificato 4 diversi sottotipi biologici della Malattia di Alzheimer basati sulla distribuzione topografica della taupatia e dell'atrofia corticale (Fig. 11). Tali sottotipi risultano quindi essere:

- Typical AD (tAD, definito da un'atrofia medio-temporale, posteriore e/o frontale insieme ad alterazioni neurofibrillari a carico dell'ippocampo e delle aree associative): rappresenta il 55% dei pazienti AD essendo quindi il sottotipo prevalente anche dal punto di vista della positività amiloide (88% dei pazienti AD).

Tali pazienti presentano un maggior numero di placche amiloidi nelle regioni occipitali rispetto agli altri sottotipi.

- Limbic-predominant AD (lpAD, definito da un'atrofia medio-temporale insieme ad alterazioni neurofibrillari a carico dell'ippocampo): rappresenta il 21% dei pazienti AD ed è il sottotipo maggiormente presente nelle donne. La patologia presenta una progressione abbastanza lenta in questo caso. Tali pazienti mostrano una maggiore positività alla PET amiloide nelle aree fronto-mediali e parietali. Dal punto di vista della comorbidità questo sottotipo presenta inoltre spesso una sclerosi ippocampale.
- Hippocampal-sparing AD (hsAD, definito da un'atrofia posteriore e/o frontale insieme ad alterazioni neurofibrillari a carico delle aree associative): rappresenta il 17% dei pazienti AD ed è il sottotipo maggiormente presente negli individui ad alta scolarizzazione (alta riserva cognitiva) e nei maschi. Questo sottotipo strutturale non è solitamente associato con l'aplotipo di rischio APOE4, e si caratterizza per un esordio precoce ed una progressione più rapida dei sintomi cognitivi. Tali pazienti mostrano inoltre un maggiore ipometabolismo cerebrale nelle regioni prototipiche della patologia, soprattutto nelle regioni temporo-parietali.
- Minimal atrophy AD (maAD, definito da una minima atrofia a carico di network cerebrali posteriori come i circuiti fronto-parietali, quelli visivi e il default mode network): rappresenta il 15% dei pazienti AD ed è il sottotipo maggiormente presente negli individui a bassa scolarizzazione (bassa riserva cognitiva). Tali pazienti presentano inoltre migliori punteggi neuropsicologici ai test di screening (es. MMSE) rispetto agli altri sottotipi ma anche la minor durata della patologia.

Si è inoltre dimostrato che i pazienti con sottotipo tAD e lpAD risultano essere significativamente più anziani rispetto ai restanti due sottotipi e che gli individui con

sottotipo hsAD presentano una minore amiloidosi ma una maggiore taupatia insieme ad una maggiore neurodegenerazione in confronto agli altri sottotipi. I sottotipi tAD e lpAD mostrano un esordio tardivo della patologia e la maggior parte degli individui affetti da queste forme è portatrice del gene APOE ϵ 4 nonché presenta la più alta comorbidità di ipertensione, disordini cardiovascolari e co-patologia a tipo Demenza a corpi di Lewy (DLB, Dementia with Lewy bodies).

Sulla base di questa classificazione Ferreira e collaboratori hanno quindi proposto un framework che può essere posto in continuità al framework AT(N) precedentemente descritto e potrebbe incrementare l'accuratezza diagnostica e prognostica della patologia (Fig. 12). Secondo questo

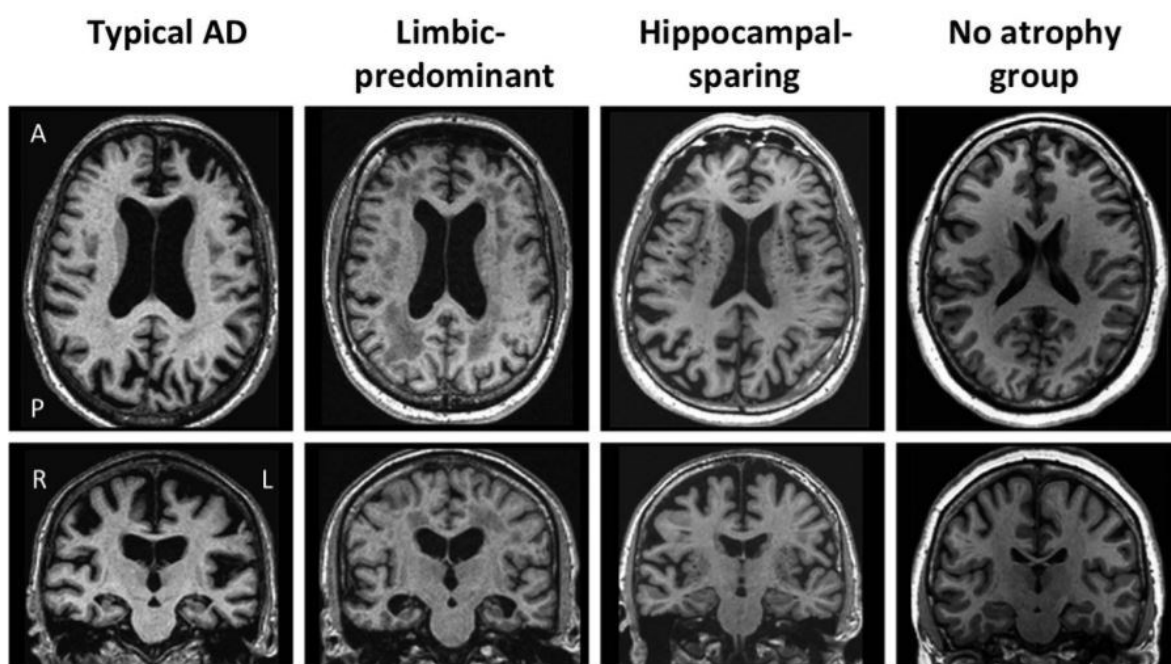


Figura 11 Immagini MRI che rappresentano i vari pattern di atrofia corticale presenti nei sottotipi biologici descritta da Ferreira e collaboratori. Immagine tratta da Ferreira et al., 2017.

framework innovativo, il quale implica a priori la positività delle categorie A (amiloidopatia, A+) e T (taupatia, T+) ci sono due dimensioni fondamentali da considerare: la tipicità (con il sottotipo lpAD da un lato e il sottotipo hsAD dall'altro entrambi i quali derivano dal

sottotipo tAD), e la severità (la quale emerge esclusivamente dal tasso di neurodegenerazione (N) e separa il sottotipo maAD da quello tAD). La riserva cognitiva e la resilienza/resistenza cerebrale, insieme ad altri fattori individuali modulatori, determinano la posizione del paziente AD lungo il continuum della severità della patologia con i livelli più bassi che sono relativi al sottotipo biologico maAD (Ferreira et al., 2020; Ferreira et al., 2017).

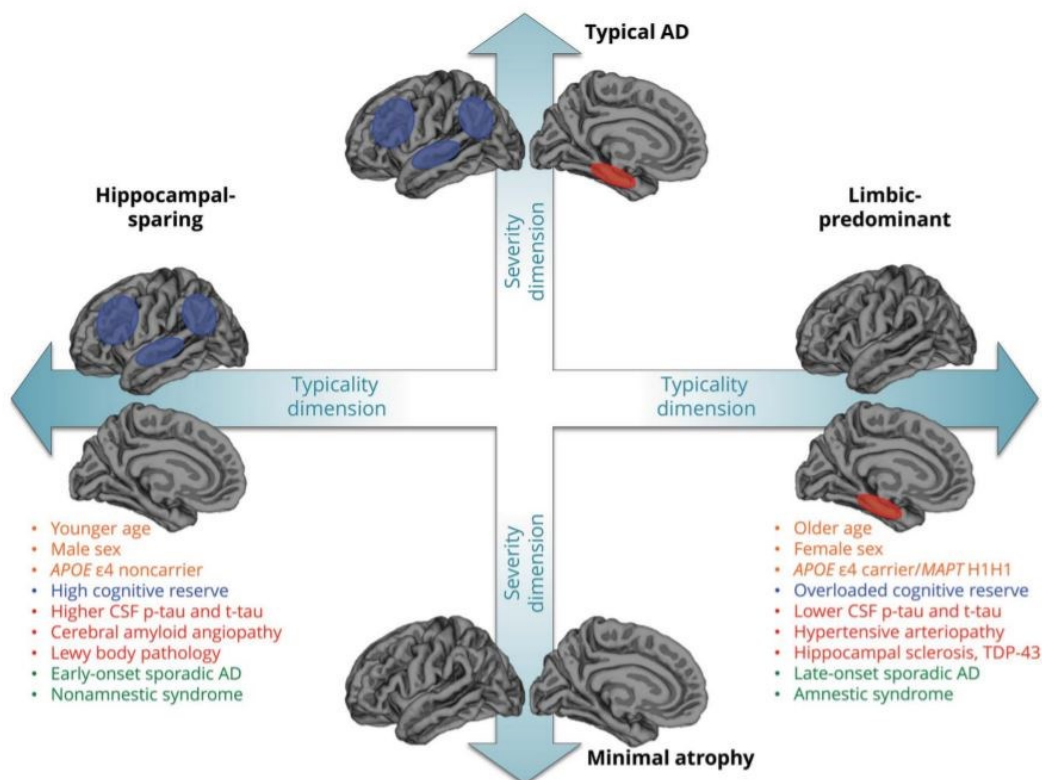


Figura 12 Framework teorizzato da Ferreira e collaboratori che illustra i 4 sottotipi biologici di AD identificati. Immagine tratta da Ferreira et al., 2020.

Nell'ottica delle linee guida del 2018, così come già descritto per i biomarkers, anche la performance cognitiva viene interpretata in termini di continuum cognitivo in due diversi schemi di stadiazione clinica categoriale.

Il primo schema riguarda la stadiazione cognitiva categoriale sindromica e può essere applicato indipendentemente dal profilo AT(N) dell'individuo. Secondo tale schema, il

continuum della AD risulta essere caratterizzato nel suo decorso da tre fasi principali. Incrociando il profilo AT(N) con lo status cognitivo del soggetto è possibile delineare dal punto di vista terminologico e clinico diverse condizioni che vengono illustrate nella tabella (Tab. 3).

	No alterazioni cognitive	MCI	Demenza
A-T-(N)-	Soggetto nella norma	MCI	Demenza
A+T-(N)-	Alterazioni patologiche precliniche di tipo AD	MCI con alterazioni patologiche di tipo AD	Demenza con alterazioni patologiche di tipo AD
A+T+(N)-	AD preclinica	MCI dovuto alla AD (AD prodromica)	Demenza di tipo AD
A+T+(N)+	AD preclinica	MCI dovuto alla AD (AD prodromica)	Demenza di tipo AD
A+T-(N)+	Alterazione patologica di tipo AD insieme ad una sospetta alterazione patologica concomitante non AD con assenza di problematiche cognitive	MCI con alterazione patologica di tipo AD insieme ad una sospetta alterazione patologica concomitante non AD	Demenza con alterazione patologica di tipo AD insieme ad una sospetta alterazione patologica concomitante non AD
A-T+(N)-	Alterazioni patologiche non AD con assenza di disturbi cognitivi	MCI con alterazioni patologiche non AD	Demenza con alterazioni patologiche non AD
A-T-(N)+	Alterazioni patologiche non AD con assenza di disturbi cognitivi	MCI con alterazioni patologiche non AD	Demenza con alterazioni patologiche non AD
A-T+(N)+	Alterazioni patologiche non AD con assenza di disturbi cognitivi	MCI con alterazioni patologiche non AD	Demenza con alterazioni patologiche non AD

Tabella 3 Nomenclatura descrittiva risultante dalla combinazione del profilo descritto dai biomarker con il livello cognitivo del soggetto

Il secondo schema di stadiazione clinica, definito dalle linee guida NIA-AA del 2018 e riguardante la performance cognitiva, è applicabile tuttavia solo agli individui coinvolti nel continuum della AD ed è definito come stadiazione clinica numerica. Tale schema riflette

l'evoluzione sequenziale della AD dalla fase iniziale alla fase più severa della patologia ed è suddiviso nei seguenti 6 stadi progressivi (Jack et al., 2018):

- Stadio 1 (AD asintomatica) -> Nessuna evidenza di declino cognitivo o di sintomi neurocomportamentali ma presenza di biomarkers positivi per la AD
- Stadio 2 (AD preclinica) -> Declino cognitivo transizionale in uno o più domini cognitivi (non esclusivamente la memoria) che persiste da almeno 6 mesi. Presenza di possibili sintomi neurocomportamentali (es. depressione, ansia, apatia) con esordio recente che persistono e non sono dovuti ad eventi della vita. No impatto funzionale nelle attività quotidiane
- Stadio 3 (MCI) -> Evidente declino cognitivo con difficoltà nelle attività quotidiane soprattutto nei compiti più complessi che richiedono più tempo per essere portati a termine in maniera meno efficiente del solito
- Stadio 4 -> Demenza lieve. Deterioramento cognitivo progressivo e/o disturbi neurocomportamentali con evidente impatto sulle attività quotidiane che richiedono un'assistenza occasionale
- Stadio 5 -> Demenza moderata. Deterioramento cognitivo progressivo e/o disturbi neurocomportamentali con notevole impatto sulle attività quotidiane che richiedono una frequente assistenza
- Stadio 6 -> Demenza grave. Progressivo deterioramento cognitivo e/o disturbi neurocomportamentali con completa dipendenza dal caregiver (es. familiare) dovuta ad un gravoso impatto sulle attività quotidiane di base compreso la cura di sé

1.5 PROFILO NEUROPSICOLOGICO CON CORRELATI NEUROPATOLOGICI

Il declino funzionale nelle autonomie quotidiane è uno dei criteri fondamentali per la diagnosi di demenza in generale, e perciò si applica anche all'AD. Tale declino si manifesta primariamente nel funzionamento interpersonale, successivamente nel funzionamento sociale e infine nella cura di sé. A tal proposito, Slachevsky e collaboratori (2019) hanno dimostrato come tale declino funzionale, misurato mediante il questionario ADL (Activities of Daily Living), sia altamente correlato all'atrofia corticale che i pazienti AD riportano in maniera diffusa in tutto il cervello (nello specifico le regioni maggiormente interessate sembrerebbero essere le aree fronto-temporo-occipitali in associazione al precuneo).

Dal punto di vista neuropsicologico (Fig. 13) uno dei principali segni distintivi della Malattia di Alzheimer è certamente l'amnesia anterograda ossia l'incapacità di apprendere e ricordare nuove informazioni. Il declino nella memoria episodica è dovuto primariamente alla disfunzione dei circuiti temporo-mesiali che hanno nell'accumulo di grovigli neurofibrillari il principale marcatore neuropatologico. Tale deficit di memoria episodica è dovuto principalmente alla difficoltà di consolidamento/immagazzinamento di nuove informazioni, ragion per cui i pazienti AD dimenticano rapidamente gli eventi recentemente vissuti. Inoltre, tali pazienti presentano anche un'incrementata sensibilità all'interferenza, e quindi una maggiore produzione di errori di intrusione ed un uso deficitario dell'informazione semantica per rafforzare la codifica delle informazioni, dovuta ad una minore efficacia dei processi inibitori.

Nel dominio linguistico, invece, i pazienti AD presentano tipicamente alterazioni nella denominazione di oggetti, nella fluenza verbale (in particolare la fluenza categoriale) e nella categorizzazione semantica: tali deficit riflettono un deterioramento a carico di aree

corticali associative fronto-temporo-parietali che supportano primariamente la memoria semantica ed il linguaggio in senso lato.

I pazienti AD, inoltre, presentano nel corso della malattia, deficit nelle funzioni esecutive dovuti primariamente all'accumulo di grovigli neurofibrillari nella corteccia prefrontale: in particolare risultano essere principalmente alterate funzioni quali il set shifting (comportamenti cue-diretti), l'automonitoraggio, il sequenziamento, il problem-solving e la manipolazione mentale. Tali pazienti presentano anche deficit a carico della memoria di lavoro, soprattutto nella componente dell'esecutivo centrale. Infine, è neuropsicologicamente tipico della patologia un'alterazione dell'attenzione complessa (sistema attentivo di allerta e sistema attentivo di orientamento) dovuta primariamente alla taupatia del locus coeruleus (Malholtra, 2019), in particolare nell'allocatione delle risorse attenzionali e nel disingaggio-reingaggio dell'attenzione (shifting attenzionale) (Weintraub et al., 2012).

Dal punto di vista prassico i pazienti AD, a partire dalla fase intermedia di malattia, mostrano una notevole difficoltà nell'imitazione di gesti bimanuali ma non di gesti eseguiti con una sola mano. Ciò potrebbe essere spiegato dal fatto che l'imitazione di un modello implica una prima fase di estrazione delle informazioni visive del modello stesso con il mantenimento di tali informazioni finalizzato alla successiva riproduzione (processamento visivo) ed una fase successiva di organizzazione della riproduzione della performance (controllo esecutivo): rispetto alle azioni unimanuali, le azioni bimanuali risultano essere più complesse da imitare in quanto sono caratterizzate dalla presenza di due effettori e non di uno e per questo i deficit e le alterazioni frontali a carico dei processi esecutivi (descritti pocanzi) che si manifestano in questi pazienti potrebbero verosimilmente far venir meno la loro capacità di riprodurre la performance bimanuale del modello osservato (Lesourd et al., 2013). Rimanendo sempre nell'ambito, uno studio di Giannakopoulos e collaboratori (1998) ha dimostrato come nei pazienti AD l'aprassia ideomotoria sia

fortemente correlata alle alterazioni neurofibrillari nella corteccia cingolata anteriore mentre l'aprassia costruttiva presenti forti correlazioni con lo stesso tipo di pattern neurofibrillare a carico dei circuiti parieto-cingolo-occipitali primariamente coinvolti nella cognizione visuospatiale.

Nel dominio visuospatiale, infine, i pazienti AD presentano notevoli deficit nella quasi totalità dei casi. Tali alterazioni sono evidenti nelle abilità visuoperceptive di orientamento visivo, nel processamento visivo dell'informazione, nel rilevamento visivo di stimoli in movimento ma soprattutto nelle abilità visuocostruttive (Weintraub et al., 2012). A tal proposito, Salimi e collaboratori (2019) hanno dimostrato che i pazienti con AD, tenendo in considerazione la severità della patologia, presentano dei punteggi nettamente inferiori rispetto sia ai controlli che ai pazienti con demenza frontotemporale in tutti in task visuospatiali tra i quali principalmente risulta essere deficitaria la copia di disegni (es. pentagoni, cubi, orologi, copia di Rey) (Fig. 14). Tali differenze di performance in quest'ambito, come suggerito dagli autori dello studio, sarebbero dovute al fatto che le abilità visuocostruttive sono mediate principalmente dal lobo parietale il quale nella AD risulta essere primariamente e precocemente intaccato dalla neuropatologia. Test neuropsicologici visuospatiali come il Test dell'Orologio e la Copia di Rey si sono dimostrati essere dei validi e promettenti strumenti non invasivi utilizzabili a fini diagnostici per intercettare pazienti con neuropatologia di tipo AD (Salimi et al., 2017).

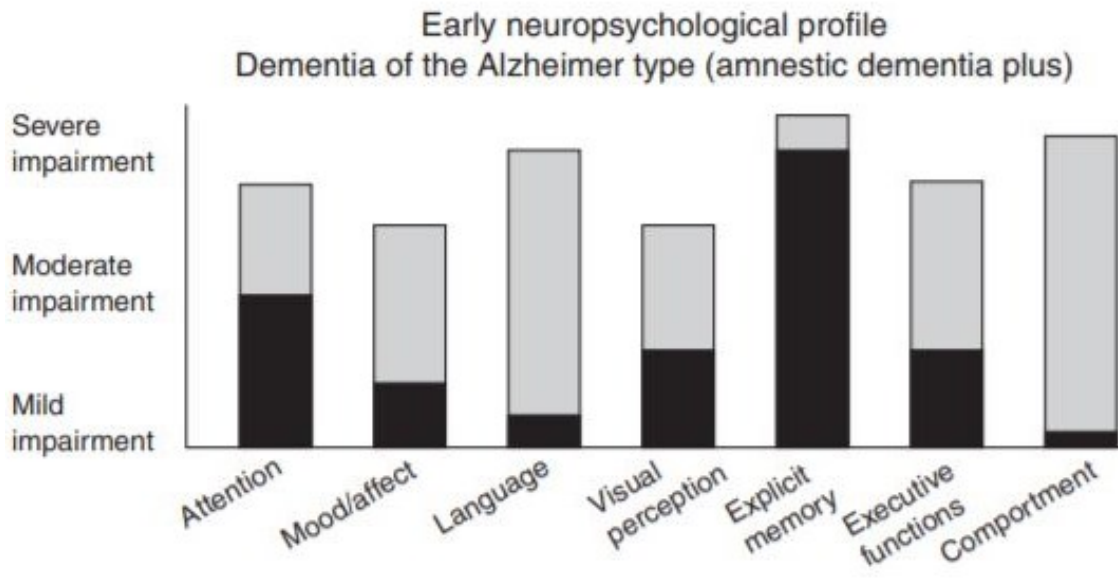


Figura 13 Profilo neuropsicologico dei pazienti AD nelle diverse fasi della patologia. La parte più scura è relativa all'esordio della patologia mentre la parte più chiara si riferisce allo stadio conclamato. Immagine tratta da Weintraub et al., 2012.

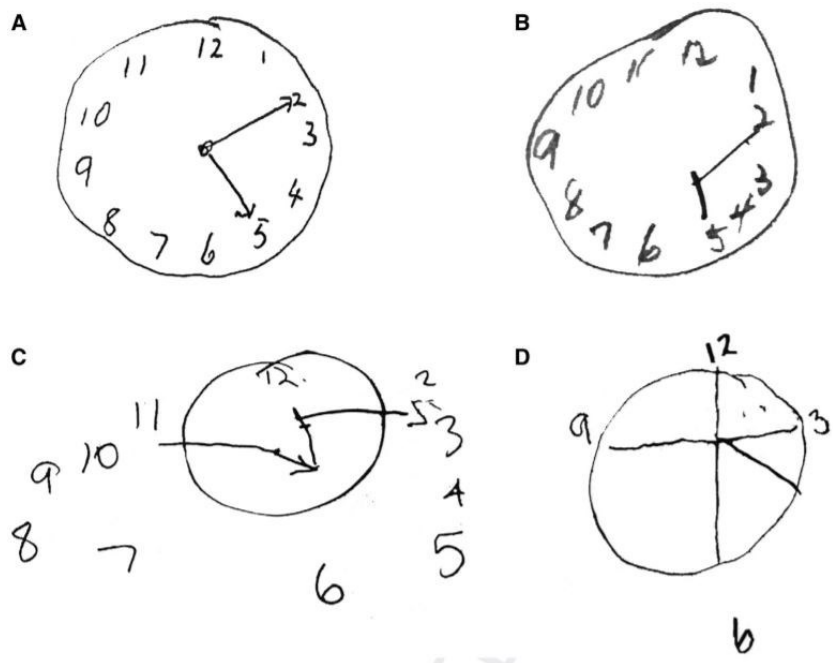


Figura 14 Performance altamente deficitaria di pazienti AD al Test (visuospatiale) dell'Orologio. Immagine tratta da Salimi et al., 2017.

Da sottolineare, infine, il fatto che dal punto di vista neuropsicologico i punteggi di richiamo ritardato delle informazioni (Delayed recall, che fa riferimento alla memoria episodica), in aggiunta alle performance che chiamano in causa la memoria semantica, si sono dimostrati essere i migliori predittori della conversione di pazienti MCI in AD (Gainotti et al., 2014).

1.6 IL LOBO PARIETALE E LA MALATTIA DI ALZHEIMER

Il lobo parietale (Fig. 15) può essere suddiviso anatomicamente nelle seguenti strutture: giro postcentrale, lobulo parietale superiore, opercolo parietale, lobulo parietale inferiore (formato a sua volta dal giro angolare e dal giro sovramarginale), precuneo (parte mediale della corteccia parietale posteriore), corteccia cingolata posteriore, corteccia retrospleniale e parte posteriore del lobulo paracentrale.

Il precuneo risulta essere reciprocamente connesso con la corteccia cingolata retrospleniale posteriore, con altre aree parietali, con aree frontali (campi oculari frontali, corteccia prefrontale dorsolaterale, area premotoria, area motoria supplementare e corteccia cingolata anteriore), con il solco temporale superiore, con il talamo, lo striato e il tronco dell'encefalo.

In particolare, la corteccia parietale posteriore (PPC, Posterior parietal cortex), la quale è composta dalle aree di Brodmann 5 (lobulo parietale superiore e giro postcentrale), 7 (precuneo, lobulo parietale superiore), 39 (giro angolare) e 40 (giro sovramarginale), è strettamente connessa con la corteccia prefrontale (soprattutto con l'area 46 ossia la corteccia prefrontale dorsolaterale) ma anche con la corteccia paralimbica, l'ippocampo, il giro paraippocampale e il talamo. La PPC è connessa con il lobo temporale attraverso tre fasci di fibre principali: 1) il fascicolo longitudinale mediale (MLF, Middle longitudinal

fasciculus) che collega il lobulo parietale inferiore con le regioni temporali superiori, 2) una porzione di fibre del cingolo che collega la PPC con l'ippocampo, e 3) un fascio di fibre che connette la PPC con l'area paraippocampale. Un ulteriore tratto fondamentale che passa dalla PPC risulta essere il fascicolo longitudinale superiore (SLF, Superior longitudinal fasciculus) il quale risulta essere costituito da tre parti: l'SLF1 che collega il lobulo parietale superiore con le aree premotorie (soprattutto l'area premotoria dorsale) e prefrontali dorsolaterali, l'SLF2 che collega il lobulo parietale inferiore (solco intraparietale) con la corteccia prefrontale dorsolaterale e con l'area premotoria ventrale, l'SLF3 che collega il lobulo parietale inferiore con le aree premotorie (giro frontale inferiore), prefrontali inferiori e dorsolaterali. Mentre l'SLF1 è coinvolto principalmente nel comportamento motorio di alto livello, l'SLF2 e l'SLF3 sono strettamente implicati nell'attenzione visiva e nei processi a carico della memoria di lavoro.

La parte anteriore del lobo parietale, sede della corteccia somatosensoriale, è coinvolta principalmente nel processamento multimodale dell'informazione tattile mentre la PPC svolge un ruolo fondamentale nell'integrazione sensoriale visuo-tattile ma anche nel direzionare i movimenti e nella rilevazione di stimoli nello spazio: tale regione cerebrale è la stazione finale della via dorsale ed è quindi notevolmente coinvolta nella cognizione spaziale e nel processamento di informazioni spaziali. Ulteriori funzioni direttamente o indirettamente attribuite alla PPC risultano inoltre essere l'attenzione selettiva, la memoria di lavoro, le abilità di calcolo matematico, la lettura, le funzioni esecutive, la rotazione mentale, l'imagery, l'inibizione delle risposte non necessarie, il set shifting ed il processamento di informazioni visuospatiali. Funzioni cognitive in carico alla PCC sono frequentemente coinvolte nelle fasi iniziali della AD, per cui lo studio di tali aree in corso di malattia riveste un ruolo importante per una migliore comprensione della patologia e anche per una migliore caratterizzazione dei suoi aspetti neurofunzionali (Jacobs et al., 2012; Bruner e Jacobs, 2013).

È importante sottolineare che il lobulo parietale superiore ed il giro sovramarginale guidano su base visiva i movimenti di mani, dita, braccia, testa e occhi. Il giro angolare è strettamente implicato nella cognizione spaziale, il solco intraparietale media invece i movimenti oculari saccadici, l'attenzione, i movimenti di raggiungimento-afferramento, la manipolazione tattile, l'osservazione di movimenti manuali, l'uso passivo di strumenti e la discriminazione della dimensione e dell'orientamento di oggetti. Il precuneo, infine, svolge un ruolo fondamentale nell'imagery visuospaziale, nella memoria episodica e nella coscienza di sé.

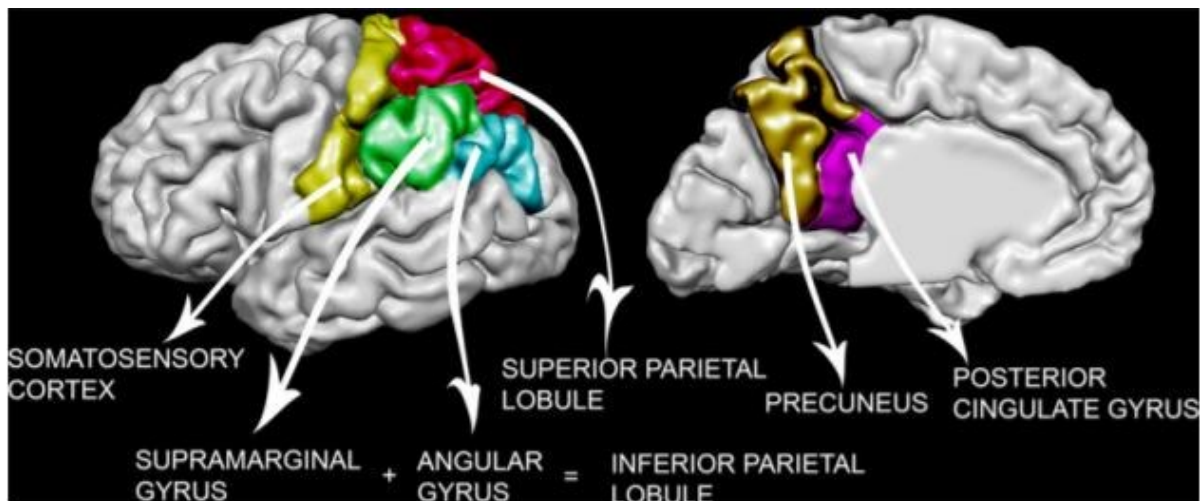


Figura 15 *Suddivisioni anatomiche principali del lobo parietale. Immagine tratta da Jacobs et al., 2012.*

Diversi studi strutturali hanno dimostrato come nei pazienti MCI e nei pazienti nella fase di AD preclinica vi sia una perdita di sostanza grigia (atrofia corticale) parietale nelle aree più posteriori quali la PPC (lobulo parietale inferiore), il precuneo e il giro cingolato posteriore. Per quanto riguarda la sostanza bianca parietale, invece, questi pazienti presentano delle alterazioni (perdita di volume) abbastanza diffuse in tutto il lobo soprattutto nel lobulo parietale inferiore e superiore, nel precuneo, nel giro angolare e sovramarginale le quali compromettono di conseguenza l'integrità di fasci di fibre come l'SLF, il fascicolo longitudinale inferiore (ILF, Inferior longitudinal fasciculus), il cingolo posteriore, lo splenio ed il fascicolo occipito-frontale. Secondo questa prospettiva

sembrerebbe che le alterazioni a carico dei fasci di fibre di sostanza bianca precederebbero l'atrofia corticale in questi pazienti: il lobo temporale mediale è infatti strettamente connesso con il giro cingolato posteriore e la perdita di questo collegamento potrebbe dar luogo alla perdita di sostanza grigia nelle strutture temporo-mediali (es. ippocampo) la cui atrofia è uno dei segni distintivi principali della AD.

Oltre a ciò, dal punto di vista funzionale questi pazienti mostrano un'aumentata attivazione cerebrale nel precuneo, rispetto ai controlli, in compiti visivi e verbali di memoria episodica così come in compiti visuo-verbali di memoria di lavoro e in compiti autobiografici, di memoria semantica e visuospatiali. In particolare è stata riportata da diversi studi fMRI che hanno utilizzato compiti di memoria, un'iperattivazione del precuneo in questi pazienti durante la fase di codifica dell'informazione mentre un'ipoattivazione è stata registrata durante le fasi di recupero delle informazioni stesse: tale pattern funzionale è completamente opposto a quello che si è registrato in soggetti di controllo sani nei quali vi è quindi un'iperattivazione del precuneo durante la fase di recupero dell'informazione e un'ipoattivazione durante la fase di codifica. Da questo punto di vista la paradossale iperattivazione funzionale dell'ippocampo nei pazienti MCI potrebbe essere interpretata come una sorta di meccanismo compensatorio in risposta alla palese perdita di connettività funzionale a riposo (RSFC, Resting-state functional connectivity) tra le regioni posteromediali (precuneo, giro cingolato posteriore) ed altre aree cerebrali fronto-temporo-parietali (in particolare con le strutture temporali mediali). Questa alterazione a carico dei network parieto-temporali che collegano, attraverso il cingolo, il precuneo e il giro cingolato posteriore con il lobo temporale mediale è perciò una caratteristica distintiva tipica dei pazienti AD. Diversi studi hanno a tal proposito dimostrato che danni a carico dei fasci di fibre nella corteccia cingolata posteriore isolano le strutture temporo-mediali dai segnali corticali causando come conseguenza la disfunzione metabolica tipica delle aree parieto-mediali (Jacobs et al., 2012; Bruner e

Jacobs, 2013). Altre regioni cerebrali che in questi pazienti mostrano un'iperattivazione funzionale, sia in compiti di memoria che non, risultano essere il lobulo parietale inferiore e superiore, il giro cingolato posteriore ed il giro sovramarginale.

Tali evidenze dimostrano che il lobo parietale è chiaramente coinvolto dalla neuropatologia durante le prime fasi della AD e che in particolare le regioni parietali maggiormente interessate risultano essere il precuneo e il giro cingolato posteriore le quali sono entrambe delle regioni che presentano delle caratteristiche peculiari dal punto di vista metabolico, connessionale, morfologico (alta complessità sinaptica che rende i neuroni della PPC particolarmente vulnerabili) e vascolare (le aree parieto-mediali sono collocate al confine con le tre arterie cerebrali principali e sono perciò estremamente vulnerabili a fenomeni di ipoperfusione, ischemia o stroke). Di conseguenza, tali aree potrebbero essere più suscettibili a processi neurodegenerativi come quelli che si verificano nella AD (Jacobs et al., 2012; Bruner e Jacobs, 2013).

Una spiegazione ipotetica del contributo che il lobo parietale può fornire alla patogenesi della AD è illustrato dal modello proposto da Buckner, Jack e Bartzokis. Secondo gli autori, dato che le aree parietali si sviluppano ontogeneticamente molto tardi, i neuroni contenuti in esse sono caratterizzati da una guaina mielinica più sottile e quindi più vulnerabile a processi neuropatologici come danni tossico-ossidativi: tale degradazione mielinica produce una disfunzione neuronale che di conseguenza comporta un'alterazione della connettività tra il precuneo e il giro cingolato posteriore con le aree temporo-mediali. A ciò segue quindi la formazione di placche amiloidi che si depositano nelle regioni parietali posteromediali causando in esse un'atrofia corticale e dando quindi luogo ai deficit cognitivi. Tutta la cascata di eventi è inoltre modulata dall'intervento di fattori genetici e fattori ambientali (in primis problemi cardiovascolari ed infiammazioni) (Fig. 16) (Jacobs et al., 2012).

Sulla base dei dati descritti in questo capitolo è opportuno sottolineare che, a fini diagnostici, dal punto di vista clinico nella valutazione strutturale ed osservazionale delle immagini MRI di pazienti AD è caratteristica della patologia la presenza di un'atrofia corticale con gradiente posteriore che intacca principalmente i lobi parietali bilateralmente e strutture come il precuneo e il cingolo posteriore, con una maggiore preservazione corticale delle aree frontali le quali sono invece primariamente colpite in altre forme di demenza (es. Demenza frontotemporale) (Fig. 17) (Barkhof et al., 2011).

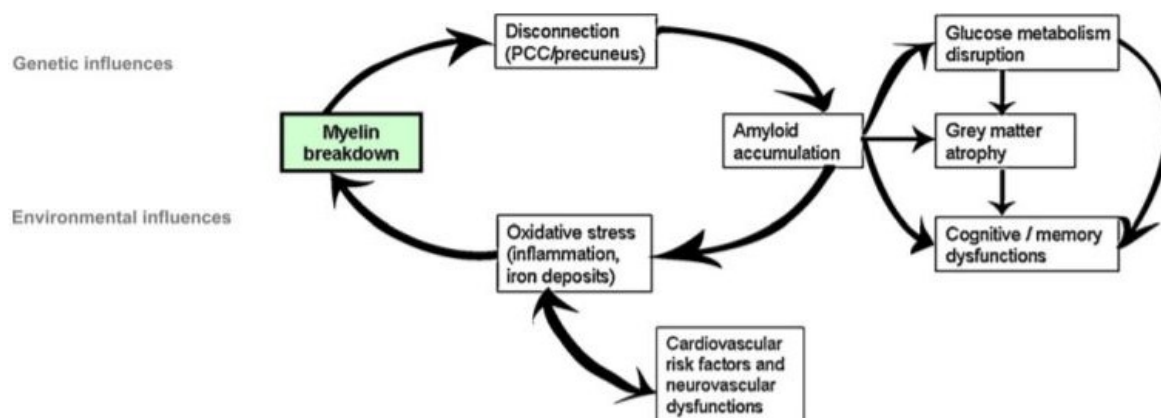


Figura 16 Modello di Buckner, Jack e Bartzokis sul contributo del lobo parietale alla patogenesi della AD. Immagine tratta da Jacobs et al., 2012.

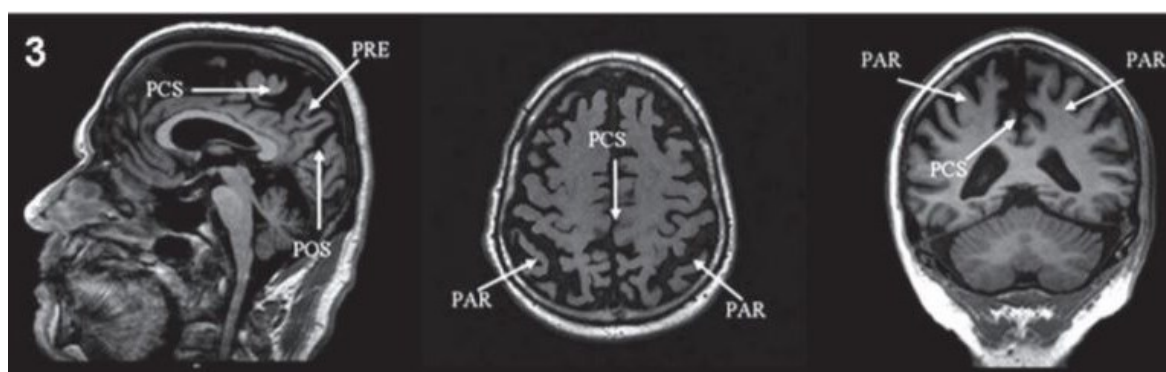


Figura 17 Gradiente posteriore con atrofia parietale tipico di pazienti AD. Immagine tratta da Barkhof et al., 2011.

