



**UNIVERSITÀ
DI PARMA**

DIPARTIMENTO DI MEDICINA E CHIRURGIA

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

**ANALISI DEI PARAMETRI COGNITIVI E STRUMENTALI
COME PREDITTORI DI EVOLUZIONE VERSO LA
DEMENTIA DI ALZHEIMER**

Relatore:

Chiar.mo Prof. Paolo Caffarra

Controrelatore:

Riccardo Manca

Laureanda:

Claudia Tursi

ANNO ACCADEMICO 2020/2021

Indice

ABSTRACT	4
CAPITOLO 1 - LE DEMENZE.....	6
1.1 Le demenze: definizione e classificazione	6
1.2 I criteri diagnostici	8
1.3 Il Mild Cognitive Impairment: stato di transizione tra l'invecchiamento normale e la demenza di Alzheimer.....	10
1.4 La demenza di Alzheimer.....	15
1.4.1 Eziopatogenesi.....	16
1.4.2 Decorso della malattia.....	18
1.4.3 Quadro clinico	20
1.4.4 Diagnosi	22
1.4.5 Epidemiologia e tasso di incidenza.....	27
1.4.6 Storia della iniziativa ADNI.....	29
1.4.7 Trattamento	35
CAPITOLO 2 - GLI STRUMENTI PER LA DIAGNOSI: RUOLO DEI BIOMARKER E DEI TEST NEUROPSICOLOGICI NELLA DEMENZA DI ALZHEIMER.....	39
2.1 Esame del liquido cerebro-spinale (CSF).....	40
2.2 Tecniche di neuroimaging: PIB-PET, 18F-FDG PET e RMN.....	44
2.3 I polimorfismi genetici	54
2.4 Confronto e associazione tra biomarker	57
2.4 Test neuropsicologici	58
CAPITOLO 3: LA RICERCA	81
3.1 Obiettivi.....	81
3.2 Materiali e Metodi.....	82
3.2.1 Partecipanti.....	82
3.2.2 Test neuropsicologici	83

3.2.3 Biomarcatori AD	86
3.2.4 Analisi statistiche.....	88
3.3 Risultati.....	90
3.4 Discussione	94
3.5 Conclusioni	102
Bibliografia	105
Sitografia.....	117

ABSTRACT

La demenza, è uno stato di progressivo decadimento delle funzioni cerebrali che porta a un declino delle facoltà cognitive della persona. Nel quadro globale delle demenze, la malattia di Alzheimer (Alzheimer's Disease, AD), è la forma di demenza più frequente. La malattia di Alzheimer avanza in modo lento e graduale, pertanto è importante individuarne la condizione iniziale, definita Declino Cognitivo Lieve o MCI (Mild Cognitive Impairment), in cui la malattia è già presente ma in forma lieve. In generale, la presenza di MCI non indica necessariamente la presenza della malattia incipiente ma ne costituisce un fattore di rischio. Pertanto, la ragione principale di interesse clinico nei confronti del MCI, risiede nella possibilità di individuare, in una fase precoce, i soggetti affetti da AD, in modo da fornire trattamenti che interrompono il processo neuropatologico di base. Obiettivo principale del presente studio è indagare parametri cognitivi (misure di memoria episodica e semantica) e strumentali (positività a biomarcatori per Alzheimer, quali livelli di β amiloide ($A\beta$) e tau fosforilata (p-tau) da liquido cerebrospinale e atrofia ippocampale valutata in vivo con risonanza magnetica) sensibili alla malattia di Alzheimer, come predittori di progressione da declino cognitivo lieve a demenza. Sono stati selezionati 697 partecipanti dal database Alzheimer Disease Neuroimaging Initiative (ADNI): 508 con declino cognitivo e 189 controlli. Dei 508 soggetti MCI, si avevano dati a follow-up; in tal modo è stato possibile osservare chi convertiva o meno a demenza. I risultati evidenziano che, tra i biomarcatori indagati, quelli che predicono la conversione da una diagnosi di MCI ad una diagnosi di Alzheimer (AD) sono la tau fosforilata (p-tau) e il volume dell'ippocampo; mentre la proteina β -amiloide ($A\beta$ -42) nel liquido cerebrospinale non risulta predittore di conversione affidabile. I test di memoria episodica, in particolare l'apprendimento di parole al RAVLT (rievocazione immediata totale nei 5 trial di apprendimento) e la rievocazione differita della Memoria di Prosa, emergono come predittori significativi di conversione. L'aggiunta dei test di memoria semantica, in particolare il Boston

Naming Test (BNT) e la fluenza semantica (categoria animali), non dà un contributo significativo al modello di predizione. Inoltre, stratificando il gruppo di pazienti che convertono sulla base dei 3 biomarcatori indagati, non si trovano differenze statisticamente significative di funzionamento cognitivo globale alla baseline (punteggio MMSE) e tempo di conversione tra coloro che risultano positivi o negativi ai diversi biomarcatori. Solo gli anni di scolarità emergono come predittori statisticamente significativi in tutti i modelli di ANCOVA creati per indagare la performance cognitive globale (punteggio MMSE). Questo studio sottolinea l'importanza del ruolo dei biomarcatori e dei parametri cognitivi, in particolare misure di memoria episodica, nell'identificazione dei soggetti a rischio di conversione da MCI a malattia di Alzheimer.

CAPITOLO 1 - LE DEMENZE

1.1 Le demenze: definizione e classificazione

L'avanzare dell'età comporta non solo una serie di mutamenti a livello fisico-sensoriale, ma anche una serie di cambiamenti nella sfera cognitiva. Questi cambiamenti, rientrano nel "normale invecchiamento" e si manifestano con l'avanzare dell'età senza che ciò determini problemi di funzionamento e autonomia. Tuttavia, l'età anziana può essere caratterizzata da una serie di patologie, sia croniche sia a esito acuto, tra le quali la demenza è di particolare interesse a causa della sua frequenza e della gravità delle alterazioni cognitive, psicologiche e comportamentali ad essa associate.

La demenza è uno stato di progressivo decadimento delle funzioni cognitive riconducibile ad una patologia organica che porta il paziente ad una graduale perdita dell'autonomia funzionale. Con il termine demenza, in generale, si fa riferimento ad una condizione neurodegenerativa cronica progressiva ed irreversibile, anche se esistono condizioni dementigene totalmente o parzialmente reversibili (quelle ad esempio imputabili a cause vascolari e/o ad altre cause internistiche). Nel quadro globale delle demenze, la malattia di Alzheimer (Alzheimer's Disease, AD) è in assoluto la forma di demenza più frequente, rappresentando il 54% di tutte le demenze neurodegenerative, seguita da quella fronto-temporale (Fronto-Temporal Dementia, FTD) e dalla demenza con corpi di Lewy (dementia with Lewy Body, DLB).

Le funzioni cognitive primariamente implicate nello sviluppo della demenza sono le funzioni esecutive (come l'incapacità di pianificazione e organizzazione), le funzioni attentive, la memoria, le capacità linguistiche e prassiche, la capacità di giudizio, difficoltà di pensiero astratto e inoltre si osserva anche un'alterazione della capacità di elaborare gli stati affettivi. In aggiunta ai disturbi di tipo cognitivo possono sopraggiungere disturbi del comportamento e dell'umore, quali depressione e disforia, indifferenza e apatia, ansia, agitazione, aggressività,

irritabilità e labilità; e anche disturbi relativi alle funzioni neurodegenerative, quali alterazioni del ritmo sonno-veglia, dell'appetito, del comportamento sessuale, deliri, allucinazioni, attività motoria afinalistica, come ad esempio perseverazioni o vagabondaggio. La condizione di demenza determina, quindi, uno stato di compromissione globale o focalizzato ad alcuni domini cognitivi che porta ad una perdita di abilità acquisite e consolidate in precedenza e ad una incapacità di far fronte alle richieste della quotidianità. L'esordio di questa sindrome clinica è lento, progressivo e insidioso e conduce infine alla perdita dell'autonomia della persona. La formulazione diagnostica richiede un tempo variabile in relazione alle singolari condizioni della persona.

Il criterio corrente di classificazione delle demenze è basato sulle cause ed individua forme primarie, o degenerative, e forme secondarie.

- Demenze primarie (o idiopatiche, anche dette degenerative), sono quelle che non hanno un'eziologia nota, possono dividersi in:
 - la Malattia di Alzheimer (42% di tutte le forme organiche), la Demenza Fronto-temporale, e la Demenza da Atrofie corticali posteriori.
 - Demenza a Corpi di Lewy, la Parkinson-Demenza, l'Atrofia Multisistemica, la Degenerazione Cortico-basale, la Paralisi Sopranucleare Progressiva, la Malattia di Huntington, le Atassie Spinocerebellari.
- Demenze secondarie, a eziologia nota, derivanti da:
 - Patologie dirette del Sistema Nervoso Centrale: vascolari, infettive, demielinizzanti, malattie metaboliche del SNC, traumatiche, tumorali
 - Patologie sistemiche extra-cerebrali: metaboliche, disendocrine, tossiche, disimmuni, paraneoplastiche.

Sotto il profilo clinico le demenze si distinguono anche in corticali e sottocorticali, a seconda della sede in cui prevale l'aspetto degenerativo, e quindi il coinvolgimento di specifiche strutture funzionali. Le demenze corticali, caratterizzate da estesa atrofia corticale e da lesioni degenerative intra- ed extra- neuronali (placche di amiloide), con progressiva perdita di cellule nervose nelle aree cerebrali vitali per la memoria e per altre funzioni cognitive, sono rappresentate in primo luogo dalla malattia di Alzheimer e secondariamente dalla malattia di Pick, dalla demenza fronto-temporale e dalla demenza a corpi diffusi di Lewy. Queste demenze clinicamente sono caratterizzate da precoce alterazione della memoria e successivamente da perdita del pensiero astratto, deficit del linguaggio, delle prassie, della percezione e della cognizione spaziale. Questi deficit considerati "corticali" non sono invece presenti nelle demenze sottocorticali, ove invece predominano il rallentamento dei processi cognitivi ed alterazioni della personalità e disturbi affettivi di tipo depressivo.

1.2 I criteri diagnostici

I criteri diagnostici più utilizzati per una corretta diagnosi di demenza sono quelli stabiliti dall'American Psychiatric Association, all'interno del Manuale Diagnostico e Statistico dei Disturbi Mentali (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, DSM-V-TR, 2013) e della World Health Organization che ha stabilito alcuni criteri diagnostici contenuti nella decima edizione dell'International Classification of Diseases (ICD-10).

Nel DSM-V il termine demenza viene sostituito con "Disordine Neurocognitivo Maggiore", inoltre viene aggiunta la categoria dei "Disordini Neurocognitivi Minori" (che nel DSM-IV prendevano il nome di Mild Cognitive Impairment), con la quale si identificano i deficit cognitivi lievi in uno o più domini, ma che non intaccano le attività funzionali.

I criteri DSM per identificare la demenza sono:

A. Sviluppo di deficit cognitivi multipli, manifestati da entrambe le condizioni seguenti:

1. Deficit della memoria (compromissione delle capacità di apprendere nuove informazioni o di ricordare informazione già acquisite)
2. Una (o più) delle seguenti alterazioni cognitive: afasia (alterazione del linguaggio), aprassia (compromissione della capacità di eseguire attività motorie nonostante l'integrità della funzione motoria), agnosia (incapacità di riconoscere o identificare oggetti nonostante l'integrità della funzione sensoriale), disturbo delle funzioni esecutive (cioè, pianificare, organizzare, ordinare in sequenza, astrarre).

B. Ciascuno dei deficit cognitivi dei Criteri A1 e A2 causa una compromissione significativa del funzionamento sociale o lavorativo, e rappresenta un significativo declino rispetto ad un precedente livello di funzionamento.

C. Il decorso è in rapporto all'eziopatogenesi della Demenza.

D. I deficit cognitivi dei Criteri A1 e A2 possono essere solo eziologicamente correlati a una condizione medica generale, agli effetti persistenti dell'uso di una sostanza (inclusa l'esposizione a tossine) o a una combinazione di questi fattori.

E. I deficit non si presentano esclusivamente durante il decorso di un Delirium.

F. Il disturbo non risulta meglio giustificato da un altro disturbo dell'Asse I (per es. Disturbo Depressivo Maggiore, Schizofrenia).

I criteri diagnostici presenti nell'ICD-10 sono:

A. L'evidenza di un declino della memoria e delle capacità intellettive di grado sufficiente a compromettere le attività personali nella vita di tutti i giorni.

B. La compromissione della memoria riguarda la registrazione, la conservazione e la rievocazione della nuova informazione, ma anche il materiale precedentemente appreso.

C. Vi è anche una compromissione del pensiero e delle capacità di ragionamento ed un rallentamento del flusso delle idee. L'elaborazione dell'informazione in arrivo è compromessa

in quanto l'individuo trova sempre più difficile prestare attenzione a più di uno stimolo per volta e spostare il focus dell'attenzione da un argomento all'altro.

D. Se la demenza è l'unica diagnosi, è necessaria l'evidenza di una coscienza lucida. Tuttavia una contemporanea diagnosi di delirium sovrapposta a demenza è frequente.

E. I sintomi e le compromissioni sopra elencati devono essere evidenti da almeno sei mesi perché possa essere posta una diagnosi certa.

1.3 Il Mild Cognitive Impairment: stato di transizione tra l'invecchiamento normale e la demenza di Alzheimer

La demenza sta diventando l'emergenza medica e sociale più temuta del terzo millennio con un'incidenza di circa il 5% nella popolazione oltre i 65 anni di età e del 24-30% negli ultraottantenni. La demenza consiste in un deterioramento cognitivo progressivo, di cui il primo e più evidente sintomo è il declino della memoria; poi con i ricordi del passato si disgrega la memoria delle azioni più semplici della vita quotidiana: mangiare, lavarsi, vestirsi. L'insorgenza della demenza è subdola perché avanza in modo lento e graduale; per questo la Medicina odierna si sforza di individuarne le fasi iniziali, quando cioè la malattia è già presente ma in forma lieve ed il soggetto è ancora autonomo nella vita di tutti i giorni. La condizione iniziale, che insorge intorno ai 60 anni, è definita Declino Cognitivo Lieve o MCI (acronimo di Mild Cognitive Impairment) e non coinvolge le funzioni cognitive generali, né le abilità funzionali, come accade nella demenza. Il declino cognitivo lieve deve essere considerato un campanello di allarme quale fattore di rischio che potrebbe precedere lo sviluppo negli anni successivi di una forma di demenza.

Il concetto di MCI è stato introdotto negli ultimi anni, quale nuova categoria clinica, relativa a uno stato di confine/transizione tra l'invecchiamento normale e la demenza (in particolare la malattia di Alzheimer). Si tratta di una condizione caratterizzata da prestazioni deficitarie nelle

prove che valutano uno o più processi cognitivi e, allo stesso tempo, dalla presenza di un funzionamento quotidiano intatto.

Il mild cognitive impairment (MCI) rappresenta uno stato intermedio della funzione cognitiva tra i cambiamenti osservati nell'invecchiamento normale e quelli che soddisfano i criteri per la demenza. Il concetto si riferisce ad una popolazione di soggetti che subiscono un graduale declino cognitivo, non sono compromessi nella loro funzionalità quotidiana e sono potenzialmente a rischio di sviluppare demenza di Alzheimer (Petersen et al., 1999).

Fin dagli anni '60 si è tentato di definire una specifica categoria nosologica caratterizzata dalla presenza di un deficit cognitivo isolato in soggetti di età adulta-anziana non affetti da demenza. Ciò al fine di poter identificare una fase di transizione dall'invecchiamento fisiologico a quello patologico che potesse essere utile alla comprensione della fase precoce della storia naturale delle demenze. Nel corso degli ultimi decenni, sono state proposte diverse possibili categorie, quali "Benign Senescent Forgetfulness", "Age Associated Memory Impairment" (AAMI), "Age Associated Cognitive Decline" (AACD), "Cognitive Impairment No Dementia" (CIND) e infine "Mild Cognitive Impairment" (MCI) (Vanacore et al., 2017).

Petersen, nel 1999, ha definito il mild cognitive impairment come una condizione caratterizzata da disturbo soggettivo di memoria; deficit di memoria documentato dai test cognitivi; normali abilità nelle attività quotidiane e assenza di demenza. Dunque, il deficit mnestico rappresenta il cardine neuropsicologico della definizione di MCI, secondo i criteri preposti da Petersen. Successivamente, Petersen, ha modificato tali criteri inserendo nell'operazionalizzazione del MCI anche una condizione di minima compromissione nelle attività di vita quotidiana, rendendo quindi tale condizione sempre più simile a uno stadio iniziale della demenza (Artero et al., 2006). I criteri definitivi di diagnosi, tuttora utilizzati, sono stati stabiliti nel 1999, anno in cui il gruppo di studio della *Mayo Clinic* definisce la condizione di "Mild Cognitive Impairment" e ne descrive la storia naturale (Petersen et al., 1999).

Lo studio di Peterson e colleghi prevedeva la valutazione di soggetti che venivano indirizzati alla Mayo Clinic perché il soggetto stesso o un familiare esprimevano preoccupazione riguardo alla funzione cognitiva, in alternativa era il medico ad evidenziare un cambiamento cognitivo del soggetto in esame. Veniva effettuata una completa valutazione anamnestica, neuropsicologica, laboratoristica e strumentale atta all'esclusione dallo studio dei pazienti con Malattia di Alzheimer o con quadri di demenza definiti reversibili. La diagnosi di MCI veniva posta in presenza di disturbi soggettivi di memoria riferiti dal paziente o da un familiare; deficit obiettivi di memoria misurati con test psicometrici ma con conservazione dell'autonomia nella vita quotidiana; altre funzioni cognitive nella norma e in assenza di demenza o di altre condizioni che possano spiegare il deficit organico.

La definizione di MCI, viene rivista nel 2004 dall'International Working Group on MCI in considerazione della maggior complessità della condizione e con il riconoscimento di più sottotipi. I criteri diagnostici identificati sono i seguenti: (Winblad et al.,2004)

1. Il funzionamento cognitivo del soggetto non rientra nei limiti della norma ma, al tempo stesso, il paziente non risponde ai requisiti per la diagnosi di demenza (non soddisfa i criteri DSM-IV e ICD-10 per la diagnosi di demenza);
2. E' evidente un declino cognitivo associato a prestazioni deficitarie oggettivabili in compiti cognitivi e/o all'evidenza di declino nel tempo ai test neuropsicologici;
3. Il declino cognitivo è percepito dal paziente e/o da una persona a lui vicina;
4. Assenza di impatto funzionale rilevante: attività di base della vita quotidiana conservate, oppure minimo declino delle funzioni strumentali complesse.

E' possibile affermare che la definizione di MCI non include solo i deficit mnesici ma anche l'alterazione di altre funzioni cognitive. A tal proposito, in base al diverso profilo

neuropsicologico, il costrutto del MCI è stato così ridefinito in quattro specifiche entità in rapporto alla compromissione o integrità della memoria (Winblad et al.,2004):

- MCI amnesico: il paziente presenta un deficit isolato della memoria;
- MCI amnesico multidominio: le difficoltà di memoria sono accompagnate da deficit di almeno un'altra funzione cognitiva (es. linguaggio, funzioni esecutive, abilità visuo-spaziali);
- MCI non amnesico a dominio singolo: il declino cognitivo coinvolge un singolo ambito, diverso dalla memoria (ad es. un deficit isolato delle funzioni visuo-spaziali);
- MCI non amnesico multidominio: il declino coinvolge almeno due funzioni cognitive, ma con esclusione della memoria.

L'eziopatogenesi di queste quattro entità viene attribuita a fattori degenerativi, vascolari, metabolici, traumatici, psichiatrici o di altra natura. Ne consegue che la presentazione clinica del MCI può essere variabile, in base al numero e al tipo delle funzioni neuropsicologiche deficitarie. Per definire il sottotipo specifico di MCI è necessario un esame cognitivo dettagliato, utilizzando una batteria di test neuropsicologici (Winblad et al.,2004). E' possibile osservare il processo di classificazione del MCI (*Figura 1.1*).