INTRODUZIONE – IL SISTEMA MIRROR E LA AD

2.1 IL SISTEMA MIRROR NELLA SCIMMIA

All'inizio degli anni Novanta un gruppo di ricercatori dell'Università di Parma guidati da Giacomo Rizzolatti ha scoperto, nell'ambito di esperimenti in cui la scimmia (in particolare il macaco) poteva agire liberamente, la presenza di neuroni nella convessità corticale dell'area F5 (corteccia premotoria ventrale) che rispondevano sia quando l'animale effettuava una determinata azione (es. afferrare del cibo), sia quando osservava un altro individuo (lo sperimentatore o un conspecifico) compiere la stessa azione. A tali neuroni che presentano questo caratteristico e fondamentale accoppiamento visuo-motorio è stato dato il nome di neuroni mirror (o neuroni specchio) (Fig. 18) (Rizzolatti et al., 1996).

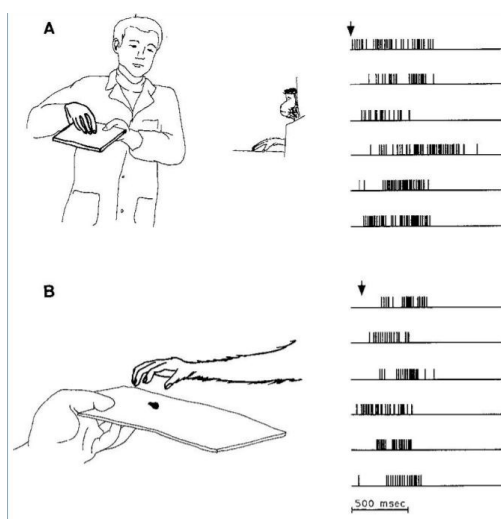


Figura 18 Risposte visive e motorie tipiche di un neurone mirror in seguito all'osservazione da parte della scimmia di uno sperimentatore che afferra un pezzo di cibo posto su un supporto (A) e in seguito all'esecuzione dello stesso atto motorio da parte dell'animale (B). Immagine tratta da Di Pellegrino et al., 1992.

Dal punto di vista delle proprietà motorie, questi neuroni si attivano selettivamente durante specifici atti motori eseguiti dall'animale mentre non rispondono alla presentazione visiva di oggetti o cibo. Per quanto riguarda le proprietà visive la loro attivazione è legata all'osservazione di determinati atti compiuti da un altro individuo caratterizzati da un'interazione effettore (mano o bocca)-oggetto. Né l'osservazione della pantomima né di gesti intransitivi provoca risposte significative in questi neuroni. Gran parte di essi inoltre risponde all'osservazione di un solo determinato tipo di atto (es. afferrare) mentre una percentuale più bassa presenta una minore selettività, scaricando durante l'osservazione di due o tre atti motori diversi.

Uno degli aspetti funzionali più importanti di questi neuroni è la congruenza tra l'atto motorio codificato dalla cellula e l'atto motorio osservato che è efficace nell'attivarla ossia il tipo di relazione tra la risposta neuronale all'osservazione di un atto motorio e la sua risposta durante l'esecuzione dell'atto motorio stesso. A tal proposito, sono stati distinti due tipi fondamentali di congruenza: la congruenza in senso stretto, la quale riguarda neuroni che mostrano un'esatta corrispondenza tra atto osservato e atto eseguito (30% dei neuroni mirror totali identificati nella scimmia), e la congruenza in senso lato, la quale riguarda neuroni che codificano atti motori e visivi, chiaramente connessi ma non perfettamente identici tra loro, a diversi livelli di generalizzazione (60% dei neuroni mirror totali identificati nella scimmia). Ad esempio, si è dimostrata nella scimmia la presenza di neuroni mirror congruenti in senso stretto che rispondono selettivamente all'osservazione e durante l'esecuzione di un atto motorio di afferramento con rotazione del polso, in senso orario o antiorario a seconda del neurone considerato. Questi neuroni tuttavia non scaricano né quando la scimmia osserva né quando esegue un atto motorio di afferramento semplice. Perciò, i neuroni mirror congruenti in senso stretto potrebbero essere fondamentali nel caso in cui l'osservatore dovesse successivamente ripetere l'atto motorio osservato, come accade nell'imitazione. Tuttavia, siccome l'imitazione è una

funzione non presente nel macaco, neuroni di questo tipo potrebbero assumere un ruolo neurofisiologicamente centrale, per questa funzione, nell'uomo. Per quanto riguarda invece i neuroni mirror congruenti in senso lato, si è dimostrata la presenza di neuroni che scaricano ugualmente alla presentazione visiva di afferramenti di un oggetto piccolo (presa di precisione) o di un oggetto grande (presa a mano piena) ma che durante la fase di esecuzione dell'afferramento rispondono solo durante la presa di precisione dell'oggetto piccolo. Ciò sta quindi ad indicare che in questi neuroni la congruenza in termini di scopo è presente (es. afferrare) ma dal punto di vista della modalità di perseguimento dello scopo stesso il neurone descritto pocanzi è più specifico dal punto di vista motorio e meno dal punto di vista visivo. Perciò, i neuroni mirror congruenti in senso lato codificano lo scopo dell'atto motorio osservato, permettendone verosimilmente l'identificazione, ma meno il modo in cui esso viene raggiunto e perseguito. Infine, il restante 10% dei neuroni mirror identificati da Gallese e collaboratori nella scimmia si riferisce alla classe dei neuroni mirror non-congruenti nei quali, tuttavia, rientrano i neuroni mirror congruenti in senso logico che rispondono quando la scimmia osserva lo sperimentatore che piazza del cibo su un supporto e quando l'animale afferra attivamente il cibo dal supporto stesso: in questo caso l'azione della scimmia è la conseguenza logica dell'azione compiuta dallo sperimentatore ed è perciò assai verosimile che le risposte di questi neuroni siano una conseguenza dell'organizzazione "a catena" degli atti motori (Gallese et al. 1996; Rizzolatti e Sinigaglia, 2006).

Ci si potrebbe chiedere a questo punto da dove provenga l'input sensoriale capace di attivare i neuroni mirror di F5. A tal proposito, è opportuno far riferimento agli studi condotti da Perrett e collaboratori (1989, 1990) i quali hanno mostrato che nella parte anteriore del solco temporale superiore (STS) della scimmia vi sono neuroni puramente visivi che rispondono selettivamente all'osservazione di un'ampia gamma di movimenti corporei compiuti da un altro individuo e sono perciò deputati alla codifica di movimenti

biologici compiuti da altri. Si è dimostrato che tali neuroni di STS mandano le loro informazioni al complesso parietale PF-PFG (parte rostrale del lobulo parietale inferiore) (Hyva et al., 1981) i cui neuroni mostrano proprietà mirror, attivandosi sia durante l'osservazione di atti compiuti con la mano che durante l'esecuzione di azioni di mano, bocca o di entrambe (Fogassi et al., 1998; Gallese et al., 2002; Rozzi et al. 2008). L'area F5 ha ricchissime connessioni con le aree PF-PFG e perciò tale complesso parietale può essere considerato come una sorta di "ponte" tra STS e F5 che caratterizza nella scimmia il classico circuito mirror temporo-parieto-frontale STS-PF+PFG-F5 (Fig. 19) (Rizzolatti e Sinigaglia, 2006).

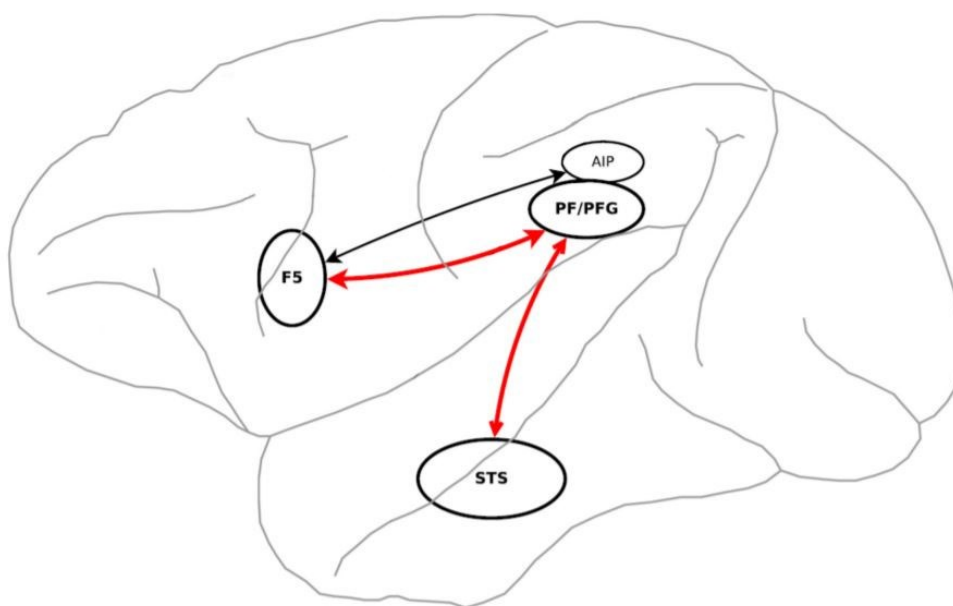


Figura 19 Circuito mirror classico nella scimmia, che mette in comunicazione tra loro il STS, il complesso parietale PF-PFG e l'area F5. Immagine tratta da Dawood e Loo, 2016.

Per quanto riguarda il ruolo funzionale dei neuroni mirror, secondo una prima interpretazione proposta da Jeannerod (1994) la loro attivazione genererebbe una rappresentazione motoria interna dell'atto osservato dalla quale dipenderebbe la possibilità di apprendere via imitazione: lo stretto legame tra le risposte visive e quelle motorie di questi neuroni (accoppiamento visuomotorio) sembra infatti indicare che la

mera osservazione dell'azione compiuta da altri evocata nel cervello dell'osservatore la rappresentazione di un atto motorio analoga a quella spontaneamente attivata durante l'organizzazione e l'effettiva esecuzione di quell'azione. Tuttavia, negli ultimi anni si è ormai diffusa tra gli etologi la convinzione che l'imitazione in senso stretto sia una prerogativa dell'uomo e delle scimmie antropomorfe, ma non di scimmie come i macachi utilizzati come modello animale negli esperimenti descritti in precedenza (Visalberghi e Fragaszy, 2002). Per questo motivo l'interpretazione sul ruolo funzionale di questi neuroni da parte di Jeannerod non può essere condivisa fino in fondo bensì, come proposto da Di Pellegrino e collaboratori (1992), i neuroni mirror sarebbero verosimilmente alla base, prima ancora che dell'imitazione, del riconoscimento e della comprensione del significato degli atti motori eseguiti dagli altri. È bene sottolineare tuttavia che con il termine "comprensione" non ci si riferisce necessariamente alla consapevolezza esplicita da parte dell'osservatore ma più semplicemente si allude ad un'immediata capacità di riconoscere nelle azioni altrui osservate un determinato tipo di atto motorio, caratterizzato da una specifica modalità di interazione con gli oggetti, di differenziare tale tipo di atto da altri atti motori ed eventualmente di utilizzare una simile informazione per rispondere nel modo più appropriato al contesto in cui l'individuo si trova. Secondo questa prospettiva, infine, i movimenti altrui assumono un significato per chi li osserva in virtù del vocabolario d'atti motori di cui la persona dispone e che ne regola la possibilità conseguente di agire (Rizzolatti e Sinigaglia, 2006).

2.2 IL SISTEMA MIRROR NELL'UOMO

La scoperta dei neuroni mirror nella scimmia ha suggerito subito l'idea che un sistema simile potesse essere presente anche nell'uomo per via della continuità filogenetica. Già dalla fine degli anni Novanta il gruppo di Cochin (1998, 1999) ha mostrato come

l'osservazione di movimenti della gamba o del dito fossero accompagnati, a differenza della presentazione visiva di un oggetto, dalla desincronizzazione del ritmo μ il quale è un ritmo, appartenente alla banda alfa, localizzato nelle regioni cerebrali centrali, che è utilizzabile come marcatore elettrofisiologico dell'attività mirror. Tale ritmo è sincronizzato finchè il sistema motorio è in condizioni di riposo, ma è sufficiente un movimento attivo o una stimolazione somatosensoriale per desincronizzarlo. Da questi studi si è quindi dimostrato inizialmente come il ritmo, che era bloccato o desincronizzato dall'esecuzione di movimenti da parte del soggetto, lo era anche durante la loro osservazione. Successive ricerche basate sulla magnetoencefalografia (MEG, Magnetoencefalography) hanno analogamente evidenziato come nella corteccia precentrale vi sia una desincronizzazione del ritmo μ sia durante la manipolazione di un oggetto, sia durante l'osservazione dello stesso compito eseguito da un altro individuo (Rizzolatti e Sinigaglia, 2006). La prova più convincente che il sistema motorio dell'uomo possieda proprietà mirror si deve però ad uno studio condotto da Fadiga e colleghi (1995) i quali hanno registrato i potenziali motori (MEP, Motor Evoked Potentials), indotti dalla stimolazione della corteccia motoria sinistra, in vari muscoli della mano e del braccio di destra di individui destrimani cui era stato chiesto di osservare uno sperimentatore mentre afferrava degli oggetti con la mano o compiva gesti apparentemente insignificanti (privi quindi di qualsiasi correlato oggettuale). In entrambi i casi si è riscontrato un aumento selettivo dei MEP nei muscoli attivati dall'esecuzione dei movimenti osservati. Mentre però l'incremento dei MEP durante l'osservazione di atti transitivi era coerente con quanto dimostrato negli studi sulla scimmia, il loro aumento in occasione dell'osservazione degli atti intransitivi appariva sorprendente in quanto i neuroni mirror della scimmia, come abbiamo descritto prima, non rispondono alla vista di movimenti non finalizzati. Un'ulteriore differenza evidenziata da questo studio tra il sistema mirror dell'uomo e quello della scimmia riguarda il fatto che, in soggetti che stavano osservando

lo sperimentatore compiere atti motori di afferramento, l'attivazione della corteccia motoria riproduceva fedelmente il decorso temporale dei vari movimenti osservati suggerendo che i neuroni mirror dell'uomo sono verosimilmente in grado di codificare tanto lo scopo dell'atto motorio quanto gli aspetti temporali dei singoli movimenti che lo compongono (Gangitano et al., 2001).

Per localizzare le aree corticali e i circuiti neurali coinvolti, e di conseguenza individuare l'architettura cerebrale complessiva del sistema mirror nell'uomo, sono stati fondamentali gli studi che hanno fatto ricorso alle tecniche di neuroimaging. Il primo esperimento è stato condotto utilizzando la PET ed ha confermato quanto emerso dagli studi sulla scimmia ossia che esistono delle aree frontali che si attivano in seguito all'osservazione di azioni eseguite con la mano (Rizzolatti et al., 1996). Studi successivi fMRI hanno permesso una localizzazione più precisa delle aree attive costantemente durante l'osservazione delle azioni altrui e quindi primariamente coinvolte in questo sistema mirror: porzione anteriore del lobo parietale inferiore (area 40 omologa dell'area PF della scimmia), settore inferiore del giro precentrale, settore posteriore del giro frontale inferiore (area 44 ossia parte posteriore dell'area di Broca, omologa a parte dell'area F5 della scimmia) ma anche quello anteriore, corteccia premotoria dorsale (Rizzolatti e Sinigaglia, 2006). Alcuni anni dopo, Buccino e collaboratori (2001) condussero un esperimento fMRI in cui chiedevano ai soggetti di guardare dei videoclip in cui un attore eseguiva azioni transitive con diversi effettori (bocca, mano, piede) o in cui mimava le stesse. L'osservazione dei movimenti transitivi fatti con la bocca attivava la parte posteriore del giro frontale inferiore, la parte inferiore del giro precentrale e il lobo parietale inferiore mentre l'osservazione dei movimenti transitivi fatti con la mano determinava un pattern d'attivazione simile ma con un'attivazione del giro precentrale più dorsale e del lobo parietale inferiore più posteriore. Quanto alle azioni transitive eseguite con il piede si notava invece un'attivazione frontale più dorsale rispetto alle precedenti e

un ulteriore spostamento posteriore dell'attivazione parietale. L'osservazione delle azioni mimate, infine, produceva un pattern di attivazione analogo a quello precedentemente descritto ma limitato al lobo frontale. Questi risultati sono stati quindi fondamentali nel dimostrare la presenza di un'organizzazione somatotopica del sistema specchio, con porzioni corticali selettive per azioni compiute rispettivamente con la mano, con la bocca e con il piede. Dall'esperimento di Buccino e colleghi appare inoltre chiaro come il sistema mirror nell'uomo comprenda, oltre all'area di Broca, larghe parti della corteccia premotoria e del lobo parietale inferiore, non limitandosi ai soli movimenti della mano, ma coinvolgendo anche altri effettori come la bocca e il piede, e neppure agli atti transitivi, rispondendo anche agli atti mimati.

Sulla base di quanto detto finora risulta chiaro che i nodi principali del network mirror parieto-frontale nell'uomo risultino quindi essere il lobulo parietale inferiore (IPL, Inferior parietal lobe), la corteccia premotoria ventrale (PMv, Premotor ventral cortex) e il settore caudale del giro frontale inferiore (Fig. 20). Studi recenti hanno tuttavia ampliato questo network corticale includendo altre aree corticali (sistema mirror esteso). A tal proposito, Gazzola e Keysers hanno chiesto a dei soggetti in un esperimento fMRI di osservare azioni manuali e di eseguirle a loro volta mostrando la presenza di attivazioni di tipo mirror, oltre che nei classici cluster fronto-parietali, anche nella corteccia premotoria dorsale, nelle aree somatosensoriali e nel lobulo parietale superiore (Gazzola e Keysers, 2009). Inoltre, in uno dei rari studi di registrazione neuronale dal cervello umano, Mukamel e collaboratori

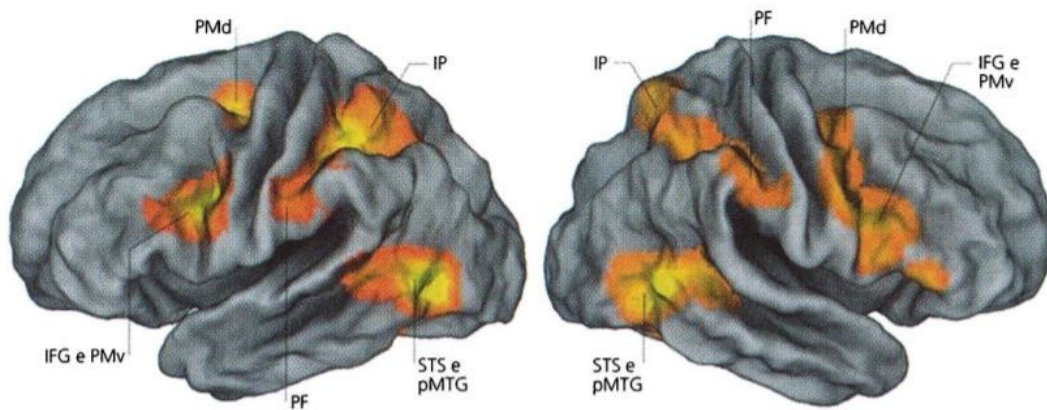


Figura 20 Aree frontali e parietali dotate di proprietà mirror. Immagine tratta da Rizzolatti e Sinigaglia, 2019.

hanno mostrato la presenza di neuroni nella SMA che rispondevano sia durante l'esecuzione che durante l'osservazione di azioni di prensione: l'aspetto particolarmente interessante è stato che una sottopopolazione di questi neuroni rispondeva in maniera eccitatoria durante l'esecuzione dell'azione e inibitoria durante l'osservazione dello stesso tipo d'azione (Mukamel et al., 2010). Risposte di tipo mirror sono state inoltre registrate nella corteccia somatosensoriale secondaria (SII) la quale si attiva sia quando il soggetto viene toccato in prima persona che quando egli osserva qualcun altro venir toccato allo stesso modo (Keysers et al., 2004). Infine, Agnew e Wise hanno dimostrato come la porzione laterale della SII risponda anche durante l'esecuzione e l'osservazione di movimenti delle dita (Agnew e Wise, 2008).

Sulla base degli studi descritti finora, il concetto di "sistema mirror esteso" è stato successivamente evidenziato da una meta-analisi condotta da Caspers e colleghi (2010) i quali hanno mostrato la presenza di una mappa di aree cerebrali significativamente attive sia durante compiti di osservazione di azioni che durante la loro esecuzione (Fig. 21). Le aree primariamente coinvolte in tal senso risultano quindi essere:

- Area 44 caudo-dorsale bilaterale, la quale è responsabile nel dare avvio e nel terminare semplici azioni

- Corteccia premotoria laterale bilaterale (area 6, IPMC), spot frontale primario del sistema mirror
- SMA bilaterale (area 6), la quale è responsabile del sequenziare temporalmente i differenti atti motori che costituiscono un movimento complesso
- Lobo parietale inferiore rostrale bilaterale (area PF, rIPL), spot parietale primario del sistema mirror
- Corteccia somatosensoriale primaria bilaterale (area 2, SI), la quale è responsabile dell'accoppiamento propriocettivo e tattile delle azioni osservate che permette di mappare le componenti motorie delle azioni altrui sul proprio sistema somatosensoriale consentendone una comprensione motoria "interna" e più "globale" attraverso un processo di simulazione
- Area V5 bilaterale, la quale è responsabile del riconoscimento e del processamento precoce di stimoli visivi in movimento nonché della codifica degli aspetti dinamici del movimento osservato
- Giro temporale medio posteriore sinistro (pMTG), il quale è coinvolto nel processamento di movimenti biologici
- Area fusiforme facciale/del corpo destra (FFA/FBA), la quale è responsabile della codifica di stimoli facciali e corporei

Strutture con proprietà mirror sono state infine individuate nell'uomo anche in strutture sottocorticali. Si è dimostrato infatti che l'insula anteriore (AI, Anterior insula) risulta attivarsi sia in seguito all'osservazione di una smorfia di disgusto e sia in seguito all'esposizione in prima persona a stimoli naturali (odori o sapori) tipicamente disgustosi (Wicker et al., 2003), mentre l'insula dorsocentrale (DCI, Dorsocentral insula) diventa attiva sia durante l'osservazione di azioni caratterizzate da una specifica valenza affettiva

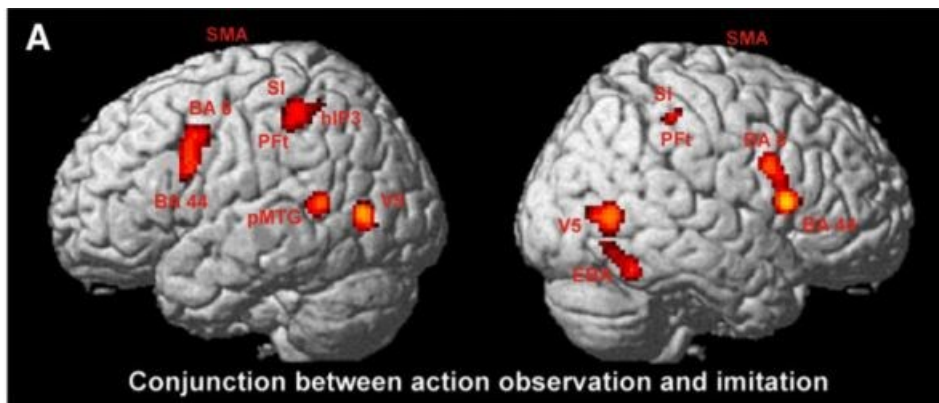


Figura 21 Aree cerebrali significativamente attive in seguito ad una conjunction analysis tra le aree attive per l'osservazione di azioni e le aree attive per l'esecuzione di azioni. Immagine tratta da Caspers et al., 2010.

(forma vitale) e sia durante l'esecuzione in prima persona di quella stessa azione con quella stessa forma vitale (Di Cesare et al., 2014). Anche l'amigdala possiede proprietà mirror in quanto si attiva durante l'osservazione di volti che esprimono paura (Morris et al., 1996) e la sua stimolazione induce nel soggetto risposte fisiologiche e motorie associate a questa stessa emozione (Meletti et al., 2006). Infine, un'altra struttura sottocorticale in cui si sono riscontrate proprietà mirror è la corteccia del cingolo. A tal proposito Hutchison e collaboratori (1999) hanno dimostrato la presenza di neuroni mirror nella porzione posteriore della corteccia cingolata media anteriore (aMCC, Anterior medial cingulate cortex) che si attivano sia per stimoli nocicettivi applicati al soggetto, sia quando tali stimoli vengono applicati ad un'altra persona che viene osservata. Infine, studi recenti hanno mostrato che la stimolazione della corteccia cingolata anteriore pregenuale (pACC, Pregenuale anterior cingulate cortex) determina nel soggetto uno scoppio di risa accompagnato da un chiaro senso di ilarità: questa stessa regione cerebrale tende ad attivarsi sorprendentemente anche quando il soggetto osserva un filmato in cui un attore scoppia a ridere (Caruana et al., 2017).

Sia gli studi di elettrofisiologia che quelli di neuroimaging confermano dunque che nell'uomo sono presenti meccanismi di "risonanza" analoghi a quelli dimostrati nella

scimmia ma con alcune differenze rilevanti. Infatti, il sistema mirror appare più esteso nell'uomo che nella scimmia, ma soprattutto nell'uomo tale sistema presenta delle proprietà non riscontrabili nell'animale: esso codifica infatti atti motori transitivi e intransitivi, è in grado di selezionare il tipo di atto e la sequenza dei movimenti che lo compongono, non necessita di un'effettiva interazione con gli oggetti attivandosi anche quando l'azione è semplicemente mimata. Tuttavia, come nella scimmia così nell'uomo, la vista di atti compiuti da altri determina nell'osservatore un immediato coinvolgimento delle aree motorie deputate all'organizzazione e all'esecuzione di quegli atti e tale coinvolgimento consente di conseguenza di decifrare il significato degli eventi motori osservati, ossia di comprenderli in termini di azioni dove tale comprensione risulta basarsi unicamente sul vocabolario d'atti e sulla conoscenza motoria propria dell'individuo. L'evento motorio osservato comporta un coinvolgimento in prima persona da parte dell'osservatore consentendogli di conseguenza un'immediata esperienza come se fosse lui stesso a compierlo permettendone di cogliere in questo modo il significato: estensione e portata di questo "come se" dipendono dal patrimonio motorio, individuale e condiviso filogeneticamente, dell'osservatore (Rizzolatti e Sinigaglia, 2006).

2.3 IL RUOLO DEL SISTEMA MIRROR NELL'IMITAZIONE

Con il termine "imitazione" ci si riferisce alla capacità di un individuo di replicare un atto, che in qualche modo appartiene al suo patrimonio motorio, dopo averlo visto fare da altri (Bekkering e Wohlschläger, 2002). A tal proposito, secondo il principio di compatibilità ideomotoria di Greenwald (1970) più un atto motorio percepito assomiglia a uno presente nel patrimonio motorio dell'osservatore più tende ad indurlo l'esecuzione e perciò, secondo questa prospettiva, percezione ed azione posseggono uno schema rappresentazionale comune. Sulla base della scoperta dei neuroni mirror tale schema

andrebbe quindi considerato come un meccanismo di trasformazione diretto delle informazioni visive in atti motori potenziali ed è ciò che se ne evince da alcuni esperimenti di neuroimaging (Rizzolatti e Sinigaglia, 2006).

Diversi studi fMRI condotti dal gruppo di Iacoboni (1999, 2001) hanno in tal senso mostrato che nella condizione di imitazione di movimenti delle dita vi è un'attivazione della parte posteriore del giro frontale inferiore sinistro (polo frontale del sistema mirror) e del STS destro la quale è nettamente più forte rispetto all'attivazione cerebrale riscontrata durante l'esecuzione di compiti motori non imitativi: tale differenza indica un chiaro coinvolgimento del sistema mirror nell'imitazione di atti già presenti nel patrimonio motorio dell'osservatore suggerendo una traduzione motoria immediata dell'azione osservata. Usando la stimolazione magnetica transcranica ripetitiva (rTMS, Ripetitive transcranic magnetic stimulation) inoltre, ad un gruppo di volontari è stata stimolata la parte posteriore del giro frontale inferiore sinistro (area di Broca) mentre premevano dei tasti su una tastiera o imitando un analogo movimento compiuto da un altro individuo o in risposta ad un puntino rosso che indicava sulla tastiera quale tasto doveva essere premuto: si è dimostrato che la rTMS riduceva la performance dei soggetti durante l'imitazione ma non durante il compito visuo-motorio nonostante il fatto che le due condizioni studiate dal punto di vista motorio fossero identiche (Heiser et al., 2003). Appare così chiaro come il sistema mirror, nell'uomo, svolga un ruolo fondamentale nell'imitazione codificando l'azione osservata in termini motori e rendendo così possibile una sua replica (Rizzolatti e Sinigaglia, 2006).

Ci si potrebbe chiedere a questo punto cosa accada nell'imitazione che richiede l'apprendimento di un pattern d'azione nuovo non appartenente al patrimonio motorio dell'osservatore. Secondo Byrne, a tal proposito, l'apprendimento via imitazione risulta dall'integrazione di due processi distinti: il primo dovrebbe consentire all'osservatore di segmentare l'azione da imitare nei singoli elementi che la compongono, il secondo

dovrebbe permettergli gli atti motori codificati nella sequenza più idonea affinché l'azione eseguita rispecchi quella osservata del modello (Byrne e Russon, 1998).

Quest'ultimo tipo di apprendimento per imitazione è stato accuratamente studiato tramite fMRI dal gruppo di Buccino. In questo esperimento ad un gruppo di soggetti che non avevano mai suonato una chitarra prima d'allora è stato fatto osservare un video in cui si vedeva la mano di un maestro esperto mentre eseguiva alcuni accordi e dopo una breve pausa tali soggetti erano chiamati a ripetere gli accordi visti su un manico di legno. Il paradigma sperimentale prevedeva anche tre condizioni di controllo: nella prima i partecipanti dopo aver osservato il maestro dovevano toccare il collo della chitarra senza eseguire alcun accordo, nella seconda dovevano prima guardare il collo della chitarra che oscillava e poi l'accordo eseguito dal maestro, nella terza erano chiamati ad eseguire sul manico della chitarra un accordo a loro piacimento. Come ci si poteva aspettare si è dimostrato che l'osservazione degli accordi a scopo imitativo determina l'attivazione del sistema mirror fronto-parietale (trasformazione visuomotoria dell'informazione visiva in un'opportuna risposta motoria nella parte posteriore del giro frontale inferiore, insieme all'adiacente corteccia premotoria, e nel lobo parietale inferiore) il quale presenta un'attivazione simile ma di intensità minore anche nelle condizioni di controllo, quando i partecipanti dovevano guardare l'accordo eseguito dal maestro oppure quando, dopo averlo osservato, erano chiamati a muovere le mani sulla chitarra senza però provare a fare alcun accordo (Fig. 22).

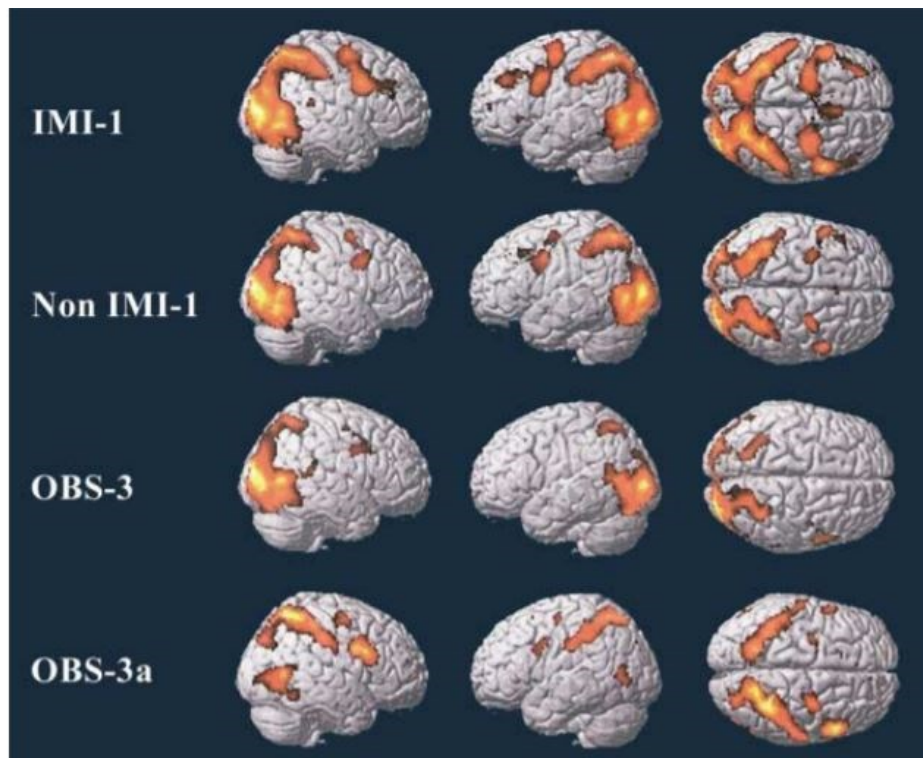


Figura 22 Apprendimento per imitazione: attivazioni corticali durante l'osservazione. Aree corticali attivate quando i partecipanti osservavano il maestro eseguire l'accordo di chitarra per imitarlo (IMI-1), per non imitarlo (non IMI-1), o dopo essersi limitati a guardare il collo della chitarra (OBS). Immagine tratta da Buccino et al., 2004.

Il dato tuttavia maggiormente interessante emerso da questo studio è che durante la pausa, prima dell'imitazione, compariva un'intensa ed estesa attivazione di una regione della corteccia frontale corrispondente all'area 46 (corteccia prefrontale dorsolaterale), di aree della corteccia mesiale anteriore coinvolte nella preparazione motoria e della corteccia premotoria dorsale insieme al lobo parietale superiore la quale attivazione di quest'ultima regione cerebrale sarebbe verosimilmente dovuta alla rappresentazione propriocettiva dell'azione che il soggetto è pronto ad eseguire (Fig. 23) (Buccino et al., 2004).

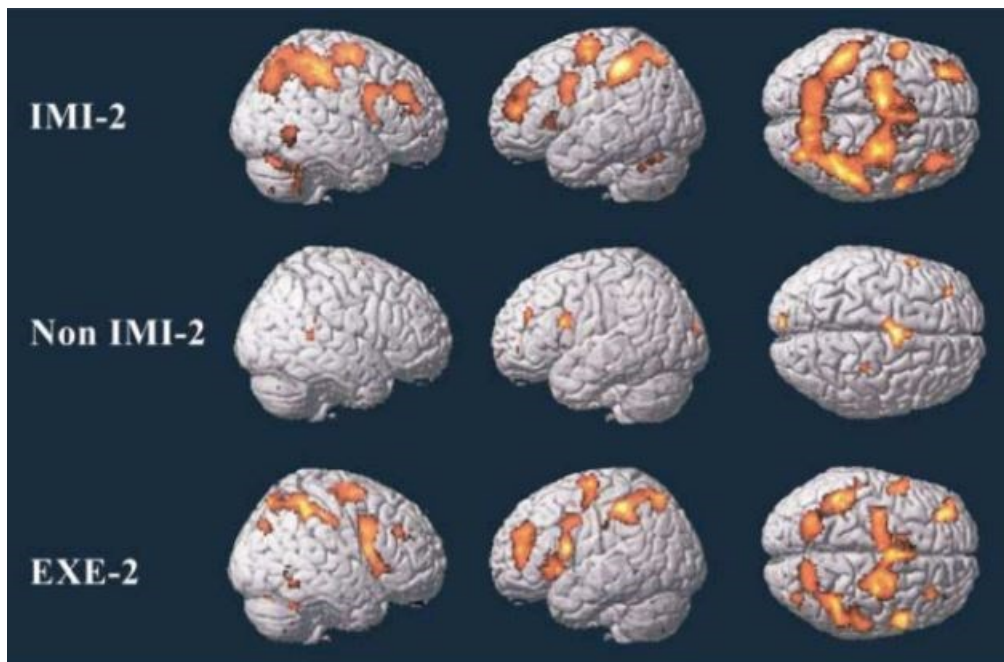


Figura 23 Apprendimento per imitazione: aree corticali attivate durante la pausa prima dell'esecuzione di un'azione, imitativa (IMI) o meno (non IMI, EXE). Immagine tratta da Buccino et al., 2004.

Tale dato pare indicare che l'attivazione del sistema mirror avvenga principalmente sotto il controllo dell'area 46 e della corteccia mesiale anteriore. Oltre a funzioni legate alla memoria di lavoro (Funahashi et al., 1989), l'area 46 sembrerebbe essere infatti responsabile della ricombinazione dei singoli atti motori e della definizione di un nuovo pattern d'azione il più possibile corrispondente a quello esemplificato dal dimostratore (Passingham et al., 2000; Rowe et al., 2000). Quest'ultima interpretazione del ruolo dell'area 46 promossa da Passingham e Rowe è molto simile a quella fornita da Buccino e collaboratori: l'attivazione di questa regione cerebrale si è infatti dimostrata esserci anche nel periodo di pausa tra l'osservazione dell'accordo esibito dal modello e la successiva esecuzione da parte del soggetto di un accordo a piacere diverso da quello osservato in precedenza. Questi risultati suggeriscono quindi che l'attivazione dell'area 46 può essere riconducibile, almeno in questo studio, non primariamente al mantenimento dell'informazione in memoria durante il periodo di pausa prima

dell'esecuzione dell'azione (memoria di lavoro), bensì alla selezione degli atti motori appropriati da eseguire in base al task sperimentale in questione (accordo di chitarra).

Appare chiaro quindi come l'imitazione dipenda chiaramente e primariamente dall'attivazione di aree corticali dotate di proprietà mirror le quali denotano la presenza di un meccanismo di accoppiamento diretto delle informazioni visive provenienti dall'osservazione di atti altrui con le rappresentazioni motorie proprie a esse corrispondenti. È possibile pertanto ipotizzare che l'uomo, possedendo un patrimonio motorio più articolato di quello della scimmia, abbia maggiori possibilità di imitare e, soprattutto, di apprendere via imitazione. Da questo punto di vista la presenza del sistema mirror è una condizione necessaria ma non sufficiente per imitare: perché vi sia imitazione è indispensabile infatti un sistema di controllo sui neuroni mirror, verosimilmente esercitato primariamente dall'area 46 evidenziata dallo studio di Buccino descritto in precedenza, il quale deve essere sia facilitatorio (facilitando il passaggio dall'azione potenziale codificata da questi neuroni all'esecuzione dell'atto motorio vero e proprio qualora ciò sia utile e conveniente all'osservatore) che inibitorio (bloccando e impedendo fenomeni di imitazione automatica non appropriati al contesto in cui l'osservatore si trova). A tal proposito, anche numerosi dati clinici sembrerebbero dimostrare la presenza di meccanismi di controllo sui circuiti mirror: pazienti con estese lesioni a carico del lobo frontale presentano spesso un'ecoprassia caratterizzata appunto da una tendenza compulsiva ed immediata ad imitare i gesti altrui osservati. Lesioni frontali di questo tipo sembrano dunque eliminare quel meccanismo di "freno" che blocca la trasformazione delle azioni potenziali codificate dai circuiti parieto-frontali in atti imitativi. Tale blocco si eserciterebbe mediante un'inibizione delle aree mesiali anteriori (es. preSMA, Pre-supplementary motor area) le quali appaiono avere appunto un ruolo facilitante sul circuito mirror (Rizzolatti e Sinigaglia, 2006).

2.4 IL SISTEMA MIRROR NELLA MALATTIA DI ALZHEIMER

Un aspetto interessante della AD, e della fase clinica precedente di MCI, e ad oggi poco studiato, riguarda il comportamento motorio di questi pazienti e soprattutto la capacità di imitazione e di apprendimento motorio. Dal punto di vista clinico diversi studi hanno mostrato come pazienti con diagnosi di AD, ma non pazienti MCI, presentino deficit nella capacità di imitare gesti bimanuali intransitivi (Sanin e Benke, 2017) e transitivi, questi ultimi sia nella forma di pantomima che nell'imitazione "online" e "ritardata" del gesto (Parakh et al., 2004): tali performance si sono dimostrate essere correlate positivamente ai punteggi ai test di screening MMSE, MoCA e al test visuospatiale dell'orologio e perciò rappresentano un valido marker per intercettare pazienti con diagnosi di AD e differenziarli sia da pazienti MCI che da soggetti di controllo sani di pari età (Li et al., 2016).

Il fatto che i pazienti AD possano riuscire ad imitare un gesto semplice dipende, dal punto di vista neurofisiologico, dalla presenza e dall'integrità del sistema dei neuroni mirror (Mirror Neuron System - MNS) (Rizzolatti e Fogassi, 2014) il quale, come già visto nei capitoli precedenti, risulta essere principalmente costituito dalla corteccia premotoria ventrale (PMv) e dal lobulo parietale inferiore (IPL) (Molenberghs et al., 2012).

La scoperta di questo sistema ha permesso di superare la netta distinzione tra percezione, cognizione e azione avanzata dall'ormai antiquato modello "a sandwich" per il quale questi tre aspetti sarebbero da considerare separatamente in quanto riferiti ad aree cerebrali differenti. Il MNS, grazie alle sue proprietà neuronali di trasformare le rappresentazioni visive o acustiche degli atti motori nella loro corrispondente rappresentazione motoria (Rizzolatti et al., 2014), mette in luce il fatto che gli aspetti percettivi e cognitivi siano direttamente e strettamente connessi agli aspetti motori (e viceversa) dal punto di vista cerebrale. Anche nell'ambito delle malattie

neurodegenerative nell'ultimo decennio sono state numerose le evidenze che hanno mostrato come la classica distinzione tra disordini neurodegenerativi "cognitivi" e "motori" risulti essere molto vaga in quanto ogni disordine neurodegenerativo presenta sia sintomi cognitivi che sintomi motori in una sorta di continuum. Questi dati potrebbero quindi suggerire un coinvolgimento del MNS nelle malattie neurodegenerative (Farina et al., 2020).

Numerosi studi dimostrano una relazione tra il funzionamento motorio e il rischio di sviluppare la AD. Bassi livelli e un rapido declino delle funzioni motorie in individui cognitivamente intatti predicono una successiva evoluzione patologica in MCI o in AD ed una perdita di funzionamento motorio si è dimostrata precedere di alcuni anni i deficit cognitivi tipici della patologia (Verghese et al., 2008; Buchman e Bennett, 2011). Inoltre, training motori basati su movimenti di mani e di faccia sono stati utilizzati con successo nei pazienti MCI migliorando le loro funzioni esecutive (Scherder et al., 2005).

In uno studio comportamentale Bisio e collaboratori hanno studiato l'imitazione volontaria in pazienti AD chiedendo ai soggetti di imitare i movimenti eseguiti dallo stimolo osservato che poteva essere, a seconda della condizione, un modello reale o uno stimolo computerizzato virtuale (punto) che si muoveva a tre diverse velocità. I risultati hanno dimostrato come i pazienti AD presentino un'ottima e inalterata capacità di riprodurre la velocità (cinematica) dei movimenti osservati, soprattutto quando lo stimolo veniva presentato in forma ecologica da una persona reale. Questi dati suggeriscono che i processi cognitivi di alto livello legati all'imitazione volontaria sarebbero di gran lunga preservati nei pazienti AD e che quindi i meccanismi di risonanza motoria, promossi dal MNS, siano anch'essi parzialmente funzionanti (Bisio et al., 2016).

Dal punto di vista del neuroimaging, tuttavia, ad oggi sono solamente due gli studi fMRI volti ad indagare i correlati neurali dell'osservazione-imitazione di azioni e i corrispondenti meccanismi di apprendimento motorio nei pazienti AD.

Nel primo studio, condotto da Rattanachayoto e colleghi (2012), i partecipanti erano chiamati ad osservare nello scanner dei video che mostravano delle mani che strappavano un pezzo di carta. I risultati hanno evidenziato in generale un'attivazione del lobo frontale inferiore bilaterale e dell'IPL, ma tali attivazioni si sono dimostrate essere maggiori nei controlli rispetto ai pazienti MCI e ai pazienti AD (con nessuna differenza significativa tra i due gruppi di pazienti). Questa disfunzione a carico di aree tipicamente mirror potrebbe verosimilmente, secondo gli autori, giocare un ruolo fondamentale nelle alterazioni cognitive tipiche delle fasi della patologia.

Il secondo studio, ben più illuminante del precedente, è stato condotto da Farina e collaboratori (2017) i quali hanno sottoposto soggetti sani, pazienti MCI amnesici con atrofia ippocampale e pazienti AD ad un compito fMRI, specificatamente volto ad indagare il MNS, caratterizzato da una condizione di osservazione, nella quale i soggetti osservavano dei video dove veniva presentata una mano che afferrava diversi oggetti, e da una condizione di esecuzione (sotto forma di pantomima), nella quale ai soggetti venivano presentati visivamente degli oggetti e gli veniva quindi richiesto di eseguire un afferramento con la mano destra appropriato al tipo di oggetto visto. Dalla conjunction analysis, volta ad identificare le aree mirror attive in entrambe le condizioni, è emerso che: nei soggetti sani vi è un'attivazione bilaterale del network fronto-parietale, costituito dal giro precentrale (area 6) e dall'IPL, insieme ad un'attivazione del giro temporale superiore destro e del giro fusiforme destro; nei soggetti MCI vi è un'attivazione dello stesso network fronto-parietale (con un'attivazione minore delle aree parietali, come l'IPL, rispetto ai soggetti sani) con l'aggiunta di un'attivazione bilaterale del cervelletto, della corteccia premotoria ventrale sinistra, della corteccia premotoria destra e dell'area di

Broca (giro frontale inferiore sinistro); nei pazienti AD, infine, non vi è alcuna attivazione del classico network fronto-parietale il quale risulta essere quindi deficitario, ma vi è un'attivazione bilaterale del giro fusiforme e un'attivazione del cervelletto sinistro (Fig. 24).

Questi risultati dimostrano come nei soggetti sani di una certa età il MNS sia in larga parte preservato mentre nei pazienti MCI, sebbene questo sistema appaia funzionante, risulta essere maggiormente preservata la parte frontale del network (area di Broca) rispetto alla parte parietale maggiormente compromessa (IPL): il fatto che nei pazienti AD non si sia registrata nessuna attivazione del MNS suggerisce verosimilmente la presenza

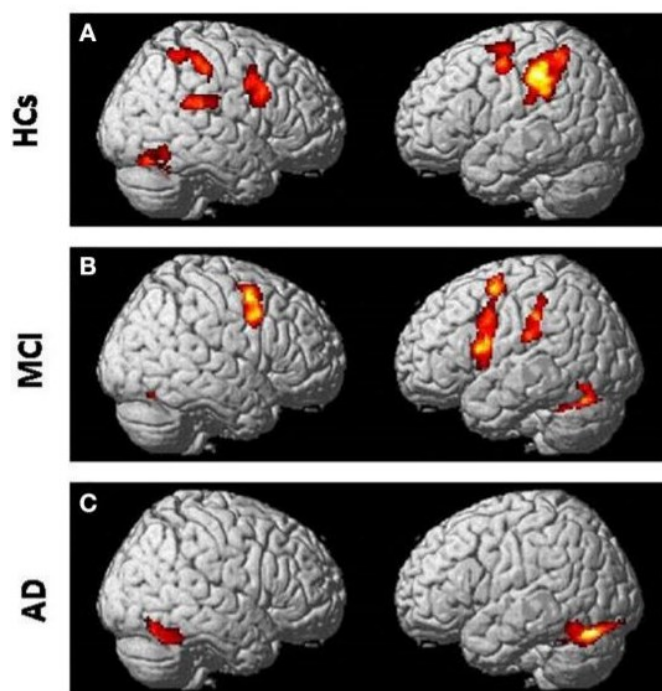


Figura 24 Conjunction analysis tra le attivazioni nel compito di osservazione e le attivazioni nel compito di esecuzione (pantomima) in soggetti sani (HCs), MCI e AD. Immagine tratta da Farina et al., 2017.

di un gradiente postero-anteriore che fa sì che nei pazienti MCI venga preservata la parte frontale del MNS consentendo ad essi di supplire e compensare l'iniziale decadimento posteriore parietale mantenendo, così, le funzioni cognitive frontali. Da questo punto di

vista, infine, anche l'attivazione cerebellare presente nei pazienti AD rappresenterebbe un tentativo del cervello di compensare il decadimento funzionale delle aree mirror fronto-parietali: tale meccanismo sarebbe inoltre già presente, come evidenziato dalle attivazioni cerebrali di questo studio, negli MCI amnesici.

Queste osservazioni sono in linea con altri studi MRI che hanno dimostrato come nei pazienti AD ed MCI, rispetto a pazienti con altre patologie neurologiche, ci sia un'atrofia cerebrale posteriore nelle prime fasi della patologia maggiormente a carico delle aree parietali come la PPC e il precuneo (Likeman et al., 2005; Head et al., 2004; Stebbins e Murphy 2009).

I risultati dello studio di Farina e colleghi (2017), benchè non conclusivi in quanto il compito richiesto ai pazienti era semplice (afferramento) e non era un vero e proprio task "mirror" di osservazione-esecuzione di azioni (pantomima), sono molto promettenti dal punto di vista riabilitativo. A tal proposito, negli ultimi anni l'attivazione del MNS è stata indagata in alcune patologie neurologiche come le Paralisi Cerebrali Infantili (Sgandurra et al., 2018; Errante et al., 2019), il Morbo di Parkinson (Pelosin et al. 2010; Caligiore et al. 2017) e lo Stroke (Garrison et al., 2013; Buccino, 2014). In questi pazienti neurologici l'attivazione del MNS è presente ma differisce a seconda del tipo di patologia considerata ed è diversa rispetto a quella di un soggetto sano: ciò giustifica in questi soggetti patologici, compresi quindi quelli affetti da Malattia di Alzheimer, l'utilizzo, dal punto di vista neuroriabilitativo, di terapie basate sull'osservazione-imitazione di azioni come l'Action Observation Therapy (AOT) (Bassolino et al., 2015). L'AOT è una strategia neuroriabilitativa di apprendimento motorio caratterizzata dall'osservazione-imitazione delle azioni in quanto ai soggetti viene chiesto prima di osservare una determinata azione e successivamente di eseguirla. Questa terapia mira a migliorare la plasticità cerebrale, reclutando e stimolando lo stesso circuito mirror e favorendo in questo modo la

facilitazione della risposta motoria (Sgandurra et al., 2013; Buccino et al., 2012; Franceschini et al. 2012).

L'ipotesi interessante da questa prospettiva è che l'AOT possa intervenire sul comportamento imitativo/motorio dei pazienti AD, rallentando il progressivo decorso (relativamente agli aspetti motori e ripercuotendosi di conseguenza anche su quelli cognitivi) della malattia.

Tuttavia, è bene sottolineare il fatto che l'unico studio pubblicato in letteratura sull'utilizzo dell'AOT in pazienti AD ha dimostrato in essi un miglioramento nell'attenzione e nel riconoscimento facciale (funzioni classicamente deputate al STS la quale è una regione strettamente connessa al MNS) (Eggermont et al., 2009) mentre una ricerca condotta da Caffarra e collaboratori (2016) ha riportato risultati negativi riguardo questo particolare trattamento in questi stessi pazienti. Ciò suggerisce quindi che affinché l'AOT possa comportare dal punto di vista neuroriabilitativo dei risultati positivi e quindi potenziare gli aspetti motori e cognitivi nel paziente AD, è fondamentale che il MNS del paziente sia parzialmente integro e funzionale e perciò tale terapia, per ottenere la maggiore probabilità di beneficio, dovrebbe essere implementata nelle fasi di MCI o nella fase di AD preclinica nelle quali, alla luce dei risultati dello studio di Farina e collaboratori (2017), il MNS dei pazienti sarebbe parzialmente preservato nelle aree frontali a discapito di quelle parietali maggiormente intaccate dalla neuropatologia.

Alla luce di quanto abbiamo descritto in questo capitolo appare chiaro quanto sia molto utile studiare il funzionamento del MNS nei pazienti AD, correlando i dati fMRI con i dati di test neuropsicologici che esplorano le funzioni maggiormente connesse a questo sistema, al fine di comprendere al meglio i meccanismi cerebrali funzionali sottostanti le manifestazioni cliniche della patologia. Inoltre, la stimolazione del MNS mediante l'AOT potrebbe rappresentare una soluzione terapeutica, che purtroppo non ancora esiste, per

questi pazienti, preservando e velocizzando la loro esecuzione di sequenze motorie complesse fondamentali per l'esecuzione di attività giornaliere, ma anche facilitando la memorizzazione di azioni quotidiane al fine di migliorare la loro qualità della vita (Farina et al., 2017; Farina et al., 2020).

2.5 TITOLO DELLO STUDIO SPERIMENTALE: “IMITAZIONE DI AZIONI COMPLESSE IN PAZIENTI CON MALATTIA DI ALZHEIMER E SUA POSSIBILE RELAZIONE CON IL SISTEMA MIRROR: UNO STUDIO COMPORTAMENTALE E DI fMRI”

2.5.1 OBIETTIVI E SCOPI

Il presente lavoro ha lo scopo generale di studiare le capacità imitative ed i rispettivi correlati neurali nei pazienti affetti da Malattia di Alzheimer (AD).

Lo scopo principale dello studio comportamentale è quello di indagare le capacità imitative, sia “online” (in tempo reale) che “post” (dopo aver osservato il modello) dei pazienti con diagnosi clinico-biologica di AD in diversi stadi di malattia (Mild Cognitive Impairment- MCI e AD Lieve) sottoposti ad un task comportamentale bimanuale di osservazione-esecuzione di una sequenza motoria complessa di difficoltà progressiva. Dato che in letteratura sono riportati pochissimi esempi di task imitativi in questa patologia, questo compito preliminare è volto all'individuazione del task migliore da sottoporre ai pazienti durante il successivo studio fMRI (functional Magnetic Resonance Imaging).

Per quanto riguarda appunto lo studio fMRI, lo scopo principale è quello di indagare l'attivazione cerebrale del MNS (Mirror Neuron System) in pazienti MCI e in pazienti AD di grado lieve durante un compito di osservazione-imitazione di azioni complesse bimanuali eseguite da altri individui.

2.5.2 IPOTESI DELLO STUDIO

Considerato il ruolo del MNS nell'osservazione-imitazione di azioni in soggetti sani (Rizzolatti et al., 2014; Molenberghs et al., 2012) è possibile ipotizzare che ci sia un'attivazione differenziale di questo sistema a seconda della fase della patologia neurodegenerativa (MCI due to AD vs. demenza di Alzheimer).

La letteratura attualmente esistente (Farina et al., 2017; Farina et al., 2020) offre risultati non del tutto chiari rispetto al funzionamento e all'organizzazione del MNS in pazienti AD e in pazienti MCI durante compiti di osservazione-imitazione di azioni. In base alle diverse proprietà del sistema specchio è possibile ipotizzare che:

- a) nei pazienti MCI (fase prodromica) vi sia una maggiore attivazione del MNS rispetto ai pazienti AD (malattia conclamata);
- b) l'attivazione del MNS dovrebbe dipendere dal gradiente cerebrale di coinvolgimento caudo-rostrale (postero-anteriore) descritto in letteratura, ovvero nei pazienti MCI ci si aspetta una maggiore attivazione delle aree frontali rispetto alle aree parietali, e nei pazienti AD una diminuzione generale dell'attivazione in tutte le aree del MNS;
- c) come effetto di una possibile compensazione, si ipotizza che nelle fasi tardive della malattia (AD) rispetto alla fase prodromica (MCI) vi sia il reclutamento di aree corticali e sottocorticali che inizialmente non erano reclutate in modo sistematico durante l'imitazione delle azioni.

Lo scopo del presente studio è quindi quello di indagare, mediante risonanza magnetica funzionale (fMRI), le attivazioni cerebrali dei pazienti AD e MCI durante l'osservazione e l'imitazione di azioni per ottenere una maggiore comprensione dei meccanismi neurofisiologici di tale sistema facendo ricorso al modello lesionale di tipo AD. Tale

conoscenza potrebbe permettere di implementare strategie di riabilitazione cognitiva e motoria basate sul funzionamento del sistema mirror (Action Observation Therapy, AOT).

MATERIALI E METODI – CAPITOLO 3

3.1 STUDIO COMPORTAMENTALE

3.1.1 PARTECIPANTI

Per lo studio comportamentale sono stati reclutati 10 soggetti di controllo sani e 10 pazienti con diagnosi di MCI o di Alzheimer presso l'ambulatorio Disturbi Cognitivi dell'Ospedale Maggiore di Parma.

Il campione dei soggetti di controllo è costituito da 6 femmine e 4 maschi, di età compresa tra i 50 e i 77 anni (M= 65.4 anni, DS = 9.41) con preferenza manuale DX ed una scolarità che va dai 6 ai 13 anni (M = 10.9 anni, DS = 2.64). Il campione dei pazienti è invece costituito da 5 femmine e 5 maschi, di età compresa tra i 63 e i 79 anni (M= 70.6 anni, DS = 5.54) con preferenza manuale DX ed una scolarità di 5-18 anni (M = 13.3 anni, DS = 4.42). All'interno di questo gruppo un'ulteriore categorizzazione è stata effettuata tra i pazienti con diagnosi di MCI (n = 6) e i pazienti con diagnosi biologica conclamata di AD lieve (n = 4).

I criteri di inclusione per i soggetti di controllo che hanno partecipato allo studio sono stati i seguenti:

- Assenza di deficit neurologici cognitivi, sensoriali e comportamentali di origine centrale riportati soggettivamente dal partecipante;
- Età compresa tra i 50 e gli 80 anni al momento del reclutamento;

- Grado di collaborazione o comprensione sufficienti per partecipare allo studio comportamentale della durata di circa 20 minuti

I criteri di inclusione riguardanti il gruppo dei pazienti coinvolti nello studio sono stati invece i seguenti:

- Diagnosi clinica di MCI secondo i criteri di Petersen (Albert et al., 2011) o di AD secondo i criteri NIA-AA (McKhann et al., 2011). In aggiunta alla diagnosi clinica, nei pazienti AD è presente inoltre una diagnosi biologica del pattern neuropatologico sottostante di tipo AD ottenuta mediante o la positività dei biomarkers secondo il profilo AT(N) su liquor o la positività di una PET amiloide come suggerito dai criteri NIA-AA aggiornati al 2018 (Jack et al., 2018);
- Età compresa tra i 50 e gli 80 anni al momento del reclutamento;
- Punteggi grezzi al test di screening neuropsicologico (MMSE) ≥ 18 ;
- Grado di collaborazione e comprensione sufficienti per partecipare allo studio comportamentale nel giudizio del medico che ha in cura il paziente;
- Assenza di compromissioni sensoriali che possano limitare la partecipazione allo studio, specialmente importanti deficit visivi.

3.1.2 VALUTAZIONE CLINICA COMPORTAMENTALE

I partecipanti appartenenti al gruppo dei pazienti sono stati valutati, da un punto di vista cognitivo e comportamentale, mediante un test neuropsicologico di screening. Il test maggiormente utilizzato a riguardo (in 7 pazienti su 10) è stato il Mini Mental State Examination (MMSE; Folstein et al., 1975; Measso et al., 1993). Esso è un test neuropsicologico molto rapido per la valutazione della presenza di un eventuale

deterioramento cognitivo ed è spesso utilizzato come strumento di screening nell'indagine di soggetti a rischio di demenza. L'altro test utilizzato in questo ambito, nella minoranza dei pazienti (in 3 su 10), è stato il Montreal Cognitive Assessment (MoCA; Nasreddine et al., 2005; Santangelo et al., 2015). Come il precedente, anch'esso è un test neuropsicologico molto rapido e spesso utilizzato per la valutazione di un eventuale deterioramento cognitivo nei soggetti con condizione sospetta di demenza.

Per uniformare i punteggi dello screening neuropsicologico nel gruppo di pazienti, e utilizzarli successivamente ai fini statistici, i punteggi MoCA dei 3 pazienti (tutti con diagnosi di MCI) sono stati convertiti in punteggi equivalenti MMSE mediante i criteri descritti da Bergeron e collaboratori (2017).

Nei pazienti con diagnosi di AD i valori di riferimento di laboratorio utilizzati per ottenere la positività ai biomarkers, come conferma del sospetto processo patologico in atto, sono stati i seguenti:

- Proteina β -amiloide, frammento 1-42: > 550 pg/ml
- Proteina β -amiloide, rapporto frammenti 1-42/1-40: > 0,10
- Proteina tau totale: < 452 pg/ml
- Proteina tau fosforilata: < 61 pg/ml

Infine, per quanto riguarda la positività alla PET amiloide sono stati utilizzati i traccianti [18F]florbetaben o [18F]flutemetamol ed in seguito è stata attuata una valutazione osservativa e qualitativa delle immagini cerebrali risultanti da parte di osservatori esperti nell'ambito. La quantificazione regionale riguardante l'assorbimento cerebrale del tracciante [18F]flutemetamol è stata effettuata anche in maniera standardizzata utilizzando il software CortexID Suite: un punteggio $z > 2.0$, con il carico amiloide

presente in almeno un'area cerebrale, è stato usato per identificare la positività dell'esame.

3.1.3 PARADIGMA COMPORTAMENTALE

Il compito comportamentale consisteva nell'osservazione-imitazione di azioni bimanuali. Dato che in letteratura sono riportati pochissimi esempi di compiti imitativi nel continuum di questa patologia, questo compito preliminare aveva lo scopo di individuare quello migliore da sottoporre ai pazienti durante il successivo studio fMRI. Ciascun partecipante era seduto di fronte ad una postazione PC attraverso la quale venivano presentati i video delle azioni che dovevano essere osservate ed imitate. Durante il compito la sua performance, previo consenso informato, veniva videoregistrata (Action Cam Apeman A77, 1080P, 30 FPS, 20 MP, formato MP4), per essere successivamente valutata accuratamente mediante uno scoring costruito ad-hoc. La videocamera era posta sopra lo schermo del PC e puntata esclusivamente verso le mani del soggetto. A tutti i partecipanti, prima dell'inizio del compito, veniva detto che l'obiettivo era semplicemente quello di cercare di capire se il compito ideato rappresentasse uno strumento valido per essere utilizzato in futuro a fini diagnostici, e che perciò in nessun caso si sarebbe trattato di un vero e proprio test nel quale si sarebbe valutata la loro performance. In questo modo si è cercato di rendere la performance comportamentale del soggetto la più naturale possibile senza che egli si potesse sentire in qualche modo valutato. Infine, veniva specificato ai partecipanti che in ogni momento, se in difficoltà, avrebbero potuto liberamente interrompere il compito senza alcun problema.

Si è preferito presentare gli stimoli in forma videoregistrata piuttosto che presentarli ecologicamente sia per un'ottimizzazione del setting sperimentale, sia per avere una maggiore standardizzazione degli stimoli e una loro omogeneità rispetto ai partecipanti.

Il paradigma nel suo complesso era suddiviso in tre sotto-compiti differenti (“Origami Online”, “Tinker Online”, “Tinker Post”) i quali verranno descritti dettagliatamente nel seguito. Tutte le prove erano accomunate dal fatto che i soggetti erano chiamati ad osservare ed imitare delle azioni bimanuali di interazione mano-oggetto che permettevano di costruire delle specifiche configurazioni, caratterizzate da una sequenza motoria di difficoltà progressiva con una forte componente visuospaziale. Gli oggetti, a seconda del compito, potevano essere un foglio di carta da origami che doveva essere piegato su se stesso in diversi modi (“Origami Online”) o un set di oggetti di legno costruiti artigianalmente in modo da potersi incastrare tra di loro per costruire diverse configurazioni (simile al Tinker Toy).

I video degli stimoli presentati ai soggetti sono stati registrati nel Laboratorio di Neuroimaging dell’Università degli Studi di Parma. Dal punto di vista del setting di registrazione, lo sperimentatore era seduto con le mani poggiate su un tavolo coperto da un cartoncino nero sul quale venivano eseguite le azioni bimanuali di interazione con gli oggetti presenti. La videocamera (Action Cam Apeman A77, 1080P, 30 FPS, 20 MP, formato MP4) era posizionata, mediante un opportuno supporto di fronte allo sperimentatore, all’altezza della testa, e orientata verso il piano d’appoggio in modo da riprendere esclusivamente le mani dello stesso (includendo una parte di braccio fino al gomito) e gli oggetti utilizzati. Si è scelta questa modalità di presentazione dei video in quanto ci sono alcuni studi che dimostrano come la visione di filmati in prima persona induca un’attivazione del sistema mirror nettamente superiore rispetto alla visione degli stessi filmati nella prospettiva in terza persona (Caggiano et al., 2011).

La posizione delle mani all’inizio e alla fine della sequenza motoria era la stessa in quanto esse erano poste ai lati della configurazione iniziale o finale dell’oggetto prodotta (rispettivamente la mano destra a destra della configurazione e la mano sinistra a sinistra). Per ciascun compito sono state registrate 7 sequenze “sperimentali” di difficoltà

progressiva che dovevano essere presentate al soggetto e una sequenza “training” di esempio.

Una volta registrati, i video sono stati successivamente editati con il programma Windows Movie Maker. Per far sì che una volta presentato il video al soggetto le mani del modello si cominciasse a muovere dopo qualche secondo, ciascun video è stato editato temporalmente tagliando i secondi in eccesso all'inizio in cui le mani erano ferme, ma lasciando comunque 2 secondi prima della partenza del movimento. Nei video riferiti alle condizioni “Origami Online” e “Tinker Online” dato che il partecipante era chiamato ad osservare il video e contemporaneamente a imitare ciò che facevano le mani con gli oggetti, al termine del video, per evitare di forzare la componente mnemonica e permettendo al soggetto di non affrettarsi eccessivamente a concludere la prova focalizzandosi quindi sulla sequenza motoria da imitare, la configurazione finale dell'oggetto con le mani ferme ai lati di esso è stata lasciata fissa sullo schermo per 5 secondi. Nei video riferiti alla condizione “Tinker Post”, invece, visto che in questo caso il soggetto era chiamato prima ad osservare il video e solo una volta terminato doveva riprodurre ciò che aveva visto fare dalle mani con gli oggetti, la configurazione finale degli oggetti con le mani ferme ai lati scompariva immediatamente al termine del video presentato in modo da forzare la memoria dei partecipanti facendoli focalizzare maggiormente sulla sequenza motoria mostrata dal modello piuttosto che sulla configurazione finale raggiunta da esso. In tutti i video, infine, l'audio è stato eliminato in quanto elemento non rilevante ai fini del compito ed è stata inoltre attuata una rotazione di 180° al video in modo da ottenere una prospettiva delle mani in prima persona facendo corrispondere le mani destra e sinistra del modello nel video con le rispettive mani destra e sinistra del partecipante posto di fronte al PC, evitando in questo modo il carico cognitivo eventualmente causato dalla rotazione mentale.

3.1.4 PROCEDURA SPERIMENTALE “ORIGAMI ONLINE”

Per quanto riguarda la prova “Origami Online” al soggetto venivano presentati dei video in cui si vedevano le mani dell’attore che eseguivano una sequenza motoria caratterizzata da alcune pieghe su un foglio di carta da origami (dimensioni 20 x 20 cm, peso 70 g (Fig. 25). La configurazione finale era senza significato ossia non rappresentava alcun contenuto noto ai partecipanti. Si è scelto questo tipo di compito in quanto esso implica la presenza di una sequenza motoria da imitare complessa, senza significato e bimanuale finalizzata quindi ad esplorare le capacità imitative dei partecipanti.

Ai soggetti, seduti e appoggiati con le mani sul tavolo, veniva quindi fornito un foglio di carta da origami, delle stesse caratteristiche di quello utilizzato dal modello, e gli veniva richiesto di osservare attentamente il video presentato dal PC posto di fronte e di conseguenza copiare esattamente ciò che facevano le mani nel video mentre lo guardavano, utilizzando il foglio posto sul tavolo. Al partecipante veniva detto che se egli avesse avuto difficoltà durante una delle prove del compito, lo stesso video sarebbe potuto essere presentato da capo un’altra volta. In particolare veniva anche specificato che l’obiettivo primario del compito non era quello di eseguire le pieghe sul foglio in maniera precisa e simmetrica bensì quello di copiare esattamente la sequenza motoria mostrata dal modello utilizzando il foglio che veniva fornito. Prima di far iniziare il compito sperimentale, lo sperimentatore mostrava al partecipante un video di esempio, eseguendo lui stesso il compito e commentando ad alta voce ciò che stava facendo passo dopo passo.

Durante il compito, al soggetto venivano presentati in successione 7 video di difficoltà progressiva la quale dipendeva principalmente dal numero di pieghe sul foglio che bisognava compiere per eseguire correttamente la prova (da 1 piega nella sequenza n°1

a 7 pieghe nella sequenza n°7). Ad ogni nuovo video presentato, o ad ogni ripetizione di uno stesso video se necessaria, al soggetto veniva fornito un nuovo foglio in modo da

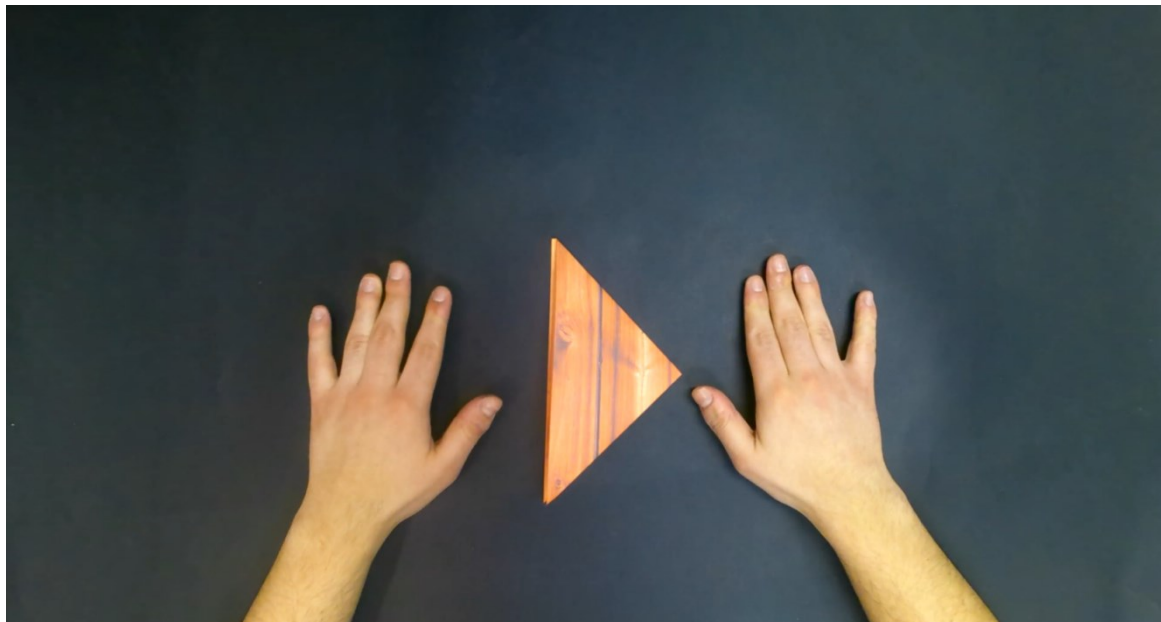


Figura 25 Esempio di una configurazione finale prodotta nel compito “Origami Online”.

non influenzare la sua performance partendo da un foglio già piegato. Nel corso delle prove, infine, non veniva fornito alcun tipo di feedback al soggetto per non influenzare la sua performance.

Al termine dei 7 video al soggetto veniva concesso qualche minuto per riposarsi prima di cominciare la seconda parte del task.

3.1.5 PROCEDURA SPERIMENTALE “TINKER ONLINE”

Per quanto riguarda la prova “Tinker Online” al soggetto venivano presentati dei video in cui si vedevano le mani dell’attore che eseguivano una sequenza motoria caratterizzata dall’utilizzo di alcuni oggetti di legno che potevano essere incastrati tra loro per costruire una determinata configurazione finale (Fig. 26). Tali oggetti ricordano molto il cosiddetto

Tinker Toy della Hasbro (un set di costruzioni giocattolo per bambini) e sono stati utilizzati in questo contesto sulla base dello studio fMRI di Frey e Jerry (2006), i quali hanno utilizzato questo set di oggetti per studiare l'attività cerebrale di un gruppo di soggetti sani durante un compito di osservazione-imitazione di costruzione di un oggetto composto da più parti.

Prima di cominciare le prove, ai soggetti veniva descritto il set di oggetti, poggiato sul tavolo, il quale era costituito da: due oggetti circolari uguali con cinque buchi su una faccia, un buco sull'altra faccia e 4 buchi laterali; due bastoncini uguali; un bastone più lungo; una pallina con un buco. Ai soggetti veniva quindi richiesto di eseguire lo stesso compito del task precedente, ossia osservare attentamente il video presentato dal PC posto di fronte e di conseguenza copiare esattamente ciò che facevano le mani nel video mentre lo guardavano, utilizzando gli oggetti di legno. Veniva sottolineato il fatto che se il soggetto avesse avuto difficoltà durante una delle prove del compito lo stesso video avrebbe potuto essere ripresentato un'altra volta dall'inizio. In particolare veniva anche specificato che l'obiettivo primario del compito era quello di copiare esattamente la sequenza motoria mostrata dal modello utilizzando il set di oggetti. Prima di iniziare il compito sperimentale, lo sperimentatore mostrava al partecipante un video di esempio eseguendo lui stesso il compito e commentando ad alta voce ciò che stava facendo passo dopo passo.

Durante il compito venivano presentati in successione al soggetto 7 video di difficoltà progressiva la quale dipendeva principalmente dal numero di oggetti utilizzati dal modello (da 3 oggetti nella sequenza n°1 a 6 oggetti nella sequenza n°7). Ad ogni nuovo video presentato, o ad ogni ripetizione di uno stesso video se necessario, gli oggetti venivano sistemati sul tavolo in una configurazione di partenza uguale per ciascuna sequenza. Nel corso delle prove, infine, non veniva fornito alcun tipo di feedback al soggetto per non influenzare la sua performance.

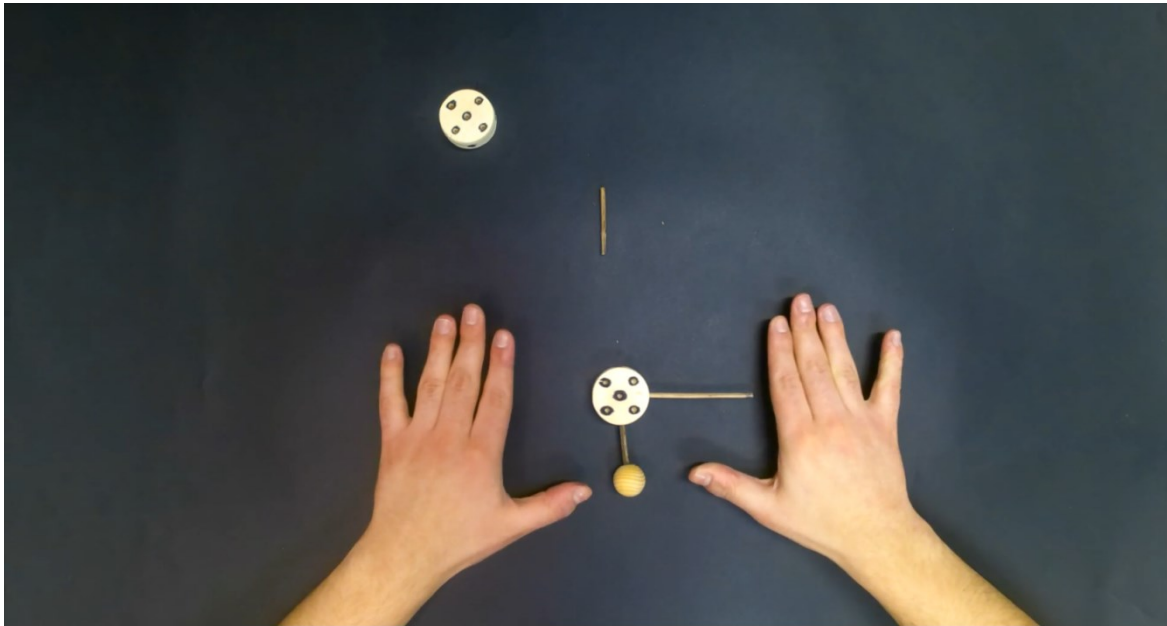


Figura 26 Esempio di una configurazione finale prodotta nel compito “Tinker Online”.

Al termine dei 7 video al soggetto veniva concesso qualche minuto per riposarsi prima di cominciare la terza ed ultima parte del task.

3.1.6 PROCEDURA SPERIMENTALE “TINKER POST”

Per quanto riguarda la prova “Tinker Post” al soggetto venivano presentati gli stessi video della prova precedente “Tinker Online” con l’unica differenza che in questo caso le immagini del video, durante l’editing, venivano ruotate di 180° in modo che da un lato il soggetto non riconoscesse che i video osservati gli erano già stati presentati e dall’altro ci fosse un equo livello di difficoltà progressivo nelle sette sequenze sperimentali rispetto alla prova precedente. In questa prova è da sottolineare il fatto che la paziente n.9 non ha potuto partecipare a causa di motivi logistici legati alle tempistiche.

Ai soggetti in questo caso veniva chiesto di osservare il video presentato e solo una volta che questo era terminato copiare esattamente ciò che avevano fatto le mani del modello nel video utilizzando gli oggetti di legno. Tale prova era sempre volta allo studio del

processo di osservazione-imitazione ma con l'aggiunta di un sovraccarico cognitivo a livello di memoria. Al partecipante veniva sottolineato il fatto che se egli avesse avuto difficoltà durante una delle prove del compito avrebbe potuto osservarlo una seconda volta. In particolare, veniva anche specificato che l'obiettivo primario del compito era quello di copiare esattamente la sequenza motoria mostrata dal modello utilizzando il set di oggetti.