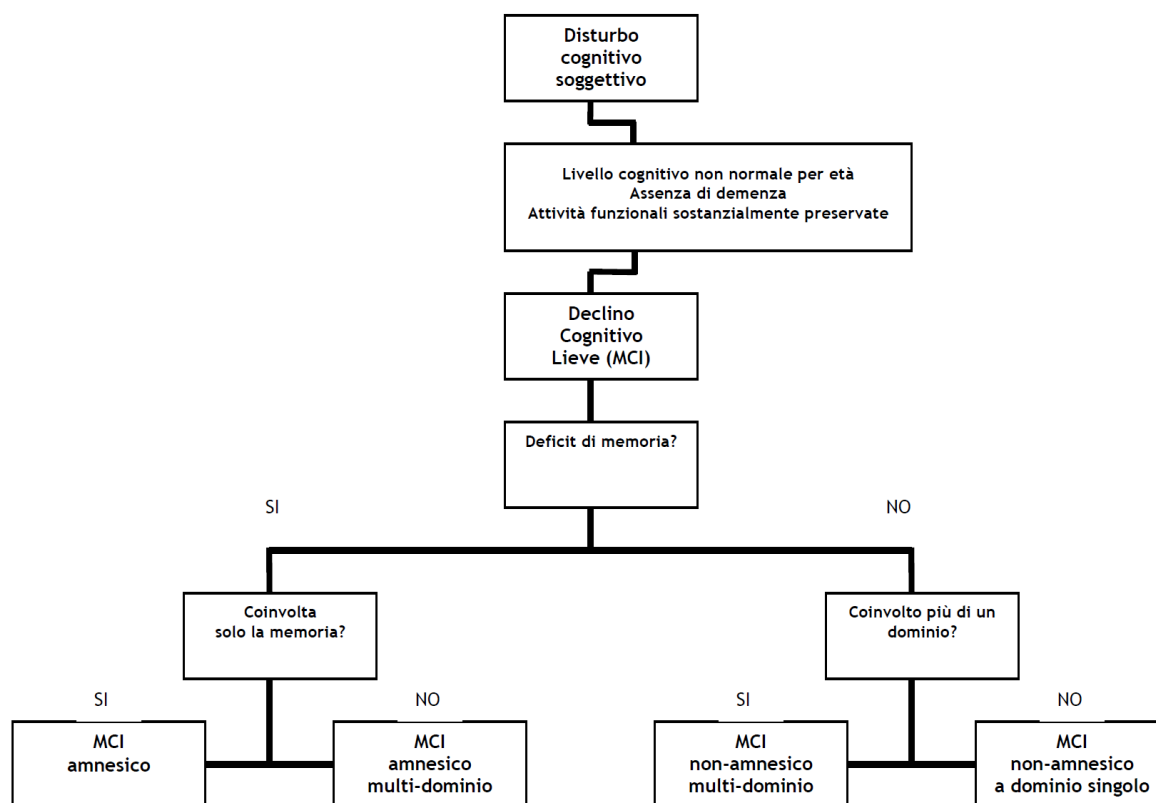


Figura 1.1 Schema diagnostico in grado di indirizzare verso una specifica forma di MCI (Winblad et al.,2004).

Dunque, L'MCI può interessare molti domini cognitivi (linguaggio, attenzione, ragionamento, etc.), ma peculiarmente si tratta di soggetti le cui attività di base risultano conservate ed il quadro deficitario si esprime essenzialmente nell'ambito della memoria (cosiddetto MCI amnesico). Allorché siano coinvolti più domini, in realtà diviene molto discutibile se si tratti di MCI o piuttosto di una forma di demenza in evoluzione. L'elemento saliente di differenziazione con la malattia di Alzheimer è costituito dall'assenza di incompetenza ecologica, ossia la progressiva incapacità del soggetto a svolgere le attività quotidiane. I soggetti, il cui profilo neuropsicologico soddisfa i criteri per la diagnosi di MCI, hanno da 3 a 4 volte maggiori probabilità di sviluppare un quadro di demenza rispetto alla popolazione integra della medesima età.

In generale, il deterioramento cognitivo lieve (MCI), è stato un obiettivo sempre più comune di potenziali studi terapeutici. Tuttavia, i substrati neuropatologici del MCI sono eterogenei e, nonostante l'alto tasso di conversione in AD, un numero significativo di pazienti MCI rimane stabile, o addirittura torna ad essere cognitivamente normale (Manly et al., 2008). In definitiva, è possibile affermare che non tutte le persone a cui viene diagnosticato il declino cognitivo lieve condividono lo stesso destino. In alcuni, i sintomi si mantengono stabili nel tempo, in gravità e frequenza; in altri, il deficit migliora o addirittura può regredire, se secondario a un'altra condizione clinica o di stress emotivo (quale depressione, carenze vitaminiche, abuso di medicinali o alcol su cui il medico può intervenire).

1.4 La demenza di Alzheimer

La demenza di Alzheimer (Alzheimer's Disease, AD) consiste in un processo degenerativo che distrugge le cellule del cervello provocando un deterioramento irreversibile delle funzioni cognitive superiori, quali la memoria, il ragionamento e il linguaggio, fino ad una compromissione totale dello stato funzionale. Il deterioramento delle funzioni cognitive interferisce col normale svolgimento delle attività di vita quotidiana, l'inizio è generalmente insidioso e subdolo e il decorso irreversibilmente progressivo (Pellegrini et al., 2005). Questa patologia prende il nome da Alois Alzheimer, il neurologo tedesco che la descrisse per la prima volta nel 1907, insieme a Perusini. Alois Alzheimer descrisse i sintomi e gli aspetti neuropatologici della malattia dopo che all'esame autoptico di una donna, Auguste D., morta in seguito ad una insolita malattia mentale, notò una riduzione delle cellule nervose, la presenza di agglomerati, poi detti placche amiloidi, e di fasci di fibre aggrovigliate, i cosiddetti viluppi neuro-fibrillari.

Come affermato da Bianchetti et al. (2003), è spesso molto difficile identificare il momento di inizio della malattia. La storia naturale delle demenze degenerative, e in particolare della

malattia di Alzheimer, è infatti caratterizzata da una fase preclinica, di durata non nota, in cui le alterazioni neuropatologiche non si accompagnano a manifestazioni sintomatologiche evidenti. È qui che la ricerca si sta oggi impegnando per trovare marcatori biologici e clinici precoci che permetterebbero un trattamento della malattia quando ancora non sono comparsi i sintomi.

1.4.1 Eziopatogenesi

Le possibili cause della malattia di Alzheimer sono ancora oggetto di studio da parte dei ricercatori. Questi hanno prospettato che alcune persone possono avere maggiori probabilità di contrarre la malattia, tuttavia non si può far risalire l'insorgenza della malattia ad un'unica causa ma ad un insieme di fattori. L'età costituisce il fattore più consistente per lo sviluppo della malattia di Alzheimer tra i 75 e gli 80 anni (Bianchetti et al., 2003). E' importante rilevare che, anche se con il passare degli anni le persone tendono a presentare deficit di memoria, la maggioranza degli individui sopra gli ottant'anni è intellettualmente integra. Sebbene, quindi, le probabilità di contrarre la malattia di Alzheimer crescano con gli anni, la vecchiaia di per sé non è la causa della malattia, ma secondo dati recenti possono essere fattori di rischio importanti i problemi legati all'età, come l'aterosclerosi. Si definiscono fattori di rischio, condizioni e caratteristiche dello stile di vita la cui presenza, favorisce ma non determina con un meccanismo di causa-effetto, la comparsa di una malattia (Bianchetti et al., 2003). Altri fattori possono essere traumi cranici o l'esposizione a sostanze tossiche (alluminio, idrocarburi aromatici).

Inoltre, come affermato da Bianchetti et al. (2003), se si escludono le forme di demenza ereditarie, che riguardano una piccola percentuale, nel 95% dei casi il rischio di sviluppare la demenza di Alzheimer per i familiari dei pazienti con la patologia è analogo a quello del figlio di un genitore con ipertensione arteriosa o con diabete. Ossia, vi è una predisposizione lievemente maggiore rispetto a quella di figli i cui genitori non sono affetti da demenza. Nella grande maggioranza dei casi, pertanto, la malattia si manifesta in modo casuale, imprevedibile,

in assenza di una trasmissione genetica diretta. A seguito dell'ampliamento delle conoscenze relative agli aspetti genetici per la malattia di Alzheimer, oggi conosciamo alcuni difetti genetici responsabili dello sviluppo della malattia e altre caratteristiche del patrimonio genetico che possono influenzare, proteggere o, al contrario, favorire la comparsa di demenza. In ogni caso le forme di Alzheimer "familiare" (cioè su base ereditaria) non sono più dell'1% dei casi totali. Esistono due tipi di investigazioni genetiche che possono essere condotte (Bianchetti et al., 2003):

- Test genetici predittivi: sono test in grado di rilevare se un soggetto sano, non affetto da malattia di Alzheimer, ha la possibilità di contrarla e con quale percentuale di probabilità. Nell'1% dei casi la malattia di Alzheimer è causata da un gene alterato che ne determina la trasmissione da una generazione all'altra con esordio tra i 35 e i 60 anni, in cui l'età d'esordio all'interno della stessa famiglia è relativamente stabile. La causa dell'insorgenza della demenza di Alzheimer nella forma familiare, sembra legata alla mutazione di alcuni geni che provocano la produzione di alcune proteine patogene. Sono i geni mutati della Presenilina 1 (PS1) sul cromosoma 14, della Presenilina 2 (PS2) sul cromosoma 1 e della proteina precursore dell'amiloide (APP) localizzato sul cromosoma 21, che determinano un rischio del 100% di sviluppare la malattia. Di norma, queste forme ereditarie esordiscono in giovane età, 40-50 anni, e hanno una chiara distribuzione familiare, ossia sono noti ai familiari casi di demenza a vari livelli generazionali. In questa circostanza il test predittivo è indicato.
- Test genetici di rischio: identificano, in un soggetto sano, un fattore di rischio genetico (non necessariamente un'alterazione) che può aumentare la probabilità di sviluppare la malattia, così come la presenza non è invariabilmente associata alla sua comparsa. In questo ambito è stato identificato un gene che può influenzare questo rischio di ammalarsi, questo gene si trova nel cromosoma 19, ed è responsabile della produzione

di una proteina chiamata apolipoproteina E (ApoE) della quale esistono tre forme: E2, E3 e E4, sotto il controllo di un gene localizzato sul cromosoma 14. Tra queste, mentre l'E2 svolge un ruolo protettivo a livello cerebrale di fronte ad insulti di varia natura (ischemia o traumi per esempio), l'E4 svolge un ruolo opposto, contrastando o non favorendo i meccanismi di riparazione dei neuroni dopo una lesione. Questo è il motivo per il quale i soggetti portatori di E4 hanno un rischio maggiore di contrarre la malattia di Alzheimer rispetto ai portatori di E2. Non si tratta comunque di un rischio assoluto. Esistono infatti portatori di E2 che sviluppano malattia di Alzheimer e portatori di E4 che non la sviluppano. Oltre al gene per l'Apo-E, recentemente sono stati descritti altri geni che costituiscono fattori di rischio per la malattia di Alzheimer. Tra questi SORL1, un gene coinvolto nel trasporto dell'amiloide dentro le cellule. Esistono inoltre numerosi lavori centrati sulla suscettibilità genetica (Kunkle et al., 2019; Lambert et al., 2013).

Ad oggi, rispetto al rischio di sviluppare la demenza di Alzheimer, la medicina può affermare che esiste una generica predisposizione ma senza quantificare una percentuale di rischio, fatta eccezione per alcune rare forme familiari (Bianchetti et al., 2003).

1.4.2 Decorso della malattia

La malattia di Alzheimer ha un decorso lungo, progressivo ed irreversibile. Convenzionalmente, per la demenza e per la malattia di Alzheimer, sono state definite tre tappe che determinano le tre diverse fasi (lieve, moderata e grave) della sintomatologia clinica. Il passaggio da una fase all'altra è graduale.

La fase iniziale (lieve) della malattia di Alzheimer ha una durata media che varia dai 2 ai 4 anni. È caratterizzata da disturbi della memoria a breve termine e dalla difficoltà nell'orientamento spazio-temporale che intaccano le attività strumentali più complesse, come ad esempio la gestione delle finanze o dei farmaci. Sul piano linguistico, compaiono problematiche nel

produrre frasi adeguate a supportare il pensiero e vengono utilizzate pause frequenti dovute all'incapacità di "trovare la parola giusta". La persona malata è consapevole delle proprie difficoltà e dei propri fallimenti e il suo umore potrebbe divenire più deflesso, con comparsa di depressione tanto che potrebbe ritirarsi dalle attività sociali oppure reagire con manifestazioni aggressive e ansiose. Nella pratica clinica un paziente si considera in questa fase quando al Mini Mental State Examination (MMSE) ottiene un punteggio compreso tra 18 e 24.

La fase successiva, quella della demenza moderata, può durare in media dai 2 ai 10 anni ed è caratterizzata da un aggravamento dei sintomi presentati nella fase precedente. Il danno alla memoria è sempre più significativo, comportando così un aumento delle dimenticanze, dell'incapacità di ricordare i nomi dei famigliari con la possibilità di confonderli, così come aumenta il disorientamento topografico, spaziale e temporale. In questo stadio aumenta la necessità di supervisione e di assistenza nelle attività quotidiane, come la preparazione dei pasti, l'uso di mezzi di trasporto, anche al fine di evitare situazioni di pericolo. Il paziente potrebbe trascurare il proprio aspetto, l'igiene personale, l'alimentazione e le attività quotidiane. I cambiamenti di umore e comportamentali divengono più rilevanti. La persona potrebbe diventare sospettosa, sviluppare deliri e comportamenti ossessivo-compulsivi. Nella pratica clinica un paziente si considera in questa fase quando al MMSE ottiene un punteggio compreso tra 10 e 18.

La fase terminale della malattia, quella grave, dura in media 3 anni. La persona affetta è totalmente dipendente e richiede continua assistenza. E' caratterizzata da una perdita quasi completa delle capacità cognitive e di produzione e comprensione linguistica. Il soggetto diviene totalmente incapace di riconoscere i propri famigliari, di compiere gli atti quotidiani della vita come vestirsi, mangiare, lavarsi, riconoscere i propri oggetti personali e la propria

casa. Il movimento è sempre più compromesso. Nella pratica clinica un paziente si considera in questa fase quando al MMSE ottiene un punteggio inferiore a 10.

1.4.3 Quadro clinico

La malattia di Alzheimer è caratterizzata da sintomi di natura cognitiva e sintomi psichiatrici e comportamentali denominati con l'acronimo BPSD, Behavioral and Psychological symptoms of Dementia. I sintomi cognitivi principalmente riscontrabili sono di natura mnestica, evidenti dalle prime fasi della malattia. Infatti il decorso della malattia è caratterizzato da un difetto della memoria a breve termine, con difficoltà nell'apprendimento di nuove informazioni, sia di natura semantica che episodica. Dapprima non riesce a riconoscere il significato e poi inizia a perdere i concetti. Si riscontrano in questo stadio, un passaggio dalla titubanza cognitiva fino all'incapacità di dare nome ed a esprimersi in modo fluente. Vi sono quindi anche deficit di linguaggio.

Nella grande maggioranza dei casi, solo a distanza di 1-2 anni dall'esordio della malattia, il disturbo della memoria è tale che i familiari ricorrono all'aiuto di uno specialista. Il disturbo della memoria costituisce il sintomo principale della malattia ed è il primo a manifestarsi rispetto ad altri che coinvolgono il linguaggio o la capacità di ragionamento. In alcuni casi, la malattia si manifesta con una difficoltà nella denominazione degli oggetti oppure con un impoverimento del linguaggio e il ricorso a frasi stereotipate (utilizzo di brevi frasi fatte e tendenza a ripetere, senza consapevolezza, le ultime parole o i suoni uditi). Il pensiero astratto e la capacità di eseguire ragionamenti risultano impoveriti. La capacità di giudizio è diminuita spesso precocemente, cosicché il paziente manifesta un ridotto rendimento lavorativo e può essere incapace di affrontare e risolvere problemi anche semplici relativi ai rapporti interpersonali o familiari. Con il progredire della patologia si aggiungono danni alla memoria a lungo termine, danneggiando così la memoria prospettica, quella autobiografica e infine nelle ultime fasi della patologia quella procedurale. Coesistono disturbi di tipo motorio complesso,

riconducibili alle forme di aprassia ideomotoria e di quella ideativa. L'individuo affetto da malattia di Alzheimer, perde sempre più la normale autonomia funzionale in quanto nelle fasi più avanzate si riscontrano anche aprassia dell'abbigliamento e disorientamento topografico. Le altre funzioni cognitive compromesse dalla patologia sono quelle: attentive (soprattutto attenzione sostenuta e divisa); linguistiche, soprattutto anomia (difficoltà nella produzione), parafasia verbale (identificazione degli oggetti), perseverazioni verbali, logopenia ed ecolalie; esecutive (ad esempio deficit di pianificazione e organizzazione); disturbi prassici (soprattutto aprassia costruttiva che è l'incapacità di usare elementi singoli per produrre una figura modello complesso).

I sintomi psichiatrici e comportamentali denominati BPSD, comprendono disturbi psicotici, disturbi della sfera affettiva e alterazioni della personalità e del comportamento, la cui prevalenza lungo il decorso della malattia ha una rilevanza paragonabile a quella dei deficit cognitivi.

Le caratteristiche cliniche della malattia possono variare notevolmente da soggetto a soggetto, in quanto influenzati da vari aspetti: ad esempio dalla personalità del paziente o di quella dei familiari che lo assistono. I sintomi iniziali dell'Alzheimer sono spesso attribuiti all'invecchiamento, allo stress, oppure a depressione. Più frequentemente l'inizio della malattia di Alzheimer si manifesta con modificazioni del carattere, riduzione di interesse verso le attività giornaliere o il proprio lavoro, ripetitività, dimenticanze sempre più frequenti. I caratteri premorbosi della personalità (cioè i tratti caratteriali precedenti la malattia) sono spesso esagerati: compaiono atteggiamenti ossessivi, aggressività, sospettosità; in altri casi, invece, vi è un cambiamento della personalità, per cui soggetti solitamente controllati e misurati diventano impulsivi, intrattabili e talvolta anche violenti. Vi sono diversi sintomi non cognitivi o sintomi psico-comportamentali, che compaiono frequentemente nelle varie fasi della malattia, vengono

classificati in gruppi (o clusters) che richiedono approcci (anche di tipo farmacologico) diversi (Bianchetti et al., 2003):

- Alterazione del tono dell'umore (depressione, euforia);
- Manifestazioni di tipo psicotico (deliri, allucinazioni);
- Sintomi positivi (aggressività, agitazione, ansia, irritabilità);
- Disturbi neurovegetativi (del sonno, dell'alimentazione e dell'attività sessuale).

Questi disturbi si manifestano nel 90% dei pazienti e sono parte integrante della demenza di Alzheimer; la frequenza, il momento di esordio e la gravità sono variabili da individuo a individuo e nelle diverse fasi di malattia, a differenza dei deficit cognitivi, che, invece, hanno una comparsa e una progressione più lineari. La malattia di Alzheimer ha una durata variabile, da 3-4 fino al oltre 15 anni. I malati, soprattutto nelle fasi più avanzate, hanno un maggior rischio di sviluppare altre malattie che, in alcuni casi, possono anche essere molto gravi e modificare la prognosi (ovvero durata e gravità della malattia). Nelle fasi avanzate della malattia di Alzheimer il paziente è incapace di camminare e di svolgere qualsiasi attività della vita quotidiana, è incontinente. La memoria, sia recente che remota, è totalmente persa e il paziente può divenire muto e incapace di camminare, può manifestare difficoltà nella deglutizione e può essere necessario alimentarlo artificialmente. Il rischio di complicanze, quali malnutrizione, disidratazione, malattie infettive (polmoniti soprattutto), ulcere da decubito, diviene elevato (Bianchetti et al., 2003).

Oltre i sintomi psichiatrici e comportamentali, la malattia di Alzheimer è caratterizzata da sintomi cognitivi. Quelli

1.4.4 Diagnosi

Al fine di formulare una diagnosi di Malattia di Alzheimer è importante la presenza di un fenotipo clinico, indice di demenza, che riguarda la compromissione delle funzioni cognitive e di lesioni istopatologiche (placche senili, gangli neuro fibrillari, perdita sinaptica e depositi

vascolari amiloidei). Tuttavia, al fine di identificare con certezza la presenza della patologia è necessario ricorrere a criteri diagnostici. A tal proposito, nel 2011 un gruppo di ricercatori, del National Institute of Aging e dall'Alzheimer Association (NIA-AA), hanno pubblicato dei nuovi criteri sia per la fase preclinica, sia per quella sintomatica dell'AD, al fine di formulare una diagnosi e distinguere la malattia di Alzheimer da altre forme di demenza (McKhann et al., 2011). I nuovi criteri sono suddivisi in due sezioni: la prima sezione riguarda i criteri per la diagnosi di demenza da tutte le cause, mentre la seconda sezione riguarda la demenza causata da malattia di Alzheimer.

Criteri per la demenza da tutte le cause:

La demenza è diagnosticata quando sono presenti sintomi cognitivi o comportamentali che:

1. Interferiscono con il funzionamento lavorativo o le attività quotidiane;
2. Rappresentano un declino rispetto al precedente livello di funzionamento dell'individuo;
3. Non sono spiegabili con una diagnosi di delirium o di disturbo psichiatrico maggiore;
4. Il deficit cognitivo è dimostrato attraverso l'anamnesi e una valutazione tramite test neuropsicologici.
5. Il danno cognitivo o comportamentale coinvolge minimo due dei seguenti domini:
 - Disturbo di memoria, cioè incapacità di acquisire e ricordare nuove informazioni;
 - Disturbo delle funzioni esecutive, cioè un deficit di ragionamento, di giudizio e nell'esecuzione di compiti complessi;
 - Deficit visuo-spaziale (difficoltà a riconoscere facce o oggetti comuni);
 - Deficit linguistico;
 - Modificazione della personalità o del comportamento (fluttuazioni d'umore, apatia, perdita d'interessi, agitazione, atteggiamento socialmente inappropriato).

Criteri per la demenza da Malattia di Alzheimer (AD)

Demenza da AD probabile: rispetta i criteri indicati in precedenza, in più deve presentare le seguenti caratteristiche:

1. Esordio insidioso con insorgenza graduale dei sintomi;
2. Evidenza di progressivo peggioramento dei sintomi;
3. I deficit cognitivi iniziali e più rilevanti si rifanno soprattutto alla categoria mnestica
4. I deficit cognitivi iniziali e più rilevanti si rifanno a una delle seguenti categorie:
 - Presentazione amnestica, con il coinvolgimento di un altro dominio cognitivo: è la più comune manifestazione iniziale dell'AD
 - Presentazione non-amnestica:
 - Presentazione con alterazione del linguaggio, in aggiunta al coinvolgimento di un altro dominio
 - Presentazione visuo-spaziale, come agnosia, difficoltà nel riconoscimento dei volti, alessia, sempre in aggiunta al coinvolgimento di un altro dominio
 - Disfunzione esecutiva, alla quale si riconducono i deficit di ragionamento, giudizio, problem solving, in aggiunta al coinvolgimento di un altro dominio
5. Per applicare una diagnosi di demenza da AD probabile non dovrebbe esserci evidenza di patologia cerebrovascolare in relazione temporale con la sintomatologia cognitiva o evidenza di altre patologie neurodegenerative (come demenza a corpi di Lewy o demenza frontotemporale).

Demenza da AD probabile con maggiore livello di certezza:

1. Presenza di una mutazione nei geni codificanti per la Proteina Precursore dell'Amiloide -APP-, Presenilina 1 -PSEN1-, Presenilina 2 -PSEN2-
2. Accertamento di un progressivo declino cognitivo tramite l'uso di test neuropsicologici

Demenza da AD possibile: deve essere presente una delle seguenti situazioni:

1. Decorso atipico: per quanto riguarda i sintomi cognitivi sono rispettati i criteri per la demenza da AD, ma hanno un esordio improvviso oppure ci sono insufficienti dati clinici o insufficiente documentazione di un declino progressivo;
2. Presentazione eziologica mista: incontra i criteri per la demenza da AD ma vi è evidenza di patologia cerebrovascolare concomitante con la sintomatologia clinica, di altre patologie neurodegenerative come la demenza a corpi di Lewy o demenza frontotemporale o evidenza di comorbilità neurologica o non neurologica che compromette lo stato cognitivo.

Demenza da AD probabile con evidenza del processo fisiopatologico dell'AD

All'interno di questa categoria rientrano i pazienti che rispettano i criteri clinici per la demenza da AD probabile (punto 1) ma in aggiunta si riscontra l'evidenza dei biomarker correlati

col processo fisiopatologico dell'AD: calo della proteina β amiloide ($A\beta$) nel liquor, maggiori livelli di proteina tau o fosfotau nel liquor ed evidenza di danno neuronale confermato da RMN e/o

FDG-PET.

Demenza da AD possibile con evidenza del processo fisiopatologico dell'AD

Infine l'ultima categoria comprende i soggetti che presentano i criteri clinici per una diagnosi di demenza di tipo non AD, ma che risultano positivi ai biomarker per AD. Questo può dipendere da una presentazione atipica dell'AD o dalla coesistenza di una condizione diversa dall'AD.

Per quanto riguarda il percorso diagnostico, esso può essere articolato in tre fasi:

1. **L'anamnesi:** consiste nella raccolta dei dati anamnestici del paziente, ovvero tutti quei dati e le informazioni riguardanti la storia personale e familiare. E' importante l'apporto dei familiari o di chi conosce il paziente nella raccolta delle informazioni sulla storia recente e passata del malato (Bianchetti et al., 2003). L'anamnesi indaga, la presenza di gravi malattie sistemiche, di condizioni che possono ridurre le funzioni cognitive come ad esempio l'abuso di alcolici o di altre sostanze tossiche, la presenza di patologie psichiatriche, pregressi traumi cranici o altre malattie neurologiche. L'anamnesi, inoltre, dovrà concentrarsi sui farmaci assunti dal paziente che possono sia peggiorare che simulare una demenza.
2. **L'esame neuropsicologico:** si avvale di una batteria di test per valutare le funzioni cognitive del paziente. Questi test possono essere specifici (se si focalizzano su una particolare funzione cognitiva), oppure test di screening (se basati su una valutazione globale delle funzioni cognitive). Inizialmente vengono effettuati i test di screening (ad esempio il Mini Mental State Examination o il Montreal Cognitive Assessment). Successivamente, è possibile effettuare test specifici, laddove si sono riscontrati dei danni. I test specifici forniscono informazioni sui danni alle singole funzioni cognitive, e permettono inoltre, di poter accertare il grado di malattia e di differenziarla da altre forme di demenza.
3. **Comuni esami ematochimici per escludere cause secondarie**
4. **Neuroimaging:** è uno strumento diagnostico, che consente di rilevare le lesioni istopatologiche caratterizzanti la patologia. Questa è l'ultima fase del percorso diagnostico, nella quale vengono ricercati danni a livello biologico. I principali strumenti utilizzati sono: PET con fluorodesossiglucosio (18F-FDG), PET con

marcatore proteina tau, PET con marcatore per l'amiloide e risonanza magnetica cerebrale (RMN).

La diagnosi di malattia di Alzheimer viene formulata quando sono state escluse altre condizioni patologiche e anche qualora gli esami abitualmente eseguiti fossero assolutamente normali. La TAC dell'encefalo, per esempio, nelle fasi iniziali della malattia può essere indistinguibile da quella di una persona normale. La prognosi di una condizione di demenza è condizionata dal tipo di demenza, e dai sintomi che la caratterizzano, nonché dall'età della persona. L'evoluzione è abitualmente più rapida nei giovani e in coloro che presentano precocemente disturbi nella comunicazione (difficoltà nel reperimento delle parole o di comprensione del linguaggio). Anche la presenza di disturbi del comportamento (agitazione, deliri, vagabondaggio, insonnia) accelerano la progressione della malattia. Nell'anziano, l'evoluzione è condizionata dalla presenza di altre malattie concomitanti (Bianchetti et al., 2003).

1.4.5 Epidemiologia e tasso di incidenza

Le demenze costituiscono condizioni dal forte impatto sociale e sanitario. Pertanto una diagnosi precoce permette di rallentare temporaneamente il peggioramento dei sintomi della demenza e migliorare la qualità della vita delle persone colpite e di chi le assiste. La Malattia di Alzheimer, rappresenta la più frequente forma di demenza nei Paesi occidentali (50-60% dei casi). È stato stimato che in Italia i soggetti affetti da malattia di Alzheimer siano oltre 900.000 (Bianchetti et al., 2003). Diversi studi longitudinali confermano che soggetti con MCI presentano un elevato rischio di conversione in demenza, specialmente in demenza di tipo AD (Alzheimer's Disease) (Perri et al., 2001). La stima del rischio varia a seconda degli studi che indicano percentuali diverse di pazienti affetti da MCI che sviluppano demenza e che vanno dal 10 al 15% all'anno, per salire a percentuali variabili dal 20 al 50% in 2-3 anni (Black, 1999). Come sostenuto da vari autori, tra cui Petersen (1999), tale variabilità è in gran parte dovuta a

differenze nei criteri clinici applicati e nelle valutazioni neuropsicologiche utilizzate nel selezionare pazienti affetti da MCI, che si riflette nell'eterogeneità dei campioni studiati. Se infatti, il disturbo di memoria deve essere riconosciuto come patologico in base alle prestazioni ottenute a prove standardizzate di memoria episodica che forniscono punteggi corretti per l'età e la scolarità del soggetto, gli altri criteri possono essere soggettivi e difficili da quantificare. L'utilizzo di batterie di test neuropsicologici più ampie può dare informazioni maggiormente dettagliate e permettere di escludere che il deficit di memoria non sia accompagnato da deficit in una estesa gamma di altre abilità cognitive. Bozoki et al. (2001) hanno evidenziato che pazienti anziani non dementi affetti da un disturbo isolato di memoria presentano una progressione relativamente bassa (6%) a demenza nei due anni successivi alla valutazione, tuttavia il rischio di sviluppare demenza è significativamente più alto (48%) fra pazienti con un deficit in un'altra area cognitiva oltre la perdita di memoria.

Morris et al. (2001), hanno esaminato un vasto campione di pazienti MCI clinicamente caratterizzati da un punteggio di 0.5 alla Clinical Dementia Rating (CDR). L'analisi longitudinale mostrava che, in un periodo di 9,5 anni, la totalità dei pazienti MCI progrediva ad uno stadio di demenza e che a 5 anni il tasso di progressione era dipendente dal grado di deficit cognitivo di partenza. Gli autori concludono che l'MCI generalmente rappresenta uno stadio molto iniziale di AD non ancora riconosciuto come tale.

Per quanto riguarda il tasso di incidenza relativo ai sottotipi di MCI, è stato riscontrato che l'MCI amnesico a singolo dominio ha un'incidenza di 8,5-14 per mille persone all'anno; più bassa risulta l'incidenza dell'MCI amnesico a dominio multiplo e dell'MCI non amnesico (Manly et al., 2008).

Manly et al. (2008), inoltre, hanno evidenziato un impatto dell'età sull'incidenza del MCI amnesico: maggiore è l'età, maggiore è il rischio di incidenza della malattia.

Inoltre, alcune ricerche (Bruscoli et al., 2004; Ramakers et al., 2010) hanno osservato che la proporzione di pazienti con Mild Cognitive Impairment che convertono a Malattia di Alzheimer si riduce con il passare degli anni di follow-up. Infatti, in uno studio (Bennett et al., 2002) condotto su 211 pazienti MCI con un follow-up di 8 anni è stato osservato che solo nei primi 4 anni di follow-up il rischio di convertire ad AD era significativamente superiore rispetto a quello delle 587 persone sane; coloro che non avevano mostrato progressione di malattia entro i primi 4 anni di follow-up, nei successivi 4 anni avevano un rischio di conversione simile alle persone cognitivamente integre.

Per quanto riguarda il genere; nonostante pazienti affetti da Mild Cognitive Impairment di sesso maschile presentino, come del resto la popolazione normale, una minore sopravvivenza, il genere non influisce sulla velocità di progressione della malattia e sulla sua conversione in AD (Bracco et al., 1994).

Studi hanno rilevato che, l'alto livello di istruzione è un fattore protettivo nell'incidenza del Mild Cognitive Impairment di tipo amnesico ed è associato a un più ridotto rischio di Malattia di Alzheimer (Solfrizzi, et al., 2004). In particolare, come sostenuto da Stern (2002), pazienti con un più elevato livello di istruzione presentano una riserva cognitiva maggiore rispetto ai pazienti con livello di istruzione più basso, che permette di compensare i deficit dovuti alla malattia e di posticipare l'esordio clinico dei sintomi; tuttavia, quando la malattia si manifesta, essa è in uno stadio più avanzato nei pazienti con un livello di istruzione maggiore ed è associata a un più rapido declino cognitivo. La riserva cognitiva inficia meno sulla qualità di vita del paziente; tuttavia, quando essa si esaurisce, si assiste a un crollo drastico da parte del soggetto.

1.4.6 Storia della iniziativa ADNI

Il tema del deterioramento cognitivo rappresenta oggi uno dei campi di maggior interesse per la ricerca scientifica, sia per il progressivo aumento del quadro clinico dovuto all'aumentare dell'età, sia per l'elevata probabilità di conversione in demenza, specialmente in demenza di

tipo Alzheimer. Da qui emerge l'importanza di un'attenta valutazione neuropsicologica, abitualmente utilizzata per quantificare il grado di compromissione cognitiva e dell'utilizzo delle più recenti indagini biochimiche, di neuroimaging e di genetica molecolare per l'identificazione degli stadi prodromici della malattia di Alzheimer. I biomarcatori di imaging possono tracciare la progressione della malattia, rilevare i cambiamenti iniziali nella fase di deterioramento cognitivo lieve (MCI) e aiutare a prevedere quali soggetti potrebbero successivamente sviluppare AD. Le misure di imaging sono diventate misure di esito comuni negli studi di trattamento clinico e il crescente interesse per l'uso dell'imaging negli studi clinici ha portato allo sviluppo dell'Alzheimer Disease Neuroimaging Initiative (ADNI), che mira a migliorare i metodi per gli studi clinici e convalidare l'imaging e altri biomarcatori (Whitwell et al., 2012). L'Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (ADNI) è un progetto multicentrico longitudinale finanziato dal National Institutes of Health (NIH), che ha la finalità di sviluppare biomarcatori clinici, di imaging, genetici e biochimici per la diagnosi precoce e il monitoraggio della malattia di Alzheimer (AD). L'obiettivo principale dell'ADNI è stato quello di verificare se la risonanza magnetica (MRI), la tomografia a emissione di positroni (PET), altri marcatori biologici e la valutazione cognitiva e neuropsicologica possono essere combinati al fine di misurare la progressione da MCI a AD precoce (Yue Cui et al., 2011). L'Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (ADNI) offre l'opportunità di esaminare ulteriormente la questione di quali cambiamenti in soggetti cognitivamente normali predicono il futuro declino cognitivo (Rizk-Jackson et al., 2013). Ricercatori di 63 siti negli Stati Uniti e in Canada, monitorano la progressione dell'AD nel cervello umano. In particolare, i ricercatori ADNI raccolgono, convalidano e utilizzano dati, comprese immagini MRI e PET, genetica, test cognitivi, CSF e biomarcatori del sangue come predittori della malattia.

L'ADNI supporta attivamente la ricerca e lo sviluppo di trattamenti che rallentano o arrestano la progressione dell'AD, inoltre migliora gli studi clinici per la prevenzione e il trattamento

della malattia di Alzheimer (Mueller et al.,2005). Questo studio cooperativo combina competenze e finanziamenti dal settore privato e pubblico per studiare soggetti con AD, così come coloro che possono sviluppare AD e controlli senza segni di deterioramento cognitivo. Infatti, i gruppi di test ADNI includono partecipanti di età compresa tra 55 e 90 anni, reclutati in 57 siti negli Stati Uniti e in Canada. In particolare, si tratta di anziani completamente sani; anziani con lievi problemi di memoria o lieve deterioramento cognitivo (MCI); anziani con demenza da morbo di Alzheimer (Weiner et al.,2010).

Come sostenuto da Weiner et al. (2015), l'ADNI ha avuto un impatto globale, in primo luogo sviluppando una serie di protocolli standardizzati per consentire il confronto dei risultati di più centri, e in secondo luogo dalla sua politica di condivisione dei dati che rende disponibili tutti i dati a ricercatori qualificati in tutto il mondo. Infatti, poiché i dati dell'ADNI sono disponibili gratuitamente, ogni anno viene pubblicato un gran numero di studi che utilizzano questi dati (Whitwell et al. 2012).

Gli obiettivi principali dello studio ADNI sono:

1. Rilevare l'AD nella fase più precoce possibile (pre-demenza) e identificare i modi per monitorare la progressione della malattia con biomarcatori;
2. Supportare i progressi nell'intervento, nella prevenzione e nel trattamento dell'AD attraverso l'applicazione di nuovi metodi diagnostici nelle prime fasi possibili (quando l'intervento può essere più efficace). Dunque convalidare, standardizzare e ottimizzare i biomarcatori per gli studi clinici sull'AD;
3. Rendere disponibili tutti i dati e i campioni per la condivisione con i progettisti di studi clinici e gli scienziati di tutto il mondo.

L'Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (ADNI) è un progetto attivo dal 2004 sotto la guida del Dr. Michael W. Weiner, ed è attualmente finanziato fino al 2021 (Weiner et al.,2017).

Lo studio quinquennale iniziale (ADNI-1) è stato prorogato di due anni nel 2009 da una sovvenzione per grandi opportunità (ADNI-GO) e nel 2011 e 2016 da ulteriori rinnovi competitivi della sovvenzione ADNI-1 (ADNI-2 e ADNI-3, rispettivamente). ADNI-1 inizialmente ha arruolato 200 anziani sani, 400 partecipanti con MCI e 200 partecipanti con AD (Weiner et al.,2015). ADNI-GO, ADNI-2 e ADNI -3 hanno aggiunto ulteriori partecipanti per aumentare la coorte, per una coorte finale di oltre 1000 partecipanti (Weiner et al.,2017).

Ogni fase dello studio si caratterizza oltre che per un numero di soggetti sempre più ampio, anche per obiettivi sempre più specifici e diversificati (*Tabella 1.1*).

Study characteristics	ADNI-1	ADNI-GO	ADNI-2
Primary goal	Develop CSF/blood and imaging biomarkers as outcome measures	Act as bridging grant between ADNI-1 and ADNI-2, examine biomarkers in earlier stage of disease progression	Develop CSF/blood and imaging biomarkers as predictors of cognitive decline, and as outcome measures
Funding	\$40 million federal (NIA), \$20 million industry and foundation, \$7 million industry for supplemental studies	\$24 million American Recovery Act funds (stimulus funds)	\$40 million federal (NIA), \$27 million expected industry and foundation
Duration/start date	5 years/October 2004	2 years/September 2009	5 years/September 2011
Cohort	200 elderly control subjects 200 MCI 400 AD	Existing ADNI-1 cohort plus: 200 EMCI	Existing ADNI-1 and ADNI-GO cohort plus: 150 elderly control subjects 100 EMCI 150 MCI 150 AD
Study techniques			
MRI	X	X	X
fMRI		X	X
FLAIR (microhemorrhage detection)		X	X
T2* GRE (microhemorrhage detection)		X	X
Vendor-specific protocols (1) resting state (task-free) fMRI to Phillips systems, (2) perfusion imaging (ASL) to Siemens, and (3) DTI to General Electric		X	X
FDG-PET	X	X	X
AV45		X	X
Biosamples	X	X	X
“Add-on” studies	GWAS, PiB-PET, lumbar puncture		

Tabella 1.1 Confronto di ADNI 1, ADNI-GO e ADNI-2 (Weiner et al.,2015).