Durante il compito venivano presentati in successione al soggetto 7 video di difficoltà progressiva la quale dipendeva principalmente dal numero di oggetti utilizzati dal modello (da 3 oggetti nella sequenza n°1 a 6 oggetti nella sequenza n°7). Ad ogni nuovo video presentato, o ad ogni ripetizione di uno stesso video se necessaria, gli oggetti venivano sistemati sul tavolo nella configurazione di partenza uguale per ciascuna sequenza. Nel corso delle prove non veniva fornito alcun tipo di feedback al soggetto per non influenzare la sua performance.

3.1.7 SCORING COMPORTAMENTALE

Per quanto riguarda la valutazione della performance del soggetto sono state create delle griglie ad-hoc (allegate in esteso alle pagine successive, Tab.4 e 5), simili ad un etogramma, nelle quali sono state inserite tutte le variabili operazionalizzate che dovevano essere studiate. Per avere una base di riferimento con la quale effettuare un confronto tra la prestazione del soggetto e la prestazione "ottimale", la performance dell'attore nei video presentati è stata valutata ed inserita nella griglia dello scoring.

Le videoregistrazioni dei soggetti sono state quindi osservate accuratamente e, utilizzando la griglia, è stato attribuito un punteggio per ogni variabile in ogni sequenza del compito. A tal proposito, nel caso in cui il soggetto avesse avuto il bisogno di vedere il

video di una sequenza una seconda volta è stata valutata solo quest'ultima performance ai fini dello scoring, mentre il primo tentativo non è stato considerato.

Oltre alle variabili descritte accuratamente nella griglia utilizzata per lo scoring, sono state considerate altre due variabili aggiuntive per tutte e tre le prove del compito: lo "span", ossia il numero di sequenze presentate al soggetto e che egli aveva provato effettivamente ad eseguire, ed il numero di ripetizioni, che poteva assumere valore 0 se il soggetto eseguiva la sequenza al primo tentativo oppure valore 1 se per una data sequenza il soggetto aveva bisogno di un ulteriore tentativo e quindi di un'ulteriore presentazione del video.

La griglia di scoring per le prove "Tinker Online" e "Tinker Post" è identica, in quanto le variabili oggetto di studio nei due compiti sono le stesse.

Dopo aver effettuato lo scoring dei tre compiti, per ciascun partecipante sono state calcolate per ogni variabile della griglia di ogni sequenza, con l'aggiunta della variabile "Ripetizioni sequenza", le differenze tra il punteggio dell'attore (prestazione ottimale) e il punteggio del soggetto (performance individuale, ad eccezione della variabile "Span"). Tale procedura ha permesso di calcolare per ciascuna variabile un punteggio medio di errore, rispetto alla prestazione del modello (da qui: punteggio medio degli errori).

Inoltre, per alcune variabili sono stati utilizzati i seguenti accorgimenti:

- Per la variabile "Tempo di esecuzione" un valore negativo è indice del fatto che il soggetto ci ha messo meno tempo rispetto all'attore mentre un valore positivo indica che il soggetto è stato più lento rispetto al modello
- Per le variabili "Pieghe", "Numero di passaggi", "Identificazione oggetto" ed "Elementi collocati" il valore risultante è da intendersi con valore negativo (distacco in negativo della prestazione del soggetto rispetto alla performance dell'attore)

- Per le variabili “Tentativi di aggiustamento”, “Perseverazioni”, “Omissioni”, “Aggiunte”, “Sostituzioni”, “Pieghe errate” e “Ripetizioni sequenza” il valore risultante è da intendersi con valore positivo (distacco in positivo della prestazione del soggetto rispetto alla performance dell’attore)
- Per le variabili “Utilizzo mano destra”, “Utilizzo mano sinistra”, “Utilizzo di entrambe le mani”, “Piegamenti”, “Elementi utilizzati” e “Rotazioni” si è calcolata la differenza tra il punteggio del modello e il punteggio del soggetto sia in valore assoluto (v.ass) che considerando, sempre rispetto al modello, un utilizzo maggiore o minore delle mani e un numero maggiore o minore di piegamenti, elementi o rotazioni effettuate dal soggetto (v.segn)

Infine, per ogni variabile di ciascuna prova di ciascun soggetto è stato calcolato un punteggio medio con relativa deviazione standard sulla base delle differenze di performance tra il partecipante e l’attore riportate in ognuna delle 7 sequenze. Con questi ultimi valori sono state quindi eseguite le opportune analisi statistiche.

ESEMPIO GRIGLIA SCORING ORIGAMI ONLINE - SEQUENZA 1 (Tabella 4)

VARIABILE	PUNTEGGIO SOGGETTO	PUNTEGGIO ATTORE
Tempo di esecuzione (secondi impiegati dal soggetto per eseguire l'intera sequenza)		9.11
Utilizzo mano destra (numero di volte in cui il soggetto utilizza la mano destra per eseguire un passaggio della sequenza)		2
Utilizzo mano sinistra (numero di volte in cui il soggetto utilizza la mano sinistra per eseguire un passaggio della sequenza)		0
Utilizzo di entrambe le mani (numero di volte in cui il soggetto utilizza entrambe le mani per eseguire un passaggio della sequenza)		0
Numero di piegamenti (numero di pieghe complessive effettuate dal soggetto nell'intera sequenza)		1
Pieghe (numero di pieghe eseguite correttamente dal soggetto nell'intera sequenza)		1
Numero di passaggi (numero di passaggi eseguiti correttamente dal soggetto)		2
Tentativi di aggiustamento (numero di volte in cui il soggetto aggiusta il foglio o le pieghe)		0
Numero di perseverazioni (numero di volte in cui il soggetto effettua delle perseverazioni con il foglio)		0
Omissioni (numero di passaggi che sono presenti nella sequenza ma che il soggetto omette nell'esecuzione)		0
Aggiunte (numero di passaggi che non sono presenti nella sequenza ma il soggetto aggiunge eseguendoli)		0
Sostituzioni (numero di elementi della sequenza che il soggetto esegue in maniera diversa rispetto all'attore)		0
Rotazioni (numero di rotazioni del foglio eseguite dal soggetto)		0
Numero di pieghe errate (numero di pieghe eseguite in modo sbagliato dal soggetto)		0

ESEMPIO GRIGLIA SCORING TINKER (ONLINE E POST) - SEQUENZA 1 (Tabella 5)

VARIABILE	PUNTEGGIO SOGGETTO	PUNTEGGIO ATTORE
Tempo di esecuzione (secondi impiegati dal soggetto per eseguire l'intera sequenza)		7.57
Utilizzo mano destra (numero di volte in cui il soggetto utilizza la mano destra per eseguire un passaggio della sequenza)		1
Utilizzo mano sinistra (numero di volte in cui il soggetto utilizza la mano sinistra per eseguire un passaggio della sequenza)		2
Utilizzo di entrambe le mani (numero di volte in cui il soggetto utilizza entrambe le mani per eseguire un passaggio della sequenza)		0
Elementi collocati (numero di oggetti che il soggetto colloca correttamente nel corso della sequenza)		3
Numero di elementi utilizzati (numero complessivo di elementi utilizzati dal soggetto per costruire la composizione finale della sequenza)		3
Tentativi di aggiustamento (numero di volte in cui il soggetto aggiusta gli oggetti o la configurazione finale)		0
Numero di perseverazioni (numero di volte in cui il soggetto effettua delle perseverazioni con gli oggetti)		0
Identificazione oggetto (numero degli oggetti identificati correttamente dal soggetto)		3
Numero di passaggi (numero di passaggi eseguiti correttamente dal soggetto)		3
Omissioni (numero di passaggi che sono presenti nella sequenza ma che il soggetto omette nell'esecuzione)		0
Aggiunte (numero di passaggi che non sono presenti nella sequenza ma il soggetto aggiunge eseguendoli)		0
Sostituzioni (numero di elementi della sequenza che il soggetto esegue in maniera diversa rispetto all'attore)		0
Rotazioni (numero di rotazioni degli oggetti eseguite dal soggetto)		0

3.1.8 ELABORAZIONE E ANALISI STATISTICA DEI DATI COMPORTAMENTALI

Tutte le analisi statistiche sono state eseguite mediante il software RStudio (RStudio 2019, Inc., rstudio.com).

Dopo una prima ispezione del database, utilizzando i punteggi descritti nel paragrafo precedente (punteggio medio degli errori) si è cercato di individuare delle differenze tra le prestazioni del gruppo di controllo e quelle del gruppo di pazienti in tutte le variabili incluse e operazionalizzate nei tre diversi compiti comportamentali (Origami Online, Tinker Online, Tinker Post). A tal fine, vista la bassa numerosità del campione ($n = 10$ per entrambi i gruppi), si è scelto di utilizzare il test non parametrico U di Mann-Whitney.

Inoltre, solo nella prova “Origami Online” si è cercato di individuare delle correlazioni tra le variabili all’interno del gruppo di pazienti, e per perseguire questo scopo, sempre per la bassa numerosità campionaria, si è scelto di calcolare il coefficiente di correlazione Tau di Kendall (τ).

3.2 LA RISONANZA MAGNETICA FUNZIONALE (fMRI)

La Risonanza Magnetica (RM) è una tecnica che utilizza le proprietà magnetiche dei nuclei degli atomi costituenti la materia per ottenere immagini. Questa tecnica permette quindi di ottenere una dettagliata rappresentazione dell’anatomia umana. Nello studio del cervello, quindi, permette di distinguere i diversi componenti che lo costituiscono quali la corteccia cerebrale, la sostanza bianca, le cavità liquorali, le arterie e le vene. La MR può essere inoltre utilizzata anche per studiare funzionalmente cosa accade nel cervello del paziente in seguito all’essere sottoposto all’esecuzione di determinati compiti neuropsicologici: la risonanza magnetica funzionale (fMRI) fornisce una rappresentazione dinamica dell’attività cerebrale mediante il segnale BOLD (Blood Oxygen-Level

Dependent) il quale riflette i cambiamenti a carico del flusso di sangue in determinate aree del cervello particolarmente coinvolte in quel determinato task. Inoltre, l'fMRI permette di studiare la "funzione" cerebrale, cioè di osservare l'attività di specifiche zone del cervello nel corso dell'esecuzione di un compito motorio, visivo, uditivo, o cognitivo.

3.3 STUDIO fMRI

3.3.1 PARTECIPANTI

Per il gruppo sperimentale di pazienti sono stati reclutati 4 pazienti (2 MCI e 2 AD), di cui 3 maschi e 1 femmina, di età compresa tra i 57 e i 74 anni (M= 67.3 anni, DS = 7.2), una scolarità tra 8 e 18 anni (M = 13.8 anni, DS = 4.3) con visione normale o corretta. Tutti i partecipanti erano destrimani secondo l'Edinburgh Handedness Inventory (Oldfield, 1971).

I pazienti sono stati selezionati all'interno di una coorte di pazienti seguiti dalla Struttura Complessa di Neurologia dell'Azienda Ospedaliero-Universitaria di Parma. Ai fini dell'arruolamento, i soggetti considerati eleggibili sono stati invitati a partecipare alla sperimentazione mediante contatto telefonico, dopo aver illustrato loro nel dettaglio gli scopi e le modalità di conduzione dello studio. Il consenso informato alla partecipazione al medesimo è stato richiesto ed ottenuto da tutti i partecipanti prima del loro arruolamento.

I criteri di inclusione allo studio sono stati i seguenti:

- pazienti con diagnosi clinica di AD secondo i criteri NIA-AA (McKhann et al., 2011) o di MCI secondo i criteri di Petersen (Albert et al., 2011);

- pazienti con punteggio al Mini Mental State Examination (MMSE) ≥ 20 e Clinical Dementia Rating (CDR) ≤ 1 ;
- pazienti già sottoposti precedentemente a workup completo di I livello per disturbi cognitivi, includente neuroimaging (TC o RM Encefalo), esame neuropsicologico completo e visita neurologica;
- pazienti che all'interno del normale workup diagnostico per disturbi cognitivi abbiano già eseguito almeno una metodica tra Amyloid PET e dosaggio di biomarcatori su liquor;
- età 50-75 anni al momento del reclutamento;
- grado di collaborazione e comprensione sufficienti per partecipare all'esame fMRI, nel giudizio del medico che ha in cura il paziente.

Sono stati invece esclusi i pazienti con le seguenti caratteristiche:

- compromissione sensoriale che limiti la partecipazione allo studio, specialmente importanti deficit visivi di origine centrale;
- epilessia farmaco-resistente;
- presenza di deficit di attenzione o concomitanti disturbi psichiatrici gravi;
- storia clinica di stroke o altri disturbi cerebrovascolari;
- presenza di controindicazioni all'esecuzione di indagini strumentali mediante dispositivi RM ad alto campo (impianti e protesi metalliche, shunt, ecc.). Tali controindicazioni sono state opportunatamente indagate preliminarmente attraverso un questionario.

Come gruppo di controllo sono stati reclutati 4 volontari, di cui 1 maschio e 3 femmine, di età compresa tra i 50 e i 66 anni ($M = 61$ anni, $DS = 7.4$), una scolarità tra gli 11 e i 16 anni ($M = 13.75$ anni, $DS = 4.3$) con visione normale o corretta e nessuna storia

precedente di disturbi neurologici e in particolare di disturbi cognitivi di origine centrale. Tutti i partecipanti erano destrimani secondo l'Edinburgh Handedness Inventory (Oldfield, 1971).

3.3.2 VALIDAZIONE DEL PARADIGMA fMRI SU GRUPPO DI CONTROLLO

Per questo studio, ai fini della validazione del paradigma, sono stati reclutati 9 volontari giovani, di cui 3 maschi e 6 femmine, di età compresa tra i 21 e i 30 anni (M = 25.6 anni, DS = 3.36) con visione normale o corretta, nessuna storia precedente di disturbi neurologici, ortopedici o reumatologici e nessun abuso di droghe o alcol. Tutti i partecipanti, eccetto un soggetto mancino, erano destrimani secondo l'Edinburgh Handedness Inventory (Oldfield, 1971). Lo studio sui volontari sani è stato approvato dal comitato etico locale AVEN (codice NEUROIMAGE_UNIPR). I partecipanti hanno fornito il loro consenso informato in conformità con la Dichiarazione di Helsinki.

3.3.3 VALUTAZIONE NEUROPSICOLOGICA

Dal punto di vista clinico i pazienti sono stati sottoposti ad una valutazione neuropsicologica completa (Tab. 6) volta ad indagare le funzioni cognitive generali ma anche quelle legate maggiormente al MNS. Alcuni di questi test sono stati eseguiti durante la visita neurologica del workout completo di I livello per disturbi cognitivi, mentre altri test sono stati eseguiti il giorno stesso dell'esperimento di risonanza prima di sottoporre il paziente alla procedura sperimentale. La batteria neuropsicologica completa utilizzata è allegata in esteso alle pagine successive.

I test neuropsicologici eseguiti il giorno stesso dello studio fMRI sono stati: Test di Corsi (Mammarella et al., 2008) per esaminare la memoria a breve termine, Denominazione di

azioni (Capasso e Miceli, 2011) per studiare le abilità linguistiche, Test dell'Orologio (Caffarra et al., 2011) ed il Test di cancellazione di campanelle (Vallar et al., 1994) per indagare la prassia costruttiva e le funzioni visuospatiali, il Test di Aprassia (De Renzi et al., 1980) per studiare l'aprassia ideomotoria.

I test che invece sono stati eseguiti durante l'esame neuropsicologico clinico sono stati: il test MoCA (Santangelo, 2015) per ottenere un punteggio di riferimento allo screening cognitivo, il Digit span forward e backward (Monaco, 2013) per indagare la memoria a breve termine, il Free and Cued Selective Reminding Test (FCSRT) (Frasson, 2011) e la Figura di Rey differita (Caffarra, 2002) per esaminare la memoria a lungo termine, le fluenze fonemiche (Carlesimo, 1996) e semantiche (Zarino, 2014) ma anche lo Screening for Aphasia NeuroDegeneration (SAND) (Catricalà, 2017) per studiare le abilità linguistiche, il Multiple Feature Cancellation Test (MFTC) (Marra, 2013) e lo Stroop Test (Caffarra, 2002) per indagare l'attenzione e le funzioni esecutive, la copia della Figura di Rey (Caffarra, 2002) per esaminare la prassia costruttiva e le funzioni visuospatiali.

Il gruppo di adulti sani è stato valutato, prima della sessione fMRI, mediante il test MMSE (Measso et al., 1993), in modo da ottenere un punteggio di screening cognitivo di riferimento per giustificare e confermare l'appartenenza di questi partecipanti al gruppo di soggetti sani di controllo, escludendo così la presenza di possibili deficit cognitivi.

Infine, è da specificare che alla data odierna le valutazioni neuropsicologiche dei pazienti n.3 (AD) e n.4 (AD) sono ancora in corso e perciò non è stato possibile aggiungerle nel presente lavoro.

ESEMPIO DI BATTERIA TEST NEUROPSICOLOGICI (Tabella 6)

Autonomia funzionale: ADL: ; IADL:

ESAME NEUROPSICOLOGICO					
SCREENING COGNITIVO		P. Grezzo	P. Corretto	Cut-off	P. Equivalente
Moca (<i>Santangelo, 2015</i>)	Totale Rievocazione			15.5 m.v 1.77	
MEMORIA A BREVE TERMINE					
Digit span forward (<i>Monaco, 2013</i>)				4.25	
Digit span backward (<i>Monaco, 2013</i>)				2.64	
Test di Corsi (<i>Mammarella et al., 2008</i>)					
Forward					
Backward					
MEMORIA A LUNGO TERMINE					
Free and Cued Selective Reminding Test (FCSRT) (<i>Frasson, 2011</i>)	IFR			19.6	
	ITR			35	
	ISC			0.9	
	DFR			6.31	
	ITR			11	
	intrus			1	
Figura di Rey differita (<i>Caffarra, 2002</i>)				9.46	
LINGUAGGIO					
Fluenze fonemiche (<i>Carlesimo, 1996</i>)				17.34	
Fluenze semantiche (<i>Zarino, 2015</i>)				23.58	
SAND (<i>Catricalà, 2017</i>)				9.969	
Denominazione di Azioni (<i>Capasso e Miceli, 2001</i>)				6.1	
ATTENZIONE E FUNZIONI ESECUTIVE					
Multiple Features Cancellation Test (MFTC) (<i>Marra, 2013</i>)	Accuratezza			0.869	
	Falsi allarmi			2.77	
	Tempo			135.73	
Stroop Test (<i>Caffarra, 2002</i>)	Errori			4.24	
	Tempo			36.92	
PRASSIA COSTRUTTIVA E FUNZIONI VISUO-SPAZIALI					
Figura di Rey copia (<i>Caffarra, 2002</i>)				28.87	
Test Orologio (<i>Caffarra et al., 2011</i>)					
Test di cancellazione di Campanelle (<i>Vallar et al, 1994</i>)					
Tempo					
Asimmetria				≥ 3	
Omissioni					
PREFERENZA MANUALE					
Edinburgh Handedness Inventory (<i>Oldfield, 1971</i>)					
APRASSIA IDEOMOTORIA					
Test di Aprassia (<i>De Renzi et al., 1980</i>)				>62	

Ogni punteggio ottenuto alle prove somministrate è stato corretto in modo da eliminare l'influenza dell'età, della scolarità e del sesso sul giudizio diagnostico. Il Punteggio Corretto (P.C.) di ogni test è stato a sua volta convertito in un Punteggio Equivalente (P.E.) Quest'ultimo permette di confrontare le prestazioni del soggetto ai diversi test e rispetto ad un gruppo di controllo che rappresenta la popolazione normale. Un P.E. di 0 corrisponde ad una prestazione al di sotto del 5% della popolazione normale; 4 rappresenta un punteggio uguale o superiore alla mediana della popolazione normale; 1, 2, 3, sono punteggi intermedi fra 0 e 4 su una scala quasi-intervallare. Solo il P.E. di 0 corrisponde ad una prestazione di significato patologico.

3.3.4 DISEGNO SPERIMENTALE fMRI

Lo studio consisteva in un'unica sessione fMRI, prima della quale ciascun partecipante eseguiva un training della durata di circa 15 minuti in modo da permettergli di familiarizzare con il sistema MR e con la procedura sperimentale: a tal fine sono stati utilizzati strumenti informatici (filmati) ed opuscoli informativi. Dopo la fase di abitudine all'ambiente MR, i soggetti sono stati invitati a partecipare alla sessione di fMRI vera e propria. La sessione prevedeva due compiti sperimentali, un compito di osservazione ed uno di imitazione di azioni. I due compiti sperimentali sono stati somministrati in due run ciascuno, di breve durata (run 1 e 2 di osservazione, run 3 e 4 di imitazione), in modo tale da prevenire cali attenzionali e affaticamenti. Per entrambi i compiti è stato adoperato un disegno sperimentale event-related.

3.3.5 COMPITO DI OSSERVAZIONE DI AZIONI (OBS)

Il compito di osservazione di azioni prevedeva due run sperimentali equivalenti della durata di 7 minuti e 46 secondi ciascuna. Durante ogni run, i partecipanti osservavano con attenzione dei filmati della durata di 16 secondi in cui venivano riprodotte delle azioni bimanuali da una prospettiva soggettiva consistenti nel piegare ripetutamente un foglio di carta, come per formare un semplice origami senza significato (in questo modo si è esclusa la possibilità che il soggetto potesse riconoscere la configurazione finale prodotta). Ciascun trial, scelto tra 8 possibili sequenze di pieghe diverse, era composto da 3 pieghe e a tal proposito sono stati selezionati tre colori differenti del foglio piegato dal modello (verde, arancione e celeste) per incrementare la variabilità dei trial stessi.

Per poter essere presentati durante la sessione fMRI, i video utilizzati sono stati editati temporalmente con il programma Movavi Video Editor Plus 2020 in modo da poter durare

ciascuno 16 secondi, all'interno dei quali 800 ms all'inizio e al termine del video erano destinati ad un fermo immagine con le mani ferme rispettivamente nella posizione di partenza e nella posizione finale. Dal video, utilizzando il programma Avidemux 2.7.5, è stata successivamente rimossa la traccia audio ed è stato attuato un resize di 760x428 con l'aggiunta di 4 bordi, dalle dimensioni rispettive di 20 (sinistro e destro) e di 86 (alto e basso) in modo tale da raggiungere la risoluzione finale di 800x600. Infine, a ciascun video è stata aggiunta al centro una croce di fissazione bianca. Il video così editato è stato quindi esportato a 50 FPS in formato MPEG ASP (xvid4) ed è stato sottoposto ad un processo di codifica a due passate impostando la dimensione finale ad 1 MB.

Nel compito di osservazione erano presenti due condizioni (Fig. 27): a) Osservazione di mani che eseguono una sequenza motoria bimanuale consistente nell'effettuare tre pieghe (diverse a seconda della sequenza) con il foglio (OBS_SEQ); b) condizione di controllo costituita dall'osservazione di mani che ripetutamente raggiungono, toccano il foglio e tornano in posizione di partenza senza interagire con il foglio (OBS_CTRL). Per quest'ultima condizione di controllo erano previste 3 sequenze possibili (entrambe le mani toccano il centro del foglio, la mano sinistra tocca la parte alta sinistra del foglio mentre la mano destra tocca la parte destra bassa, la mano sinistra tocca la parte bassa sinistra del foglio mentre la mano destra tocca la parte destra alta). Le caratteristiche visive sono state bilanciate fra le diverse condizioni sperimentali in modo da controllare possibili effetti legati a differenze di luminosità, contrasto, nitidezza e quantità di informazione visiva. Sono stati preparati in tutto 24 filmati, dei quali 16 per la condizione OBS_SEQ e 8 per la condizione OBS_CTRL.

Dei filmati OBS_SEQ, 8 possibili sequenze sono state presentate in colori diversi (sequenze 1, 2, 3, 4, 5, 6 verde; sequenze 2, 3, 4, 7, 8 arancione; sequenze 1, 5, 6, 7, 8 celeste).

RUN 1 E 2: OSSERVAZIONE DI AZIONI



Figura 27 Timeline delle Run (1 e 2) di osservazione di azioni.

Riguardo ai filmati OBS_CTRL, 3 possibili sequenze sono state presentate in colori diversi (sequenza 1 verde, arancione e celeste; sequenza 2 verde, arancione e celeste; sequenza 3 arancione e celeste).

Sia nella run 1 che nella run 2 sono state presentate, in modo controbalanciato, tutte le sequenze diverse appartenenti alla condizione OBS_SEQ e tutte le sequenze diverse della condizione OBS_CTRL. Ogni run funzionale era caratterizzata da una successione di eventi per cui vi era la presentazione di un video di 16 secondi appartenente alla condizione OBS_SEQ o alla condizione OBS_CTRL seguito da un periodo di riposo (Rest), necessario a far ritornare il segnale BOLD alla condizione di baseline, della durata di 12 secondi. Durante tale periodo di riposo è stata presentata una croce bianca di fissazione su sfondo nero. La successione di eventi video-rest (croce bianca) si è ripetuta, per ciascuna run, 16 volte.

3.5.6 COMPITO DI IMITAZIONE DI AZIONI (IMI)

Nella terza e quarta run funzionale, della durata di 7 minuti e 10 secondi ciascuna, i partecipanti sono stati istruiti ad eseguire un compito di imitazione di azioni caratterizzato

dall'esecuzione di una serie di pieghe su un foglio di carta come a formare un semplice origami senza significato. A tal proposito, è stato utilizzato un supporto amagnetico fatto di legno posizionato sull'addome del partecipante, sul quale egli poteva appoggiare le mani, per eseguire il compito richiesto. Durante entrambe le run, lo sperimentatore è stato presente all'interno della sala di acquisizione in modo da fornire al soggetto il foglio di carta da piegare per l'esecuzione del compito. Anche per questo compito è stato utilizzato un disegno sperimentale event-related.

Durante il compito il partecipante indossava dai visori per cui non poteva vedere le proprie mani. Ciascuna run (Fig.28) era costituita da una successione di eventi caratterizzati dalla presentazione iniziale di una schermata di istruzione della durata di 2 secondi nella quale veniva presentata la scritta "Osserva" (INSTR). Successivamente vi era la presentazione del video del modello, da osservare attentamente, dalla durata di 16 secondi (OBS_TO_IMI): in questo caso sono stati utilizzati in maniera randomizzata gli stessi 16 video usati nelle run di OBS. Al termine del video veniva presentata al soggetto una schermata di preparazione con la scritta "Ripeti l'azione" (PREP) della durata di 2 secondi. Subito dopo, seguiva la presentazione di un grande cerchio verde ("semaforo") che indicava al soggetto la condizione di imitazione dell'azione precedentemente osservata (EXE). Contemporaneamente lo sperimentatore consegnava al partecipante il materiale per eseguire il compito ovvero un foglio di carta (dimensioni 20 x 20 cm). Le mani dello sperimentatore non erano visibili al soggetto, in quanto quest'ultimo indossava i visori. Il compito di imitazione aveva una durata di 16 secondi al termine dei quali lo sperimentatore rimuoveva il foglio dalle mani del soggetto. Dopo la fase di EXE, infine, seguiva un periodo di riposo della durata di 16 secondi (Rest) il quale prevedeva che il partecipante rimanesse semplicemente fermo e rilassato mantenendo lo sguardo sulla croce di fissazione bianca. La successione di eventi istruzioni-video-preparazione-imitazione-rest veniva ripetuta, per ciascuna run, 8 volte.

RUN 3 E 4: IMITAZIONE DI AZIONI

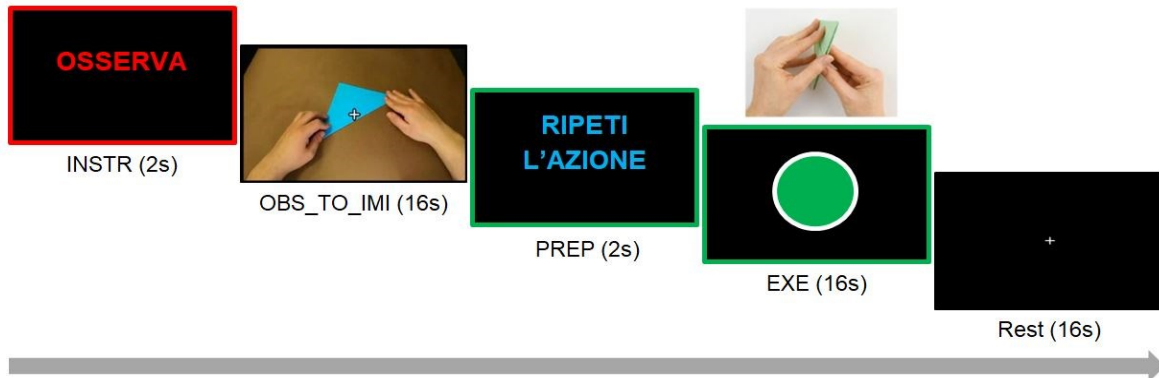


Figura 28 Timeline delle Run (3 e 4) di imitazione di azioni.

3.3.7 PROCEDURA SPERIMENTALE

Lo studio fMRI ha avuto luogo presso la Torre delle Medicine dell'Azienda Ospedaliero-Universitaria di Parma. All'arrivo, i partecipanti potevano familiarizzare con l'ambiente di risonanza e con la procedura sperimentale. Dopo la compilazione della modulistica, i partecipanti erano sottoposti alla valutazione neuropsicologica come descritto in precedenza (solo MMSE e l'Edinburgh Test per il gruppo di controllo di adulti, esame neuropsicologico esteso per i pazienti). Le istruzioni iniziali del compito di osservazione (OBS) sono state fornite tramite l'utilizzo di un foglio A4, contenente una rappresentazione grafica delle stesse, insieme ad indicazioni verbali e alla visione di filmati ed immagini esemplificative.

A tal proposito, per evitare di rendere troppo difficile il compito nello scanner, reso già di per sé non semplice dal fatto che i partecipanti non avevano modo di vedere le loro mani durante l'esecuzione delle pieghe sul foglio, un training con funzione di catch trials è stato

eseguito durante la spiegazione del compito al partecipante fuori dallo scanner. Tale training prevedeva la presentazione di 10 video, analoghi a quelli presentati nell'esperimento vero e proprio all'interno dello scanner, che riproducevano delle mani che eseguivano delle pieghe con un foglio di carta colorato (verde, arancione o celeste): al partecipante veniva richiesto di osservare il video e, quando esso si interrompeva, di rispondere il più velocemente possibile, premendo il tasto destro o il tasto sinistro della tastiera, indicando il colore del foglio che aveva visto piegare dal modello scegliendo tra due possibili alternative di colore presentate sullo schermo del PC sulla destra o sulla sinistra (tasto destro per indicare il colore sulla destra dello schermo, tasto sinistro per indicare il colore sulla sinistra dello schermo). Prima dei catch trials veri e propri ai partecipanti è stata presentata una prova d'esempio. Per la presentazione degli stimoli e la registrazione delle risposte è stato utilizzato il software E-Prime 2 Professional (Psychology Software Tools, Inc., <http://www.pstnet.com>). Infine, ai partecipanti è stata fornita l'indicazione di non eseguire nessun movimento volontario durante il compito di osservazione nello scanner e di concentrarsi esclusivamente sullo schermo e sulle mani dell'attore.

Subito dopo, i partecipanti venivano invitati a prepararsi per la procedura di acquisizione delle immagini funzionali ed entravano nello scanner in posizione supina. Gli stimoli visivi venivano presentati in visione binoculare, mediante l'uso di visori LCD (VisuaStim-SVGA-Resonance Technology, USA) dotati di una risoluzione 800x600 pixel, un campo visivo orizzontale di 30° e un refresh rate di 60 Hz. Inoltre, è stato utilizzato un sistema di cuffie con meccanismo pneumatico per attutire di 30 dB il rumore provocato dal sistema MR durante la seduta. Il segnale digitale è stato trasmesso allo scanner mediante fibra ottica. I partecipanti svolgevano le due run funzionali del compito di osservazione della durata di 7 minuti e 46 secondi ciascuna (15 minuti e 32 secondi totali) intervallate da uno o due minuti di pausa trascorsi all'interno dello scanner.

Al termine del compito di osservazione, i partecipanti uscivano dallo scanner e venivano condotti in una sala dove venivano fornite accuratamente le istruzioni per il compito di esecuzione di azioni, tramite l'utilizzo di un foglio A4 contenente una rappresentazione grafica delle stesse, insieme ad indicazioni verbali dettagliate comprendenti la richiesta di non eseguire movimenti troppo bruschi e di cercare il più possibile di rimanere fermi con la testa e di limitare i movimenti delle mani in modo da non coinvolgere le braccia o le spalle. Infine, per far prendere confidenza con il compito sperimentale e abituare il partecipante ad eseguire le pieghe senza vedere le proprie mani, gli veniva fatta fare una prova fuori dallo scanner per la quale gli veniva chiesto di osservare al PC un video che riproduceva delle mani che piegavano il foglio di carta e successivamente, una volta passato il foglio, gli si chiedeva di provarlo a piegarlo allo stesso modo di come aveva visto fare dal modello, ma con gli occhi chiusi, perciò senza la possibilità di vedere le proprie mani.

Una volta compreso il compito, i partecipanti venivano riaccompagnati all'interno dello scanner dove procedevano con l'esecuzione delle due run funzionali del compito di esecuzione di azioni (IMI), intervallate da uno o due minuti di pausa. Ciascuna delle ultime due run durava 7 minuti e 10 secondi per un totale di 14 minuti e 20 secondi. Infine, durante le due run di imitazione la performance del partecipante è stata videoregistrata in modo da poter ottenere i tempi effettivi di esecuzione delle sequenze motorie e da modellizzare la durata di ciascuna azione all'interno del modello statistico valutando quantitativamente e qualitativamente la prestazione comportamentale del soggetto. Tale videoregistrazione è stata effettuata posizionando la videocamera GoPro di fronte allo schermo presente nella sala di acquisizione sul quale veniva trasmessa la performance comportamentale del soggetto, ripresa a sua volta da una videocamera posta all'interno dello scanner sopra la sua testa.

3.3.8 ACQUISIZIONE DELLE IMMAGINI DI RISONANZA MAGNETICA

Le immagini morfologiche e funzionali sono state acquisite mediante il tomografo operante a 3 Tesla (GE Discovery MR750), sito presso l'Azienda Ospedaliera Universitaria di Parma (PR), equipaggiato con una bobina di ricezione testa ad 8 canali. Tutte le immagini funzionali sono state acquisite mediante sequenza T2* Gradient-Echo Echo Planar Imaging (EPI) con TR = 2000 ms e 40 slices. Per ciascuna delle run di osservazione sono stati acquisiti 229 volumi mentre per ogni run di imitazione sono stati acquisiti 211 volumi.

In aggiunta alle immagini funzionali, è stato acquisito un volume morfologico 3D ad alta risoluzione spaziale (3D BRAVO MIK) (GE Healthcare), con i seguenti parametri: section thickness, 0.9 mm; TR/TE, 12.36/5.18 ms; flip angle, 13°. Il protocollo prevedeva inoltre nel caso di un solo paziente anche due sequenze di immagini pesate in diffusione per la ricostruzione traggografica (DTI) (64 direzioni, + 8 misure senza peso di diffusione).

3.3.9 PREPROCESSING DEI DATI fMRI

Le analisi di preprocessing delle immagini funzionali sono state eseguite mediante il software SPM12 (Wellcome Department of Imaging Neuroscience, University College, London, UK) operante su piattaforma MATLAB R2020b (The Mathworks, Inc., Natick, MA). I primi quattro volumi EPI di ogni sessione funzionale sono stati scartati per consentire la stabilizzazione del segnale RM. Per ogni soggetto, tutti i volumi sono stati corretti implementando le routine di riallineamento spaziale, slice-timing correction, coregistrazione anatomico-funzionale, normalizzazione al template del Montreal Neurological Institute (MNI) e smoothing spaziale. Riguardo i pazienti, la procedura di

normalizzazione è stata eseguita mediante un'analisi indiretta utilizzando i parametri calcolati tramite la segmentazione della loro immagine anatomica.

3.3.10 ANALISI STATISTICA DEI DATI fMRI DEL GRUPPO DI SOGGETTI GIOVANI (VALIDAZIONE PARADIGMA)

I dati sono stati analizzati utilizzando un random-effects model (Penny e Holmes, 2007) e una procedura a due livelli. Nel primo livello, le risposte fMRI di ciascun soggetto sono state modellizzate usando il Modello Lineare Generale (GLM) in una matrice che comprendeva l'inizio (in secondi) dei blocchi sperimentali (onsets) e le rispettive durate per ogni condizione. Il modello GLM includeva 4 regressori: OBS_PASS, OBS_CTRL, OBS_TO_IMI, EXE.

Per le analisi statistiche di gruppo (analisi di secondo livello) sono stati calcolati gli effetti principali delle condizioni sperimentali vs baseline (t contrast). Le immagini di primo livello di ogni partecipante (NIFTI), con il loro contrasto vs baseline corrispondente, sono state inserite in un'ANOVA FLEXIBLE per misure ripetute con correzione della sfericità (Friston et al., 1995). Infine, per evidenziare le attivazioni condivise, fra le condizioni OBS_PASS & EXE ma anche tra le condizioni OBS_TO_IMI & EXE, è stata effettuata una conjunction analysis. Inoltre è stato calcolato il contrasto tra due condizioni sperimentali (OBS_TO_IMI vs OBS_PASS).

Il test t di Student è stato utilizzato per valutare la significatività delle differenze del segnale BOLD nei contrasti tra le condizioni.

3.3.11 ANALISI STATISTICA DEI DATI fMRI DEL GRUPPO DI PAZIENTI (MCI E AD) E DEL GRUPPO DI ADULTI SANI (CTRL)

I dati sono stati analizzati utilizzando un fixed-effects model. L'analisi fMRI è stata modellizzata allo stesso modo di quanto descritto in precedenza per il gruppo di soggetti giovani. In nessuno dei due gruppi considerati è stato tuttavia calcolato il contrasto tra la condizione OBS_TO_IMI e la condizione OBS_PASS data la scarsa numerosità del campione. Infine, per mostrare le attivazioni degli adulti sani è stata effettuata un overlap delle attivazioni dei 4 soggetti mediante una procedura di calcolo eseguita su SPM (Imaging calculator).

3.3.12 ANALISI TRATTOGRAFICA DEL PAZIENTE 1 (MCI)

Sul paziente 1 con diagnosi di MCI, durante la sessione MRI, è stato possibile acquisire delle immagini pesate in diffusione (DTI) per la ricostruzione trattografica.

Il Diffusion Tensor Imaging (DTI) consiste nell'applicazione di gradienti di diffusione in direzioni multiple. Essa è una tecnica che consente di stimare, oltre la velocità di diffusione delle molecole di acqua, anche misure relative alla quantità di anisotropia e alla direzione principale della diffusione. Le misure che si ottengono con il DTI vengono utilizzate per studiare proprietà della sostanza bianca e per indagare la connettività anatomica come ad esempio le connessioni tra regioni cerebrali attraverso le fibre assionali. Uno degli indici fondamentali che è possibile ottenere con questa tecnica è l'anisotropia frazionaria (Fractional Anisotropy, FA) la quale indica la quantità di diffusione anisotropa, ossia quanto l'acqua si diffonde prevalentemente in una direzione rispetto alle altre, e varia da 0 a 1. Tale valore è considerato dalla letteratura scientifica un marker di integrità dei tratti di sostanza bianca: una riduzione della diffusione anisotropa è

associata ai processi di invecchiamento fisiologico ma anche in processi patologici neurodegenerativi come quelli che si manifestano nella Malattia di Alzheimer (Sacco, 2012).

Le immagini così ottenute, dopo essere state convertite dal formato NiFTI 3D al formato 4D (.nii.gz) mediante il software DCM2NIIGUI, sono state preprocessate mediante il software FSL 6.0. A tal proposito l'analisi prevedeva l'isolamento del cervello rispetto al cranio (BET brain extraction), la correzione dei movimenti della testa (topup) ed infine l'eddy current correction volta alla correzione delle correnti indotte e degli artefatti dovuti al campo magnetico statico. Successivamente si è effettuata un'analisi BEDPOSTX volta alla ricostruzione probabilistica del tensore di diffusione, il quale fornisce la direzione dell'anisotropia e i parametri di diffusione in ogni voxel. In seguito, si è eseguita la registrazione dei risultati BEDPOSTX allo spazio MNI passando attraverso una coregistrazione dei risultati con l'immagine anatomica del paziente: questo step è fondamentale per confrontare i risultati della trattografia sul paziente con i risultati presenti in letteratura.

Infine, i risultati sono stati importati in DSI STUDIO 2021 per la ricostruzione trattografica. Tale analisi permette di tracciare in-vivo la traiettoria di fasci di fibre restituendone una visualizzazione tridimensionale con una risoluzione spaziale nell'ordine dei mm. Gli algoritmi di trattografia usano le informazioni relative alla quantità di diffusione anisotropa e all'orientamento di massima diffusione per stimare i percorsi di massima coerenza di diffusione: seguendo voxel per voxel la direzione della massima diffusione, si "ricostruisce" la traiettoria della fibra (Sacco, 2012).

A tal proposito un algoritmo deterministico di fiber-tracking è stato utilizzato per ricostruire tutti i fasci. Le aree anatomiche selezionate dall'atlante di Yeh e collaboratori (2018) sono state utilizzate come regioni di interesse per la ricostruzione dei tratti sia nella T1

normalizzata del paziente che nel template del gruppo di controllo (ch2) il quale, risulta dalla media di 1065 soggetti. Il numero di tratti da ricostruire inserito, per tutti i fasci di fibre, è stato pari a 5000.

La selezione dei tratti di interesse per la trattografia si basa sullo studio di connettomica dell'ippocampo di Maller e collaboratori (2019), i quali hanno dimostrato che i fasci di fibre più rappresentativi che passano per questa struttura cerebrale risultano essere il fascicolo longitudinale inferiore (ILF), il cingolo e il corpo calloso (CC). A tal riguardo, la meta-analisi DTI condotta dal gruppo di Lo Buono (2019) ha evidenziato come tra i principali fasci di sostanza bianca che risultano essere neuropatologicamente alterati nella Malattia di Alzheimer rientrano primariamente il cingolo, l'ILF, il corpo calloso e il già citato SLF. In via esplorativa si è quindi verificata anche l'integrità anatomica di questi tratti nel paziente.

In particolare, i tratti d'interesse ricostruiti sono stati, nel complesso, le tre branche dell'SLF, l'ILF, il CC, i fasci che attraversano il giro del cingolo (cingulate bundle, da qui in poi "cingolo"), i fasci che connettono reciprocamente l'ippocampo (HC) e la corteccia parietale posteriore (PPC) (da qui in poi "tratti PPC-HC").

L'SLF, nella sua ricostruzione, è stato suddiviso rispettivamente in SLF1, che collega la corteccia premotoria dorsale con il lobulo parietale superiore, SLF2, che collega la corteccia premotoria ventrale con il solco intraparietale, e SLF3, che collega il giro frontale inferiore con il lobulo parietale inferiore. Le tre divisioni dell'SLF collegano quindi aree cerebrali coinvolte sia nell'osservazione che nell'esecuzione delle azioni e perciò, in relazione al task mirror fMRI eseguito dal paziente, risulta essere interessante studiarle dal punto di vista anatomico.

Nella Malattia di Alzheimer risultano essere primariamente intaccate dal processo neuropatologico le aree temporo-mesiali ed in particolare l'ippocampo (Braak e Braak,

1991). Inoltre, le alterazioni cerebrali tipiche della patologia a carico del lobo parietale possono verosimilmente portare ad una degenerazione dei tratti parietali che connettono reciprocamente la PPC, fondamentale per il processamento delle informazioni visuospatiali nonché per la trasformazione visuomotoria, con l'ippocampo, struttura cerebrale di importanza cruciale per la memoria (Jacobs et al., 2012). Sulla base di ciò e assumendo come ipotesi che una degenerazione parietale renda estremamente difficile per il soggetto eseguire un compito di imitazione di azioni come quello previsto dallo studio fMRI descritto poc'anzi, in via esplorativa sono stati ricostruiti nel paziente tutti i fasci di fibre che interconnettono la PPC con l'ippocampo (tratti PPC-HC).

Tutti i tratti considerati nell'analisi sono stati ricostruiti nell'emisfero sinistro, sulla base del fatto che il paziente era destrimane, in accordo con la letteratura che mostra una maggiore attivazione del sistema specchio nell'emisfero controlaterale alla mano dominante.

Tutti i tratti sono stati ricostruiti con una soglia di tracking di 0.11, tranne che per i tratti PPC-HC (soglia 0.21 per il paziente, e 0.11 per il template di controllo) e il fascio del cingolo fronto-paraippocampale (soglia 0.05).

Per la ricostruzione dell'intero CC e del fascio del cingolo è stata effettuata una ricostruzione multipla, che comprende tutti i settori di queste strutture. In particolare, il CC comprende body, forceps major e minor, e tapetum. Inoltre, il fascio del cingolo comprende il cingolo fronto-parietale, fronto-para-ippocampale, parieto-para-ippocampale e cingolo anteriore.

Dopo l'analisi trattografica, per ciascun tratto ricostruito è stata calcolata infine la FA.

RISULTATI – CAPITOLO 4

4.1 RISULTATI STUDIO COMPORTAMENTALE

Riguardo lo screening neuropsicologico, il gruppo di pazienti nel suo complesso ha riportato un punteggio (grezzo) medio al MMSE di 23.4 con una deviazione standard di 2.5. In particolare, il gruppo dei pazienti MCI ha ottenuto un punteggio (grezzo) medio di 24.2 con una deviazione standard di 2.8 mentre il gruppo dei pazienti AD ha riportato un punteggio medio (grezzo) di 22.3 con una deviazione standard di 1.7 (Fig. 29). Tutti i pazienti hanno riportato un punteggio di 0/3 nella sotto-prova di rievocazione mnemonica differita.

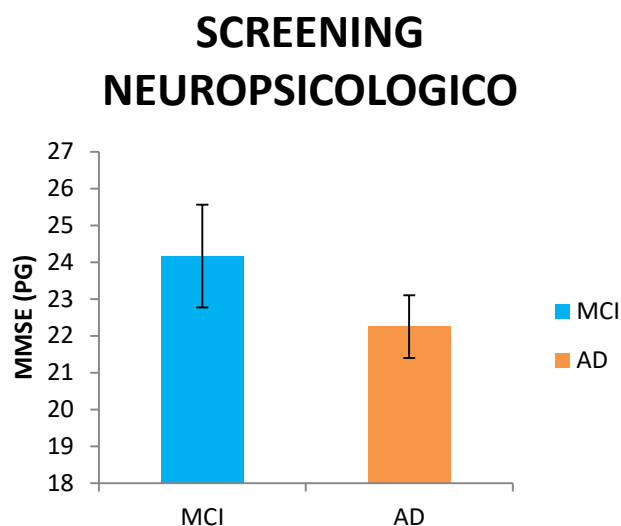


Figura 29 Punteggio grezzo riportato dai pazienti inclusi nello studio (MCI o AD).

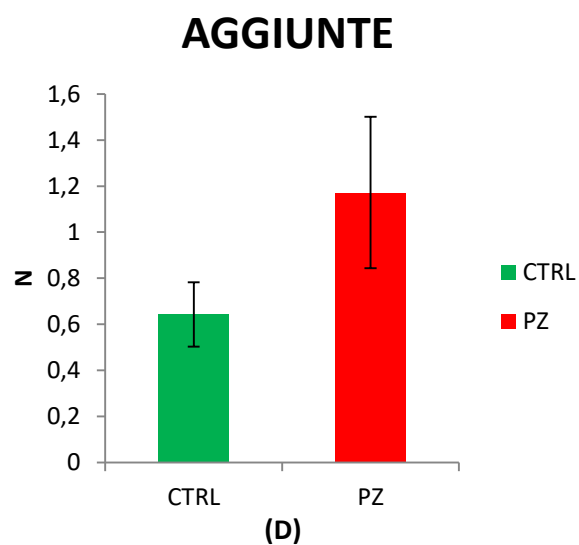
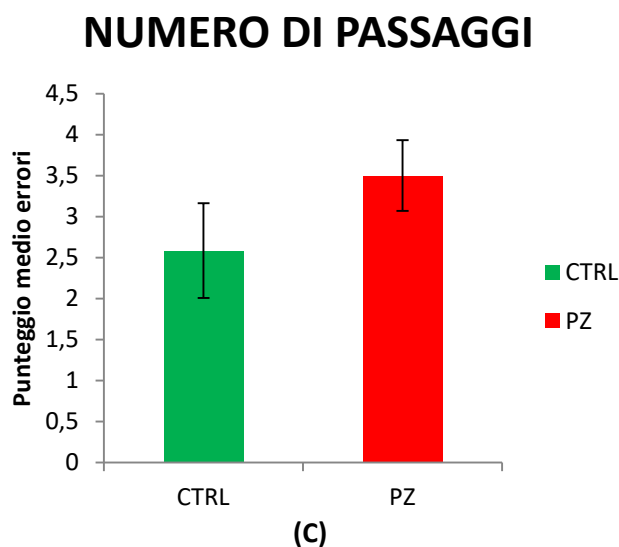
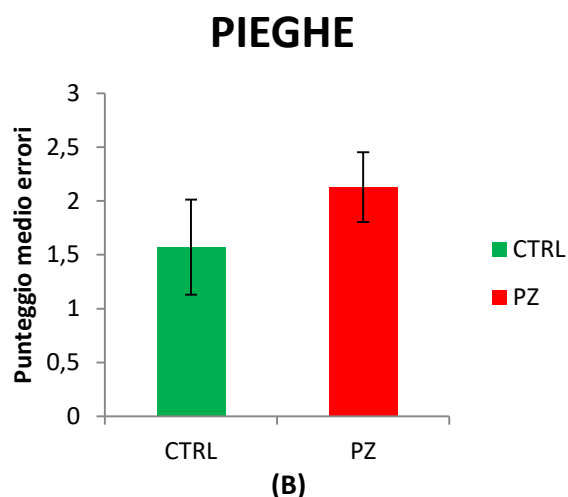
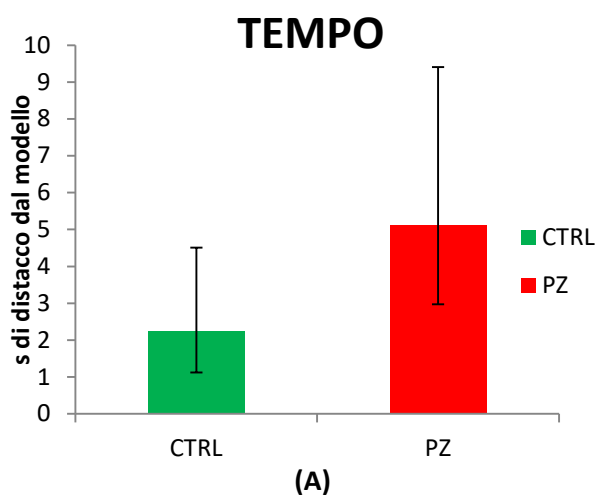
Correggendo i punteggi MMSE dei pazienti per età e scolarità si è ottenuto un punteggio medio complessivo di 21.5 con una deviazione standard di 2.7. In particolare, nei pazienti MCI si è riportato un punteggio medio di 22.4 con una deviazione standard di 3 mentre

nei pazienti AD si è ottenuto un punteggio medio di 20.2 con una deviazione standard di 1.7.

Per quanto riguarda la prova “Origami Online”, dai confronti effettuati all’interno delle diverse variabili tra i punteggi del gruppo di controllo e il gruppo di pazienti, non sono emerse differenze nelle seguenti variabili: Utilizzo mano destra, Utilizzo di entrambe le mani, Numero di pieghe, Aggiustamenti, Sostituzioni, Pieghe errate, Ripetizioni, Rotazioni (valore con segno).

Dalle analisi condotte sulle altre variabili è invece emerso che, considerando sempre il confronto con il modello, i pazienti impiegano in media più tempo rispetto ai controlli per completare le sequenze presentate ($5.12 \text{ s} \pm 4.29$ nei pazienti vs $2.25 \text{ s} \pm 2.26$ nei controlli, Fig. 30A). Inoltre, i pazienti tendono a commettere in media più errori nell’esecuzione delle pieghe quando confrontati con i controlli (2.13 ± 0.65 nei pazienti vs 1.57 ± 0.88 nei controlli, Fig. 30B). I pazienti compiono in media più errori nell’esecuzione complessiva della sequenza rispetto ai controlli (3.50 ± 0.86 nei pazienti vs 2.59 ± 1.15 nei controlli, Fig. 30C). I pazienti tendono inoltre in media ad aggiungere più passaggi non presenti nelle sequenze di quanto non facciano i controlli (1.17 ± 0.66 nei pazienti vs 0.64 ± 0.28 nei controlli, Fig. 30D). Oltre a ciò, i pazienti in media omettono più passaggi nell’esecuzione delle sequenze presentate rispetto ai controlli (1.37 ± 0.64 nei pazienti vs 0.93 ± 0.70 nei controlli, Fig. 30E). Considerando il valore assoluto della variabile “rotazioni”, i pazienti commettono in media più errori in confronto ai controlli (0.71 ± 0.20 nei pazienti vs 0.59 ± 0.44 nei controlli, Fig. 30F). Infine, i pazienti in media utilizzano maggiormente la mano sinistra in maniera non pertinente rispetto ai controlli (1.19 ± 0.30 nei pazienti vs 0.90 ± 0.40 nei controlli, Fig. 30G) e nello specifico i pazienti tendono in media ad utilizzarla meno in confronto ai controlli (-1.16 ± 0.31 nei pazienti vs -0.85 ± 0.38 nei controlli, Fig. 30H). Di tutte queste differenze, tuttavia, nessuna si è dimostrata essere significativa riportando un *p*-value superiore alla soglia standard di 0.05.

Per il calcolo delle correlazioni nel gruppo dei pazienti si sono considerati i punteggi MMSE e le variabili sopracitate nelle quali è emersa una differenza tra il gruppo di pazienti e quello di controllo. Da premettere che nessuna delle correlazioni riportate si è dimostrata essere significativa ($p > 0.05$). Tuttavia, a livello qualitativo si è dimostrata una correlazione di moderata intensità ($r = 0.4$) di segno positivo tra i punteggi allo screening neuropsicologico e le prestazioni dei soggetti alla prova Origami, in relazione alla variabile "Utilizzo mano sinistra (valore assoluto)". Inoltre, era presente una correlazione di segno negativo con le variabili Tempo, Omissioni e Utilizzo mano sinistra (valore con segno). Riguardo alle altre variabili, le correlazioni con i punteggi MMSE dei pazienti si sono rivelate essere, in termini di intensità, molto deboli o del tutto assenti.



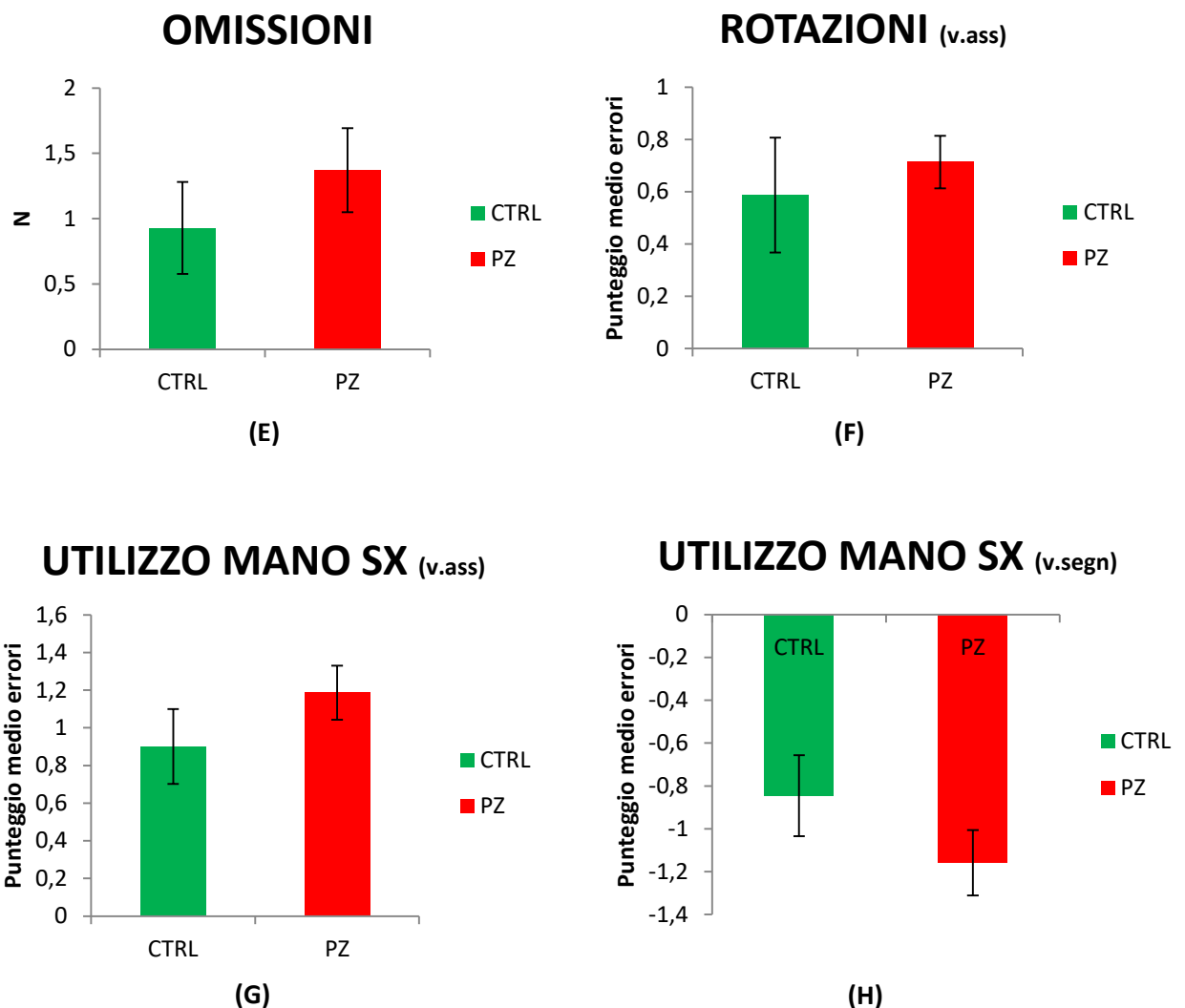


Figura 30 Differenze di prestazione tra il gruppo di controllo e il gruppo di pazienti nella prova comportamentale “Origami Online”. Nessuna differenza è risultata essere tuttavia significativa ($p \geq 0.05$).

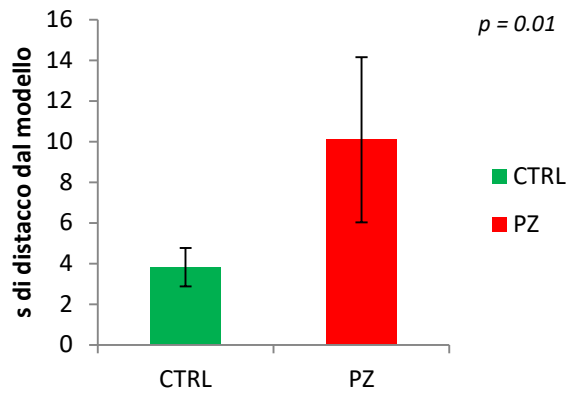
Per quanto riguarda la prova “Tinker Online”, dai confronti tra i punteggi del gruppo di controllo e il gruppo di pazienti non sono emerse differenze nelle seguenti variabili: Utilizzo mano destra, Utilizzo mano sinistra (valore assoluto), Elementi Utilizzati, Perseverazioni, Aggiunte, Rotazioni (valore assoluto), Ripetizioni.

È invece emerso che, considerando sempre il confronto rispetto al modello, i pazienti impiegano in media più tempo a terminare le sequenze rispetto ai controlli (10.09 ± 8.12 nei pazienti vs 3.82 ± 1.89 nei controlli, Fig. 31A). I pazienti compiono inoltre in media più errori nel collocare gli elementi presenti nelle sequenze in confronto ai controlli ($1.49 \pm$

0.60 nei pazienti vs 0.71 ± 0.33 nei controlli, Fig. 31B) e compiono in media più errori nell'identificare correttamente gli oggetti da utilizzare rispetto ai controlli (0.67 ± 0.46 nei pazienti vs 0.19 ± 0.23 nei controlli, Fig. 31C). Oltre a ciò, i pazienti tendono in media ad apportare più aggiustamenti alle configurazioni prodotte in confronto ai controlli (1.21 ± 0.61 nei pazienti vs 0.39 ± 0.41 nei controlli, Fig. 31D) e a compiere in media un maggior numero di omissioni (0.57 ± 0.29 nei pazienti vs 0.33 ± 0.15 nei controlli, Fig. 31E). Dal punto di vista dell'esecuzione complessiva delle sequenze presentate, i pazienti mostrano in media una performance maggiormente deficitaria rispetto ai controlli (1.97 ± 0.58 nei pazienti vs 1.03 ± 0.4 nei controlli, Fig. 31F). Inoltre, i pazienti tendono maggiormente ad eseguire i passaggi presenti nelle sequenze in maniera diversa rispetto al modello di quanto non facciano i controlli (1.50 ± 0.74 nei pazienti vs 0.71 ± 0.33 nei controlli, Fig. 31G). Tutte queste differenze descritte finora si sono dimostrate essere significative con una soglia statistica di $p < 0.05$.

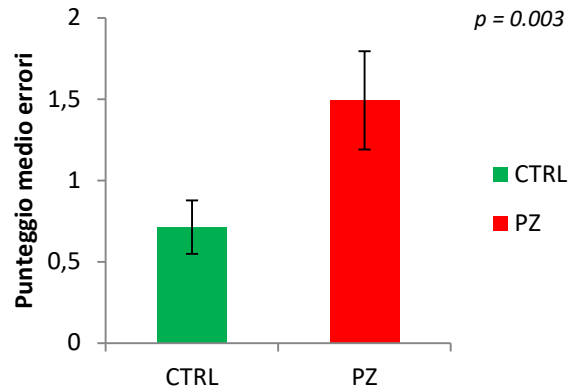
Ulteriori differenze, tuttavia dimostratisi successivamente non significative ($p > 0.05$), sono emerse nell'utilizzo della mano sinistra (valore con segno), con i pazienti che tendono in media ad utilizzare erroneamente la mano sinistra meno rispetto ai controlli (-0.32 ± 0.48 nei pazienti vs 0.14 ± 0.39 nei controlli, Fig. 31H), e nelle rotazioni (valore con segno), con i pazienti che mostrano in media di eseguire in maniera errata meno rotazioni nei confronti dei controlli (-0.34 ± 0.14 nei pazienti vs -0.1 ± 0.3 nei controlli, Fig. 31I).

TEMPO



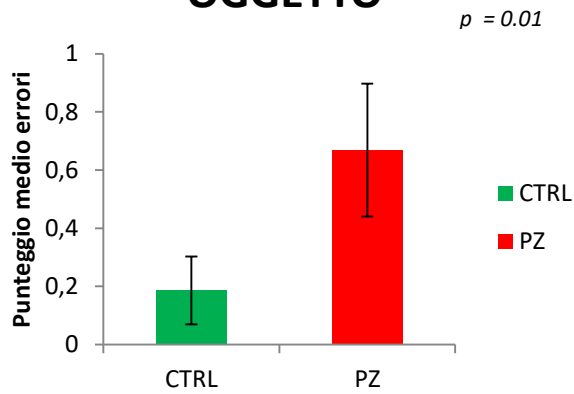
(A)

ELEMENTI COLLOCATI



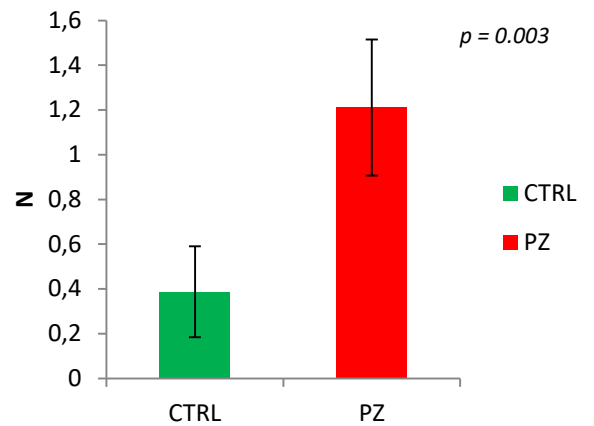
(B)

IDENTIFICAZIONE OGGETTO



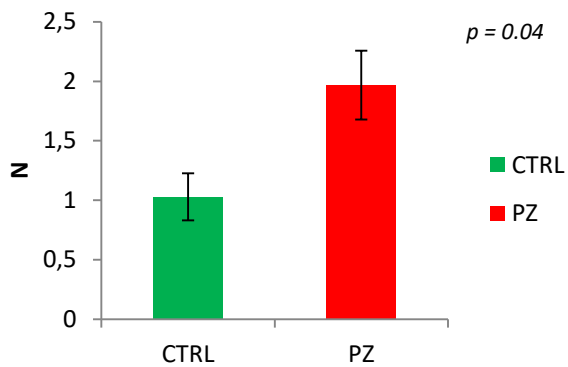
(C)

AGGIUSTAMENTI



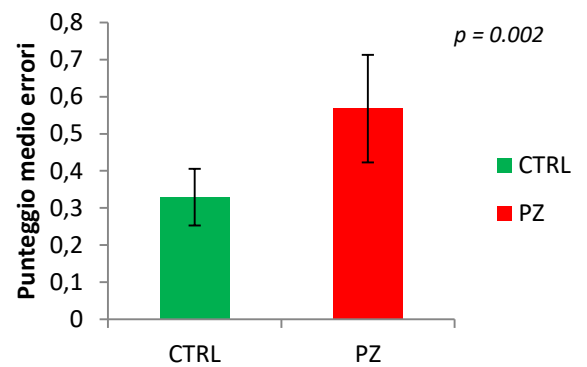
(D)

OMISSIONI



(E)

NUMERO DI PASSAGGI



(F)

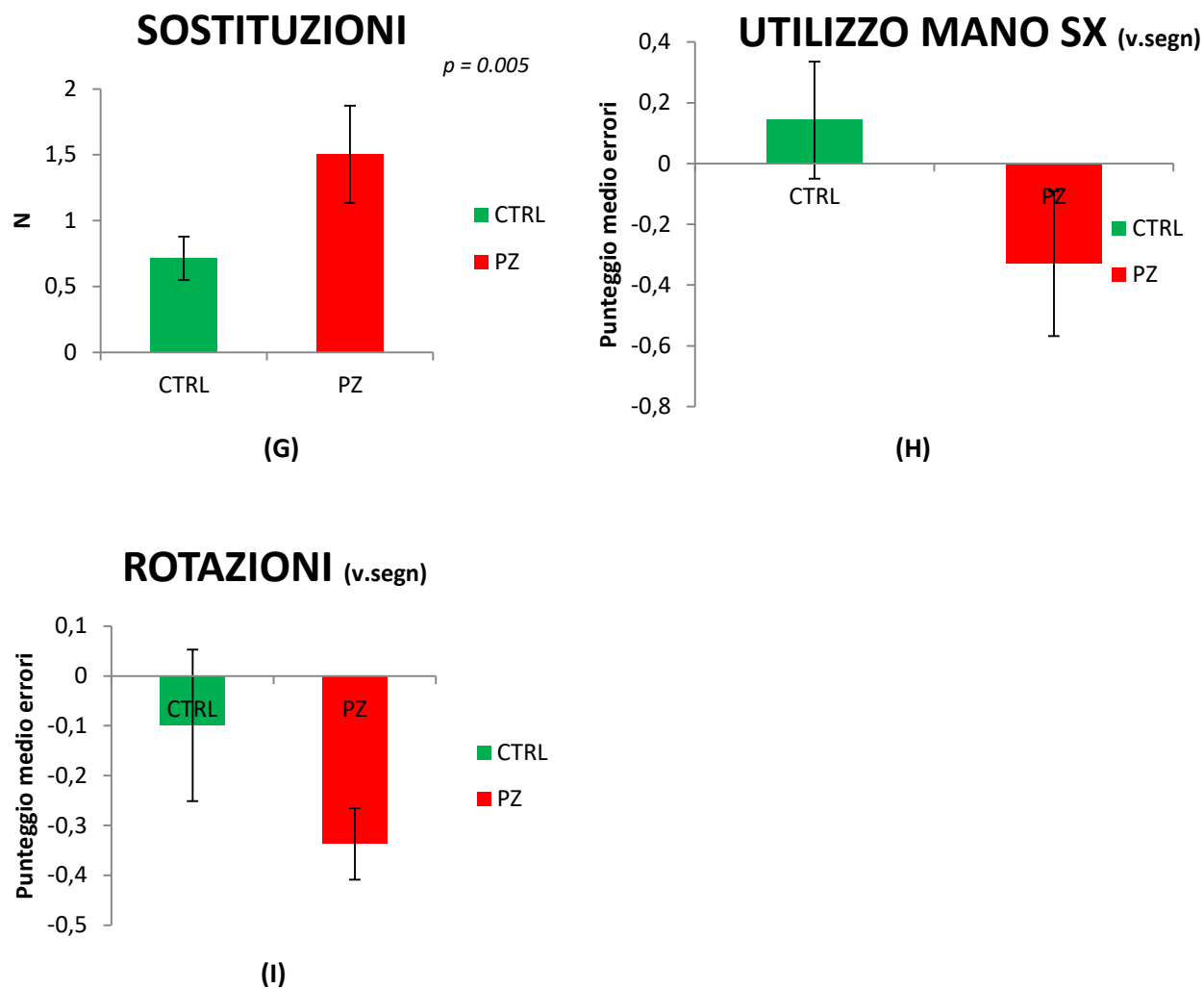


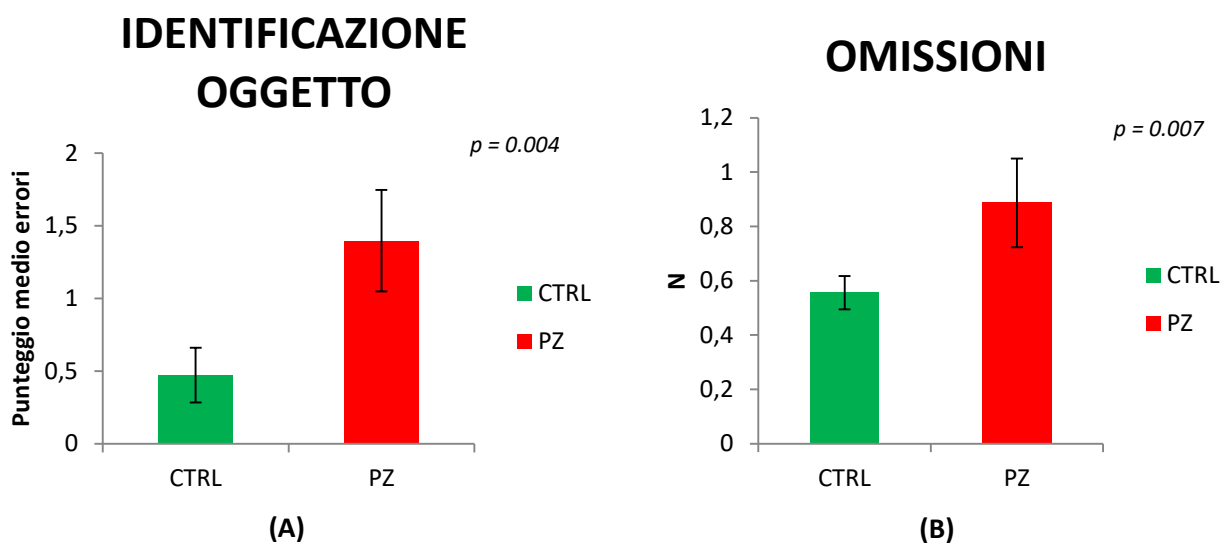
Figura 31 Differenze di prestazione tra il gruppo di controllo e il gruppo di pazienti nella prova comportamentale “Tinker Online”.

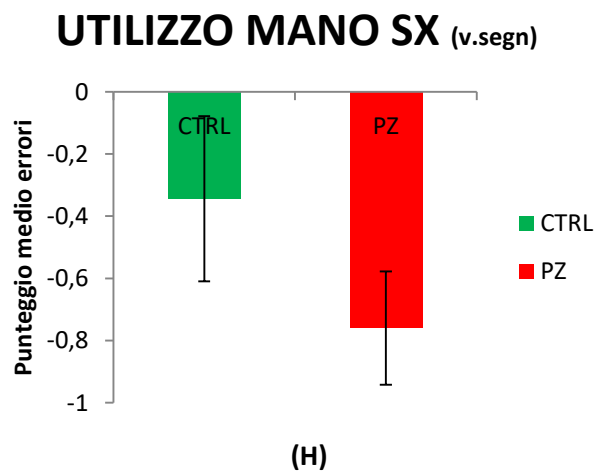
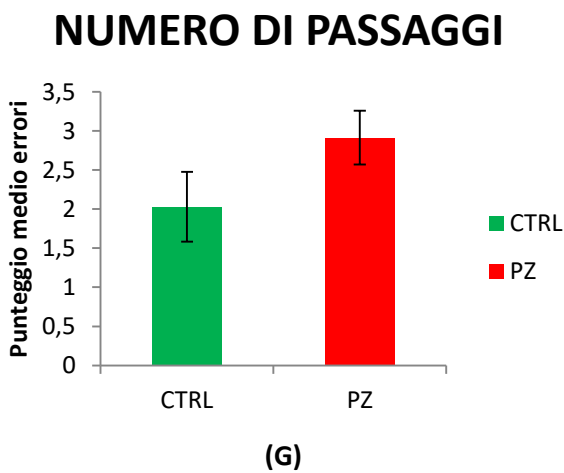
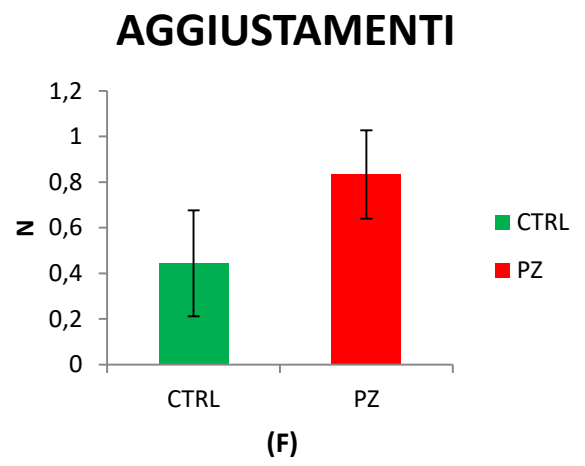
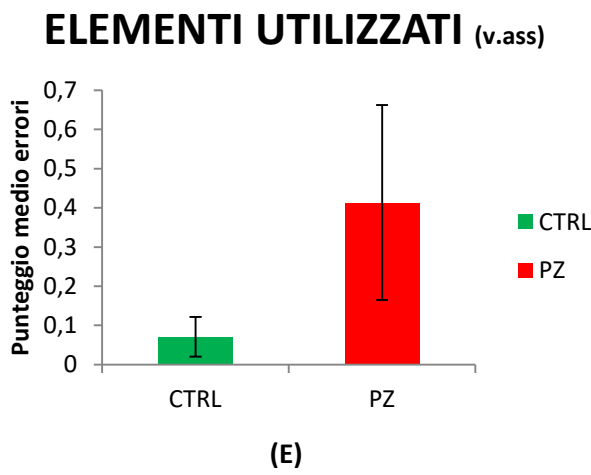
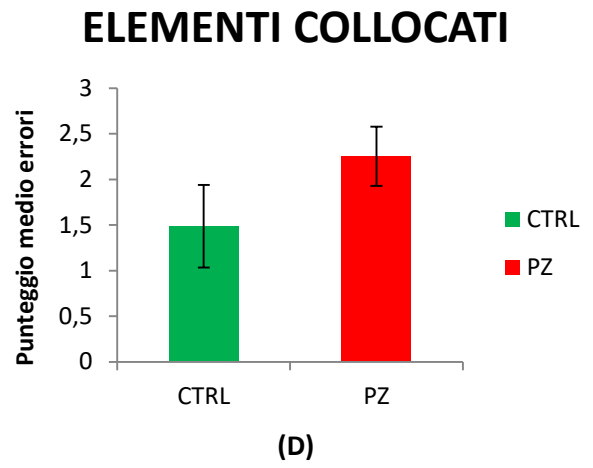
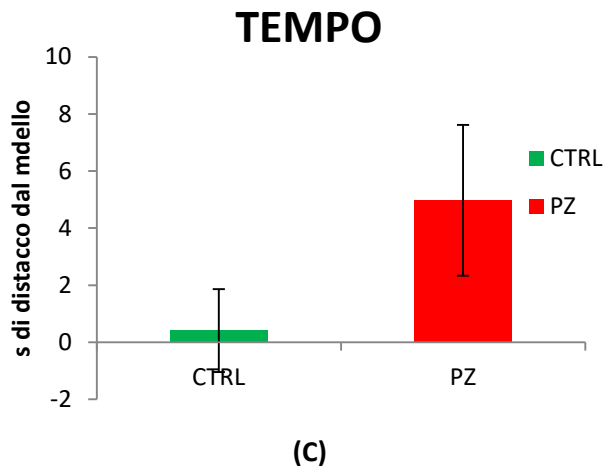
Per quanto riguarda la prova “Tinker Post”, dai confronti nelle diverse variabili tra i punteggi del gruppo di controllo e il gruppo di pazienti non sono emerse differenze nelle seguenti variabili: Utilizzo mano destra, Utilizzo mano sinistra (valore assoluto), Perseverazioni, Aggiunte, Sostituzioni, Rotazioni (valore assoluto), Ripetizioni, Elementi utilizzati (valore con segno).