L'obiettivo principale di ADNI è sviluppare biomarcatori per consentire sperimentazioni cliniche di successo. Gli studi clinici sull'AD si stanno ora concentrando sulla prevenzione della malattia piuttosto che sulla cura. Poiché la patologia dell'AD si sviluppa molti anni prima dei segni esteriori della malattia, come la perdita di memoria, le terapie preventive sono mirate a persone cognitivamente normali (Rafii, 2014). Per rilevare i cambiamenti clinici nei soggetti AD, i test cognitivi sono molto importanti. Studi che utilizzano i dati ADNI hanno aiutato a perfezionare questi test per essere più sensibili ai primi cambiamenti nella cognizione (Huang et al., 2015). Studi ADNI combinano dati longitudinali che indagano ed evidenziano i cambiamenti nei biomarcatori nel tempo di diverso tipo: imaging, genetici e biologici.

In particolare la prima fase di ADNI è iniziata nell'ottobre 2001 con contributi da parte del National Institutes of Health (NIH), 13 aziende farmaceutiche e due fondazioni. Progettato originariamente per trovare biomarcatori più sensibili e accurati per la diagnosi precoce e il monitoraggio dell'AD, lo studio ADNI1 ha raccolto e analizzato migliaia di scansioni cerebrali, profili genetici e biomarcatori del sangue e del liquido cerebrospinale. Come per tutte le fasi ADNI, i ricercatori ADNI1 hanno utilizzato misure di imaging cerebrale tra cui MRI strutturale e PET (sia FDG-PET, che misura il metabolismo del glucosio nel cervello, sia uno studio pilota che utilizza PET amiloide utilizzando un composto radioattivo Pittsburgh Compound B, il quale misura l'accumulo di amiloide nel cervello) (Weiner et al, 2010). Successivamente, l'ADNI è stato esteso nel 2009 (ADNI-GO), l'obiettivo di questa fase era esaminare i biomarcatori in una fase precoce della malattia (Weiner et al., 2015). Nel 2011, ADNI-2 iniziò con un finanziamento aggiuntivo, introducendo come nelle altre fasi, una nuova coorte di partecipanti per colmare il divario tra controlli sani e MCI (Weiner et al., 2015). Infine ADNI-3 è iniziato nel 2016 con l'obiettivo ampliato di determinare le relazioni tra le caratteristiche dei biomarcatori clinici, cognitivi, di imaging, genetici e biochimici nell'intero spettro dell'AD. ADNI3 aggiunge scansioni cerebrali che rilevano i grovigli di proteine tau (tau PET), un indicatore chiave della

malattia (Weiner et. al, 2017). L' ADNI ha avuto diversi impatti molto importanti, uno tra questi è l'uso delle scansioni dell'amiloide per diagnosticare la malattia di Alzheimer. L'amiloide è una proteina che forma placche nel cervello e queste placche sono coinvolte nel morbo di Alzheimer.

Dunque, l'ADNI utilizza una varietà di tecniche per studiare i suoi partecipanti. Dopo aver ottenuto il consenso informato, i partecipanti vengono sottoposti ad una serie di test iniziali, ripetuti ad intervalli negli anni successivi (Weiner et. al, 2010):

- valutazione clinica della salute generale e della storia del paziente;
- test neuropsicologici per valutare diverse funzioni influenzate dall'AD come la memoria, le funzioni esecutive e la capacità di svolgere attività della vita quotidiana;
- test genetici per indagare il principale fattore di rischio genetico di AD: l'allele $\epsilon 4$ dell'apolipoproteina E;
- puntura lombare per raccogliere il liquido cerebrospinale (CSF) ed indagare i biomarcatori AD β - amiloide , il componente principale delle placche amiloidi , e la proteina tau , che forma i grovigli tau del cervello dell'Alzheimer .
- scansioni di risonanza magnetica (MRI) per valutare la struttura del cervello, la connettività e l'entità della malattia della sostanza bianca;
- la tomografia e emissione di positroni (PET), che esegue la scansione per valutare quanto bene il cervello utilizza il glucosio e l'estensione delle placche amiloidi e dei grovigli di tau.
- Esame neuropatologico se un partecipante muore e ha acconsentito all'autopsia. Questo diagnostica definitivamente l'AD identificando le placche amiloidi e i grovigli di tau e rileva anche altre comorbidità comuni.

1.4.7 Trattamento

La malattia di Alzheimer, rispetto ad altre forme di demenza, ha un'evoluzione irreversibile e tutt'oggi non esiste un trattamento in grado di guarire la malattia, cioè di restituire al paziente la memoria e le altre funzioni cognitive che sono state perse, né di bloccare completamente il processo degenerativo. Vi sono però a disposizione farmaci ad azione sintomatica, in grado di determinare miglioramenti o una stabilizzazione della malattia (almeno per periodi di 6-12 mesi) (Bianchetti et al., 2003). Nella persona con malattia di Alzheimer si riscontrano bassi livelli di un neurotrasmettitore, chiamato acetilcolina ed elevati livelli di un altro mediatore chimico che è il glutammato. Dunque, lo sviluppo dei farmaci per la malattia di Alzheimer, ha portato all'utilizzo di molecole che aumentano i livelli di acetilcolina o proteggono le cellule nervose dall'eccesso di glutammato. Il principale problema di una terapia farmacologica centrata sul sistema colinergico è che questa terapia, non è mirata solo ai neuroni coinvolti nella patologia ma coinvolge tutto il sistema colinergico, causando effetti collaterali tipici di questa categoria, quali i disturbi extrapiramidali.

Un altro bersaglio rilevante per la patologia è il recettore NMDA del sistema glutammatergico. Quest'ultimo nei soggetti affetti da morbo di Alzheimer è iperattivo e causa una neurotossicità glutammato mediata a livello dell'area cognitiva della corteccia cerebrale. Di conseguenza, antagonisti NMDA potrebbero essere utili al trattamento delle demenze (Bleich et al., 2003).

In definitiva, per il trattamento della demenza, i due sottogruppi farmacologici che hanno dato risultati più soddisfacenti sono gli inibitori dell'enzima acetilcolinesterasi e gli antagonisti del recettore NMDA glutammatergico. Come affermato da Bianchetti et al. (2003), il trattamento farmacologico con i farmaci chiamati inibitori dell'acetilcolinesterasi (AChE.I) rappresenta un elemento importante nella cura della persona con malattia di Alzheimer. Questi farmaci bloccano l'enzima che demolisce l'acetilcolina, permettendone un accumulo in maggior

quantità; in questo modo si controbilancia la perdita indotta dalla malattia. In particolare, gli inibitori dell'acetilcolinesterasi, agendo sull'inibizione dell'idrolisi dell'acetilcolina rilasciata a livello del vallo sinaptico, potenziano la trasmissione colinergica solo di quei neuroni che sono coinvolti in quel momento nella trasmissione dello stimolo. I farmaci utilizzati di questa categoria sono il Donepezil, la Rivastigmina e la Galantamina. La loro efficacia è sovrapponibile nei vari studi; in particolare la Rivastigmina è l'unico di questi farmaci ad essere disponibile anche sotto forma di *cerotto transdermico*, con la capacità cioè di rilasciare gradualmente il principio attivo nel corso delle 24 ore, permettendo così più facilmente il raggiungimento della dose ottimale raccomandata. L'uso di questi farmaci *non è totalmente privo di rischi*; gli effetti collaterali più frequenti sono di natura gastro-intestinale (nausea o vomito), cardiologica (rallentamento del ritmo cardiaco, sincope) e neurologica (cefalea, crisi epilettiche) (Bianchetti et al., 2003).

Dagli studi presenti in letteratura emerge che, gli inibitori dell'acetilcolinesterasi, sono farmaci che hanno una efficacia clinicamente evidente solo nel 30-40% dei pazienti e solo nelle forme di malattia di Alzheimer di gravità lieve-moderata anche se sono descritti casi di malattia in fase avanzata, rispondenti a tale trattamento farmacologico, che peggiorano drammaticamente dopo la sospensione degli stessi. Gli inibitori delle colinesterasi si sono dimostrati efficaci sia sulla sfera cognitiva, migliorando nei primi 6 mesi le performance nei test neuropsicologici, sia nel favorire in tempi più lunghi (almeno 12-18 mesi) un rallentamento del peggioramento clinico e un miglior controllo di alcuni disturbi comportamentali quali l'apatia e i sintomi psicotici (Bianchetti et al., 2003).

Per quanto riguarda gli antagonisti NMDA, in commercio esiste solo un farmaco utilizzato per le demenze associate a morbo di Alzheimer che è la Memantina. E' un antagonista del recettore del glutammato, che rallenta il naturale decorso della malattia; si è rivelato efficace su i sintomi

cognitivi e comportamentali nelle fasi moderata e avanzata di malattia. Agisce compensando gli effetti tossici derivanti dall'eccessiva eccitazione delle cellule nervose causata dal glutammato, una sostanza importante per l'apprendimento e la memoria, il cui eccesso produce però una quantità abnorme di calcio nelle cellule nervose, provocandone la morte (Danysz et al., 2003). Gli effetti collaterali più comuni sono costipazione, nausea e dispnea.

Per quanto riguarda le sintomatologie depressive associate alla demenza possono essere utilizzati diversi farmaci antidepressivi. Tra questi vengono utilizzati soprattutto gli Antidepressivi triciclici (l'Imipramina e l'Amitriptillina con effetto antidepressivo e sedativo, dunque possono contrastare le manie e gli altri sintomi comportamentali tipici della patologia) e gli inibitori della ricaptazione della serotonina detti SSRI (la Paroxetina, la Sertralina e la Fluoxetina con meno effetti sedativi rispetto ai precedenti) (Rosenberg et al., 2010).

Oltre il trattamento di natura farmacologica, esistono trattamenti con approccio psicosociale, che mirano a potenziare le abilità cognitive e funzionali residue dei pazienti affetti da demenza.

Alcune delle terapie non farmacologiche per la demenza sono:

- La Terapia di Riorientamento nella realtà (ROT); è un intervento destinato alla riabilitazione di pazienti con un grado di demenza lieve o moderato e definito nei suoi contenuti metodologici nella metà degli anni '60 da parte di Taulbee e Folsom (1966). Il principale obiettivo è orientare il soggetto attraverso una ripetuta stimolazione multimodale che miri a rinforzare le informazioni riguardanti le coordinate spazio-temporali e la sua vita, affinché questi possa tornare ad interagire con il mondo, uscendo dall'isolamento in cui la malattia lo ha relegato. In particolare, questa tecnica prevede la stimolazione del ricordo come ad esempio, del giorno e del mese corrente, delle festività per aiutare il paziente ad orientarsi nel tempo, il ricordo del luogo degli incontri o del luogo dove si trova per l'orientamento nello spazio, ed infine i ricordi relativi alla

sua vita, agli avvenimenti importanti che ha vissuto per orientare il paziente rispetto a sé e alla sua storia.

- La terapia occupazionale; questo intervento comporta una stimolazione aspecifica il cui obiettivo principale è conservare il più a lungo possibile l'autonomia funzionale del soggetto malato. Pur essendo considerata di tipo comportamentale, la terapia occupazionale interviene, anche, sulla dimensione cognitivo-funzionale e su quella sociale del paziente. Il principio di base è che l'inattività conduca alla perdita della funzione. Dunque, questa terapia coinvolge i pazienti in attività volte a promuovere il massimo utilizzo della funzionalità, in vista della preparazione a svolgere un'attività che nell'ambito sociale e domestico, promuove l'indipendenza del paziente (Graff et al., 2006).
- La Terapia di stimolazione cognitiva (*Cognitive Stimulation Therapy*; CST); si tratta di un trattamento psico-sociale che utilizza i benefici relativi alla stimolazione delle abilità cognitive, rallentando il declino di esse nell'invecchiamento fisiologico e nella demenza (Spector et al., 2003). Il trattamento è adatto per pazienti affetti da demenza lieve e moderata, che non presentano severi deficit sensoriali o problemi di comportamento, tali da poter ostacolare il corretto svolgimento delle attività del gruppo. Questo tipo di terapia viene considerata un trattamento "evidence-based" ossia basato su evidenze, prove empiriche. Ha una durata breve ed è strutturato in 14 sessioni di stimolazione di diverse funzioni cognitive a tema (come la memoria, il linguaggio, il problem solving), da svolgere con cadenza di due a settimana, in gruppi di 5-6 persone e con la presenza di due conduttori (Gardini et al., 2015). Lo scopo di ogni sessione (e del trattamento nel complesso) è quello di ri-attivare le funzioni cognitive residue che rischiano di essere non utilizzate nelle persone con demenza, attraverso un apprendimento implicito multisensoriale, utilizzando materiale facilmente riconoscibile dai membri del gruppo,

la ripetizione delle informazioni di base riguardo all'orientamento spazio-temporale e alla storia personale. Inoltre trattandosi di un contesto di gruppo, alla base del buon funzionamento, ci sono le relazioni tra i membri e i conduttori, che vanno sempre stimulate.

Inoltre, questo trattamento, trova fondamento in alcuni principi di base. Il più importante è quello secondo cui al centro c'è la persona, con i suoi bisogni, con le sue specifiche abilità e con la sua storia e unicità.

CAPITOLO 2 - GLI STRUMENTI PER LA DIAGNOSI: RUOLO DEI BIOMARKER E DEI TEST NEUROPSICOLOGICI NELLA DEMENZA DI ALZHEIMER

Gli sforzi dei ricercatori e dei clinici sono tesi a individuare i soggetti a maggiore rischio di conversione dal MCI alla demenza di Alzheimer. In particolare, è importante individuare le caratteristiche prodromiche, ossia precocissime e spesso visibili solo con l'ausilio di esami strumentali oltre che degli strumenti clinici tradizionali, come il colloquio con il paziente e con un familiare, l'esame obiettivo, l'analisi del profilo cognitivo ottenuta dalla somministrazione dei test neuropsicologici. L'obiettivo è intervenire prima possibile con trattamenti specifici. La ricerca attualmente è rivolta da un lato, ad identificare marcatori biologici (liquorali, di imaging morfologico e funzionale) predittivi di conversione e dall'altro, ad individuare strumenti neuropsicologici sempre più sensibili ai deficit cognitivi che caratterizzando i soggetti con MCI destinati ad evolvere a demenza.

L'evidenza suggerisce che i cambiamenti neurobiologici correlati alla malattia hanno luogo prima dell'insorgenza dei sintomi evidenti (Rizk-Jacobson et al., 2013).

L'uso dei biomarker permette di determinare l'eziologia del MCI, valutare la probabilità che le abilità cognitive e funzionali di un soggetto con MCI evolvano in una fase più grave di MCI o in demenza e la probabilità che questa progressione avvenga in un periodo predefinito, infine stabilire la velocità di progressione nel decorso del disturbo (Shaffer et al., 2013).

Attualmente, le metodiche riconosciute dalle Società Scientifiche americane ed europee quali markers biologici affidabili per i criteri da utilizzare nella diagnosi di AD, nella differenziazione fra AD e MCI e nella predizione di un successivo esordio di AD sono:

- La volumetrica dell'ippocampo (tramite Risonanza Magnetica);
- La PET FdG (applicazione della PET che utilizza il tracciante glucosio alla ricerca di un ipometabolismo del cervello, tipicamente nelle regioni posteriori del cervello);
- La PET amiloide (che usa il tracciante chiamato PiB alla ricerca delle placche di BetaAmiloide);
- L'analisi del liquor cefalorachidiano (CFS o liquor) per la ricerca di diminuzione di beta-amiloide42 e l'incremento di proteina tau e tau iperfosforilata.

2.1 Esame del liquido cerebro-spinale (CSF)

A livello liquorale è possibile dosare alcuni biomarcatori che correlano con i depositi di amiloide a livello cerebrale e con il metabolismo della proteina tau. Nello specifico il liquido cefalorachidiano (CFS o liquor) è in contatto con lo spazio cerebrale extracellulare e quindi i cambiamenti biochimici nel cervello trovano un riflesso nel CSF stesso. Studi di neuro-imaging in vivo, indicano che la formazione delle placche di amiloide nell'encefalo rappresenta uno dei fattori implicati nella sequenza di eventi patologici che avvengono da 20 a 30 anni prima delle manifestazioni cliniche della Malattia di Alzheimer (Braak et al.,1991).

L'amiloidosi cerebrale può essere valutata attraverso lo studio del liquido cerebro-spinale: un aumento liquorale dei livelli di t-Tau e della sua forma fosforilata (implicate nella formazione

dei filamenti neurofibrillari responsabili dell'atrofia che caratterizza la malattia) e una riduzione della β -amiloide sono tra i più informativi biomarker di Malattia di Alzheimer (Young et al.,2013).

Il β -amiloide è un peptide costituente le placche amiloidi, presenti nei soggetti affetti da AD e ha origine dalla proteina precursore dell'amiloide (APP). La diminuita concentrazione di questo peptide nel CSF in soggetti affetti da AD è correlata al processo di deposizione nelle placche cerebrali. Livelli normali di β -amiloide (1-42) si sono osservati in individui sani non affetti da demenza e in soggetti affetti da patologie neurodegenerative legate all'invecchiamento o alla depressione (Sjogren et al.,2001).

Dunque, la malattia di Alzheimer ha una lunga fase preclinica caratterizzata da accumulo beta-amiloide (Abeta) senza sintomi cognitivi. Il lavoro di Matsson et al. (2015), ha lo scopo di verificare la possibilità di identificare soggetti Abeta-negativi con alto rischio di sviluppare positività ad Abeta entro 3 anni. Lo studio esamina una coorte di 35 soggetti cognitivamente integri (database ADNI, dal 2005 al 2014), selezionati in base alla disponibilità di misure longitudinali (basale e entro 3 anni) del dosaggio del liquido cerebrospinale (CSF). Al basale, tutti i partecipanti avevano normali livelli di Abeta42, al follow up, in 11 soggetti è stato rilevato un abbassamento del livello di Abeta42 e sono convertiti in Abeta-positivi. In particolare, il livello di Abeta42 al basale è risultato il più forte predittore di futura positività ad Abeta (accuratezza del 79%): per dieci degli 11 soggetti divenuti Abeta-positivi, i livelli basali di Abeta42 cadevano nel terzo inferiore del range di riferimento (<225 ng / L), e per 22 su 24 soggetti Abeta-negativi nel secondo terzo superiore (≥ 225 ng / L). Gli autori con questo lavoro mostrano che è possibile identificare i soggetti ad alto rischio di sviluppare positività ad Abeta. Queste persone potrebbero rivelarsi i candidati migliori per trial di prevenzione della malattia di Alzheimer, che si focalizzano sull'inibizione del futuro accumulo di Abeta.

Se a livello extracellulare, prevale la deposizione massiccia di peptide beta-amiloide ($A\beta$), a livello intracellulare, invece, emerge l'accumulo di proteina tau iperfosforilata; quest'ultima è tipicamente organizzata in ammassi, che gli esperti definiscono con l'espressione di grovigli neurofibrillari o ammassi neurofibrillari (di proteina tau iperfosforilata).

La proteina Tau (fosfoproteina) è essenziale per un corretto trasporto lungo l'assone. Gli ammassi di neurofibrille presenti nel tessuto cerebrale dei malati di Alzheimer sono formati da proteina Tau iperfosforilata: in questo stato la molecola presenta una ridotta capacità di legarsi ai microtubuli e ne riduce la stabilità ostacolandone la funzione. I livelli di Tau nel CSF riflettono l'entità del danno neuronale: elevati livelli di Tau sono stati evidenziati in soggetti affetti da infarto cerebrale e in soggetti affetti da AD. Livelli normali di questo marcatore si sono invece riscontrati in soggetti affetti da depressione, demenza alcolica, morbo di Parkinson (Sjogren et al., 2001). La p-Tau (forma fosforilata della proteina Tau), non è soltanto un marker di danno neuronale, in quanto, riflettendo lo stato di fosforilazione di Tau nei soggetti affetti da AD, fornisce anche informazioni sulla progressione della degenerazione neurofibrillare. Livelli normali di p-Tau sono stati osservati in soggetti affetti da depressione, infarto cerebrale, morbo di Parkinson e demenze di origine vascolare, frontotemporale, a corpi di Lewy. Un aumento marcato è stato evidenziato in soggetti affetti da AD (Sjogren et al., 2001).

In uno studio è stato rilevato che una bassa concentrazione di β -Amiloide nel liquido cerebrospinale è associata alla progressione da Mild Cognitive Impairment alla Malattia di Alzheimer, mentre la concentrazione della p-Tau è associata al tempo di conversione (anormale: conversione in 0-5 anni; normale: conversione in 5-10 anni) (P. Buchhave et al., 2012).