Dalle analisi condotte nelle altre variabili è invece emerso che, considerando sempre il confronto rispetto al modello, i pazienti commettono in media più errori nell’identificare correttamente gli oggetti utilizzati nelle sequenze rispetto ai controlli (1.40 ± 0.70 nei pazienti vs 0.47 ± 0.38 nei controlli, Fig. 32A) e commettono in media più omissioni nel

compito (0.89 ± 0.33 nei pazienti vs 0.56 ± 0.12 nei controlli, Fig. 32B). Entrambe queste differenze si sono rivelate significative ($p < 0.05$).

Riguardo alle altre differenze che sono emerse tra i due gruppi in questa prova, tuttavia non significative ($p > 0.05$), si è dimostrato che i pazienti impiegano in media più tempo per terminare le sequenze presentate (4.98 ± 5.29 nei pazienti vs 0.41 ± 2.9 nei controlli, Fig. 32C) e compiono in media più errori nel collocare correttamente gli elementi, in confronto ai controlli (2.25 ± 0.65 nei pazienti vs 1.49 ± 0.9 nei controlli, Fig. 32D). I pazienti inoltre tendono in media ad utilizzare maggiormente in maniera meno pertinente al compito gli oggetti (0.41 ± 0.5 nei pazienti vs 0.07 ± 0.1 nei controlli, Fig. 32E) e ad aggiustare maggiormente le configurazioni prodotte, in confronto ai controlli (0.83 ± 0.39 nei pazienti vs 0.44 ± 0.46 nei controlli, Fig. 32F). Considerando nel complesso le sequenze presentate, i pazienti mostrano in media una performance maggiormente deficitaria rispetto ai controlli (2.91 ± 0.69 nei pazienti vs 2.03 ± 0.89 nei controlli, Fig. 32G). Infine, ulteriori differenze sono emerse tra i due gruppi nell'utilizzo della mano sinistra (valore con segno), in quanto i pazienti tendono in media ad utilizzare di meno la mano sinistra rispetto ai controlli (-0.76 ± 0.36 nei pazienti vs -0.34 ± 0.53 nei controlli, Fig. 32H), e nelle rotazioni (valore con segno), i pazienti eseguono meno rotazioni dei controlli (-0.54 ± 0.24 nei pazienti vs -0.4 ± 0.18 nei controlli, Fig. 32I).





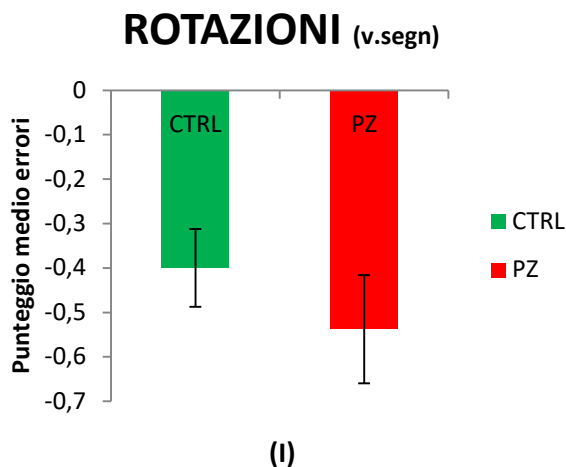


Figura 32 Differenze di prestazione tra il gruppo di controllo e il gruppo di pazienti nella prova comportamentale “Tinker Post”. Le differenze si sono dimostrate essere significative per le variabili “Oggetto corretto” e “Omissioni” ($p < 0.05$) ma non per le restanti ($p \geq 0.05$).

4.2 RISULTATI STUDIO fMRI SU GRUPPO DI SOGGETTI GIOVANI (VALIDAZIONE PARADIGMA)

Prima di effettuare lo studio fMRI sul gruppo di adulti sani e di pazienti, sono stati sottoposti all’esame di risonanza un piccolo gruppo di soggetti giovani (età media 25 anni, vedi Metodi) i quali hanno completato correttamente il compito previsto per questo studio pilota. Le attivazioni cerebrali sono riportate nella Figura 33. Ciascuna delle condizioni sperimentali è stata contrastata con la fase di riposo (rest). Le attivazioni sono presentate ad un livello di correzione $p = 0.001$ (non corrette per confronti multipli, unc.) eccetto dove indicato diversamente (nell’ultimo contrasto il valore p è infatti pari a 0.01).

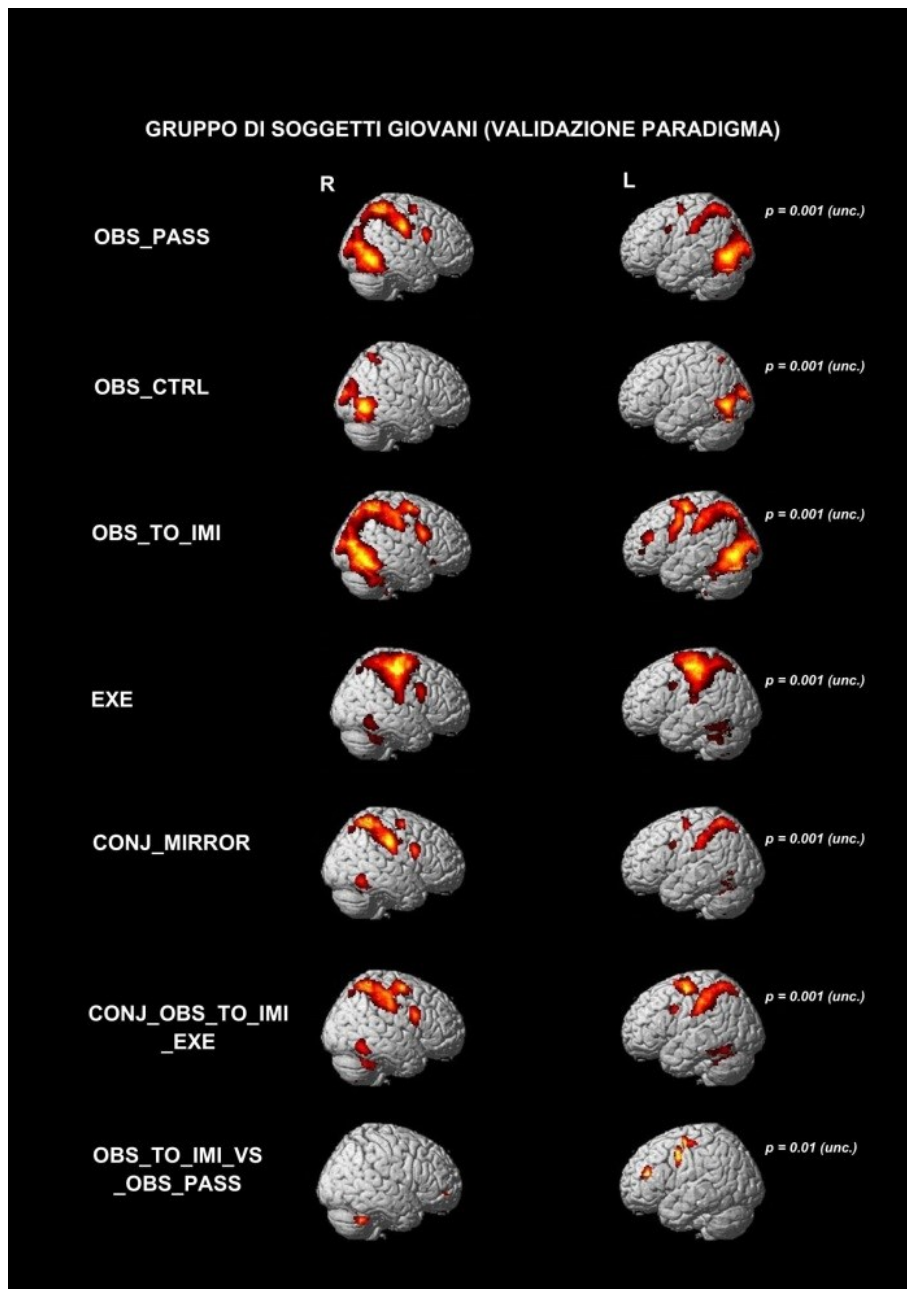


Figura 33 Attivazioni cerebrali riportate nello studio fMRI dal gruppo di soggetti giovani per ciascuna condizione sperimentale. Le mappe di attivazione sono visualizzate su un template medio normalizzato nello spazio MNI. R = Emisfero destro, L = Emisfero sinistro.

Nella condizione di osservazione passiva (OBS_PASS) è presente un pattern di attivazione bilaterale comprendente aree visive, parietali, temporali e frontali. Nello specifico si riscontra un'attivazione del settore posteriore del giro temporale medio, del lobulo parietale superiore (SPL) e inferiore (IPL), mentre a livello frontale vi è

un'attivazione della corteccia premotoria ventrale (PMv) e dorsale (PMd). Nonostante il compito osservato fosse bimanuale, si riscontra una maggiore intensità del segnale BOLD nell'emisfero destro.

Nella condizione di osservazione dei video di controllo (OBS_CTRL) le attivazioni riportate comprendono esclusivamente aree visive temporali posteriori bilateralmente, in aggiunta all'attivazione di un cluster nella corteccia parietale posteriore (PPC) destra.

Rispetto alle condizioni precedenti, nella condizione di osservazione per imitare (OBS_TO_IMI) il pattern di attivazione, pur essendo sempre bilaterale, è più esteso. Tale pattern comprende molte delle aree descritte nella condizione OBS_PASS e in aggiunta un'attivazione della corteccia prefrontale sinistra. Le attivazioni cerebrali risultano essere inoltre più simmetriche tra gli emisferi rispetto alla condizione OBS_PASS.

Durante la fase di imitazione (EXE) si riscontra un'attivazione bilaterale delle aree sensorimotorie classiche, come ci si potrebbe d'altronde aspettare durante l'esecuzione di un compito motorio bimanuale, insieme all'attivazione bilaterale della PMv e della PPC.

Per evidenziare le aree cerebrali comuni attive sia durante l'osservazione dell'azione (OBS_PASS) che durante l'esecuzione della stessa (EXE) è stata condotta una *conjunction analysis* tra queste due condizioni (CONJUNCTION_MIRROR) la quale ha mostrato come le aree parietali e premotorie risultano essere attive bilateralmente in entrambi le condizioni. Queste aree includono i nodi classici del sistema mirror, quali PMv e IPL, ma anche aree aggiuntive che fanno parte del sistema mirror esteso, quali la corteccia parietale superiore e la PMd.

Per evidenziare inoltre le aree cerebrali attive durante la fase di osservazione per imitare (OBS_TO_IMI) e durante l'imitazione (EXE), e per verificare se il sistema mirror risulti essere modulato nella sua attivazione quando lo scopo è quello di imitare l'azione

osservata, è stata eseguita una *conjunction analysis* tra queste due condizioni (CONJUNCTION OBS_TO_IMI_EXE). Tale conjunction mette in evidenza dei cluster di attivazione cerebrale simili a quelli ottenuti nella condizione OBS_TO_IMI, presenti in aree dorsali e ventrali appartenenti al sistema mirror esteso. Invece non risulta un'attivazione comune della corteccia prefrontale.

Infine, anche se il campione era costituito da un numero molto limitato di soggetti, una sottrazione tra la condizione OBS_TO_IMI e quella OBS_PASS (soglia di $p = 0.01$, non corretta per confronti multipli) ha rivelato una maggiore attivazione nell'emisfero sinistro della corteccia prefrontale e della PMv per la condizione dell'osservazione dell'azione con lo scopo di imitare, unitamente ad un'attivazione nell'emisfero cerebellare destro (Lobulo VI).

4.3 DESCRIZIONE STRUTTURALE MORFOLOGICA DELL'ATROFIA CORTICALE NEI PAZIENTI

La Figura 34 mostra, nei 4 pazienti coinvolti nello studio, la presenza di un gradiente posteriore di atrofia corticale che colpisce maggiormente le aree parietali come il precuneo e il lobulo parietale inferiore rispetto alle aree frontali che risultano essere maggiormente preservate. Tale gradiente è tipico dei pazienti appartenenti al continuum della Malattia di Alzheimer. In generale, è possibile apprezzare come a maggiore gravità dello stadio di malattia corrisponda una maggiore atrofia corticale. Tuttavia, questa relazione risulta essere modulata da diversi aspetti, come la riserva cognitiva e altre comorbidità individuali. Per esempio, la paziente AD 2, pur avendo una diagnosi biologica conclamata, presenta tuttavia una minima atrofia corticale, soprattutto a livello parietale, probabilmente dovuta ad una compensazione legata alla elevata scolarità (laurea magistrale). Inoltre, nonostante sia noto che l'ippocampo sia una struttura cerebrale

fortemente intaccata dalla neuropatologia di tipo AD, come è possibile notare nell'immagine, spesso e soprattutto nei pazienti più giovani vi è un interessamento più precoce e più marcato delle aree parietali rispetto a quelle temporo-mesiali.

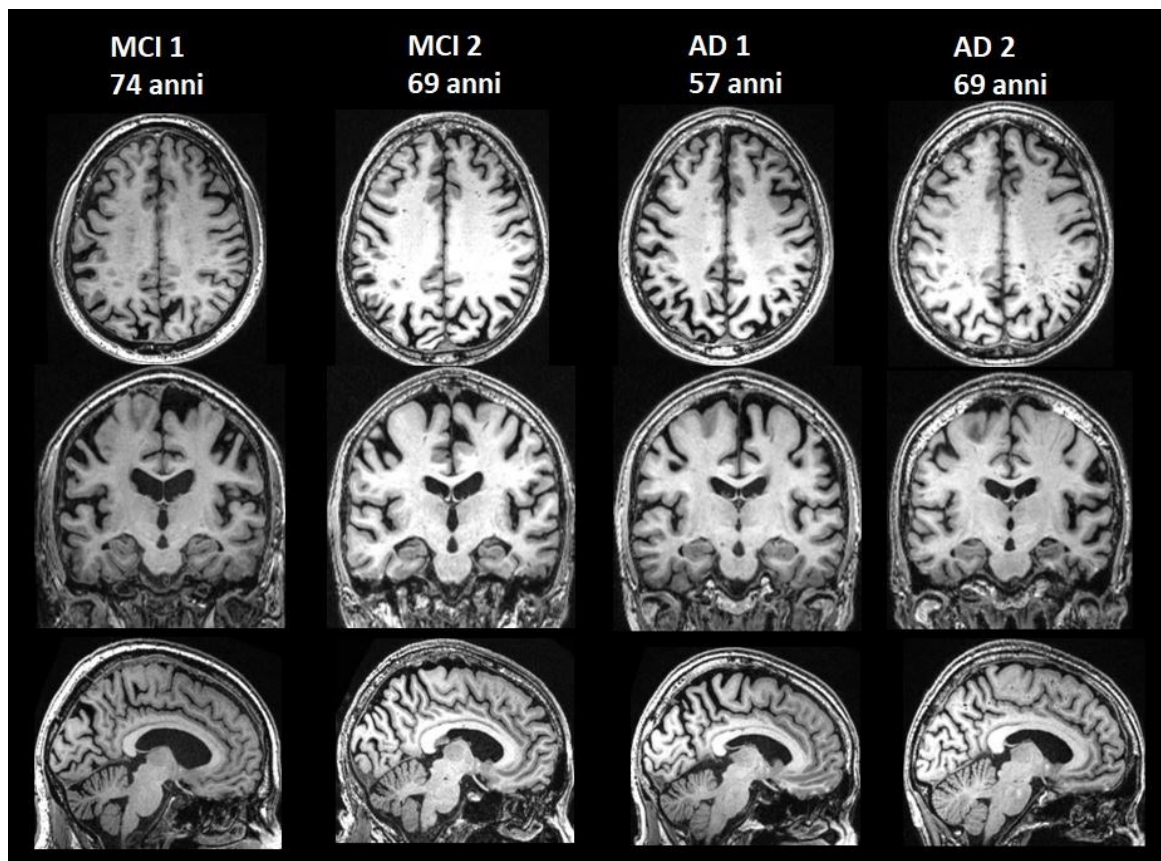


Figura 34 Sezioni assiale, coronale e sagittale ottenute dalla sequenza T1 normalizzata in ciascun paziente coinvolto nello studio. Le sezioni presentate per ogni paziente si riferiscono alla stessa coordinata MNI, consentendone una comparazione.

4.4 VALUTAZIONE NEUROPSICOLOGICA DEI PAZIENTI E DEGLI ADULTI SANI SOTTOPOSTI AL TASK fMRI

Il gruppo di controllo di adulti ha riportato allo screening neuropsicologico (MMSE) un punteggio grezzo medio di 28.3 con deviazione standard 0.5. Considerando le correzioni per età e scolarità tale punteggio medio è risultato essere di 26.1 con deviazione

standard 1.3. Nella tabella sottostante (Tab. 7) vengono riportati i punteggi grezzi dei pazienti ai test neuropsicologici.

	PZ_1 (MCI)	PZ_2 (MCI)	PZ_3 (AD)	PZ_4 (AD)
ADL	6	6	6	6
IADL	5	5	4	7
MMSE	27	25	22	23
DIGIT SPAN_FORWARD	6	5		
DIGIT SPAN_BACKWARD	5	5		
CORSI_FORWARD	6	4	0	3
CORSI_BACKWARD	5	6	0	2
FCSRT_IFR	22	14		
FCSRT_ITR	36	28		
FCSRT_ISC	1	0,63		
FCSRT_DFR	10	3		
FCSRT_ITR	12	4		
FCSRT_INTRUSIONI	0	5		
REY_COPIA DIFFERITA	18,5	0		
FLUENZE_FONEMICHE	27	27		
FLUENZE_SEMANTICHE	35	34		
SAND	14	13		
DENOMINAZIONE_AZIONI	10	9	10	7
MFTC_ACCURATEZZA	0,961	0,961		
MFTC_FALSI ALLARMI	0	0		
MFTC_TEMPO	4	83		
STROOP_ERRORI	0,5	0,5		
STROOP_TEMPO	21	28		
REY_COPIA IMMEDIATA	27,5	28		
OROLOGIO	12	12	6	5
CAMPANELLE_TEMPO	120	171	591	171
CAMPANELLE_ASIMMETRIA	1	1	4	2
CAMPANELLE_OMISSIONI	1	3	10	4
EDINBURGH	0,65	1	1	1
APRASSIA	71	66	65	68

Tabella 7 Punteggi grezzi dei singoli pazienti ai test neuropsicologici. I test evidenziati con lo stesso colore si riferiscono alla valutazione di uno stesso dominio cognitivo (Rosa chiaro per le Autonomie, Celeste per lo Screening cognitivo, Arancione per la Memoria a Breve Termine, Verde per la Memoria a Lungo Termine, Grigio per il Linguaggio, Azzurro per l'Attenzione e le Funzioni esecutive, Giallo per la Prassia Costruttiva e le Funzioni Visuo-spaziali, Viola per la Preferenza Manuale, Marrone per l'Aprassia Ideomotora). I punteggi evidenziati in grassetto nero sono indice di una prestazione ai limiti inferiori di normalità (PE = 1) mentre quelli evidenziati in grassetto rosso indicano una prestazione pienamente patologica (PE = 0).

In linea generale, dalle valutazioni neuropsicologiche dei pazienti inclusi nello studio è emerso che:

- Il paziente 1 (MCI) ha ottenuto un punteggio ai limiti inferiori di normalità nella copia di materiale visuo-grafico complesso (test della Figura di Rey)
- Nel paziente 2 (MCI) la prestazione nella prova di apprendimento supra-span verbale (FCSRT) volta ad indagare l'efficienza della funzionalità mnemonica è risultata essere totalmente deficitaria, sia nella rievocazione immediata che in quella differita, così come la performance di rievocazione differita di materiale visuo-grafico complesso (Figura di Rey Differita). Inoltre, il punteggio al compito di denominazione su presentazione di materiale visivo (SAND) è risultato essere ai limiti inferiori di normalità
- Il paziente 3 (AD) presenta una prestazione totalmente deficitaria sia nell'indagine della memoria a breve termine (Test di Corsi) che nei test costruttivi e visuo-spaziali (Test dell'Orologio, Test di Cancellazione delle Campanelle)
- Il paziente 4 (AD) presenta una prestazione totalmente deficitaria sia nell'indagine della memoria a breve termine (Test di Corsi) che nel test visuo-spaziale dell'Orologio. Inoltre, la paziente ha riportato un punteggio ai limiti inferiori di normalità nel Test di Cancellazione delle Campanelle

A titolo esemplificativo, nella Figura 35 sono riportati i disegni effettuati dai 4 pazienti nel Test dell'Orologio. Come è possibile notare, la performance dei pazienti MCI risulta essere ai limiti superiori della norma (PE = 4) mentre è totalmente deficitaria la prestazione dei pazienti AD (PE = 0).

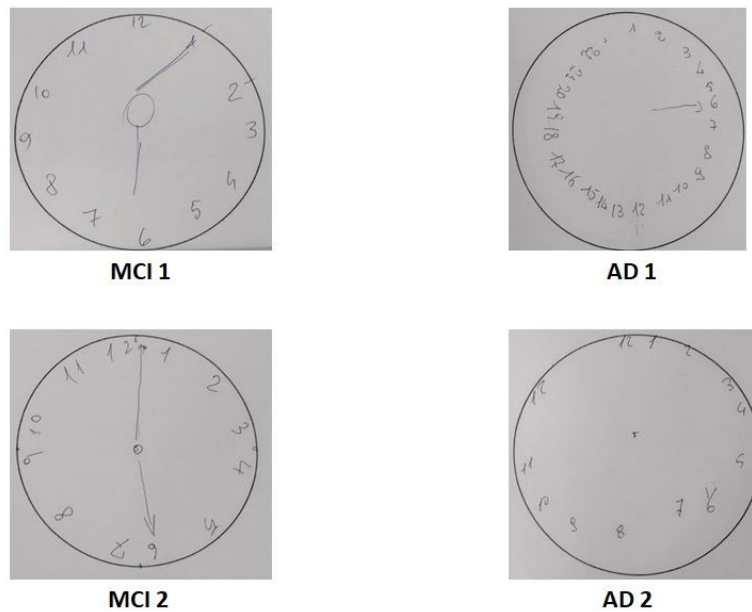


Figura 35 Disegni effettuati dai pazienti MCI e dai pazienti AD al Test visuo-spaziale dell'Orologio

4.5 RISULTATI CATCH TRIALS SU PAZIENTI E CONTROLLI ADULTI

Per quanto riguarda i catch trials effettuati prima della sessione fMRI, si è dimostrato che i controlli hanno risposto correttamente a tutte le prove ed i pazienti hanno sbagliato solo il 10% delle risposte (Fig. 36A). Tuttavia, dalle analisi condotte su queste prove è emerso che i pazienti hanno impiegato molto più tempo a rispondere rispetto ai controlli ($4.88 \text{ s} \pm 6.73$ nei pazienti vs $1.02 \text{ s} \pm 0.33$ nei controlli, Fig. 36B): tale differenza è risultata essere non significativa al test U di Mann-Whitney ($p > 0.05$).

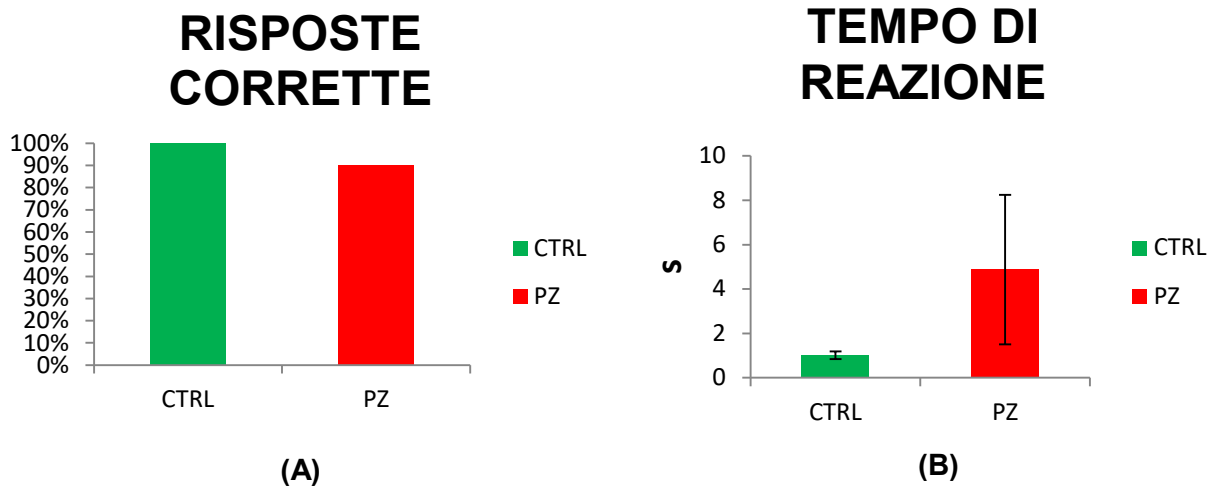


Figura 36 Percentuale di risposte corrette e tempo di reazione ai catch trials nei controlli e nei pazienti.

4.6 RISULTATI STUDIO fMRI SUL GRUPPO DI PAZIENTI (MCI E AD) E SUL GRUPPO DI ADULTI SANI (CTRL)

Sulla base dei risultati ottenuti dallo studio pilota precedentemente descritto, il paradigma è stato quindi applicato ad un gruppo di adulti sani e ad un gruppo di pazienti MCI/AD comparabili per età. Per ogni condizione sperimentale sono state confrontate le attivazioni cerebrali dei singoli pazienti con le attivazioni cerebrali medie di 4 adulti volontari sani. Il paziente 1 e il paziente 2 presentano una diagnosi di MCI mentre il paziente 3 e il paziente 4 una diagnosi di AD. Tutti i pazienti hanno rispettato le tempistiche previste dallo studio sia nelle fasi del task che nelle fasi di baseline.

Come si può notare nella Figura 37, per la condizione OBS_PASS ($p = 0.05$, FWE) nel gruppo di adulti sono stati riportati dei cluster significativi, maggiormente lateralizzati nell'emisfero sinistro, a livello della corteccia occipito-temporale, della PPC e della corteccia premotoria ventrale e dorsale. I pazienti 1 e 2 (MCI) presentano a tal proposito un'attivazione parieto-premotoria paragonabile a quella degli adulti ma più bilaterale. Nel paziente 2 è riportata inoltre un'attivazione prefrontale bilaterale. Al contrario, nei pazienti

3 e 4 (AD) si evidenzia una riduzione sia nell'intensità che nell'estensione dell'attivazione cerebrale a livello della PPC e della corteccia premotoria.

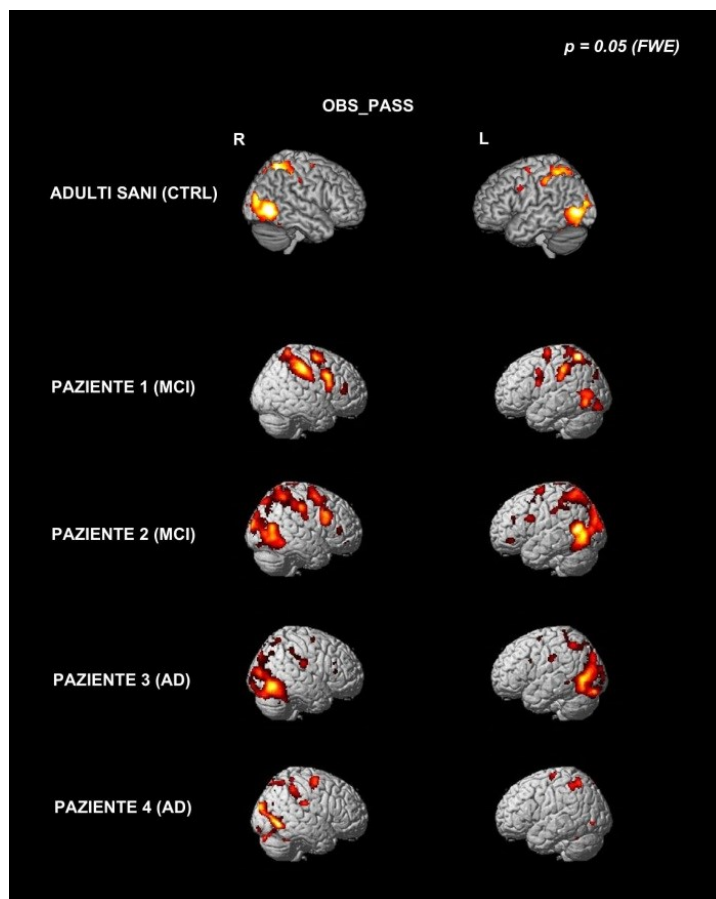


Figura 37 Attivazioni cerebrali riportate dal gruppo di adulti sani e dai pazienti nella condizione OBS_PASS. Nel gruppo di controllo (adulti sani) il colore più chiaro (bianco-giallo) nelle attivazioni cerebrali si riferisce al fatto che su 4 soggetti considerati tutti e 4 presentano un'attivazione in quella determinata area cerebrale. Il colore rosso, invece, indica che l'attivazione in quell'area non era presente in tutti i soggetti ma solo in alcuni. Nei pazienti le gradazioni di colore (dal rosso, all'arancione, al giallo, al bianco) indicano attivazioni via via più intense.

Nella condizione OBS_CTRL ($p = 0.05$, FWE), come si può osservare nella Figura 38, coerentemente con quanto ci si può aspettare, negli adulti sani l'attivazione cerebrale comprende le aree occipito-temporali legate all'elaborazione del movimento e dell'interazione con gli oggetti e la PPC. Tuttavia, non si evidenziano attivazioni premotorie e prefrontali. In tutti i pazienti l'attivazione cerebrale in questa condizione è

marcatamente ridotta rispetto alla condizione precedente OBS_PASS. In generale, l'attivazione cerebrale, soprattutto quella dei pazienti MCI (1 e 2), si è dimostrata simile a quella descritta per il gruppo di adulti sani, ma con alcune differenze. A tal proposito, il paziente 3 (AD) ha riportato un'attivazione delle aree temporo-occipitali e dei circuiti parieto-premotori mentre nel paziente 4 (AD) l'attivazione è presente esclusivamente nella corteccia temporale inferiore e fortemente lateralizzata all'emisfero destro. Da notare che questo effetto di lateralizzazione era presente nella maggior parte delle condizioni di osservazione per questo paziente.

Nella condizione in cui il soggetto era chiamato ad osservare l'azione per poi imitarla (OBS_TO_IMI, $p = 0.05$, FWE), come si può notare dalla Figura 39, gli adulti sani riportano in media un'attivazione dei circuiti parieto-premotori incluse le aree ventrali (PMv) e dorsali (PMd) appartenenti al sistema mirror, e delle aree visive. Rispetto alla condizione OBS_PASS l'attivazione si è dimostrata essere maggiormente bilaterale. In generale, in 3 pazienti su 4 (2 AD e 1 MCI) l'attivazione cerebrale comprende bilateralmente aree temporali, parietali, frontali e prefrontali e l'intensità del segnale BOLD, così come anche l'estensione dei cluster, si è dimostrata essere notevole rispetto alla condizione OBS_PASS. In particolare, nei pazienti MCI (1 e 2) si è riportata un'attivazione bilaterale molto ampia con un aumento del segnale BOLD in aree occipitali, parietali, temporali e prefrontali. Dei pazienti AD, il paziente 3 ha riportato un'attivazione ridotta dei circuiti parieto-premotori sebbene si riscontra un'attivazione temporo-occipitale bilaterale insieme ad una forte attivazione prefrontale.

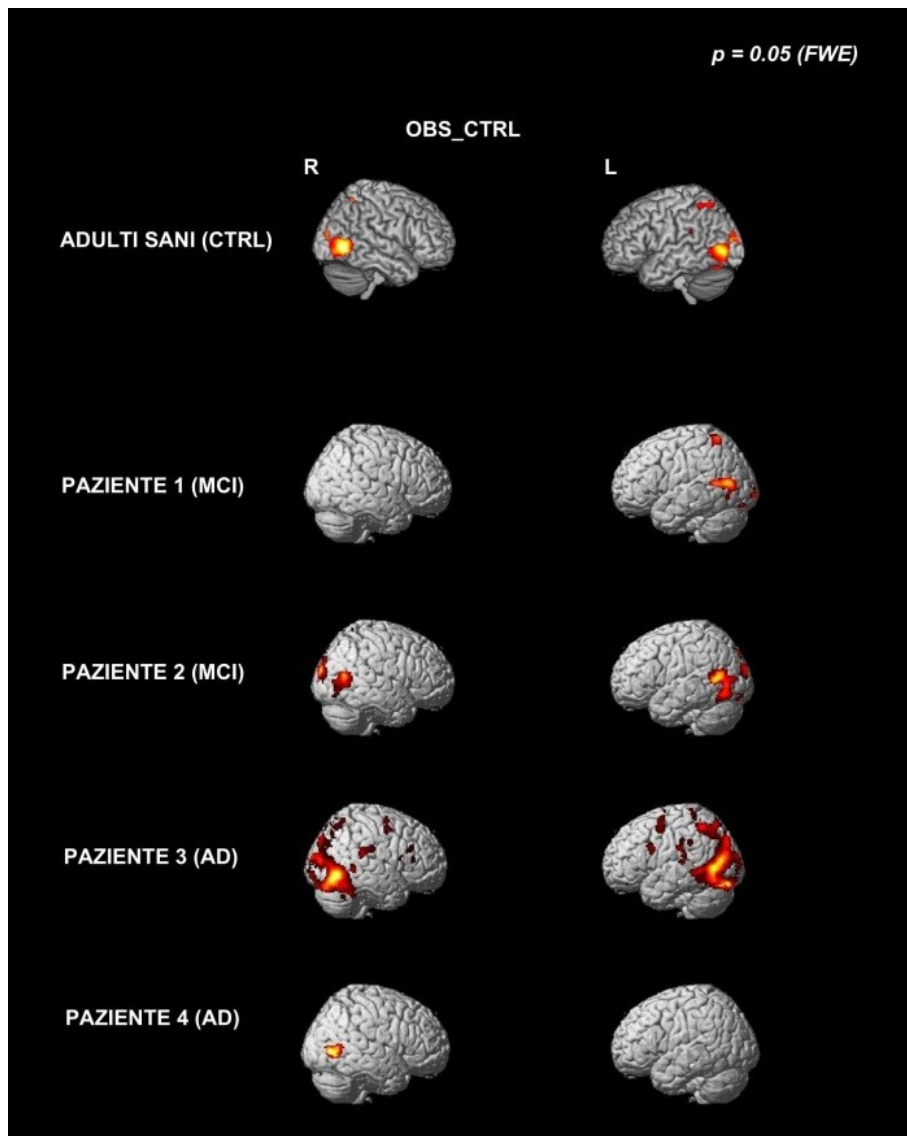


Figura 38 Attivazioni cerebrali riportate dal gruppo di adulti sani e dai pazienti nella condizione OBS_CTRL.

Convenzioni come in Fig. 37.

Infine, nel paziente 4, nonostante un'attivazione maggiormente lateralizzata all'emisfero sinistro, vi è un'attivazione bilaterale della PMv, della PMd, dell'IPL.

Nella condizione EXE ($p = 0.05$, FWE), come si può notare dalla Figura 40, gli adulti sani hanno riportato un'attivazione bilaterale delle aree sensorimotorie oltre ad un'attivazione della PMd, del solco intraparietale e della PPC. Nei pazienti, le attivazioni comprendono

le aree sensorimotorie precedentemente descritte insieme ad un cluster significativo nella corteccia prefrontale: tale cluster è bilaterale in due pazienti (2 e 3),

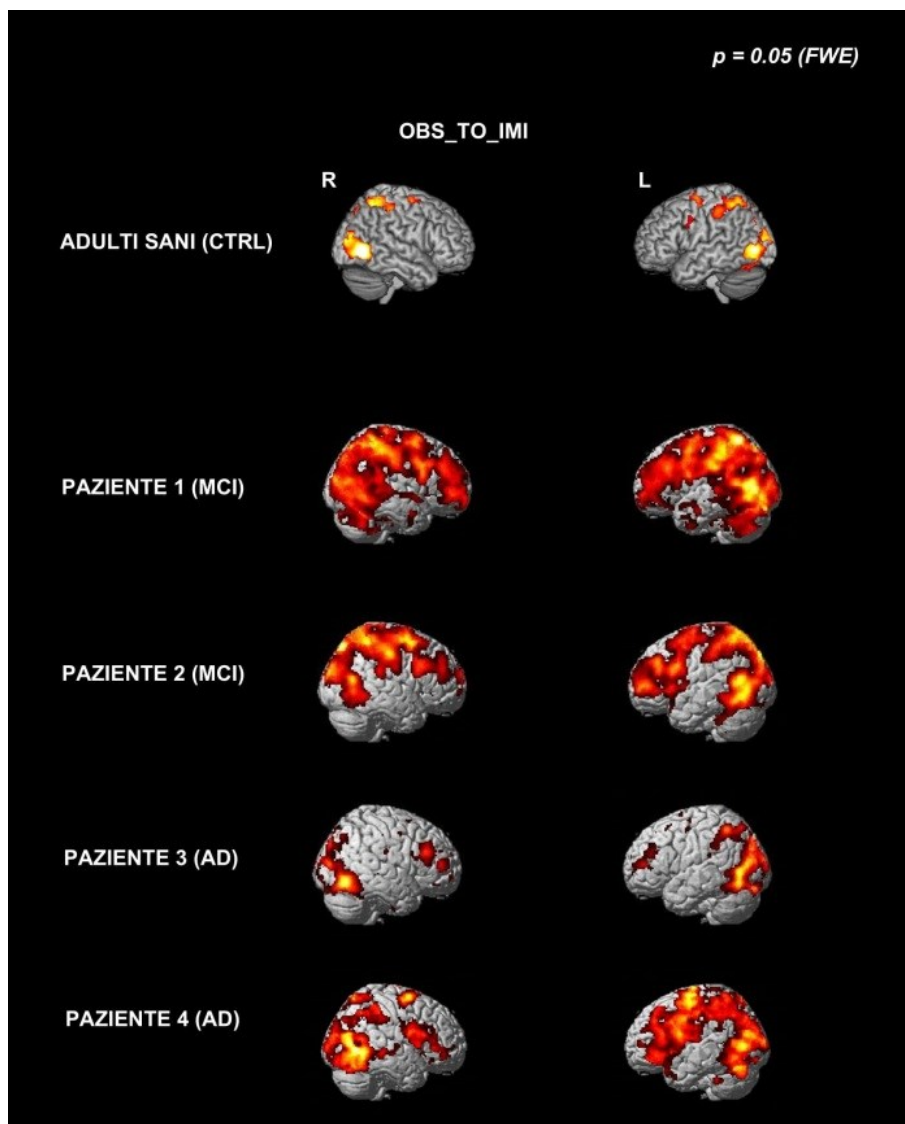


Figura 39 Attivazioni cerebrali riportate dal gruppo di adulti sani e dai pazienti nella condizione OBS_TO_IMI. Convenzioni come in Fig. 37

mentre risulta lateralizzato a destra nel caso del paziente 1 e lateralizzato a sinistra nel caso del paziente 4.