Lo studio si è posto l'obiettivo di indagare biomarcatori del liquido cerebrospinale per la malattia di Alzheimer nei soggetti dell'Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (ADNI). In particolare, sono stati misurati il peptide β -amiloide da 1 a 42 ($A\beta_{1-42}$), tau totale (t-tau), e tau fosforilata alla treonina 181 in campioni di liquido cerebrospinale (CSF) ottenuti durante la

valutazione basale di 100 soggetti con AD lieve, 196 con deterioramento cognitivo lieve e 114 soggetti anziani cognitivamente normali (NC) e in 56 casi di AD indipendenti confermati dall'autopsia e 52 anziani NC di pari età. Il peptide β -amiloide ($A\beta_{1-42}$), era il biomarcatore più sensibile per AD nella coorte autoptica di campioni di CSF

E' stato inoltre riscontrato che il rapporto t-Tau/ $A\beta_{1-42}$ e il rapporto p-Tau/ $A\beta_{1-42}$ sono i più sensibili predittori di AD; entrambi mostrano una buona sensibilità anche nella prognosi (Shaw et al., 2009).

I rapporti dei livelli β -amiloide/tau al livello baseline nello studio di Fagan et al., (2017) predicono il fatto che un individuo sano con un Clinical Dementia Rating (CDR) di 0 declinerà a $CDR > 0$.

In definitiva, le lesioni che definiscono l'AD sono i grovigli neurofibrillari e le placche senili formate, rispettivamente, da accumuli neuronali di anormali filamenti di tau iperfosforilati e depositi extracellulari di fibrille β amiloidi ($A\beta$), principalmente il peptide da 1 a 42 ($A\beta_{1-42}$), il meno solubile dei noti peptidi $A\beta$ prodotti dalla proteina precursore di $A\beta$, attraverso l'azione di varie peptidasi. Si pensa che, livelli aumentati di tau nel liquor si verifichino dopo il suo rilascio da neuroni danneggiati e morenti che ospitano neuriti e grovigli di tau distrofici, mentre si ritiene che i livelli ridotti di $A\beta_{1-42}$ nel liquido cerebrospinale derivino da un accumulo su larga scala di questo meno solubile dei peptidi $A\beta$ in placche insolubili nel cervello AD.

La combinazione di concentrazioni aumentate nel liquido cerebrospinale delle specie t-tau e fosfotau (p-tau) e le concentrazioni ridotte di $A\beta_{1-42}$ sono considerate una firma patologica di biomarcatori del liquido cerebrospinale che è diagnostica per AD. In particolare, recenti studi hanno fornito dati preliminari convincenti per suggerire che questa combinazione di cambiamenti dei biomarcatori tau e $A\beta$ nel liquido cerebrospinale, può predire la conversione in AD nei soggetti con deterioramento cognitivo lieve (MCI). Pertanto, un aumento dei livelli

di tau nel liquido cerebrospinale associato a un calo dei livelli di liquido cerebrospinale A β 1-42 può preannunciare l'insorgenza dell'AD prima che diventi clinicamente manifesto.

Tuttavia, prima di poter stabilire l'utilità del liquor A β 1-42 e delle concentrazioni di tau per la diagnosi di AD, è fondamentale standardizzare la metodologia per la loro misurazione. Ad esempio, tra gli studi pubblicati su CSF tau e A β , vi è una notevole variabilità nei livelli osservati di questi analiti, nonché nella loro sensibilità e specificità diagnostica. Ciò è attribuibile alla variabilità nella standardizzazione della metodologia analitica e ad altri fattori che differiscono tra gli studi degli stessi analiti del liquido cerebrospinale in coorti simili ma non identiche (Shaw et al., 2009).

Inoltre, i marcatori liquorali garantiscono la più alta accuratezza nella diagnosi differenziale tra AD e altre demenze, in particolare il rapporto T-tau/A β è il miglior biomarker per differenziare la Malattia di Alzheimer dalla degenerazione frontotemporale (Bian et al., 2008).

2.2 Tecniche di neuroimaging: PIB-PET, 18F-FDG PET e RMN

Le tecniche di imaging costituiscono biomarker di fondamentale importanza nella diagnosi precoce degli stadi di AD prodromico e preclinico; in quanto l'utilizzo di tecniche diagnostiche più avanzate permette di individuare alterazioni del tessuto encefalico già 5-10 anni prima della comparsa dei sintomi della malattia (Sancesario et Caltagirone, 2017). Il National Institute on Aging and *Alzheimer's Association* (NIA-AA), ha proposto nell'ultima revisione dei criteri diagnostici, l'utilizzo dell'imaging neuro radiologico come biomarker nella diagnosi di AD. In particolare, vengono distinti marcatori di neurodegenerazione, misurabili con FDG-PET e marcatori di accumulo di amiloide, misurabili con Amyloid-PET. Entrambe le tecniche rilevano l'AD con elevata sensibilità e specificità rispetto ad altri processi neurodegenerativi e ad individui di pari età cognitivamente normali (Rice et al., 2017).

- *Tomografia a Emissione di Positroni con tracciante Pittsburgh compound B per l'amiloide (PIB-PET)*

Come affermato in precedenza, l'accumulo di proteina amiloide cerebrale è uno dei principali processi patologici della malattia di Alzheimer. In particolare, la deposizione di β -amiloide innesca dei meccanismi neurodegenerativi che portano infine verso la demenza. Secondo questa ipotesi, la cascata patogenetica ha come evento centrale un eccesso di formazione di β -amiloide che è causa di un meccanismo di tossicità neuronale, a valle del quale si attivano i processi degenerativi che sfociano nelle alterazioni neurochimiche e infine nella sintomatologia clinica della demenza. A monte dell'eccessiva produzione di β -amiloide vi sarebbe un'alterazione del normale metabolismo della proteina precursore dell'amiloide o APP. Nei soggetti affetti da patologia, l'enzima che interviene sull'APP non è l'alfa-secretasi ma una sua variante, la beta-secretasi, che porta alla produzione di una beta-amiloide anomala, la quale non presenta le caratteristiche biologiche della forma naturale, e tende a depositarsi in aggregati extracellulari sulla membrana dei neuroni. Le placche neuronali innescano un processo infiammatorio che richiama macrofagi e neutrofili, i quali produrranno citochine, interleuchine e TNF-alfa che danneggiano irreversibilmente i neuroni.

Lo sviluppo di traccianti per la proteina amiloide, ne ha permesso la visualizzazione in vivo tramite la tomografia ad emissione di positroni (amy-PET) (de Wilde et al., 2018). L'amyloid-PET è una tecnica non invasiva che fornisce informazioni in vivo sul carico di amiloide corticale (Camacho et al., 2018). Il tracciante più studiato per l'individuazione dell'accumulo patologico di sostanza amiloide è il Pittsburgh Compound B (PIB), da cui derivano altri due traccianti (Florbetaben e Florbetapir) fluorurati con ^{18}F . Questi ultimi essendo marcati con fluoro, garantiscono tempi di utilizzo entro alcune ore dalla produzione, a differenza del PIB, che essendo radiomarcato con il carbonio ha tempi di decadimento troppo rapidi, quindi deve essere prodotto e utilizzato per l'esame nell'arco di pochi minuti (Perani D. et al., 2014). Il

Pittsburgh Compound B (11C-PiB) è stato sviluppato presso l'Università di Pittsburgh attraverso la modifica della tioflavina T; un colorante fluorescente utilizzato per identificare le placche nel campione di tessuto cerebrale. È stato scoperto che 11C-PiB si lega all'amiloide nelle placche classiche (cioè neuritiche) di AD, che sono distribuite attorno alla neurite degenerativa (Perani D. et al., 2014). Il PiB manca di specificità per queste placche classiche, poiché si lega anche a placche amiloidi diffuse che possono essere trovate in una percentuale sostanziale di anziani sani e non sono specifiche per l'AD (Lockhart et al., 2007). Dunque, non può essere considerato un marker specifico dell'amiloidosi AD, ma piuttosto dell'amiloidosi cerebrale più in generale.

Lo studio di Forsberg et al. (2008) evidenzia che pazienti con Mild Cognitive Impairment che presentano una PIB-PET positiva, hanno una probabilità significativamente maggiore di convertire a Malattia di Alzheimer rispetto ai pazienti negativi alla stessa indagine; inoltre il livello di ritenzione del tracciante PIB è tanto maggiore quanto più veloce è la conversione.

Nello studio di Jack Jr et al. (2010) così come in altri studi, il tasso di progressione della malattia è risultato più alto nei pazienti con maggior accumulo di tracciante alla PIB-PET.

Di recente è disponibile anche un tracciante PET per la proteina tau (tau-PET) che rispetto all'Amy-PET, ha il vantaggio di correlare linearmente con la progressione dei sintomi cognitivi.

Dunque dal punto di vista fisiopatologico, la malattia di Alzheimer (AD) è caratterizzata dalla presenza nel cervello di placche di proteina beta-amiloide e grovigli neurofibrillari di proteina tau-iperfosforilata (p-tau). Entrambe queste proteine (proteina tau-iperfosforilata e la beta-amiloide-nello specifico la variante $A\beta_{42}$), iniziano ad accumularsi nel cervello diversi anni prima della comparsa dei sintomi clinici, in particolare danneggiano i neuroni già molti anni prima che compaiano i disturbi di memoria. La morte cellulare ha inizio in una regione del cervello che si chiama ippocampo. L'ippocampo si trova nel lobo temporale ed è primariamente

coinvolto nei processi di apprendimento e di memoria. Successivamente, la morte cellulare si estende coinvolgendo l'intero cervello e comportando le ulteriori difficoltà cognitive e funzionali che si osservano nelle persone affette da Alzheimer.

Negli ultimi anni, grazie allo sviluppo di diversi radioligandi per la tomografia ad emissione di positroni (PET), si è in grado di rilevare in vivo il carico di beta-amiloide (A) o di tau (T) nel cervello (Botha et al., 2018). La possibilità di poter quantificare l'accumulo di queste proteine ha cambiato di molto l'approccio alla diagnosi di AD, permettendo di identificare la malattia ad uno stadio molto precoce.

Botha et al. (2018), con il loro studio hanno voluto dimostrare che la presenza di beta-amiloide non è sufficiente per una diagnosi corretta di AD. Il lavoro è stato condotto su otto soggetti con decadimento cognitivo lieve di tipo mnestico o AD. I partecipanti sono stati sottoposti ad una PET per la proteina amiloide, una PET per la proteina tau, una risonanza magnetica cerebrale (MRI) per estrarre il volume dell'ippocampo e gli spessori corticali e ad una batteria di test per valutare le funzioni cognitive. Dai risultati emerge che tutti i partecipanti presentavano atrofia ippocampale, quattro risultavano positivi ad A (amiloide) mentre nessuno era positivo a T (tau), quindi i sintomi cognitivi riportati e la neurodegenerazione osservata non potevano essere attribuibili ad una patologia AD in atto. Questo studio vuole evidenziare che, per una corretta diagnosi di AD, sono necessarie sia la presenza di placche amiloidi, che di grovigli neurofibrillari oltre che la neurodegenerazione AD-specifica.

L'esame longitudinale della deposizione β -amiloide ha rivelato che soggetti sani con alti livelli di β -amiloide al basale hanno molte più probabilità di sviluppare MCI entro 3 anni rispetto ai soggetti con normali livelli di β -amiloide (Villemagne et al., 2013).

Se confrontati con altri biomarker, il limite dei traccianti PET per amiloide è che non indicano la progressione di malattia: raggiungono un plateau di concentrazione cerebrale in circa 12 anni (Villemagne et al.,2013).

- *Tomografia a Emissione di Positroni con (18F) fluorodesossiglucosio (FDG-PET)*

La Tomografia ad emissione di positrone (PET) è uno degli esami diagnostici strumentali per supportare il sospetto clinico di malattia di Alzheimer ed è capace di rilevare già in fase precoce le alterazioni tipiche di questa malattia. In particolare, La PET/TC (Tomografia ad Emissione di Positroni/Tomografia Computerizzata) con 18F-FDG è un esame di Medicina Nucleare che fornisce informazioni sulla compromissione della funzione sinaptica e si qualifica come biomarcatore della malattia di Alzheimer, è in grado di monitorare la progressione di malattia e quindi l'evoluzione da soggetti sani a MCI e da MCI verso AD (Herholz et al., 2011). In generale, permette di studiare in modo più preciso e completo il "funzionamento" della maggior parte dei tumori e di alcune forme di infezione o di infiammazione. Viene infuso in una vena un "radiofarmaco" (o "tracciante radioattivo"), che in questo caso si chiama **fluorodesossiglucosio (¹⁸F-FDG)**, analogo marcato del **glucosio**.

Il fluoruro presente nella molecola viene reso in grado di emettere radiazioni, dette positroni. Si tratta infatti di un fluoro-18, un radioisotopo in grado di emettere positroni che verranno registrati dalla PET e trasformati in immagini. Tali immagini, forniranno una diagnosi di diverse condizioni patologiche poiché dopo l'iniezione dell'FDG, l'apparato PET è in grado di rilevare con precisione concentrazioni differenti della molecola nei diversi distretti dell'organismo. L'FDG, in quanto analogo del glucosio, viene captato in gran quantità da cellule ad alto utilizzo di glucosio, come quelle del cervello, del rene e anche dalle cellule tumorali. Come per il glucosio, all'ingresso nella cellula, il FDG viene fosforilato in posizione 6, impedendone la fuoriuscita dalla cellula. A differenza del glucosio, tuttavia, l'FDG non può

essere catabolizzato nella via glicolitica e rimane nella forma di FDG-6-fosfato fintantoché la molecola rimane radioattiva (e quindi visibile attraverso PET).

Dunque, è possibile utilizzare il glucosio marcato con isotopo radioattivo (^{18}F -FDG), somministrarlo al paziente per via endovenosa, ed osservare come si distribuisce nel cervello, in particolare se ci sono aree cerebrali che non assumono il glucosio radiomarcato o lo assumono poco. Quest'ultima condizione, soprattutto nelle fasi più precoci della malattia di Alzheimer, può non essere rilevata con TC o con la risonanza magnetica poiché le alterazioni morfologiche rilevate da questi strumenti non sono ancora presenti, a differenza delle alterazioni funzionali individuate dalla PET.

Nell'ambito delle malattie neurodegenerative, FDG-PET, può essere utilizzato per valutare il metabolismo del glucosio a livello dell'encefalo. La captazione di glucosio a livello cerebrale correla con il funzionamento cerebrale e, più nello specifico, con l'attività e la funzionalità sinaptica: l'ipocaptazione di una specifica area cerebrale può essere indicativa di un alterato metabolismo glucidico e correlare con una perdita neuronale.

Lo studio di J. Dukart et al. (2013) ha indagato gli effetti di singoli fattori, come l'età, la gravità dei sintomi o il tempo di conversione nell'MCI, focalizzandosi sulle differenze metaboliche e strutturali basate su dati ottenuti con FDG-PET e MRI. I partecipanti comprendevano 80 pazienti con AD, 65 con MCI che convertono e 64 soggetti con MCI che non convertono, i dati di questi soggetti sono stati poi confrontati con quelli di 79 soggetti sani. I pazienti con AD hanno mostrato un modello fortemente dipendente dall'età, in particolare i pazienti più giovani mostravano riduzioni significativamente più estese del volume della materia grigia e dell'utilizzo del glucosio. Nel gruppo di pazienti con MCI che convertono a AD, la quantità di riduzione dell'utilizzo del glucosio era collegata al tempo di conversione ma non all'atrofia. Inoltre nei pazienti con MCI che convertono a AD, rispetto a quelli che non convertono, la differenza risulta significativa per quanto riguarda l'età, la gravità di malattia e il tempo di

conversione: i pazienti che mostrano progressione di malattia entro un anno l'ipometabolismo è esteso, coinvolgendo il precuneo, il cingolo, la regione frontale mediale e laterale, le regioni temporali e parietali; i pazienti che non convertono presentano un ipometabolismo limitato alle regioni parietali e al precuneo di destra ma quelli più anziani possono anche non presentare deficit metabolici correlati alla malattia.

Nel medesimo studio, gli autori osservano che l'utilizzo del glucosio differisce nei soggetti con Mild Cognitive Impairment in base all'età di esordio dei sintomi e alla severità dei sintomi: minore è l'età di esordio dei sintomi, maggiore è l'estensione dell'ipometabolismo glucidico (che può coinvolgere anche il lobo frontale, l'ippocampo, il cingolo e i nuclei della base); inoltre, minore è il punteggio ottenuto al MMSE maggiore è la probabilità di ipometabolismo nel talamo bilateralmente e nel nucleo caudato destro.

I risultati di questo studio indicano che l'FDG-PET potrebbe essere più strettamente legata al futuro declino cognitivo, mentre la risonanza magnetica è più strettamente correlata all'attuale stato cognitivo che riflette un danno potenzialmente irreversibile.

Lo studio di A. Rizk-Jacobson (2013), ha utilizzato i dati dell'Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (ADNI) con l'obiettivo di individuare differenze nelle valutazioni cliniche di base tra individui cognitivamente sani che subiranno un declino cognitivo entro 48 mesi e quelli che rimarranno stabili per quel periodo. Una varietà di misure elettrofisiologiche, biochimiche, di valutazione clinica e di neuroimaging tra cui il metabolismo del glucosio nel cingolato posteriore rilevato con FDG-PET, hanno permesso di distinguere soggetti MCI da soggetti cognitivamente normali e di determinare quali individui MCI subiranno in seguito un ulteriore declino. In particolare, l'ipometabolismo della corteccia entorinale è risultato significativamente associato alla conversione da controllo a Mild Cognitive Impairment.

In definitiva è possibile affermare che l'FDG-PET è considerato un importante biomarker di Mild Cognitive Impairment e di possibile progressione a Malattia di Alzheimer.

- *Risonanza magnetica nucleare (RMN)*

L'imaging morfologico mostra specifici pattern di atrofia focale e globale riconducibili a specifici tipi di demenza. Molti studi utilizzano la risonanza magnetica nucleare (RMN) per identificare possibili marcatori morfologici di malattia. Ad esempio, lo studio di Yue Cui et al. (2011), ha esaminato diversi predittori di conversione da lieve deterioramento cognitivo (MCI) a malattia di Alzheimer (AD) in una coorte di soggetti dell'Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (ADNI). In particolare, tra i predittori utilizzati, la risonanza magnetica strutturale ha rilevato alcune zone cerebrali colpite dalle modificazioni strutturali che avvengono nei pazienti con deterioramento cognitivo: la corteccia entorinale, la corteccia parietale inferiore, la corteccia retrospleniale, il giro temporale medio e l'ippocampo. Si tratta di strutture coinvolte nella memoria episodica e l'atrofia in queste regioni è un fattore di predizione di progressione di malattia.

I pazienti con MCI che svilupperanno demenza hanno volume ippocampale minore alla RM, alti livelli di proteina Tau nel CSF e deficit metabolici alla PET rispetto ai pazienti con MCI che non peggioreranno (Frisoni et al., 2004).

Lo studio di Botha et al. (2018) su otto soggetti con diagnosi clinica di decadimento cognitivo lieve di tipo mnestico o di AD ha previsto l'uso della risonanza magnetica, dalla quale sono stati estratti il volume dell'ippocampo e gli spessori corticali. Tutti i partecipanti presentavano atrofia ippocampale e tre mostravano anche atrofia in altre regioni AD-specifiche.

Il volume dell'ippocampo come possibili biomarcatore di malattia, è stato indagato nello studio di Dickerson et al. (2013), in particolare hanno studiato l'utilità dei biomarcatori della risonanza magnetica (MRI) e del liquido cerebrospinale (CSF) nel predire la progressione da MCI amnesico alla demenza. Sono state testate due ipotesi: la prima è l'ipotesi secondo cui i marcatori di amiloide e neurodegenerazione forniscono informazioni prognostiche distinte e complementari su diversi intervalli di tempo; la seconda ipotesi è quella secondo cui prove di

neurodegenerazione in individui MCI che risultano negativi all'amiloide sarebbero utili prognosticamente. I dati sono stati ottenuti dal database ADNI-1 (Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative Phase 1) su tutti gli individui con una diagnosi di base di MCI, sono stati raccolti dati MRI e CSF di base e svolta almeno una visita di follow-up. I risultati hanno mostrato che per la previsione della demenza nel MCI, il biomarcatore dello spessore corticale caratteristico dell'AD ha ottenuto risultati migliori del volume dell'ippocampo. Dunque, la sensibilità e la specificità di quest'ultima misurazione nella predizione della conversione da MCI a AD risultano più basse di quelle osservate per altri indici come lo spessore corticale.

Dunque, i marcatori derivati dalla risonanza magnetica sono di interesse centrale nella caratterizzazione della struttura centrale nell'AD. Il biomarcatore sMRI più comunemente usato è il volume dell'ippocampo, gravemente colpito dall'AD. Tuttavia l'accuratezza diagnostica del volume ippocampale è limitata quando questo viene utilizzato come unico biomarker di malattia (Xiao Da et al., 2014). In particolare, i soli volumi dell'ippocampo hanno un'accuratezza limitata per la diagnosi e la previsione individualizzate, poiché esiste una notevole sovrapposizione tra i volumi dell'ippocampo di individui cognitivamente normali CN e AD, e ancora di più con MCI (Fan et al., 2008). Di conseguenza, i volumi dell'ippocampo non catturano l'intero modello di atrofia cerebrale nell'AD o nelle sue fasi prodromiche.

Lo studio di Whitwell et al. (2012), mira a determinare se le misure di imaging differiscono nei partecipanti ADNI rispetto alla coorte basata sulla popolazione del Mayo Clinic Study of Aging (MCSA). Gli autori hanno valutato il volume dell'ippocampo al livello baseline e i tassi di declino del volume dell'ippocampo (percentuale annuale) perché sono biomarcatori stabiliti e ampiamente studiati di AD. È stato selezionato in modo casuale un campione di soggetti cognitivamente normali e soggetti amnesici con lieve deterioramento cognitivo dalla coorte basata sulla popolazione ADNI e MCSA. I soggetti MCSA erano più anziani, avevano meno istruzione, risultati peggiori al Mini Mental State Examination e una storia familiare di malattia

di Alzheimer meno frequente dei soggetti ADNI. Nel campione, i volumi dell'ippocampo al basale erano maggiori nei soggetti cognitivamente normali appartenenti all'ADNI rispetto a quelli appartenenti al MCSA. Mentre i tassi di declino del volume dell'ippocampo erano maggiori nell'ADNI rispetto all'MCSA per i soggetti cognitivamente normali e quelli con decadimento cognitivo lieve amnestico. In conclusione, è possibile affermare che i tassi di diminuzione del volume dell'ippocampo suggeriscono che i soggetti ADNI hanno un processo patologico cerebrale più aggressivo rispetto ai soggetti MCSA e quindi potrebbero non essere rappresentativi della popolazione generale.

Sempre nello stesso studio si evidenzia che l'atrofia delle strutture temporali mediali è osservata nei pazienti con MCI già 3 anni prima che la demenza di Alzheimer sia diagnosticata; inoltre, un anno prima della diagnosi clinica, l'atrofia raggiunge il giro temporale medio, le regioni temporali posteriori, l'ippocampo e il lobo parietale (Whitwell et al., 2012).

Clifford R. Jack e i suoi colleghi hanno proposto un modello per la malattia di Alzheimer basato sui biomarcatori di malattia, partendo dall'assunto che questi riflettono specifici processi fisiopatologici sottostanti la malattia stessa. I biomarcatori considerati possono essere classificati in due grandi categorie:

- 1) Misure del deposito di A β nel cervello: (1) decremento dei livelli di A β ₄₂ nel liquido cerebrospinale e (2) incremento dei livelli di A β ₄₂ nel cervello rilevati alla PET con tracciante per l'amiloide.
- 2) Misure di neurodegenerazione: (1) incremento del livello di tau-totale (t-tau) e tau-iperfosforilata (p-tau) nel liquido cerebrospinale, (2) ipometabolismo misurato attraverso tomografia a emissione di positroni con fluorodesossiglucosio (FDG-PET), (3) atrofia medio-temporale rilevata tramite Risonanza magnetica strutturale (RMN).

Il modello, ipotizza che siano i livelli di beta-amiloide, nel liquido cerebrospinale e nel cervello, a risultare alterati per primi e ad avere inizio quando ancora la persona non manifesta alcun

sintomo cognitivo. In seguito si osservano valori alterati di tau nel liquido cerebrospinale e successivamente ipometabolismo e atrofia cerebrale. I sintomi cognitivi sono associati in modo diretto con i fenomeni di neurodegenerazione e ne seguono la progressione. Il modello spiega quindi la mancanza di correlazione diretta tra i sintomi clinici e il deposito di beta-amiloide e il motivo per il quale i sintomi cognitivi continuano ad evolvere nonostante l'accumulo di beta-amiloide tenda a stabilizzarsi.

2.3 I polimorfismi genetici

Per quanto riguarda il ruolo della genetica nella diagnosi, vi sono influenze genetiche sullo sviluppo della demenza ad insorgenza tardiva. In particolare, il principale fattore di rischio genetico per lo sviluppo della malattia di Alzheimer (AD) è l'allele E4 del gene APOE (apolipoproteina E) (lo chiameremo APOE4); altre varianti genetiche possono influire però sull'insorgenza di AD, benché in misura meno significativa (Bertram et al., 2010).

Il gene APOE, è situato sul cromosoma 19 e codifica per l'apolipoproteina E (APOE), una proteina plasmatica, coinvolta nel trasporto del colesterolo nel Sistema Nervoso Centrale, che si lega alla proteina amiloide. Sono presenti tre isoforme (conformazioni strutturali diverse della stessa proteina) di ApoE: Apo ϵ 2, Apo ϵ 3 e Apo ϵ 4 che sono i prodotti di 3 forme alleliche diverse (ϵ 2, ϵ 3, ϵ 4).

Dunque, il gene presenta tre varianti alleliche, due delle quali hanno un ruolo nell'insorgenza della patologia: mentre la variante APOE2 riduce il rischio di sviluppare AD, la forma APOE4 ne aumenta la probabilità. La terza forma, APOE3, non ha alcun effetto sul rischio di AD (Arboleda-Velasquez et al., 2019).

Diversi studi hanno mostrato che l'allele 4 (E4), è più frequente nelle persone affette da Alzheimer rispetto a quelle sane; la presenza del genotipo E4 determinerebbe un aumento di

circa tre volte il rischio di sviluppare la malattia nelle forme ad esordio tardivo, familiari e sporadiche. Il genotipo APOE2 avrebbe invece un effetto protettivo nei confronti della malattia. Ad oggi, la presenza di uno o due alleli $\epsilon 4$ del gene apolipoproteina E è l'unica variabile genetica riconosciuta in grado di aumentare il rischio di demenza, mentre l'allele $\epsilon 2$ diminuisce tale rischio.

Lo studio di Whiterair et al., (2010), ha confermato la relazione tra Apo $\epsilon 4$ e AD. Nello specifico, sono stati valutati 516 partecipanti con MCI amnesico (aMCI) di età compresa tra 55 e 90 anni. Durante il periodo di studio di 36 mesi, sono state raccolte misure neurocognitive e funzionali. Queste misure sono state valutate nel tempo per il cambiamento e l'associazione con lo stato di APOE $\epsilon 4$. I risultati evidenziano che i soggetti portatori di Apo $\epsilon 4$ dimostrano un declino cognitivo molto più rapido in termini di prestazioni in tutti i domini cognitivi e funzionali rispetto ai non portatori di Apo $\epsilon 4$. Il calo maggiore è stato osservato nelle misure globali della cognizione e della funzione, tra cui Clinical Diagnostic Rating scale, seguita dal Mini-Mental State Examination, Global Deterioration scale, and the Alzheimer's Disease Assessment Scale-Cognitive Subscale. Questi risultati dimostrano che il genotipo APOE $\epsilon 4$ è predittivo di un aumento dei tassi generali di declino nelle misure globali della cognizione e della funzione più colpite.

L'evidenza suggerisce che un individuo che soddisfa i criteri clinici, cognitivi ed eziologici per MCI, ed è anche ApoE $\epsilon 4$ positivo, ha più probabilità di progredire verso la demenza AD entro pochi anni rispetto a un individuo senza questa caratteristica genetica.

La presenza dell'allele apolipoproteina E4 (APOE4), noto come un forte fattore di rischio per l'AD, è associata ad un alto rischio di conversione da MCI a AD (Sasaki et al., 2009). Nello studio di Sasaki et al. (2009) su individui residenti in comunità giapponesi, di età superiore a 65 anni, è stata calcolata la frequenza dei portatori di APOE4 per ciascun sottotipo di MCI:

MCI amnesico a dominio singolo; MCI amnesico a dominio multiplo; MCI non amnesico a dominio singolo e MCI non amnesico a dominio multiplo. Dai risultati emerge una maggiore frequenza di ApoE4 in pazienti con MCI amnesico rispetto all'MCI non amnestico o al gruppo cognitivamente normale, suggerendo per i soggetti con MCI amnesico un maggior rischio di sviluppo di AD in futuro.

In un recente studio di van der Lee et al. (2018), pubblicato sulla rivista *Lancet Neurology*, sono stati coinvolti più di 12 mila adulti sani di età > 45 anni arruolati nel Rotterdam Study, studio prospettico olandese. I ricercatori hanno voluto misurare gli effetti di 23 varianti genetiche comuni, considerate congiuntamente e separatamente ad APOE4, sul rischio e sull'età di esordio della malattia. I partecipanti sono stati divisi a seconda del genotipo APOE e le varianti genetiche sono state scomposte in tre sottogruppi in base ad un punteggio di rischio genetico: basso, medio ed alto. Ad un successivo follow-up di controllo a distanza di circa 11 anni, 1262 dei partecipanti allo studio avevano sviluppato AD: nei portatori omozigoti di APOE4, l'età di esordio della patologia veniva anticipata di 10 anni nel gruppo ad alto rischio (79 anni) rispetto al gruppo con basso rischio (89 anni). Pertanto alcune varianti genetiche comuni, che considerate singolarmente hanno un effetto basso sul rischio di AD, manifestano un effetto significativo quando si considerano unitamente ad APOE4. La genotipizzazione dell'APOE, tuttavia, fornisce un dato solamente indicativo e non basta da solo a elaborare la diagnosi: infatti, quasi la metà delle persone affette non possiede questo allele, che d'altra parte può essere presente anche in una piccola percentuale di persone sane.

Recentemente è stato pubblicato su 'Nature Medicine', uno studio condotto su 1200 persone in Colombia, particolarmente vulnerabili alla malattia di Alzheimer a causa di una predisposizione genetica. In particolare è stato riportato il caso di una signora colombiana portatrice di una mutazione genetica causativa di AD (PSEN1) che tuttavia non ha sviluppato deficit cognitivi

(MCI) fino ad età avanzata. I portatori di una mutazione nel gene PSEN1 generalmente presentano decadimento cognitivo già a partire dai 40 anni, mentre la signora ha iniziato a manifestare un lieve decadimento delle funzioni di memoria solo all'età di 70 anni.

Il team di Yakeel Quiroz del Massachusetts General Hospital di Boston (Usa) e Joseph Arboleda-Velasquez dell'Harvard Medical School di Boston ha studiato il genoma di questa persona. Gli esami di *imaging* hanno evidenziato la presenza di placche amiloidi ma la quasi totale assenza di neurodegenerazione e taupatia (limitata a livello del lobo temporale mediale). Infine, anche il metabolismo cerebrale è risultato essere nella norma. Ulteriori esami genetici hanno rivelato che la signora è portatrice omozigote di una rara mutazione dell'allele APOE3 (chiamata Christchurch), che sembrerebbe in grado di bloccare i meccanismi che inducono la fosforilazione della proteina tau e, di conseguenza, la formazione dei grovigli neurofibrillari. Questa mutazione sembrerebbe quindi avere un ruolo protettivo nei confronti dell'AD, e maggiore di quello conferito dalla già nota variante APOE2 (Arboleda-Velasquez et al., 2019).

2.4 Confronto e associazione tra biomarker

Come affermato in precedenza, gli strumenti diagnostici possono essere clinici (analisi dei disturbi cognitivi) e biologici, quali analisi sul liquido cerebrospinale (CSF), immagini cerebrali strutturali (risonanza magnetica) o molecolari (PET) e i risultati di questi metodi biologici vengono nel complesso definiti biomarcatori. In ottica di confronto tra biomarker, il CSF mostra un valore di predittività inferiore, soprattutto rispetto alle misure di atrofia cerebrale (Xiao Da et al., 2014).

Per aumentare la sensibilità e la specificità dei biomarker, è stata valutata la possibilità di associazione di singoli biomarcatori: tutti hanno mostrato complementarità in quanto il valore di predittività di progressione di malattia aumenta quando questi sono usati insieme rispetto a quando sono usati in singolo (Fjell et al., 2010). L'analisi della combinazione di tre

biomarcatori (CSF, FDG-PET e MRI) nello studio di Zhang et al. (2010), ha portato alla conclusione che, se usati insieme, questi sono significativamente migliori nel predire la conversione da MCI a AD rispetto all'uso singolo. In particolare, l'uso combinato delle tre modalità di indagine predice la conversione entro 18 mesi con una sensibilità del 91,5% e una specificità del 73,4%. Tra tutti e tre i biomarker, l'FDG-PET risulta l'unico biomarker in grado, se utilizzato da solo, di aumentare significativamente il valore di predittività di conversione a Malattia di Alzheimer (Shaffer et al., 2013). Anche confrontato con i test neuropsicologici, l'FDG è migliore nel predire il declino cognitivo, poiché le manifestazioni patologiche della malattia precedono di alcuni anni i deficit rilevati dalla batteria di test (Hinrichs et al., 2011). In definitiva, è possibile affermare che l'FDG-PET è considerato un importante biomarker di Mild Cognitive Impairment e di possibile progressione a Malattia di Alzheimer.

Infine, l'utilizzo delle tre metodiche (FDG-PET, CSF e MRI) associato alle informazioni sull'età, sull'istruzione, sull'ApoE e sui test neuropsicologici rappresenta il miglior modello per predire la conversione a AD.

2.4 Test neuropsicologici

Uno dei punti di maggior interesse per la ricerca su soggetti affetti da MCI è la possibilità di poter individuare in queste popolazioni oltre markers biologici (liquorali, di imaging morfologico e funzionale), anche markers clinici e neuropsicologici che possano essere in grado di predire precocemente lo sviluppo di AD. E' importante individuare strumenti neuropsicologici sempre più sensibili ai deficit cognitivi che caratterizzano i soggetti con MCI destinati ad evolvere a demenza.

All'interno di tale contesto, tuttavia, sarebbe necessario definire con maggiore chiarezza le modalità di valutazione dei criteri per l'identificazione di soggetti affetti da MCI. Le batterie di test neuropsicologici ad esempio dovrebbero essere sufficientemente ampie ed articolate per poter adeguatamente valutare la presenza di un disturbo isolato di memoria, mentre

l'utilizzazione di interviste cliniche semistrutturate permetterebbe un'adeguata valutazione dell'impatto che il disturbo cognitivo del paziente ha nella vita di tutti i giorni. Questo approccio infatti, renderebbe confrontabili le popolazioni studiate in diversi contesti e permetterebbe di fare stime dell'incidenza e la prevalenza di tale entità clinica, del rischio di sviluppare una AD in questi soggetti e/o della velocità di progressione del MCI in demenza (Perri et al., 2001).

Il colloquio e l'anamnesi neuropsicologica consentono allo specialista neuropsicologo di formulare un'ipotesi diagnostica, determinante nella scelta dei test da somministrare in base alle funzioni cognitive da esplorare. L'esecuzione di una adeguata batteria di test neuropsicologici può fornire indicazioni indispensabili sull'esistenza e gravità del deficit cognitivo, sulle aree cognitive compromesse e per valutare la progressione di malattia nel corso del follow-up.

Dunque, una corretta batteria neuropsicologica deve esplorare tutti i domini cognitivi, cercando di fornire inoltre una fotografia neuropsicologica del funzionamento cognitivo globale e della "funzionalità" e autonomia nella vita di tutti i giorni del paziente.

La letteratura scientifica appare varia e discordante sia riguardo a quali siano i test neuropsicologici più accurati da utilizzare per la diagnosi di MCI, sia per quanto concerne i test dotati di maggior potere predittivo nell'evoluzione da MCI a AD. Spesso è il grado di deterioramento del paziente ad influenzare la scelta del test da applicare. La valutazione neuropsicologica comunque viene usata per quantificare il grado di compromissione cognitiva nei pazienti con deficit e risulta essere particolarmente utile nelle fasi precoci di malattia (Arnaiz e Almkvist 2003), perciò la batteria neuropsicologica si avvale di numerosi test per la valutazione dei diversi ambiti cognitivi. Essa consente, così, di identificare l'esistenza e la gravità dei deficit cognitivi. Negli studi clinici, la scala più usata per lo studio della severità e dell'andamento dei sintomi cognitivi è l'Alzheimer's Disease Assessment Scale (ADAS-Cog).

Tuttavia, nella pratica clinica, viene utilizzato il punteggio del Mini Mental State Examination (MMSE) per una valutazione del deterioramento cognitivo.

Inizialmente vengono effettuati i test di screening come il Mini-Mental State Examination (MMSE) o il Montreal Cognitive Assessment (MOCA), al fine di attuare una valutazione globale delle funzioni cognitive. Successivamente è possibile effettuare i test specifici al fine di indagare i danni riportati per ogni funzione cognitiva.

Alcune delle prove neuropsicologiche più frequentemente utilizzate nella diagnosi dell'MCI sono le seguenti:

- Mini-Mental State Examination o *MMSE (Folstein et al.,1975): valuta la cognitiv  globale*
- Montreal Cognitive Assessment (MOCA)
- *Test dell'orologio (CDT: Clock Drawing Test)*
- Logical Memory
- Rey Auditory Verbal Learning Test (RAVLT)
- Category Fluency
- Il Trail Making Test
- Il Boston Naming Test
- American National Adult Reading test (ANART)
- Free Cue Selective Reminding Test
- Neuropsychiatric Inventory Questionnaire

- *Mini-Mental State Examination o MMSE*

Il Mini-Mental State Examination, o MMSE (Folstein et al., 1975),   un test neuropsicologico per la valutazione dei disturbi dell'efficienza intellettiva e della presenza di deterioramento cognitivo. Ha una breve durata (circa 10 minuti) e permette attraverso poche e semplici

domande mirate, come pure piccoli compiti grafici, di sondare diversi domini della funzione cerebrale, come l'orientamento (autopsichico e verso l'esterno), la memoria, le funzioni prassiche, grafiche, attenzione e calcolo, la capacità di richiamare determinate acquisizioni, il linguaggio, ecc. Il paziente deve, nel limite del possibile, essere informato in dettaglio sullo scopo e lo svolgersi del test. Se effettuato correttamente il test offre importanti informazioni nell'immediato ma è estremamente utile anche per seguire il decorso di eventuali disfunzioni riscontrate. Il test originale è stato sviluppato da Folstein et al (1975) e include domande su orientamento, attenzione, richiamo e linguaggio. Il MMSE è spesso utilizzato come strumento di screening nell'indagine di soggetti con demenza, e con sindromi neuropsicologiche di natura differente. In particolare, il test è diviso in due sezioni, la prima delle quali richiede solo risposte vocali e fa riferimento all'orientamento, memoria e attenzione, il punteggio massimo è 21. La seconda parte, verifica la capacità di nominare, seguire comandi verbali e scritti, scrivere una frase spontaneamente e copiare un poligono complesso. Il test è costituito in totale da trenta item che fanno riferimento a sette aree cognitive differenti: orientamento nel tempo; orientamento nello spazio; registrazione di parole; attenzione e calcolo; rievocazione; linguaggio e prassia costruttiva. Il test non è cronometrato e il punteggio totale è compreso tra un minimo di 0 ed un massimo di 30 ed è corretto per l'età e la scolarità del soggetto. Quindi, ogni risposta viene codificata attraverso un punteggio, grazie alla somma si ottiene il punteggio totale che è compreso tra un minimo di 0 corrispondente al massimo grado di deficit cognitivo, ed un massimo di 30 punti che indicano l'assenza di deficit. Sono considerati normali, i punteggi uguali o superiori a 24. Un punteggio compreso tra 19 e 24 è indice di una compromissione cognitiva da moderata a lieve; un punteggio uguale o inferiore a 18 è indice di una compromissione grave e un punteggio minore di 10 è indice di una compromissione gravissima (Folstein et al., 1975) (*Figura 2.1*). Il punteggio soglia per la normalità è influenzato da età e scolarità, per cui sono stati elaborati fattori di correzione. Persone con un iniziale

deterioramento cognitivo, ma con un'alta scolarizzazione possono ottenere un punteggio pari a 29 e 30, non rivelando a questo test alcun deterioramento. Il MMSE ha una sensibilità pari a 0.81 e una specificità pari a 0.89. E' stato costruito essenzialmente sulla base dei sintomi di patologie a esordio funzionale (come ad esempio la malattia di Alzheimer), in un soggetto affetto ad esempio da una patologia ad esordio disesecutivo (come ad esempio la malattia di Parkinson) può non evidenziare alcun deterioramento, se non a stadi molto avanzati della malattia. La somministrazione e interpretazione dei risultati deve essere effettuata solo da un medico o psicologo abilitato.