Per quanto riguarda la CONJUNCTION_MIRROR ($p = 0.001$, unc.), come si può osservare nella Figura 41, nel gruppo di adulti sani si riscontra un'attivazione bilaterale

nella PMd, nell'IPL e nel solco intraparietale. Nel paziente 1 (MCI) vi è un'attivazione mirror della PMd e della PMv destra, nel paziente 2 (MCI) l'attivazione mirror è abbastanza bilaterale, nel paziente 3 (AD) anche se ridotta è presente

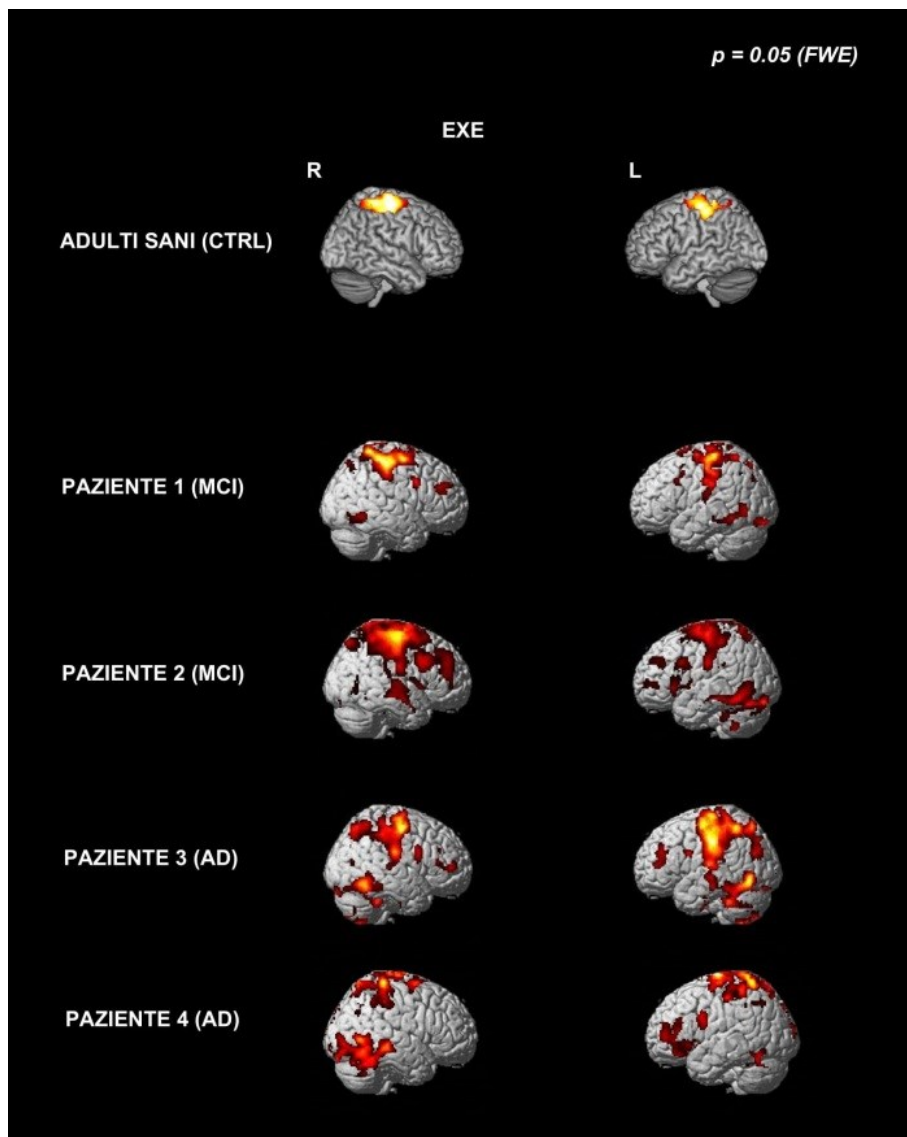


Figura 40 Attivazioni cerebrali riportate dal gruppo di adulti sani e dai pazienti nella condizione EXE. Convenzioni come in Fig. 37.

un'attivazione nei cluster del circuito mirror, nel paziente 4 (AD) si evidenzia l'assenza dell'attivazione mirror nel lobo parietale.

Infine, nella CONJUNCTION_OBS_TO_IMI_EXE ($p = 0.001$, unc.), la Figura 42 mostra negli adulti sani un'attivazione bilaterale leggermente più ampia di quella descritta nella CONJUNCTION_MIRROR a carico delle stesse aree (PMd, IPL, solco intraparietale). In tre pazienti (1, 2 e 3) su 4 si riscontra un'attivazione congiunta sia per

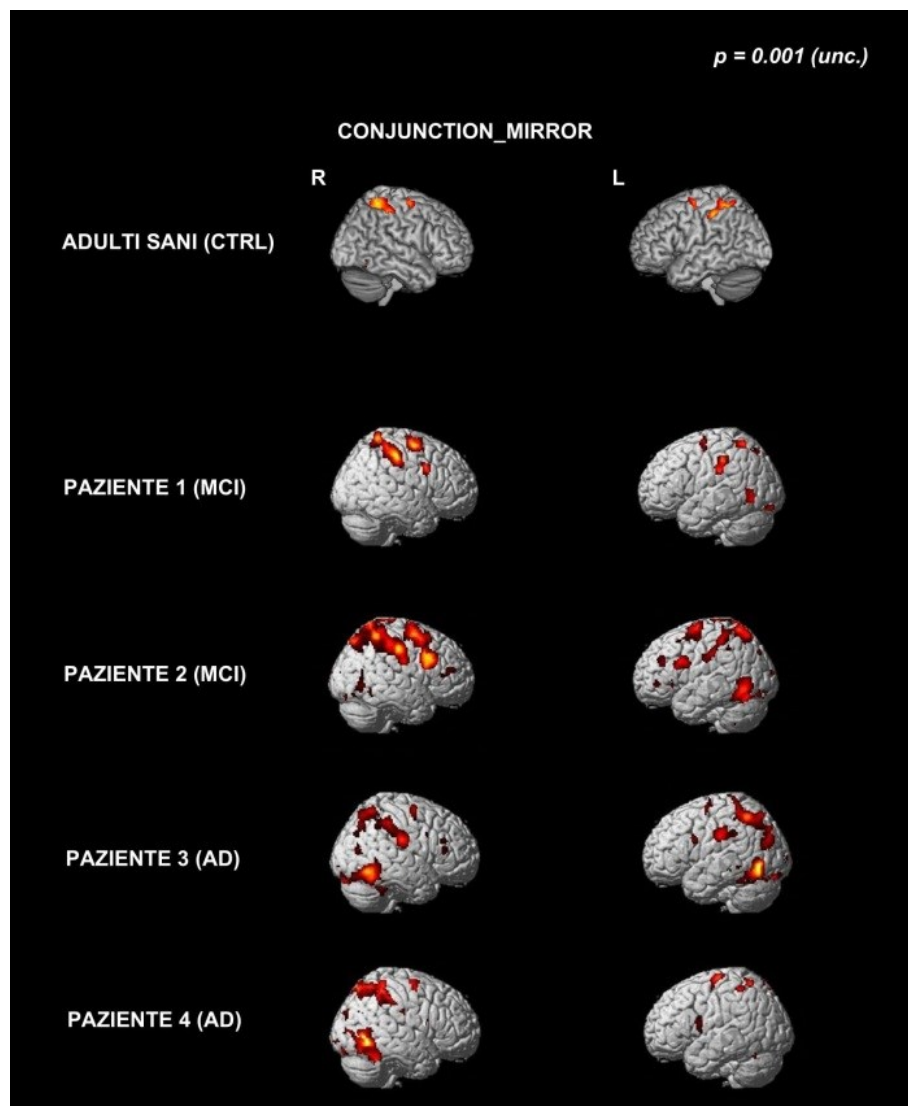


Figura 41 Attivazioni cerebrali riportate dal gruppo di adulti sani e dai pazienti nella condizione CONJUNCTION_MIRROR. Convenzioni come in Fig. 37.

l'osservazione con lo scopo di imitare che per l'imitazione stessa nella corteccia prefrontale. Nel paziente 4 (AD) l'attivazione congiunta è limitata alla PMd e alla PPC e perciò non include l'IPL.

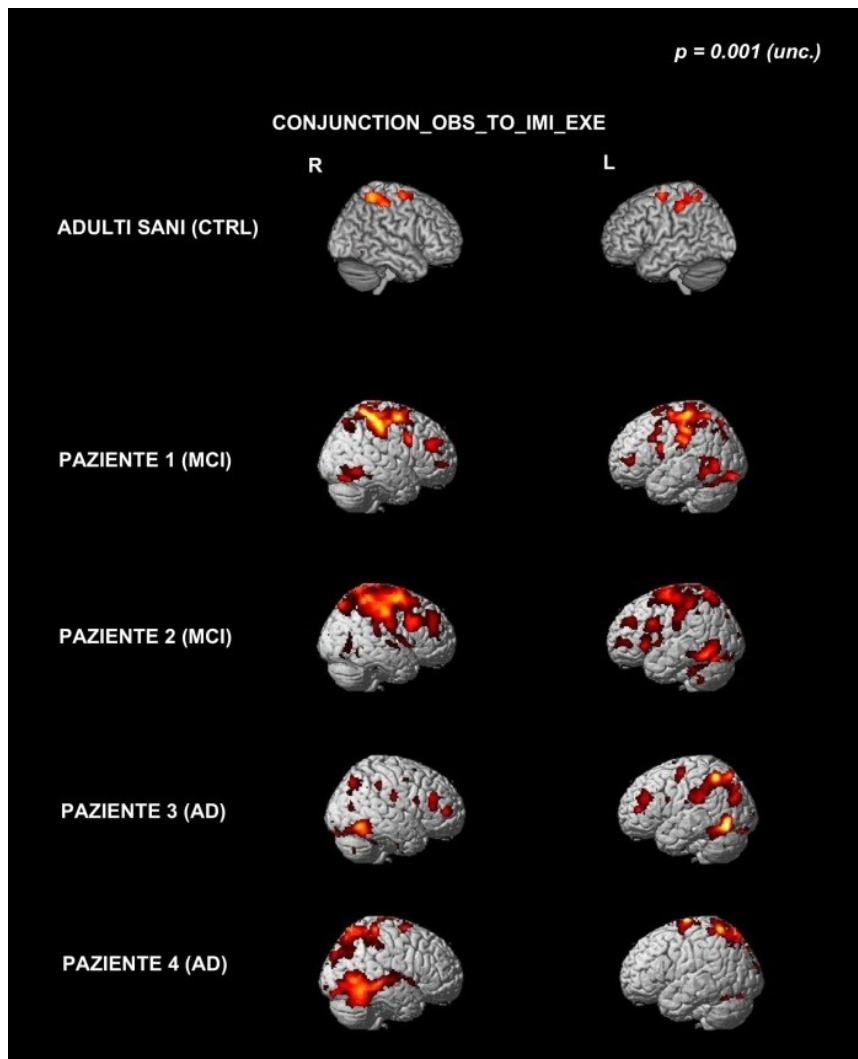


Figura 42 Attivazioni cerebrali riportate dal gruppo di adulti sani e dai pazienti nella condizione CONJUNCTION_OBS_TO_IMI_EXE. Convenzioni come in Fig. 37.

4.7 PERFORMANCE AL TASK fMRI DEL PAZIENTE 1 (MCI)

Per quanto riguarda il task fMRI, a seguito di uno scoring comportamentale effettuato dopo aver visionato la videoregistrazione della performance del paziente 1 durante la sessione MR, si è osservato che su 16 sequenze presentate il paziente ne aveva completate correttamente 13 eseguendo 43 pieghe sulle 48 possibili.

4.8 RISULTATI DTI SU PAZIENTE 1 (MCI)

Per quanto riguarda l'analisi traggografica eseguita sul paziente 1 (MCI), la Figura 42 mostra la ricostruzione delle tre branche dell'SLF sia nel template MNI di controllo (ch2) che nella T1 normalizzata del paziente. È possibile notare come nel paziente sia l'SLF1 che l'SLF2 risultino essere ricostruiti nella loro interezza, mentre per quanto riguarda l'SLF3 solo la parte più anteriore è stata ricostruita, ovvero le connessioni tra la corteccia premotoria e la corteccia parietale inferiore.

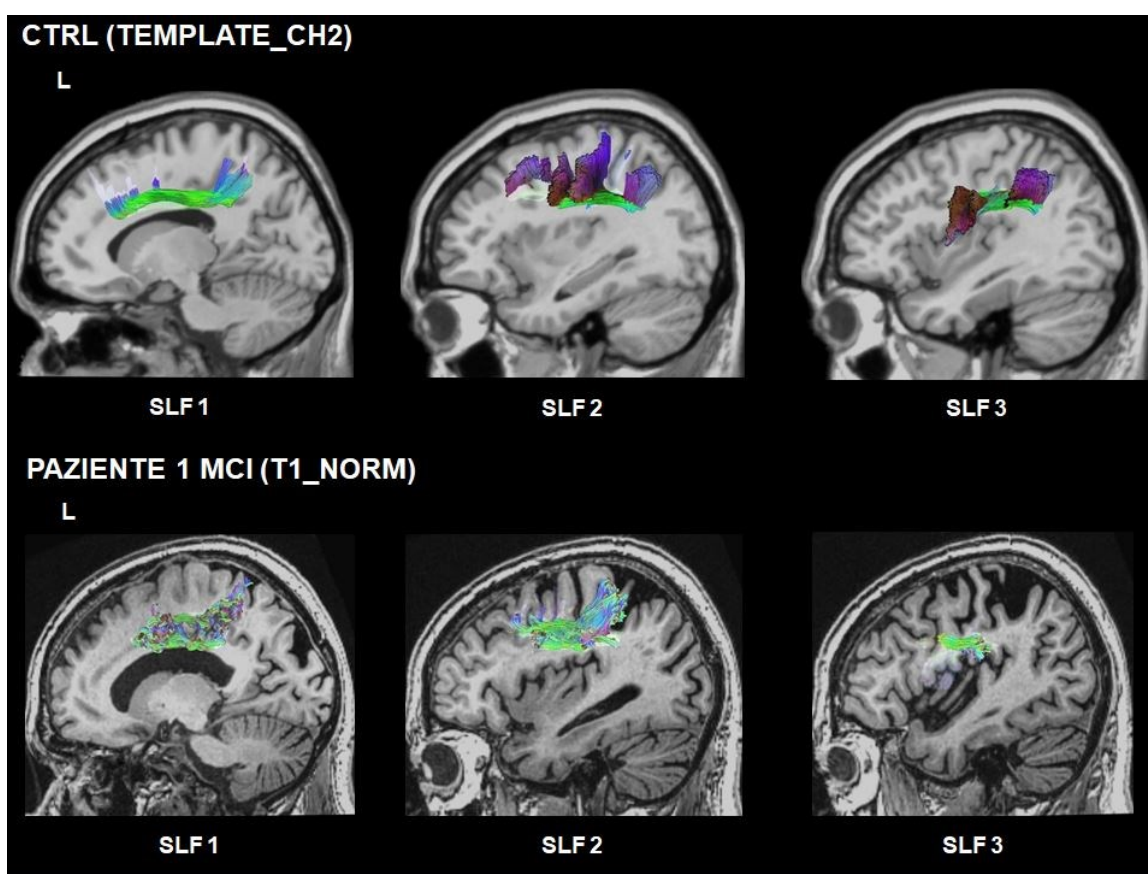


Figura 43 Ricostruzione traggografica dell'SLF1, 2 e 3 sia nel template di controllo che nella T1 normalizzata del paziente.

Anche l'ILF risulta essere ben conservato e quindi ricostruito nella sua interezza, mentre per quanto riguarda i tratti che connettono la PPC con l'ippocampo (PPC-HC), come si

può notare dalla Figura 43, nel paziente risultano essere presenti i fasci che partono dalla corteccia parietale superiore, mentre i tratti della parte più posteriore risultano assenti,

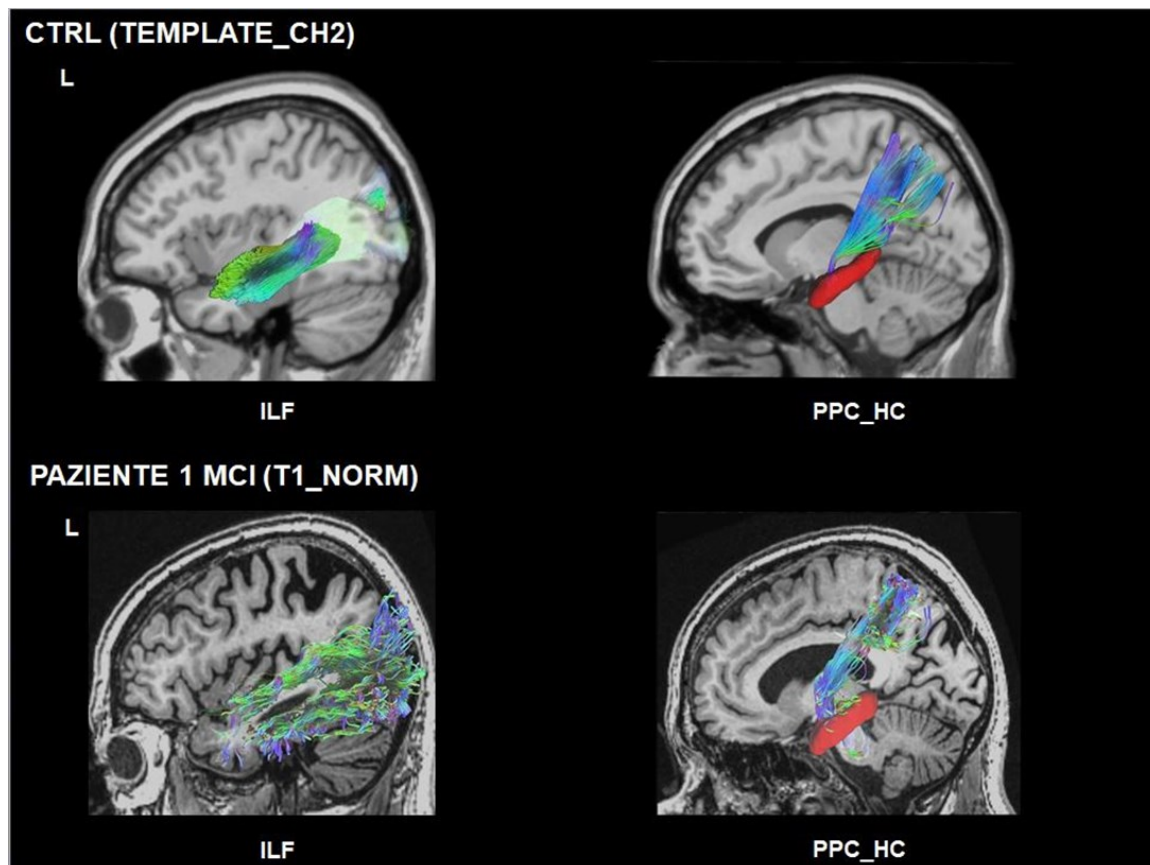


Figura 44 Ricostruzione trattografica dell'ILF e dei tratti PPC-HC che connettono la corteccia parietale posteriore con l'ippocampo (marcato in rosso) sia nel template di controllo che nella T1 normalizzata del paziente.

presenti invece nel template di controllo. Nel complesso questi tratti appaiono più assottigliati e meno densi di connessioni rispetto al template.

Infine, per quanto riguarda i fasci che passano dal giro del cingolo, essi sono anatomicamente ben preservati nel paziente. Al contrario, il corpo calloso si dimostra conservato nel paziente per quanto riguarda le connessioni interemisferiche anteriori e quelle centrali del "corpo", mentre risultano totalmente assenti le fibre posteriori dello

splenio (in particolare il *forceps major* e il *tapetum*) che interconnettono bilateralmente le aree parieto-occipitali e gli ippocampi (Fig. 44).

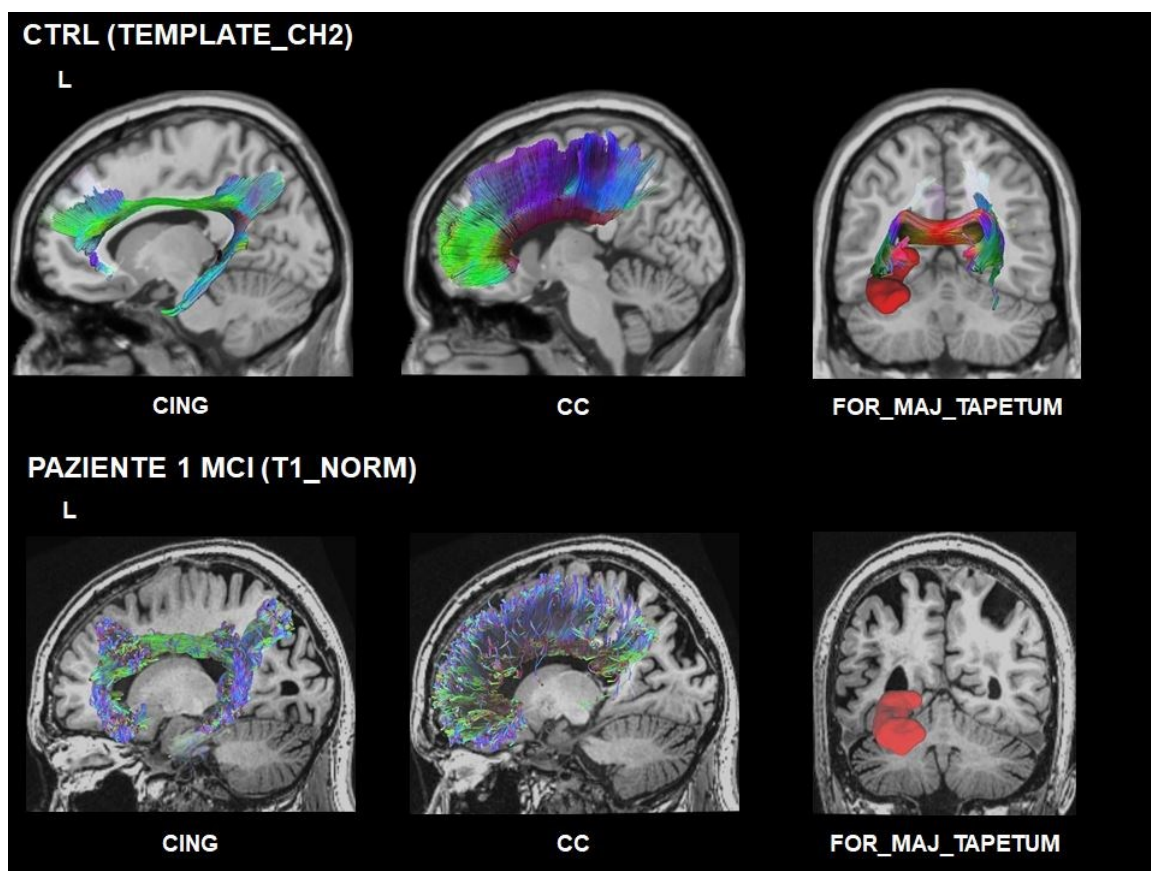


Figura 45 Ricostruzione trattografica dei fasci che passano dal giro del cingolo (CING), del corpo calloso (CC) e delle fibre posteriori dello splenio del corpo calloso (FOR_MAJ_TAPETUM) sia nel template di controllo che nella T1 normalizzata del paziente. Convenzioni come in Fig. 44

Dal punto di vista della FA dei fasci ricostruiti, come è possibile osservare nella Fig. 46, non si è riscontrata nessuna differenza tra il paziente e template di controllo, con tuttavia una leggera riduzione della FA nel paziente a carico dell'SLF3 e della parte del cingolo anteriore (CING_RO) rispetto al controllo.

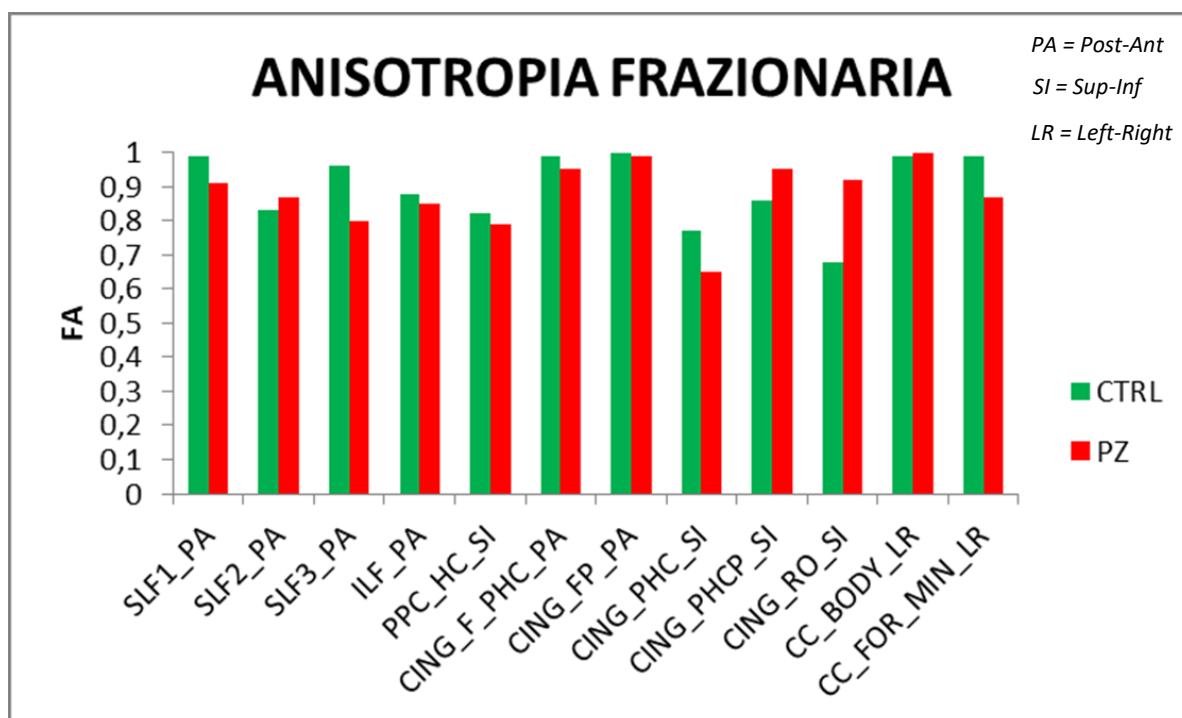


Figura 46 Valore dell'anisotropia frazionaria (FA) per ciascun fascio ricostruito sia nel template di controllo che nel paziente. In alto a destra è indicata la direzione prevalente delle molecole d'acqua nel fascio: PA, posteriore-anteriore; SI, superiore-inferiore; LR, sinistra-destra. Sull'asse delle X sono riportati i nomi dei fasci ricostruiti (CC_BODY = parte centrale del corpo calloso, CC_FOR_MIN = forceps minor del corpo calloso, CING_FP = cingolo fronto-parietale, CING_F_PHC = cingolo fronto-paraippocampale, CING_PHC = cingolo paraippocampale, CING_PHCP = cingolo parieto-paraippocampale, CING_RO = cingolo anteriore, ILF, PPC-HC, SLF)

DISCUSSIONE – CAPITOLO 5

I risultati della parte comportamentale di questo studio hanno dimostrato che i pazienti presentano in generale una prestazione maggiormente deficitaria rispetto al gruppo di controllo. Tale differenza è risultata significativa in numerose variabili della prova “Tinker Online”, oltre che in alcune variabili della prova “Tinker Post”, ma in nessuna variabile della prova “Origami Online”.

Sulla base di questi risultati preliminari, su un gruppo di soggetti giovani è stato validato un compito fMRI basato sull’osservazione-imitazione di azioni bimanuali complesse (origami), il quale ha evidenziato delle attivazioni cerebrali tipiche dei circuiti mirror fronto-parietali, in accordo con la letteratura esistente, più di alcune aree che svolgono, insieme al sistema mirror, un ruolo rilevante nell’imitazione.

Lo stesso paradigma sperimentale è stato successivamente utilizzato per indagare le attivazioni cerebrali nei pazienti MCI e AD e in un gruppo di controllo costituito da adulti sani di pari età. I risultati hanno dimostrato come durante l’osservazione passiva gli adulti presentino un pattern di attivazione simile a quello riportato dal gruppo dei giovani mentre le attivazioni nei pazienti sono notevolmente ridotte, soprattutto nelle aree frontali. Nella condizione di osservazione per imitare negli adulti l’attivazione si dimostra essere abbastanza simile a quella riportata dai giovani mentre nella maggior parte dei pazienti emergono delle attivazioni molto forti ed estese in cui però la specificità è ridotta. Inoltre, nella condizione di imitazione dell’azione nei pazienti si evidenzia un’attivazione inusuale a carico della corteccia prefrontale la quale non è tipicamente attiva in compiti simili in individui sani.

Infine, l'analisi trattografica condotta sul paziente 1 (MCI) ha dimostrato una compromissione della sostanza bianca a livello delle aree parieto-occipitali posteriori.

5.1 GESTIONE E ORGANIZZAZIONE DELLE INFORMAZIONI VISUOSPAZIALI NEI PAZIENTI MCI E AD DURANTE L'IMITAZIONE DI UN MODELLO

Il compito comportamentale "Origami Online" ha dimostrato che in diverse variabili i pazienti presentano una prestazione inferiore rispetto ai controlli. Tuttavia, nessuna di queste differenze si è rivelata statisticamente significativa e ciò suggerirebbe che questo test potrebbe rilevare delle difficoltà nei pazienti appartenenti al continuum della Malattia di Alzheimer, ma probabilmente, per validarlo in modo sistematico, è necessario un campione di soggetti più ampio. Anche le correlazioni tra lo status cognitivo dei pazienti (punteggi MMSE) e la loro performance in questo compito, seppur non significative, rivelano un trend simile.

La prova comportamentale "Tinker Online" ha rivelato delle differenze significative, analoghe alle precedenti, tra pazienti e controlli in numerose variabili, mentre nella prova "Tinker Post" tali differenze tra i gruppi sono emerse solo in due variabili. In quest'ultimo compito, tuttavia, è possibile osservare, nelle altre variabili, una tendenza simile, con i pazienti che presentano sempre punteggi peggiori dei controlli. Queste differenze tra la prova "Tinker Online" e la prova "Tinker Post" potrebbero essere attribuite al fatto che nonostante quest'ultimo compito sia maggiormente basato sulla memoria, e quindi dovrebbe teoricamente risultare più deficitario per i pazienti MCI e AD, d'altra parte il compito online richiede ai soggetti una maggiore rapidità di esecuzione per seguire il modello osservato ed una complessa organizzazione spaziale dei diversi oggetti presenti, fattori questi che possono andare a detrimento della prestazione. In altre parole, il paziente sottoposto alla prova "Tinker online" riceverebbe troppe informazioni mentre

deve eseguire in tempo reale ciò che sta osservando e non riuscirebbe perciò a gestire correttamente le due cose contemporaneamente. Al contrario, nella prova “Origami Online” le informazioni da gestire sono più ridotte in quanto non è presente un set di oggetti diversi, come nel compito Tinker, ma un solo foglio da piegare ripetutamente.

In tutti i compiti comportamentali i pazienti MCI hanno in generale una prestazione migliore degli AD. Sulla base di questi dati si può pensare che nella gestione online delle informazioni visuospatiali i pazienti AD abbiano verosimilmente molta più difficoltà rispetto ai pazienti MCI, nei quali il migliore status cognitivo consentirebbe loro di imitare correttamente, seppure con lievi difficoltà, il modello osservato. Quest’ultima ipotesi necessita tuttavia di un campione maggiore di pazienti per poter essere confermata. A tal proposito, nello studio comportamentale condotto è stato possibile osservare che in una paziente AD si è potuta somministrare la prova “Origami Online” nella sua interezza ma non le due prove “Tinker”, che sono state interrotte nelle fasi iniziali a causa della notevole difficoltà della paziente, unita ad un forte disorientamento nell’organizzazione visuospatial degli oggetti.

Complessivamente, perciò, i test comportamentali di imitazione condotti rivelano delle difficoltà nei pazienti MCI e AD rispetto ai controlli di pari età, suggerendo che questi siano dei validi test molto promettenti da utilizzare in ambito clinico per valutare il funzionamento cognitivo-comportamentale di queste tipologie di pazienti. Allo stesso tempo, dato che questo studio comportamentale era anche preliminare alla scelta del compito di imitazione migliore da far eseguire per lo studio di risonanza funzionale, il test “Origami” è risultato preferibile perché presenta chiaramente un minor livello di complessità e una maggiore fattibilità in un ambiente, come quello dello scanner, che presenta numerose restrizioni (ambiente chiuso, esecuzione senza feedback visivi, posizione supina).

In letteratura non sono presenti studi che hanno indagato le capacità imitative di azioni bimanuali complesse in questi pazienti, perciò questo lavoro si propone come primo tentativo nel cercare di studiare tali capacità dal punto di vista comportamentale. È tuttavia necessario un maggior numero di pazienti MCI e di pazienti AD per ottenere una differenziazione del campione dei pazienti in due gruppi distinti (MCI e AD) e di conseguenza una comparazione della performance dei due gruppi nelle varie prove.

5.2 ATTIVAZIONE DEL SISTEMA MIRROR DURANTE L'OSSERVAZIONE E L'IMITAZIONE DI AZIONI COMPLESSE BIMANUALI IN SOGGETTI GIOVANI SANI

Le attivazioni cerebrali osservate nel compito fMRI di validazione nel gruppo di soggetti giovani corrispondono alle attivazioni classiche riportate negli studi fMRI di osservazione di azioni (Caspers et al., 2010; Molenberghs et al., 2012). Le attivazioni tendono ad essere bilaterali, tuttavia si osserva una leggera predominanza dell'emisfero destro, nonostante il compito somministrato prevedesse l'osservazione di atti motori eseguiti con entrambe le mani. Questo dato può essere un po' sorprendente, in quanto nei classici compiti fMRI di osservazione di azioni compare eventualmente una predominanza sinistra. Tuttavia, date le forti caratteristiche visuospatiali del compito (che farebbero ipotizzare un forte coinvolgimento dell'emisfero destro) questa asimmetria è probabilmente legata a queste ultime. Ciò sarebbe stato ancora più evidente se oltre alle condizioni utilizzate fossero stati aggiunti ulteriori condizioni di controllo di tipo visuospatiali in cui non venisse richiesta l'imitazione.

Le attivazioni riportate durante la condizione di osservazione per imitare confermano i risultati di studi precedenti, compresa l'attivazione della corteccia prefrontale, la quale normalmente non entra in gioco nella pura osservazione, ma solo quando l'azione osservata è strumentale ad una sua successiva riproduzione (Buccino et al., 2004).

L'analisi di congiunzione tra la condizione di esecuzione e la condizione di osservazione passiva rivela, come ci si potrebbe aspettare, l'attivazione del classico circuito mirror, esteso però anche al circuito dorsale. La stessa analisi tra la condizione di esecuzione e la condizione di osservazione per imitare rivela anch'essa un circuito simile. In entrambe queste analisi di congiunzione la mancanza dell'attivazione comune della corteccia prefrontale era attesa in quanto questa regione cerebrale non si attiva durante l'esecuzione. Questi risultati confermano il fatto che l'osservazione dell'azione attiva il sistema mirror fronto-parietale e che, verosimilmente, la corteccia prefrontale agisce da "orchestratore", reclutando ed utilizzando questo circuito quando il soggetto deve riprodurre il modello osservato (Buccino et al., 2004).

Nella sottrazione tra la condizione di osservazione per imitare e la condizione di osservazione passiva è da notare, oltre all'attesa attivazione differenziale della corteccia prefrontale (v. sopra), anche l'attivazione cerebellare (lobulo VI) in assonanza con quanto descritto da lavori in letteratura (Errante e Fogassi, 2020). È probabile che questa attivazione cerebellare possa riflettere la simulazione dell'azione osservata in termini di sequenzialità e timing, che è ancor più giustificata dal fatto che successivamente il soggetto dovrà imitare l'azione osservata: prima dell'imitazione dell'azione si crea quindi un modello interno della stessa.

I risultati di questo compito sono concordi con quanto ci si può aspettare dalla letteratura sulle attivazioni cerebrali in compiti imitativi (Caspers et al., 2010; Molenberghs et al., 2012) e, allo stesso tempo, rappresentano un dato del tutto originale rispetto al tipo di compito richiesto, in quanto non sono attualmente presenti studi fMRI volti ad indagare le attivazioni cerebrali dovute all'osservazione e all'imitazione di azioni complesse eseguite con entrambe le mani. Uno dei pochi studi presenti in letteratura a riguardo è limitato alla fase di osservazione di atti motori complessi eseguiti con la sola mano destra, e dimostra una modulazione del sistema mirror fronto-parietale dovuta alla complessità motoria

dell'azione osservata, non includendo tuttavia una condizione successiva di imitazione (Molnar-Szakacs et al., 2006). Per questi motivi, i risultati del presente studio dimostrano un'ottima validazione del compito che è stato poi eseguito dai pazienti MCI e AD in risonanza.

5.3 ATTIVAZIONI CORTICALI DURANTE L'OSSERVAZIONE E L'IMITAZIONE DI AZIONI NEI PAZIENTI MCI E AD CONFRONTATI CON ADULTI SANI

Durante l'osservazione del compito di origami eseguito da un modello, il pattern di attivazione degli adulti sani è paragonabile a quello del gruppo di giovani. Le attivazioni nei pazienti MCI e AD rivelano che l'attivazione è in parte ancora presente ma ridotta, in particolare nei pazienti AD in cui l'attivazione frontale è quasi del tutto assente e quella parietale è notevolmente ridotta. Da ciò si potrebbe concludere che in questi pazienti il sistema mirror sia ancora funzionalmente preservato, anche se ciò non viene evidenziato in maniera robusta dalla semplice osservazione dell'azione. Tuttavia, l'attivazione cerebrale riportata in questa condizione è chiaramente maggiore di quella ottenuta nella condizione di controllo in cui manca la componente dinamica dell'azione che si osserva.

L'attivazione nella condizione di osservazione per imitare negli adulti sani conferma, come nei giovani, che l'attivazione del sistema mirror è maggiore quando essa è strumentale all'imitazione. L'attivazione mancante è tuttavia quella prefrontale, molto probabilmente perché è necessario un campione più grande per ottenerla (da notare che questa è pur sempre una condizione di osservazione e non di imitazione). Per quanto riguarda invece i pazienti ci sono tre considerazioni da fare per questa condizione: 1) emergono delle attivazioni molto forti in tre pazienti che però hanno una specificità ridotta; se si utilizzasse una soglia maggiore emergerebbe tuttavia un quadro coerente con un'attivazione del sistema mirror; 2) il paziente 3 (AD) rivela un'attivazione più

focalizzata, che comunque non risulta paragonabile a quella normalmente presente negli adulti sani; 3) la maggiore diffusione dell'attivazione potrebbe in parte essere dovuta allo sforzo generale che questi pazienti fanno per analizzare l'informazione sul modello che dovranno successivamente imitare.