Il Mini-Mental State Examination è un valido test della funzione cognitiva. Separa i pazienti con disturbi cognitivi da quelli senza tale disturbo tuttavia non sostituisce una valutazione clinica completa per raggiungere una diagnosi finale di ogni paziente. Una diagnosi accurata dipende dall'evidenza sviluppata dalla storia psichiatrica, dall'esame completo dello stato mentale, dallo stato fisico e dai dati di laboratorio pertinenti. Il test fornisce una valutazione quantificata dello stato cognitivo, rendendo più oggettiva un'impressione vaga e soggettiva di disabilità cognitiva durante la valutazione di un paziente.


<i>Punteggio Punti</i>		<i>Punteggio Punti</i>	
Orientamento		Scioglilingua	
Che anno è?	_____ 1	Il paziente dovrà ripetere:	
Stagione?	_____ 1	"tigre contro tigre".	_____ 1
Data?	_____ 1		
Giorno?	_____ 1	Comprensione	
Mese?	_____ 1	Il paziente dovrà eseguire un comando	
Dove siamo:		diviso in tre parti:	
Stato?	_____ 1	"prenda un foglio	
Regione?	_____ 1	in mano. Pieghi il	
Città?	_____ 1	foglio a metà. Metta il	
Piano?	_____ 1	foglio per terra".	_____ 3
Indirizzo?	_____ 1		
Ripetizione		Il paziente deve obbedire a ordini scritti, p. es.:	
Nominare tre oggetti impiegando un secondo per ognuno. Un punto per ogni oggetto. Ripetere gli oggetti finché il paziente non li apprende tutti e tre.		"chiuda gli occhi".	_____ 1
Punti per la prima prova	_____ 3	Il paziente dovrà scrivere una frase a scelta. (La frase deve contenere un soggetto, un complemento oggetto e dovrà avere un senso compiuto. Ignorare ai fini del punteggio gli errori di ortografia.)	_____ 1
Attenzione e calcolo		Ingrandire il disegno sottostante da 1 a 5 cm per lato e farlo copiare al paziente. (Dare un punto se tutti i lati e gli angoli sono copiati bene e se i lati intersecati formano un quadrilatero.)	_____ 1
Chiedere di partire da 100 e sottrarre 7. Ripetere al massimo per 5 volte. Un punto per ogni risposta esatta.	_____ 5		
Memoria			
Chiedere i nomi dei tre oggetti appresi durante la ripetizione. Un punto per ogni risposta corretta.	_____ 3		
Linguaggio			
Indicare una matita e un orologio. Il paziente dovrà nominarli (1 punto ciascuno).	_____ 2	<i>Totale</i>	_____ 30

Figura 2.1 Modulo del Mini Mental State Examination (MMSE) nella versione italiana.

- *Montreal Cognitive Assessment (MOCA)*

Il Montreal Cognitive Assessment (MoCA) è una breve misura della funzione cognitiva globale originariamente sviluppato come strumento per un rapido screening del deterioramento cognitivo lieve (MCI), spesso precursore della malattia di Alzheimer (AD) ed è molto utile per differenziare lo stato di Alzheimer prodromico dallo stato clinico di Mild Cognitive Impairment (Rossetti et al., 2011). Valuta diversi domini cognitivi come l'attenzione e la concentrazione, le funzioni esecutive, la memoria, il linguaggio, le abilità visuo-costruttive, le capacità di astrazione, calcolo e orientamento. Il tempo di somministrazione del MOCA è di 10 minuti; il

punteggio massimo è pari a 30, e un punteggio uguale o superiore a 26 è considerato non patologico.

- *Clock Drawing test (CDT) e Clock Copying test (PCT)*

Il test del disegno dell'orologio è un breve test diagnostico il cui scopo è quello di valutare il deterioramento cognitivo dei pazienti ed essere in grado di diagnosticare possibili disturbi neurologici e psichiatrici, di solito è uno dei test più comuni per identificare la malattia di Alzheimer o altre forme di demenza precoce. Valuta nell'insieme le funzioni esecutive, le abilità prassico-costruttive e le capacità visuo-spaziali, pertanto è uno strumento di valutazione rapida di screening del rendimento cognitivo globale, alla pari del MMSE, con cui condivide l'ampio uso clinico, la breve durata di somministrazione e la facilità di esecuzione. Il test fu proposto ed usato già negli anni 20 quale strumento di valutazione dei deficit neuropsicologici. Esso però ha iniziato a diffondersi, con numerose varianti, dagli inizi degli anni 50 e alla fine degli anni ottanta i test dell'orologio furono proposti da numerosi autori quali test di primo impiego nella diagnostica della demenza: in molte forme di demenza infatti, i deficit visivo-spaziali sono evidenziabili fin dagli stadi precoci. Nella pratica clinica sono usate numerose varianti del CDT: ogni variante propone una differente rilevazione degli errori con diversi punteggi che li quantificano. Ad esempio la variante di Sunderland et al. (1989) prevede un punteggio da 1 a 10. L'esaminatore fornisce al soggetto un foglio con un cerchio vuoto e, spiegando che si tratta del contorno di un orologio, chiede di completarne l'interno inserendo i numeri ed in seguito di inserire le lancette in corrispondenza delle ore 11.10 oppure 2.45.

Caffarra et al. (2011), hanno proposto una versione del Test dell'Orologio in cui al soggetto si richiedono 3 condizioni: Disegno libero (FD); Orologio Pre- Disegnato (PD) e Orologio Disegnato dall'Esaminatore (ED). Il calcolo del punteggio del Test dell'Orologio avviene rispetto agli item relativi a: contorno (FD, PD), numeri (FD, PD), lancette (FD, PD, ED), centro

(FD, PD, ED). Il punteggio massimo della versione di disegno libero è 15 (solo questa condizione non viene aggiustata e corretta per età); il punteggio massimo dell'orologio pre-disegnato è di 13, il punteggio massimo dell'Orologio Disegnato dall'Esaminatore è di 33. Infine si calcola il punteggio totale tramite la somma dei 3 punteggi (FD+PD+ED) massimo di 61.

E' stato dimostrato che la correttezza nell'esecuzione di questo test è ben correlata con il punteggio ottenuto al MMSE. Ed alcune evidenze in letteratura, mostrano che i pazienti con MCI trovano spesso una certa difficoltà sia nell'inserimento delle ore per un deficit di strutturazione dello spazio, sia nell'inserimento dell'ora corretta, mostrando spesso segni di mancanza di logica (*Figura 2.2*). I due più frequenti errori in pazienti con deficit lievi sono: invece che segnare due lancette che indicano le 11.10 disegnano le 10.50 oppure al posto delle 2.45 le 2.23 (con una lancetta a metà strada tra il 4 e il 5). La valutazione quantitativa e qualitativa viene quindi fatta sia sul posizionamento dei numeri (ovvero sulla capacità di pianificare ed organizzare visivamente lo spazio), sia sulla logica adoperata nell'inserimento delle lancette.

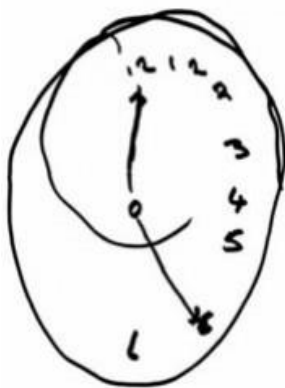


Figura 2.2 Esempio di errata riproduzione a memoria di un orologio con lancette eseguita da un paziente con lieve deterioramento cognitivo.

Una delle caratteristiche più importanti del test dell'orologio è che può fornire molte più informazioni sulle funzioni neuropsichiche del paziente di quante ne possano fornire i soli test di memoria verbale e che gran parte di queste informazioni non sono valorizzate dalle scale

quantitative a punteggi (Nishiwaki et al., 2004). Nella fase di disegno dei numeri le persone con migliore livello cognitivo-funzionale generalmente dividono il cerchio in diversi quadranti ad esempio annotando i numeri (12-3-6-9) e successivamente riempiendo gli spazi con gli altri numeri.

Molti altri pazienti iniziano dal n°1 o 12 (o talora dal n°11) riempiendo tutto lo spazio con i numeri successivi: frequentemente il cerchio viene riempito lasciando fuori i primi o gli ultimi numeri. Alcuni pazienti dotati ancora di senso critico, sono consapevoli dell'errore ma non riescono ad eseguire il compito. Ricorrono allora a "correzioni" quali quella di scrivere "10" non essendo in grado di posizionare la lancetta sul n°2 (o secondo tratto). Le lancette vengono spesso indicate con un semplice segmento: questo non è indice di deficit cognitivo. La mancata od inesatta posizione delle lancette è invece quasi sempre indice di deficit cognitivo o neurologico (afasie, disturbi propriocettivi, somatoagnosie) e va approfondito con ulteriori indagini. Dalle ricerche di Sunderland et al. (1989) è possibile osservare alcuni test (*Figura 2.3*).

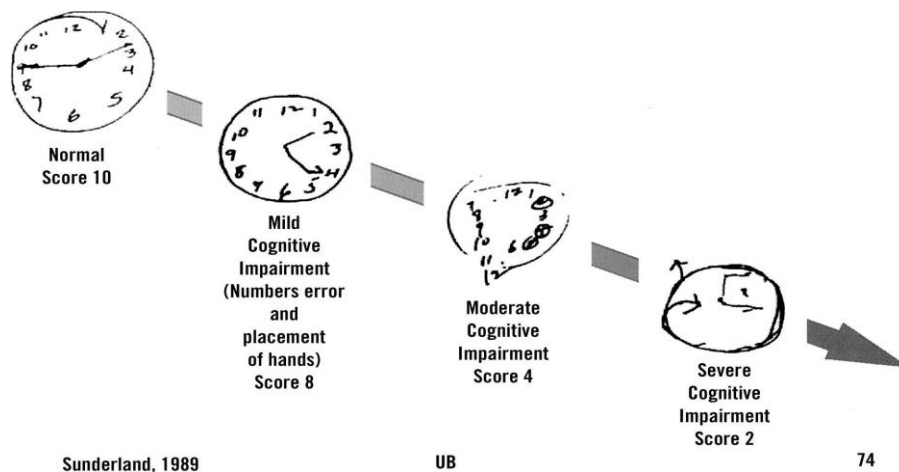


Figura 2.3 Test tratti dalle ricerche (Sunderland et al., 1989).

L'affidabilità e la validità del CDT sono state riportate in molti studi, tuttavia la maggior parte di questi studi si basava su campioni di dimensioni relativamente piccole in contesti ospedalieri

o clinici. Pertanto Nishiwaki et al. (2004), hanno condotto uno studio su un ampio campione di persone di età pari o superiore a 75 anni. Nell'analisi sono stati inclusi un totale di 13.557 soggetti con punteggi sia CDT che MMSE. Il periodo di follow-up medio è stato di 4,7 anni. Gli autori si sono posti due obiettivi: 1) valutare la validità del CDT rispetto al MMSE come strumento di screening della popolazione per il deterioramento cognitivo e determinare se la validità varia in base al genere, al gruppo di età o al metodo di somministrazione e 2) esaminare l'associazione tra funzione cognitiva valutata dal CDT e mortalità. I dati sono stati ottenuti dallo studio MRC (Medical Research Council) sulla valutazione e la gestione delle persone anziane nella comunità. Le valutazioni di base sono state condotte tra il 1995 e il 1999 nel Regno Unito. Lo studio è stato progettato per reclutare pazienti da 108 studi, stratificati per fornire un campione rappresentativo in termini di mortalità e deprivazione degli studi medici generali nel Regno Unito (Inghilterra, Galles e Scozia). Il processo aveva due bracci principali, "universale" e "mirato". Ogni braccio ha avuto un'ulteriore randomizzazione a livello di pratica a tre metodi di somministrazione di un breve questionario: postale, intervista da laico e intervista da infermiere. Nel braccio universale, tutti i pazienti sono stati invitati a sottoporsi a una breve valutazione sanitaria seguita da una valutazione dettagliata, eseguita dall'infermiera dello studio. Nel braccio mirato, solo ai pazienti con trigger predeterminati sono state offerte le valutazioni dettagliate. Il CDT e il MMSE sono stati inclusi rispettivamente nella valutazione breve e nella valutazione dettagliata. La sensibilità e la specificità del CDT per rilevare il deterioramento cognitivo da moderato a severo (punteggio MMSE \leq 17) sono state rispettivamente del 77% e dell'87% per la somministrazione infermieristica e del 40% e del 91%, rispettivamente, per la somministrazione postale. La sensibilità era maggiore tra le femmine e aumentava con l'età. Nella regressione dei rischi proporzionali di Cox, un punteggio CDT peggiore era associato ad un aumento del rischio di mortalità per tutte le cause e mortalità per malattie cerebrovascolari e respiratorie, anche dopo aggiustamento per potenziali fattori

confondenti. Gli autori concludono che il CDT può avere valore come breve strumento di screening faccia a faccia per il deterioramento cognitivo moderato/grave in una popolazione di comunità più anziana, ma è relativamente scarso nel rilevare un deterioramento cognitivo più lieve.

- *Logical Memory (LM)*

Il test della memoria logica (Logical Memory task) della Wechsler Memory Scale (WMS) è uno dei test più utilizzati per valutare la memoria episodica. Questo test è composto da due storie che includono 25 unità o idee ciascuna e sono presentate verbalmente dall'esaminatore: uno su una donna (presentato per primo) e l'altro su un uomo (Bolognani et al. 2015).

Immediatamente dopo la presentazione di ogni storia (richiamo immediato), al soggetto del test viene chiesto di ripetere ciò che ricorda nel modo più accurato possibile, senza ricevere alcun indizio (richiamo libero). Trenta minuti dopo, ai soggetti viene chiesto di rievocare la storia (richiamo ritardato). Sia per il richiamo immediato, che per quello ritardato, tutti gli elementi corretti vengono sommati dando un punteggio massimo di 25 per ogni storia (Bolognani et al. 2015). La WMS è attualmente alla sua quarta edizione, e dalla sua versione precedente, le storie di memoria logica hanno acquisito un'ulteriore forma di punteggio. È stato mantenuto il sistema di punteggio a 25 elementi (che conta unità specifiche della storia) ed è stato stabilito un secondo criterio di punteggio, considerando il richiamo di argomenti generali. Ad esempio, il sistema di punteggio originale attribuisce punti per il richiamo di nome e cognome esatti del personaggio (un punto ciascuno); il sistema di punteggio aggiuntivo ora concede anche un punto se il soggetto ricorda che la storia riguardava una donna, anche se il suo nome non è ricordato. A causa del suo grande valore nella valutazione della memoria, il logical memory test viene spesso utilizzato quando è necessario ripetere il test nella pratica clinica e nella ricerca longitudinale. È noto che il test della memoria logica è suscettibile di effetti pratici o di

formazione, ovvero l'uso ripetuto della stessa storia aumenta la possibilità che venga ricordata nelle valutazioni successive (apprendimento dello stimolo). In molti contesti clinici e sperimentali, può essere richiesta più di una storia alternativa per ciascun originale. Sullivan, ha analizzato la comparabilità delle storie in termini di numero di parole, personaggi, frasi e leggibilità, nonché le prestazioni di soggetti normali in termini di richiamo immediato di queste storie dopo la presentazione orale. Sebbene queste storie siano generalmente simili, c'erano alcune differenze tra loro, probabilmente perché le storie originali del test WMS-R non sono equivalenti nei parametri studiati e differiscono anche in termini di facilità di memorizzazione (Bolognani et al. 2015). In definitiva, l'uso di storie diverse che hanno caratteristiche simili è uno dei metodi utilizzati per migliorare la validità delle valutazioni ripetute.

Gli studi clinici e gli studi diagnostici sulla malattia di Alzheimer (AD) sono responsabili della sperimentazione e dello sviluppo di metodi terapeutici e diagnostici per l'AD. Questi studi multicentrici su larga scala devono avere criteri di inclusione rigorosi per identificare e discriminare accuratamente la cognizione normale, il deterioramento cognitivo lieve (MCI) e la demenza AD. Il Mini Mental State Examination (MMSE) e il test Wechsler Memory Scale (WMS) Logical Memory (LM) sono due misure di screening comunemente utilizzate per determinare l'inclusione in questi studi. Tuttavia, l'uso del MMSE e del LM negli studi clinici e negli studi diagnostici sull'AD per accertare lo stato diagnostico e determinare l'inclusione può essere metodologicamente problematico. Ad esempio, per quanto riguarda il Logical Memory, esso è associato a bias di apprendimento e gli effetti della pratica possono minare la sua rilevazione di compromissione, in particolare tra potenziali soggetti dello studio AD che hanno avuto un'esposizione ripetuta a LM. Dunque anche la capacità del LM rispetto ad altri test di rilevare con precisione l'AD è stata messa in dubbio e gli anziani sani spesso dimostrano menomazioni sulla ritenzione del LM. Le prestazioni su LM possono anche essere relativamente più sensibili alla disfunzione esecutiva rispetto alla memoria episodica.

La ricerca dell'Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (ADNI) è in prima linea nello sviluppo di metodi diagnostici e biomarcatori per AD e si basa anche sui punteggi MMSE e LM per determinare l'ammissibilità.