La condizione di esecuzione, rispetto alla precedente di osservazione, sembra riportare a dei pattern più familiari, con una chiara attivazione delle aree sensorimotorie primarie. Compaiono tuttavia nei pazienti delle attivazioni prefrontali che normalmente non compaiono nei compiti di imitazione, quasi come se essi stessero ancora compiendo parte del processo di riorganizzazione e pianificazione della propria azione in base al modello osservato. Alternativamente, l'attivazione prefrontale presente nei pazienti potrebbe essere dovuta all'intervento di processi attenzionali endogeni o a tentativi di richiamo dalla memoria.

La prima analisi di congiunzione tra osservazione passiva e esecuzione rivela, negli adulti sani, così come nei giovani, un'attivazione chiara e bilaterale del circuito mirror. È interessante notare come un pattern di attivazione parzialmente simile a quello di tipo mirror si evidenzia anche nei pazienti, dando l'impressione che la congiunzione riveli meglio questa attivazione rispetto all'osservazione per imitare, probabilmente a causa della maggiore specificità della condizione di esecuzione e al fatto che tale congiunzione è stata eseguita con la condizione di pura osservazione passiva.

La seconda analisi di congiunzione tra osservazione per imitare e esecuzione, pur mostrando aree parieto-premotorie che possono includere il sistema mirror, presenta delle attivazioni più ampie che non si limitano a questo sistema. Infatti, sono presenti nei pazienti delle attivazioni prefrontali le quali verosimilmente emergono dal fatto che c'è un'attività prefrontale anche durante la condizione di esecuzione cosa che, come già sottolineato in precedenza, non è presente negli individui sani.

I dati fMRI relativi ai pazienti e ai corrispondenti controlli sani sono ovviamente ancora limitati in quanto il campione è ridotto, ciononostante è possibile affermare come nel gruppo di controllo il pattern mirror sia già notevolmente evidente, nonostante siano inclusi solo quattro soggetti, mentre nei pazienti tale pattern è variabile a seconda della condizione esaminata. Oltre a ciò, nei pazienti emerge, durante l'imitazione vera e propria, un pattern prefrontale in parte inatteso che può far riferimento a vari fattori di difficoltà, attenzionali e mnemonici che i pazienti potrebbero dover affrontare nel tentativo di eseguire correttamente il compito.

5.4 RELAZIONE TRA PERFORMANCE DI IMITAZIONE IN fMRI E QUADRO MORFOLOGICO NEL PAZIENTE 1 (MCI)

Il paziente 1, con diagnosi di MCI, dal punto di vista strutturale presenta un'atrofia parietale eccessiva rispetto all'età, soprattutto a livello del precuneo e del solco parieto-occipitale: questo dato è in accordo con quanto descritto in letteratura sul gradiente caudo-rostrale tipico dei pazienti appartenenti al continuum della Malattia di Alzheimer (Barkhof et al., 2011; Jacobs et al., 2012; Bruner e Jacobs, 2013). Riguardo alle aree temporo-mesiali (ippocampo) il paziente risulta essere ben preservato, presentando un'atrofia ippocampale nei limiti per età. Nel compito fMRI tale paziente ha dimostrato una buona performance imitativa completando correttamente la maggior parte delle pieghe presentate: tale risultato suggerirebbe la presenza di un sistema mirror ancora parzialmente funzionante, con una maggiore compensazione a carico delle aree frontali, nonostante la sua notevole atrofia parietale e la sua condizione clinica di MCI.

Infine, per quanto riguarda l'analisi traggografica DTI, nel paziente la maggior parte dei tratti di interesse è stata ricostruita nella sua interezza. Tuttavia, le parti più posteriori dell'SLF3, del corpo calloso (in particolare le sezioni dello splenio quali forceps major e

tapetum) e dei tratti che interconnettono la PPC con l'ippocampo non sono state ricostruite, molto probabilmente a causa dell'atrofia parietale unitamente alla presenza di un corpo calloso atrofico nelle sue sezioni più posteriori. A tal proposito, diversi studi in letteratura hanno dimostrato come l'atrofia del corpo calloso, soprattutto nelle sezioni posteriori dello splenio, sia maggiormente presente nelle fasi prodromiche della AD, in particolare nei pazienti MCI che successivamente evolvono in AD (Elahi et al., 2015). Ulteriori analisi trattografiche su altri pazienti, soprattutto in stadi più avanzati di patologia (es. AD conclamata), sono tuttavia necessarie per approfondire questi aspetti.

5.5 CONFRONTO DEI DATI DEL PRESENTE STUDIO CON LA LETTERATURA ESISTENTE

L'unico studio comportamentale presente in letteratura e volto ad indagare le capacità imitative dei pazienti AD è quello condotto da Bisio e collaboratori (2016). In questo studio i ricercatori hanno dimostrato come, sottoponendo i pazienti AD ad un compito di imitazione semplice quale imitare i movimenti di un punto o di un modello reale, tali pazienti presentano un'ottima e inalterata capacità di riprodurre la velocità (cinematica) dei movimenti osservati, soprattutto quando lo stimolo è rappresentato dal movimento di una persona reale. In accordo con questo studio, i risultati del presente lavoro hanno dimostrato che i pazienti MCI e AD non solo sono in grado di imitare semplici movimenti altrui, ma riescono ad imitare, sebbene commettendo alcuni errori, sequenze motorie molto complesse (origami), a condizione che gli oggetti da utilizzare non siano numerosi (v. p.es. maggiore complessità del tinker). I pazienti MCI e AD lievi presentano quindi una capacità di imitazione abbastanza preservata suggerendo che i processi cognitivi di alto livello legati all'imitazione volontaria siano preservati e che i meccanismi di risonanza motoria, promossi dal sistema mirror, siano anch'essi parzialmente funzionanti.

In letteratura l'unico studio volto ad indagare le attivazioni cerebrali di pazienti MCI e AD durante l'osservazione-esecuzione di azioni è quello condotto da Farina e collaboratori (2017). A tal proposito, per fare un confronto con il presente lavoro, è doveroso fare alcune precisazioni.

In primis, è da sottolineare che entrambi gli studi sono confrontabili direttamente solo per quanto riguarda la condizione di osservazione passiva ma non per le altre condizioni: ciò in quanto lo studio di Farina et al. è limitato all'osservazione pura di atti motori semplici eseguiti con una sola mano (afferramenti di oggetti) e alla loro successiva pantomima, mentre nel presente lavoro, oltre la condizione di osservazione passiva, si è aggiunta la condizione di osservare per imitare oltre che la condizione di controllo e quella di pura imitazione di azioni bimanuali complesse. Tuttavia, lo studio descritto nel presente lavoro è limitato dalla bassa numerosità campionaria (4 soggetti di controllo, 2 MCI e 2 AD) mentre quello di Farina et al. è caratterizzato da un campione di 16 soggetti per gruppo (controlli, MCI e AD).

In secondo luogo, va sottolineato il fatto che nello studio di Farina e collaboratori sono stati inclusi pazienti con diagnosi clinica di AD, e pazienti MCI con selettiva atrofia ippocampale. Nel presente lavoro, invece, sono stati selezionati, sulla base dei criteri recenti NIA-AA del 2018, pazienti con diagnosi biologica di AD (basata sulla positività dei biomarcatori nel liquor o della PET con amiloide) e pazienti MCI che non presentavano una selettiva atrofia ippocampale in quanto, come si è già detto nei paragrafi precedenti, molto spesso nei pazienti appartenenti al continuum della Malattia di Alzheimer, più che le aree temporo-mesiali risultano essere intaccate le aree parietali (Jacobs et al., 2012).

Alla luce di ciò, al contrario di quanto riscontrato da Farina e collaboratori, nel presente lavoro si sono riportate attivazioni parietali nei pazienti MCI e AD a fronte della presenza in essi di un'atrofia parietale. In particolare, considerando sempre il gruppo dei pazienti,

nella condizione di osservazione passiva le attivazioni cerebrali si sono dimostrate essere non rilevanti, in accordo a quanto riportato da Farina et al., ma nella condizione di osservazione per imitare si è riportata un'iperattivazione cerebrale comprendente aree appartenenti al sistema mirror, unitamente a delle addizionali attivazioni della corteccia prefrontale, verosimilmente dovute all'entrata in gioco di processi attenzionali, retrieval mnemonico e riorganizzazione interna della sequenza osservata da imitare.

Tuttavia, per poter fare un confronto più oggettivo, sarà necessario includere nel presente lavoro un maggior numero di soggetti.

Sulla base dei risultati ottenuti, Farina e collaboratori hanno avanzato l'ipotesi secondo la quale l'attivazione del sistema mirror nei pazienti MCI, soprattutto nelle aree frontali, seguendo un gradiente caudo-rostrale, giustifichi in essi l'utilizzo dell'AOT per rallentare il decorso della patologia, e ciò è in accordo con i risultati dello studio condotto da Eggermont et al. su pazienti AD (2009). La totale assenza dell'attivazione di questo sistema nei pazienti AD, invece, giustificherebbe la scarsa efficacia riabilitativa dell'AOT in questi pazienti, in accordo a quanto dimostrato dallo studio di Caffarra e colleghi (2016). I risultati del presente lavoro dimostrano come nonostante i pazienti AD siano in grado di eseguire correttamente il compito "origami", sebbene con alcune difficoltà, vi sia in essi una debole attivazione funzionale del sistema mirror. Ciò suggerirebbe che, in accordo con quanto proposto da Farina e collaboratori, affinché l'AOT possa comportare, dal punto di vista neuroriabilitativo, dei risultati positivi e quindi potenziare gli aspetti motori e cognitivi in questi pazienti, è fondamentale che il sistema mirror sia parzialmente integro e funzionale e perciò tale terapia, per ottenere la maggiore probabilità di beneficio, dovrebbe essere implementata nelle fasi di MCI o nella fase di AD preclinica nelle quali il MNS dei pazienti sarebbe parzialmente preservato nelle aree frontali a discapito di quelle parietali maggiormente intaccate dalla neuropatologia.

La stimolazione del sistema mirror mediante l'AOT potrebbe quindi rappresentare una soluzione terapeutica per i pazienti appartenenti al continuum della Malattia di Alzheimer, preservando e velocizzando la loro esecuzione di sequenze motorie complesse fondamentali per l'esecuzione di attività giornaliere, ma anche facilitando la memorizzazione di azioni quotidiane al fine di migliorare la loro qualità di vita (Farina et al., 2020).

BIBLIOGRAFIA

Agnew, Z., & Wise, R. J. (2008). Separate areas for mirror responses and agency within the parietal operculum. *Journal of Neuroscience*, 28(47), 12268-12273.

Albert, M. S., DeKosky, S. T., Dickson, D., Dubois, B., Feldman, H. H., Fox, N. C., ... & Phelps, C. H. (2011). The diagnosis of mild cognitive impairment due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimer's & dementia*, 7(3), 270-279.

Barkhof, F., Fox, N.C., Bastos-Leite, A.J., Scheltens, P. (2011). *Neuroimaging in Dementia*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg

Bassolino, M., Sandini, G., & Pozzo, T. (2015). Activating the motor system through action observation: is this an efficient approach in adults and children?. *Developmental Medicine & Child Neurology*, 57, 42-45.

Bekkering, H., & Wohlschlagel, A. (2002). Action perception and imitation: A tutorial. In *19th International Symposium on Attention and Performance* (pp. 294-314). Oxford University Press.

Bergeron, D., Flynn, K., Verret, L., Poulin, S., Bouchard, R. W., Bocti, C., ... & Laforce, R. J. (2017). Multicenter Validation of an MMSE-Mo CA Conversion Table. *Journal of the American Geriatrics Society*, 65(5), 1067-1072..

Bisio, A., Casteran, M., Ballay, Y., Manckoundia, P., Mourey, F., & Pozzo, T. (2016). Voluntary imitation in Alzheimer's disease patients. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 8, 48.

Bloom, G. S. (2014). Amyloid- β and tau: the trigger and bullet in Alzheimer disease pathogenesis. *JAMA neurology*, 71(4), 505-508.

Bondi, M. W., Edmonds, E. C., & Salmon, D. P. (2017). Alzheimer's disease: past, present, and future. *Journal of the International Neuropsychological Society: JINS*, 23(9-10), 818.

Braak, H., & Braak, E. (1991). Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta neuropathologica*, 82(4), 239-259.

Bruner, E., & Jacobs, H. I. (2013). Alzheimer's disease: the downside of a highly evolved parietal lobe?. *Journal of Alzheimer's Disease*, 35(2), 227-240.

Buccino, G. (2014). Action observation treatment: a novel tool in neurorehabilitation. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 369(1644), 20130185.

Buccino, G., Arisi, D., Gough, P., Aprile, D., Ferri, C., Serotti, L., ... & Fazzi, E. (2012). Improving upper limb motor functions through action observation treatment: a pilot study in children with cerebral palsy. *Developmental Medicine & Child Neurology*, 54(9), 822-828.

Buccino, G., Binkofski, F., Fink, G. R., Fadiga, L., Fogassi, L., Gallese, V., ... & Freund, H. J. (2001). Action observation activates premotor and parietal areas in a somatotopic manner: an fMRI study. *European journal of neuroscience*, 13(2), 400-404.

Buccino, G., Vogt, S., Ritzl, A., Fink, G. R., Zilles, K., Freund, H. J., & Rizzolatti, G. (2004). Neural circuits underlying imitation learning of hand actions: an event-related fMRI study. *Neuron*, 42(2), 323-334.

Buchman, A. S., & Bennett, D. A. (2011). Loss of motor function in preclinical Alzheimer's disease. *Expert review of neurotherapeutics*, 11(5), 665-676.

Byrne, R. W., & Russon, A. E. (1998). Learning by imitation: A hierarchical approach. *Behavioral and brain sciences*, 21(5), 667-684.

Caffarra, P., Gardini, S., Zonato, F., Concari, L., Dieci, F., Copelli, S., ... & Venneri, A. (2011). Italian norms for the Freedman version of the Clock Drawing Test. *Journal of Clinical and Experimental Neuropsychology*, 33(9), 982-988.

Caffarra, P., Perini, M., Reda, V., Barocco, F., Michelini, G., Spallazzi, M., ... & Gardini, S. (2016). P2-017: The Effectiveness of Action Observation Treatment (AOT) in Alzheimer's Disease: Benefit on Temporal Orientation and Visuo-Praxic Abilities. *Alzheimer's & Dementia*, 12, P615-P615.

Caffarra, P., Vezzadini, G., Dieci, F., Zonato, F., & Venneri, A. (2002). Rey-Osterrieth complex figure: normative values in an Italian population sample. *Neurological Sciences*, 22(6), 443-447.

Caffarra, P., Vezzadini, G., Dieci, F., Zonato, F., & Venneri, A. (2002). Una versione abbreviata del test di Stroop: dati normativi nella popolazione italiana. *Nuova Rivista di Neurologia*, 12(4), 111-115.

Caggiano, V., Fogassi, L., Rizzolatti, G., Pomper, J. K., Thier, P., Giese, M. A., & Casile, A. (2011). View-based encoding of actions in mirror neurons of area f5 in macaque premotor cortex. *Current Biology*, 21(2), 144-148.

Caligiore, D., Pezzulo, G., Miall, R. C., & Baldassarre, G. (2013). The contribution of brain sub-cortical loops in the expression and acquisition of action understanding abilities. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 37(10), 2504-2515.

Capasso, R., & Miceli, G. (2001). *Esame Neuropsicologico per l'Afasia: ENPA (Vol. 4)*. Springer Science & Business Media.

Carlesimo, G. A., Caltagirone, C., Gainotti, G. U. I. D., Fadda, L., Gallassi, R., Lorusso, S., ... & Parnetti, L. (1996). The mental deterioration battery: normative data, diagnostic reliability and qualitative analyses of cognitive impairment. *European neurology*, 36(6), 378-384.

Caruana, F., Avanzini, P., Gozzo, F., Pelliccia, V., Casaceli, G., & Rizzolatti, G. (2017). A mirror mechanism for smiling in the anterior cingulate cortex. *Emotion*, 17(2), 187.

Caspers, S., Zilles, K., Laird, A. R., & Eickhoff, S. B. (2010). ALE meta-analysis of action observation and imitation in the human brain. *Neuroimage*, 50(3), 1148-1167.

Catricalà, E., Gobbi, E., Battista, P., Miozzo, A., Polito, C., Boschi, V., ... & Garrard, P. (2017). SAND: a Screening for Aphasia in NeuroDegeneration. Development and normative data. *Neurological Sciences*, 38(8), 1469-1483.

Cochin, S., Barthelemy, C., Lejeune, B., Roux, S., & Martineau, J. (1998). Perception of motion and qEEG activity in human adults. *Electroencephalography and clinical neurophysiology*, 107(4), 287-295.

Cochin, S., Barthelemy, C., Roux, S., & Martineau, J. (1999). Observation and execution of movement: similarities demonstrated by quantified electroencephalography. *European journal of neuroscience*, 11(5), 1839-1842.

Dawood, F., & Loo, C. K. (2016). View-invariant visuomotor processing in computational mirror neuron system for humanoid. *PloS one*, 11(3), e0152003.

De Renzi, E., Motti, F., & Nichelli, P. (1980). Imitating gestures: a quantitative approach to ideomotor apraxia. *Archives of neurology*, 37(1), 6-10.

Di Cesare, G., Di Dio, C., Rochat, M. J., Sinigaglia, C., Bruschweiler-Stern, N., Stern, D. N., & Rizzolatti, G. (2014). The neural correlates of 'vitality form' recognition: an fMRI study: This work is dedicated to Daniel Stern, whose immeasurable contribution to science has inspired our research. *Social cognitive and affective neuroscience*, 9(7), 951-960.

Di Pellegrino, G., Fadiga, L., Fogassi, L., Gallese, V., & Rizzolatti, G. (1992). Understanding motor events: a neurophysiological study. *Experimental brain research*, 91(1), 176-180.

Eggermont, L. H., Swaab, D. F., Hol, E. M., & Scherder, E. J. (2009). Observation of hand movements by older persons with dementia: effects on cognition. *Dementia and geriatric cognitive disorders*, 27(4), 366-374.

Elahi, S., Bachman, A. H., Lee, S. H., Sidtis, J. J., Ardekani, B. A., & Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. (2015). Corpus callosum atrophy rate in mild cognitive impairment and prodromal Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 45(3), 921-931.

Errante, A., & Fogassi, L. (2020). Activation of cerebellum and basal ganglia during the observation and execution of manipulative actions. *Scientific reports*, 10(1), 1-15.

Errante, A., Di Cesare, G., Pinardi, C., Fasano, F., Sghedoni, S., Costi, S., ... & Fogassi, L. (2019). Mirror neuron system activation in children with unilateral cerebral palsy during

observation of actions performed by a pathological model. *Neurorehabilitation and neural repair*, 33(6), 419-431.

Fadiga, L., Fogassi, L., Pavesi, G., & Rizzolatti, G. (1995). Motor facilitation during action observation: a magnetic stimulation study. *Journal of neurophysiology*, 73(6), 2608-2611.

Farina, E., Baglio, F., Pomati, S., d'Amico, A., Campini, I. C., Di Tella, S., ... & Pozzo, T. (2017). The mirror neurons network in aging, mild cognitive impairment, and alzheimer disease: a functional MRI study. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 9, 371.

Farina, E., Borgnis, F., & Pozzo, T. (2020). Mirror neurons and their relationship with neurodegenerative disorders. *Journal of neuroscience research*, 98(6), 1070-1094.

Ferreira, D., Nordberg, A., & Westman, E. (2020). Biological subtypes of Alzheimer disease: A systematic review and meta-analysis. *Neurology*, 94(10), 436-448.

Ferreira, D., Verhagen, C., Hernández-Cabrera, J. A., Cavallin, L., Guo, C. J., Ekman, U., ... & Westman, E. (2017). Distinct subtypes of Alzheimer's disease based on patterns of brain atrophy: longitudinal trajectories and clinical applications. *Scientific reports*, 7(1), 1-13.

Fogassi, L. (1998). Neurons responding to the sight of goal-directed hand/arm actions in the parietal area PF (7b) of the macaque monkey. In 28th Annual Meeting of Society for Neuroscience.

Folstein, M. F., Folstein, S. E., & McHugh, P. R. (1975). "Mini-mental state": a practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *Journal of psychiatric research*, 12(3), 189-198.

Franceschini, M., Ceravolo, M. G., Agosti, M., Cavallini, P., Bonassi, S., Dall'Armi, V., ... & Sale, P. (2012). Clinical relevance of action observation in upper-limb stroke

rehabilitation: a possible role in recovery of functional dexterity. A randomized clinical trial. *Neurorehabilitation and neural repair*, 26(5), 456-462.

Frasson, P., Ghiretti, R., Catricalà, E., Pomati, S., Marcone, A., Parisi, L., ... & Clerici, F. (2011). Free and cued selective reminding test: an Italian normative study. *Neurological sciences*, 32(6), 1057-1062.

Frey, S. H., & Gerry, V. E. (2006). Modulation of neural activity during observational learning of actions and their sequential orders. *Journal of Neuroscience*, 26(51), 13194-13201.

Friston, K. J., Holmes, A. P., Poline, J. B., Grasby, P. J., Williams, S. C. R., Frackowiak, R. S., & Turner, R. (1995). Analysis of fMRI time-series revisited. *Neuroimage*, 2(1), 45-53.

Funahashi, S., Bruce, C. J., & Goldman-Rakic, P. S. (1989). Mnemonic coding of visual space in the monkey's dorsolateral prefrontal cortex. *Journal of neurophysiology*, 61(2), 331-349.

Gainotti, G., Quaranta, D., Vita, M. G., & Marra, C. (2014). Neuropsychological predictors of conversion from mild cognitive impairment to Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's disease*, 38(3), 481-495.

Gallese, V., Fadiga, L., Fogassi, L., & Rizzolatti, G. (1996). Action recognition in the premotor cortex. *Brain*, 119(2), 593-609.

Gallese, V., Fadiga, L., Fogassi, L., & Rizzolatti, G. (2002). 17 Action representation and the inferior parietal lobule.

Gangitano, M., Mottaghy, F. M., & Pascual-Leone, A. (2001). Phase-specific modulation of cortical motor output during movement observation. *Neuroreport*, 12(7), 1489-1492.

Garrison, K. A., Aziz-Zadeh, L., Wong, S. W., Liew, S. L., & Winstein, C. J. (2013). Modulating the motor system by action observation after stroke. *Stroke*, 44(8), 2247-2253.

Gazzola, V., & Keysers, C. (2009). The observation and execution of actions share motor and somatosensory voxels in all tested subjects: single-subject analyses of unsmoothed fMRI data. *Cerebral cortex*, 19(6), 1239-1255.

Giannakopoulos, P., Duc, M., Gold, G., Hof, P. R., Michel, J. P., & Bouras, C. (1998). Pathologic correlates of apraxia in Alzheimer disease. *Archives of neurology*, 55(5), 689-695.

Greenwald, A. G. (1970). Sensory feedback mechanisms in performance control: with special reference to the ideo-motor mechanism. *Psychological review*, 77(2), 73.

Hardy, J., & Selkoe, D. J. (2002). The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. *science*, 297(5580), 353-356.

Head, D., Buckner, R. L., Shimony, J. S., Williams, L. E., Akbudak, E., Conturo, T. E., ... & Snyder, A. Z. (2004). Differential vulnerability of anterior white matter in nondemented aging with minimal acceleration in dementia of the Alzheimer type: evidence from diffusion tensor imaging. *Cerebral cortex*, 14(4), 410-423.

Heiser, M., Iacoboni, M., Maeda, F., Marcus, J., & Mazziotta, J. C. (2003). The essential role of Broca's area in imitation. *European Journal of Neuroscience*, 17(5), 1123-1128.

Hutchison, W. D. (1999). Davis KD, Lozano AM, Tasker RR, Dostrovsky JO. Pain-related neurons in the human cingulate cortex. *Nat Neurosci*, 2, 403-405.

Hyva, J. (1981). Regional distribution of functions in parietal association area 7 of the monkey. *Brain research*, 206(2), 287-303.

Iacoboni, M., Koski, L. M., Brass, M., Bekkering, H., Woods, R. P., Dubeau, M. C., ... & Rizzolatti, G. (2001). Reafferent copies of imitated actions in the right superior temporal cortex. *Proceedings of the national academy of sciences*, 98(24), 13995-13999.

Iacoboni, M., Woods, R. P., Brass, M., Bekkering, H., Mazziotta, J. C., & Rizzolatti, G. (1999). Cortical mechanisms of human imitation. *science*, 286(5449), 2526-2528.

Jack Jr, C. R., Bennett, D. A., Blennow, K., Carrillo, M. C., Dunn, B., Haeblerlein, S. B., ... & Silverberg, N. (2018). NIA-AA research framework: toward a biological definition of Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia*, 14(4), 535-562.

Jack Jr, C. R., Knopman, D. S., Jagust, W. J., Shaw, L. M., Aisen, P. S., Weiner, M. W., ... & Trojanowski, J. Q. (2010). Hypothetical model of dynamic biomarkers of the Alzheimer's pathological cascade. *The Lancet Neurology*, 9(1), 119-128.

Jacobs, H. I., Van Boxtel, M. P., Jolles, J., Verhey, F. R., & Uylings, H. B. (2012). Parietal cortex matters in Alzheimer's disease: an overview of structural, functional and metabolic findings. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 36(1), 297-309.

Jeannerod, M. (1994). The representing brain: Neural correlates of motor intention and imagery. *Behavioral and Brain sciences*, 17(2), 187-202.

Karch, C. M., & Goate, A. M. (2015). Alzheimer's disease risk genes and mechanisms of disease pathogenesis. *Biological psychiatry*, 77(1), 43-51.

Keysers, C., Wicker, B., Gazzola, V., Anton, J. L., Fogassi, L., & Gallese, V. (2004). A touching sight: SII/PV activation during the observation and experience of touch. *Neuron*, 42(2), 335-346.

Lane, C.A., Hardy, J. and Schott, J.M. (2018), Alzheimer's disease. *Eur J Neurol*, 25: 59-70.

Lesourd, M., Le Gall, D., Baumard, J., Croisile, B., Jarry, C., & Osiurak, F. (2013). Apraxia and Alzheimer's disease: review and perspectives. *Neuropsychology review*, 23(3), 234-256.

Li, X., Jia, S., Zhou, Z., Hou, C., Zheng, W., Rong, P., & Jiao, J. (2016). The gesture imitation in Alzheimer's disease dementia and amnesic mild cognitive impairment. *Journal of Alzheimer's Disease*, 53(4), 1577-1584.

Likeman, M., Anderson, V. M., Stevens, J. M., Waldman, A. D., Godbolt, A. K., Frost, C., ... & Fox, N. C. (2005). Visual assessment of atrophy on magnetic resonance imaging in the diagnosis of pathologically confirmed young-onset dementias. *Archives of neurology*, 62(9), 1410-1415.

Lo Buono, V., Palmeri, R., Corallo, F., Allone, C., Pria, D., Bramanti, P., & Marino, S. (2020). Diffusion tensor imaging of white matter degeneration in early stage of Alzheimer's disease: a review. *International Journal of Neuroscience*, 130(3), 243-250.

Malhotra, P. A. (2019). Impairments of attention in Alzheimer's disease. *Current opinion in psychology*, 29, 41-48.

Maller, J. J., Welton, T., Middione, M., Callaghan, F. M., Rosenfeld, J. V., & Grieve, S. M. (2019). Revealing the hippocampal connectome through super-resolution 1150-direction diffusion MRI. *Scientific reports*, 9(1), 1-13.

Mammarella I. C., Toso C., Pazzaglia F., Cornoldi C. (2008). *BVS-Corsi. Batteria per la valutazione della memoria visiva e spaziale*, Edizioni Erickson

Márquez, F., & Yassa, M. A. (2019). Neuroimaging biomarkers for Alzheimer's disease. *Molecular neurodegeneration*, 14(1), 1-14.

Marra, C., Gainotti, G., Scaricamazza, E., Piccininni, C., Ferraccioli, M., & Quaranta, D. (2013). The Multiple Features Target Cancellation (MFTC): an attentional visual conjunction search test. Normative values for the Italian population. *Neurological Sciences*, 34(2), 173-180.

McKhann, G. M., Knopman, D. S., Chertkow, H., Hyman, B. T., Jack Jr, C. R., Kawas, C. H., ... & Phelps, C. H. (2011). The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimer's & dementia*, 7(3), 263-269.

Measso, G., Cavarzeran, F., Zappalà, G., Lebowitz, B. D., Crook, T. H., Pirozzolo, F. J., ... & Grigoletto, F. (1993). The mini-mental state examination: Normative study of an Italian random sample. *Developmental neuropsychology*, 9(2), 77-85.

Meletti, S., Tassi, L., Mai, R., Fini, N., Tassinari, C. A., & Russo, G. L. (2006). Emotions induced by intracerebral electrical stimulation of the temporal lobe. *Epilepsia*, 47, 47-51.

Molenberghs, P., Cunnington, R., & Mattingley, J. B. (2012). Brain regions with mirror properties: a meta-analysis of 125 human fMRI studies. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 36(1), 341-349.

Molnar-Szakacs, I., Kaplan, J., Greenfield, P. M., & Iacoboni, M. (2006). Observing complex action sequences: the role of the fronto-parietal mirror neuron system. *Neuroimage*, 33(3), 923-935.

Monaco, M., Costa, A., Caltagirone, C., & Carlesimo, G. A. (2013). Forward and backward span for verbal and visuo-spatial data: standardization and normative data from an Italian adult population. *Neurological Sciences*, 34(5), 749-754.

Morris, J. S., Frith, C. D., Perrett, D. I., Rowland, D., Young, A. W., Calder, A. J., & Dolan, R. J. (1996). A differential neural response in the human amygdala to fearful and happy facial expressions. *Nature*, 383(6603), 812-815.

Mukamel, R., Ekstrom, A. D., Kaplan, J., Iacoboni, M., & Fried, I. (2010). Single-neuron responses in humans during execution and observation of actions. *Current biology*, 20(8), 750-756.

Nasreddine, Z. S., Phillips, N. A., Bédirian, V., Charbonneau, S., Whitehead, V., Collin, I., ... & Chertkow, H. (2005). The Montreal Cognitive Assessment, MoCA: a brief screening tool for mild cognitive impairment. *Journal of the American Geriatrics Society*, 53(4), 695-699.

Nichols, E., Szeoke, C. E., Vollset, S. E., Abbasi, N., Abd-Allah, F., Abdela, J., ... & Murray, C. J. (2019). Global, regional, and national burden of Alzheimer's disease and other dementias, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *The Lancet Neurology*, 18(1), 88-106.

Oldfield, R. C. (1971). The assessment and analysis of handedness: the Edinburgh inventory. *Neuropsychologia*, 9(1), 97-113.

Olsson, B., Lautner, R., Andreasson, U., Öhrfelt, A., Portelius, E., Bjerke, M., ... & Zetterberg, H. (2016). CSF and blood biomarkers for the diagnosis of Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet Neurology*, 15(7), 673-684.

Parakh, R., Roy, E., Koo, E., & Black, S. (2004). Pantomime and imitation of limb gestures in relation to the severity of Alzheimer's disease. *Brain and cognition*, 55(2), 272-274.

Passingham, R. E., Toni, I., & Rushworth, M. F. (2000). Specialisation within the prefrontal cortex: the ventral prefrontal cortex and associative learning. *Executive control and the frontal lobe: Current issues*, 103-113.

Pelosi, E., Avanzino, L., Bove, M., Stramesi, P., Nieuwboer, A., & Abbruzzese, G. (2010). Action observation improves freezing of gait in patients with Parkinson's disease. *Neurorehabilitation and neural repair*, 24(8), 746-752.

Penny, W., & Holmes, A. (2007). Random effects analysis. *Statistical parametric mapping: The analysis of functional brain images*, 156, 165.

Perrett, D. I., Harries, M. H., Bevan, R., Thomas, S., Benson, P. J., Mistlin, A. J., ... & Ortega, J. E. (1989). Frameworks of analysis for the neural representation of animate objects and actions. *Journal of experimental Biology*, 146(1), 87-113.

Perrett, D. I., Mistlin, A. J., Harries, M. H., & Chitty, A. J. (1990). Understanding the visual appearance and consequence of hand actions. *Vision and action: the control of grasping*, 163-180.

Rabbito, A., Dulewicz, M., Kulczyńska-Przybik, A., & Mroczko, B. (2020). Biochemical markers in Alzheimer's disease. *International journal of molecular sciences*, 21(6), 1989.

Rattanachayoto, P., Tritanon, O., Laothamatas, J., & Sungkarat, W. (2012). Comparison of a mirror neuron system among elders with mild cognitive impairment, Alzheimer's disease, and no disease.

Rizzolatti, G., & Fogassi, L. (2014). The mirror mechanism: recent findings and perspectives. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 369(1644), 20130420.

Rizzolatti, G., Cattaneo, L., Fabbri-Destro, M., & Rozzi, S. (2014). Cortical mechanisms underlying the organization of goal-directed actions and mirror neuron-based action understanding. *Physiological reviews*, 94(2), 655-706.

Rizzolatti, G., Fadiga, L., Gallese, V., & Fogassi, L. (1996). Premotor cortex and the recognition of motor actions. *Cognitive brain research*, 3(2), 131-141.

Rizzolatti, G., Fadiga, L., Matelli, M., Bettinardi, V., Paulesu, E., Perani, D., & Fazio, F. (1996). Localization of grasp representations in humans by PET: 1. Observation versus execution. *Experimental brain research*, 111(2), 246-252.

Rizzolatti, G., Sinigaglia, C., (2006) *So quel che fai*, Raffaello Cortina Editore

Rizzolatti, G., Sinigaglia, C., (2019) *Specchi nel cervello. Come comprendiamo gli altri dall'interno*, Raffaello Cortina Editore

Robinson, M., Lee, B. Y., & Hane, F. T. (2017). Recent progress in Alzheimer's disease research, part 2: genetics and epidemiology. *Journal of Alzheimer's Disease*, 57(2), 317-330.

Rowe, J. B., Toni, I., Josephs, O., Frackowiak, R. S., & Passingham, R. E. (2000). The prefrontal cortex: response selection or maintenance within working memory?. *Science*, 288(5471), 1656-1660.

Rozzi, S., Ferrari, P. F., Bonini, L., Rizzolatti, G., & Fogassi, L. (2008). Functional organization of inferior parietal lobule convexity in the macaque monkey: electrophysiological characterization of motor, sensory and mirror responses and their correlation with cytoarchitectonic areas. *European Journal of Neuroscience*, 28(8), 1569-1588.

Sacco, K., (2012) *Le Neuroimmagini. Nuove frontiere per lo studio del cervello umano in vivo*, Idelson-Gnocchi Editore

Salimi, S., Irish, M., Foxe, D., Hodges, J. R., Piguet, O., & Burrell, J. R. (2019). Visuospatial dysfunction in Alzheimer's disease and behavioural variant frontotemporal dementia. *Journal of the neurological sciences*, 402, 74-80.

Salimi, S., Irish, M., Foxe, D., Hodges, J. R., Piguet, O., & Burrell, J. R. (2017). Can visuospatial measures improve the diagnosis of Alzheimer's..

Sanin, G., & Benke, T. (2017). Bimanual gesture imitation in Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 57(1), 53-59.

Santangelo, G., Siciliano, M., Pedone, R., Vitale, C., Falco, F., Bisogno, R., ... & Trojano, L. (2015). Normative data for the Montreal Cognitive Assessment in an Italian population sample. *Neurological Sciences*, 36(4), 585-591.

Scheltens P, De Strooper B, Kivipelto M, Holstege H, Chételat G, Teunissen CE, Cummings J, van der Flier WM. Alzheimer's disease. *Lancet*. 2021 Apr 24;397(10284):1577-1590. doi: 10.1016/S0140-6736(20)32205-4. Epub 2021 Mar 2. PMID: 33667416.

Scherder, E. J., Van Paasschen, J., Deijen, J. B., Van Der Knokke, S., Orlebeke, J. F. K., Burgers, I., ... & Sergeant, J. A. (2005). Physical activity and executive functions in the elderly with mild cognitive impairment. *Aging & mental health*, 9(3), 272-280.

Serrano-Pozo, A., Frosch, M. P., Masliah, E., & Hyman, B. T. (2011). Neuropathological alterations in Alzheimer disease. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 1(1), a006189.

Sgandurra, G., Biagi, L., Fogassi, L., Sicola, E., Ferrari, A., Guzzetta, A., ... & Cioni, G. (2018). Reorganization of the action observation network and sensory-motor system in children with unilateral cerebral palsy: an fMRI study. *Neural plasticity*, 2018.

Sgandurra, G., Ferrari, A., Cossu, G., Guzzetta, A., Fogassi, L., & Cioni, G. (2013). Randomized trial of observation and execution of upper extremity actions versus action alone in children with unilateral cerebral palsy. *Neurorehabilitation and neural repair*, 27(9), 808-815.

Slachevsky, A., Forno, G., Barraza, P., Mioshi, E., Delgado, C., Lillo, P., ... & Hornberger, M. (2019). Mapping the neuroanatomy of functional decline in Alzheimer's disease from basic to advanced activities of daily living. *Journal of neurology*, 266(6), 1310-1322.

Sperling, R. A., Aisen, P. S., Beckett, L. A., Bennett, D. A., Craft, S., Fagan, A. M., ... & Phelps, C. H. (2011). Toward defining the preclinical stages of Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimer's & dementia*, 7(3), 280-292.

Stebbins, G. T., & Murphy, C. M. (2009). Diffusion tensor imaging in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Behavioural neurology*, 21(1, 2), 39-49.

Vallar, G., Rusconi, M. L., Fontana, S., & Musicco, M. (1994). Tre test di esplorazione visuo-spaziale: taratura su 212 soggetti normali. *Archivio di Psicologia, Neurologia e Psichiatria*.

Verghese, J., Robbins, M., Holtzer, R., Zimmerman, M., Wang, C., Xue, X., & Lipton, R. B. (2008). Gait dysfunction in mild cognitive impairment syndromes. *Journal of the American Geriatrics Society*, 56(7), 1244-1251.

Visalberghi, E., & Fragaszy, D. (2002). f 8" Do Monkeys Ape?"-Ten Years After. Imitation in animals and artifacts, 471.

Weintraub, S., Wicklund, A. H., & Salmon, D. P. (2012). The neuropsychological profile of Alzheimer disease. Cold Spring Harbor perspectives in medicine, 2(4), a006171.

Wicker, B., Keysers, C., Plailly, J., Royet, J. P., Gallese, V., & Rizzolatti, G. (2003). Both of us disgusted in My insula: the common neural basis of seeing and feeling disgust. Neuron, 40(3), 655-664.

www.alzint.org/about/dementia-facts-figures/dementia-statistics

Yeh, F. C., Panesar, S., Fernandes, D., Meola, A., Yoshino, M., Fernandez-Miranda, J. C., ... & Verstynen, T. (2018). Population-averaged atlas of the macroscale human structural connectome and its network topology. Neuroimage, 178, 57-68.

Zarino, B., Crespi, M., Launi, M., & Casarotti, A. (2014). A new standardization of semantic verbal fluency test. Neurological Sciences, 35(9), 1405-1411.