- *Category Fluency*

I compiti di fluidità verbale sono tradizionalmente utilizzati nella valutazione dei pazienti con demenza, in particolare con il morbo di Alzheimer. Valutano le capacità lessicali, l'ampiezza del dizionario personale, la capacità di accesso alle informazioni in esso e l'organizzazione lessicale. Le versioni più comuni dei test di fluidità verbale consistono nella produzione di parole in un lasso di tempo limitato a partire da una data lettera (attività di fluenza verbale fonologica) o all'interno di una categoria semantica (attività di fluenza verbale categoriale). Entrambi i compiti producono lo stesso tipo di punteggio (il numero di parole per unità di tempo), ma si basano su meccanismi abbastanza diversi (Quaranta et al., 2019). I test di fluenza verbale categoriale (CFT) richiedono il recupero del contenuto della memoria semantica, in cui concetti e parole sono organizzati gerarchicamente; mentre i compiti di fluenza verbale fonologica richiedono un'esplorazione faticosa del sistema lessicale e richiedono l'intervento di una strategia insolita basata sull'attivazione fonologica, piuttosto che semantica. I CFT sono considerati uno strumento affidabile per valutare l'integrità della memoria semantica. Precedenti studi hanno riportato prestazioni alterate in questi test nella demenza di tipo Alzheimer e nel Mild Cognitive Impairment (MCI). In questa particolare popolazione, è stato anche riportato che le prestazioni alterate nella CFT sono predittive della successiva progressione verso la demenza. In anni più recenti, sono state valutate le prestazioni di individui con demenza di tipo Alzheimer (DAT) o MCI su CFT, tenendo conto di diverse variabili psicolinguistiche, le cui modificazioni possono riflettere una sottile compromissione del sistema lessicale-semantico. Tra le variabili che potrebbero influenzare i risultati ottenuti ai test

di fluenza verbale categoriale, hanno ricevuto particolare attenzione l'età di acquisizione, la frequenza d'uso e la tipicità delle parole. È infatti dimostrato che negli individui normali il recupero lessicale è facilitato per le parole acquisite precocemente, che corrispondono a tipici rappresentanti di una specifica categoria, e sono frequentemente presenti nel discorso. È stato riportato che gli individui con demenza di tipo Alzheimer producono parole con maggiore frequenza, età di acquisizione inferiore e tipicità maggiore rispetto agli individui sani. È stato riportato che individui con MCI mostrano un maggiore livello di tipicità delle parole prodotte in un test CFT e che gli individui che producono parole altamente tipiche sono più inclini a sviluppare demenza durante il periodo di follow-up (Quaranta et al., 2019). La prestazione nel test di fluenza categoriale in soggetti con DAT e MCI è stata variamente attribuita a una compromissione della memoria semantica o una ridotta capacità di accedere alla rappresentazione verbale di rappresentazioni concettuali altrimenti intatte. L'indagine sulle relazioni tra le parole generate durante i compiti di fluenza verbale può essere di qualche utilità nel tentativo di chiarire questo problema. Infatti, è prevedibile che gli oggetti prodotti durante un CFT debbano essere collegati da un significato condiviso (come l'appartenenza alla stessa categoria). Quindi, in un sistema semantico intatto, l'attivazione di successive voci lessicali sarà più facile per concetti che sono vicini alle parole precedenti in termini di significato (o di caratteristiche tassonomiche, percettive o funzionali condivise). Ad esempio, nel caso degli uccelli, si può prevedere che dopo "falco" sia più probabile produrre la parola "aquila" rispetto alla parola "anatra", poiché la prima condivide più caratteristiche con la parola "falco" (uccello di preda con becco adunco e forti artigli) rispetto a quest'ultimo. Questa previsione si fonda su modelli di memoria semantica in cui i concetti sono rappresentati da nodi connessi da relazioni significative, la cui attivazione precede l'accesso lessicale. Se la memoria semantica è compromessa, è possibile prevedere una deviazione da questo processo, che può portare a una diversa distribuzione delle misure delle relazioni semantiche all'interno dei pazienti. Le

relazioni semantiche possono essere il principale contributore al fenomeno del “clustering”, cioè la tendenza a produrre cluster di parole che appartengono alla stessa sottocategoria (ad esempio, “rapaci”). Questo fenomeno può essere contrastato con il passaggio a un diverso sottogruppo di parole, chiamato “switching”. In generale, il clustering si basa sull’integrità della memoria semantica mentre lo switching è correlato alle funzioni esecutive. Nei soggetti con demenza di tipo Alzheimer vi è la generazione di un minor numero di cluster e switch rispetto agli individui sani.

Lo studio di Quaranta et al. (2019), ha voluto indagare se le relazioni semantiche tra le voci lessicali prodotte su un test di fluidità categoriale fossero diverse tra persone sane e quelle con aMCI e se questa differenza fosse più pronunciata negli individui che si sono convertiti alla demenza durante un periodo di 3 anni. Sono stati reclutati 34 individui con Mild Cognitive Impairment di tipo amnesico e 29 persone sane. Durante il periodo di follow-up, 10 individui si sono convertiti a demenza. I risultati hanno evidenziato che il numero di coppie di parole analizzate tra i partecipanti sani (HP) e le persone con aMCI erano 498 (uccelli: 262; mobili: 236) e 395 (uccelli: 174; mobili: 221), rispettivamente. Gli individui con aMCI che convertono alla demenza mostrano un deterioramento delle relazioni semantiche tra le voci lessicali, prodotte su un CFT. Questo fenomeno può essere interpretato come un indicatore di un’interruzione molto precoce della memoria semantica.

- *Trail Making Test*

Il Trail making test è un test neuropsicologico di attenzione visiva e cambiamento di compito, ampiamente utilizzando sia nella ricerca che in ambito clinico (Hagenaars et al., 2018). Si tratta di un test utilizzato da solo come strumento di screening per rilevare malattie neurologiche e disturbi neuropsicologici o come parte di una batteria più ampia di test (Bowie et al., 2006). Il test è composto da due parti: A e B. Nel TMT-A, i partecipanti devono collegare una serie di

numeri (da 1 a 25) in ordine crescente, tracciando una linea continua tra di loro nel modo più rapido e preciso possibile. Nel TMT-B ai partecipanti è richiesto di collegare una serie di numeri e lettere in ordine crescente alternato (1, A, 2, B, 3, C e così via) nel minor tempo possibile. La performance si misura tenendo conto del tempo impiegato dal soggetto per completare il compito. Si ritiene che, sottraendo il tempo di completamento della TMT-A da quello della TMT-B (TMT B – A), è possibile analizzare i contributi relativi della ricerca visiva e della velocità psicomotoria così come delle funzioni esecutive più complesse (come la flessibilità cognitiva) necessarie per alternare numeri e lettere (Bowie et al., 2006). Le prestazioni del Trail making test sono state attribuite ad una serie di processi cognitivi tra cui attenzione, ricerca visiva e scansione, sequenza e spostamento, velocità psicomotoria, astrazione, flessibilità, capacità di eseguire e modificare un piano d'azione e capacità di mantenere due linee di pensiero simultaneamente (Salthouse et al., 2011). È considerato uno strumento utile nella ricerca e nella pratica clinica per via della sensibilità del compito (in particolare TMT B e B - A) al danno del lobo frontale e alla demenza (Amieva et al., 1998). In particolare, diversi studi hanno riportato basse prestazioni dei pazienti con demenza di tipo Alzheimer (DAT) al Trail Making Test (TMT). Al fine di comprendere meglio il disturbo dell'attenzione nella DAT, Amieva et al. (1998), hanno analizzato le prestazioni dei pazienti con DAT e degli anziani cognitivamente normali al TMT, effettuando un'analisi dettagliata dei tipi di errore. L'analisi ha mostrato che il 67% degli errori dei pazienti era correlato a un deficit inibitorio contro solo il 24% negli anziani normali. Pertanto, è stato suggerito che meccanismi inibitori inefficienti sono responsabili, in larga misura, della scarsa performance al TMT dei pazienti con DAT, supportando l'ipotesi di una disfunzione inibitoria nella DAT. In generale, adulti cognitivamente nella norma e sani, mostrano spesso un calo delle prestazioni cognitive con l'invecchiamento (Bowie et al., 2006). In un campione di soggetti anziani, sono stati riscontrati tempi maggiori per completare entrambe le parti A e B in assenza di deficit motori o sensoriali

(Wahlin et al., 1996), il che suggerisce che il TMT è sensibile ai normali cali di concentrazione, vigilanza e capacità visuo-spaziali legati all'età che si verificano in vita successiva. Nel tempo, sono state sviluppate versioni alternative del TMT per estendere l'applicabilità del test a tutte le fasce di età e per superare gli ostacoli verbali e visivi.

- *Boston Naming Test*

Il Boston Naming Test è uno strumento di screening introdotto nel 1983 da Edith Kaplan, Harold Goodglass e Sandra Weintraub, che può aiutare a valutare il funzionamento cognitivo. Il Boston Naming Test originale consiste di 60 disegni in linea nera, presentati in ordine dal più facile al più difficile, che il candidato deve identificare. L'amministratore del test mostra alla persona una alla volta ciascuna delle immagini e successivamente vengono dati 20 secondi per comunicare cosa rappresenta il disegno. Il punteggio varia in base alla versione del test che si sta utilizzando, ma in genere ogni risposta corretta, sia prima che dopo i segnali verbali, viene conteggiata come un punto. Numerosi studi hanno stabilito che le diverse versioni del test sono efficaci nell'identificare le persone con la malattia di Alzheimer e alcune ricerche indicano che il test può identificare le persone che non hanno ancora ricevuto diagnosi di malattia di Alzheimer, ma potrebbero essere nelle primissime fasi della demenza. La difficoltà di nominare e ricercare le parole è comune nel deterioramento cognitivo lieve (MCI) e in particolare nella malattia di Alzheimer (AD) (Dudas et al., 2005).

Per meglio approfondire questo aspetto, Balthazar et al. (2008), hanno studiato la presenza di scomposizione semantica e il pattern di errori generali e semantici in pazienti con AD lieve, pazienti con decadimento cognitivo lieve amnestico (aMCI) e controlli normali esaminando le loro risposte spontanee al Boston Naming Test (BNT) e successivamente verificando se avevano bisogno di segnali semantici e fonemici. Gli errori nelle risposte spontanee sono stati classificati in quattro categorie (errori semantici, paragnosia visiva, errori fonologici ed errori

di omissione). Gli autori hanno ipotizzato che, se i pazienti non danno una risposta corretta spontaneamente o dopo un segnale semantico, ma migliorano significativamente dopo un segnale fonemico, ciò significa che il campo semantico non è necessariamente danneggiato. Se un segnale fonemico non migliora le prestazioni di denominazione, ciò indica che la conoscenza semantica potrebbe essere compromessa.

I risultati evidenziano che i pazienti con aMCI hanno dimostrato una prestazione normale al BNT e avevano bisogno di meno segnali semantici e fonemici rispetto ai pazienti con AD lieve. Dopo i segnali semantici, i soggetti con aMCI e i soggetti di controllo hanno dato risposte più corrette rispetto ai pazienti con AD lieve, ma dopo i segnali fonemici, non c'era differenza significativa tra i tre gruppi. Questo suggerisce che i pazienti con AD possono avere un certo grado di conoscenza preservata sull'oggetto raffigurato, ma hanno bisogno di aiuto per recuperare le informazioni fonologiche sull'oggetto presentato. I segnali, possono facilitare la denominazione delle immagini diffondendo l'attivazione delle relazioni semantiche.

Diversi autori ritengono che il problema principale per i pazienti con AD sia un guasto nell'elaborazione semantica, sebbene anche altre funzioni cognitive coinvolte nel processo di denominazione, come la memoria di lavoro, l'attenzione, le abilità visuo-percettive e l'accesso lessicale, possano avere un'influenza (Rogers et al., 2006). Hajilou e Done (2007) hanno suggerito che una possibile causa di compromissione del riconoscimento degli oggetti nell'AD, potrebbe essere un deficit nell'elaborazione degli aspetti strutturali degli elementi presentati visivamente.

- *American National Adult Reading test (ANART)*

L'American National Adult Reading Test (AMNART) è stato costruito per fornire una stima valida e stabile del QI verbale premorbo (VIQ) negli individui con demenza.

E' la versione americana del National Adult Reading Test (NART), un test di lettura di parole che richiede ai partecipanti di leggere ad alta voce un elenco di 50 parole con associazioni tra grafema atipico e fonema che rende difficile pronunciare le parole foneticamente (Deborah A. Lowe e Steven A. Rogers, 2011). A seconda della versione, l'ANART consiste di 45 o 50 parole inglesi ortograficamente irregolari, con circa la metà identiche alle parole contenute nel NART. Durante la somministrazione, ai partecipanti viene chiesto di pronunciare ogni parola ad alta voce, partendo dall'inizio dell'elenco e proseguendo fino alla fine. E' stato rilevato che i punteggi AMNART diminuiscono prima che venga fatta la diagnosi di demenza, forse suggerendo un legame con l'esaurimento della propria riserva cognitiva (Grober et al., 2008), che è la capacità di impiegare strategie cognitive compensatorie e utilizzare una varietà di reti neurali per i problem solving. La riserva cognitiva è sviluppata da fattori quali l'istruzione, l'occupazione e le attività del tempo libero ed è stato dimostrato che agisce da cuscinetto contro il declino cognitivo (Scarmeas et al., 2003). Maggiore è la riserva cognitiva di una persona, maggiore è il grado di deterioramento cognitivo che deve verificarsi prima che possano essere rilevati sintomi di demenza o altre forme di deterioramento cognitivo. Pertanto, un declino del QI stimato da AMNART, anche prima di qualsiasi diagnosi formale di deterioramento cognitivo, può indicare un insidioso esaurimento della propria riserva cognitiva (Deborah A. Lowe e Steven A. Rogers, 2011). Alcuni ricercatori hanno sostenuto che l'AMNART, non è una misura ugualmente valida per tutte le popolazioni e che dovrebbe essere usata con cautela. In particolare, lo studio di Deborah A. Lowe e Steven A. Rogers (2011), ha esaminato l'utilità della versione americana del National Adult Reading Test (AMNART) come misura dell'intelligenza premorbose per gli anziani. In un campione di 130 anziani, di età compresa tra 56 e 104 anni, l'AMNART è stato confrontato con altri test di intelligenza premorbose. I risultati hanno rivelato che il QI stimato da AMNART era significativamente più alto rispetto ad altre stime premorbose. L'AMNART può quindi sovrastimare l'abilità premorbose rispetto ad altre

misure premorbose, in particolare tra quelli con maggiore deterioramento cognitivo e livelli di istruzione più bassi. Questi risultati suggeriscono che l'AMNART dovrebbe essere usato con cautela tra gli anziani e in combinazione con altre stime della capacità premorbose.

- *Free Cue Selective Reminding Test*

Il Free Cue Selective Reminding Test è ampiamente utilizzato per identificare la demenza molto lieve (E. Grober et al., 2010). Indaga le funzioni della memoria, controlla l'effettiva codifica degli stimoli e valuta l'impatto della facilitazione, attraverso le strategie basate sul suggerimento semantico o sulla rievocazione. Il test è suddiviso in due fasi, una di studio e una di memoria. Nella prima fase, l'esaminatore mostra all'esaminato una serie di stimoli appartenenti a differenti categorie semantiche e viene chiesto ai soggetti di riconoscere ed indicare le figure presentate. Questa fase fornisce la garanzia dell'effettiva codifica degli stimoli. Nella seconda fase, quella mnestica, il soggetto è sottoposto a una serie di trials di rievocazione libera o facilitata dall'esaminatore (Pasquier et al., 2001). Nello studio di E. Grober et al. (2010), sono state proposte tre procedure di punteggio alternative basate sulla rievocazione libera, la rievocazione totale e l'efficienza del segnale. Gli autori hanno confrontato la validità predittiva di queste procedure di punteggio per l'identificazione della demenza prevalente molto lieve, della demenza incidente e per distinguere le demenze AD e non AD. I risultati evidenziano che il ricordo libero era più sensibile alla demenza incidente e prevalente rispetto alle altre due misure. I pazienti con rievocazione libera alterata avevano 15 volte più probabilità di avere una demenza prevalente e il loro rischio di demenza futura era quattro volte superiore rispetto ai pazienti con rievocazione libera intatta. Né la razza né l'istruzione hanno influenzato la previsione, sebbene i pazienti più anziani fossero a maggior rischio di demenza futura. Il ricordo totale era più compromesso nella demenza AD che nelle demenze non AD.

In conclusione, dai risultati si deduce che utilizzando il FCSRT, la rievocazione libera è la misura migliore per rilevare la demenza prevalente e prevedere la demenza futura. La compromissione del ricordo totale supporta la diagnosi di AD piuttosto che di demenza non AD.

Il Free Cue Selective Reminding Test risulta essere in grado di predire la presenza di demenza, distinguendo tra la malattia di Alzheimer e altre patologie con quadri clinici simili.

- *Neuropsychiatric Inventory Questionnaire*

La malattia di Alzheimer, non è caratterizzata solo da danni e sintomi di natura cognitiva, è possibile riscontrare sintomi non cognitivi, riguardanti la sfera psichica e comportamentale. A tal proposito il Neuropsychiatric Inventory Questionnaire è uno strumento clinico per la valutazione dei sintomi comportamentali e psicologici della demenza; si basa su un colloquio con un caregiver primario (De Jonghe et al., 2003). I sintomi neuropsichiatrici accompagnano comunemente il progressivo declino cognitivo e funzionale nella malattia di Alzheimer (AD) e la valutazione di questi sintomi è quindi fondamentale per fornire cure di alta qualità nella pratica clinica. A tal proposito, Cummings et al. (1994) hanno sviluppato il Neuropsychiatric Inventory (NPI) al fine di valutare 12 disturbi comportamentali che si verificano nei pazienti con demenza: deliri, allucinazioni, depressione/disforia, ansia, agitazione/aggressività, euforia/esaltazione, disinibizione, irritabilità/labilità psicoemotiva, apatia/indifferenza, attività motoria aberrante o afinalistica, disturbi del sonno e disturbi dell'appetito e dell'alimentazione. E' stato validato per la popolazione italiana da Binetti et al., 1998. E' un'intervista rivolta alla persona che vive vicino al paziente e possono essere verificate sia interrogando che osservando direttamente il paziente stesso. Ciascun sintomo neuropsichiatrico è esaminato da: una domanda di screening e da ulteriori domande di approfondimento (da proporre solo in caso di risposta alla domanda di screening). Nel caso si rilevano incongruenze tra quanto osservabile e

quanto riportato dal familiare o se le risposte date non risultano valide occorre segnalare la "non applicabilità". Le domande si riferiscono sempre a cambiamenti comparsi in associazione alla demenza e nelle 6 settimane precedenti all'intervista (o nell'ultimo mese e mezzo). Non vanno registrate le caratteristiche premorbose della persona (depressione, ansietà, ecc.) e che non si sono modificate dopo l'esordio della demenza. Per ciascun sintomo neuropsichiatrico si indagano tre aspetti: frequenza; gravità e stress emotivo e psicologico del caregiver.

- Per la valutazione della frequenza delle manifestazioni:

Si chiede di indicare su una scala da 1 a 4 con quale frequenza sono presenti questi problemi:

1. Raramente (meno di una volta alla settimana); 2. Talvolta (circa una volta alla settimana); 3. Frequentemente (diverse volte alla settimana, ma non tutti i giorni); 4. Molto frequentemente (sempre presente).

- Per la valutazione della gravità delle manifestazioni:

Si chiede di indicare, su una scala da 1 a 3, la gravità di questi comportamenti riferendosi al grado di coinvolgimento e di disabilità sperimentato dalla persona affetta da demenza: 1. Lievi (la depressione è disturbante ma può essere controllata con supervisione e rassicurazioni); 2. Moderata (la depressione è disturbante, i sintomi depressivi sono espressi spontaneamente dal paziente e sono difficili da alleviare); 3. Marcata (la depressione è molto disturbante e rappresenta una delle principali cause di sofferenza per il paziente).

- Per la valutazione dello stress emotivo o psicologico del caregiver:

Si chiede, alla fine delle domande di ciascuna sezione, di indicare su una scala da 1 a 5, quale stress o disagio hanno provocato questi comportamenti descritti: 0. Nessuno; 1. Minimo; 2. Lieve; 3. Moderato; 4. Severo; 5. Grave.

Non si hanno punteggi soglia. Il punteggio ottenibile al NPI è 0.144. Più alto è il punteggio, maggiore è la presenza di disturbi neuropsichiatrici e comportamentali presenti nella persona. Questa scala è molto utile e ampiamente utilizzata nella ricerca; tuttavia, la sua amministrazione

richiede tempo per gli operatori sanitari, scoraggiando la sua inclusione nella pratica clinica quotidiana (G. Musa et al., 2017).

Per affrontare questo inconveniente, Kaufer et al. (2000) hanno sviluppato una versione più breve dello strumento: il Neuropsychiatric Inventory Questionnaire (NPI-Q), un altro strumento che è più facile da amministrare sia in ambito clinico che di ricerca. Questo questionario valuta la possibile presenza degli stessi 12 sintomi inclusi nel NPI e fornisce anche un indice per graduare la corrispondente gravità di ciascun sintomo e il rispettivo disagio che provoca sul caregiver (G. Musa et al., 2017).

In particolare, il NPI-Q è progettato per essere un questionario autosomministrato compilato da informatori in riferimento ai pazienti di cui si prendono cura; in alcuni casi è necessario condurre il questionario in parte o interamente come intervista. Ciascuno dei 12 domini contiene una domanda che riflette i sintomi cardinali di quel dominio. Le risposte iniziali a ciascuna domanda del dominio sono "Sì" (presente) o "No" (assente). Se la risposta è "No", l'informatore passa alla domanda successiva. Se "Sì", l'informatore valuta sia la gravità dei sintomi presenti nell'ultimo mese su una scala a 3 punti, sia l'impatto associato delle manifestazioni sintomatiche su di essi (ad es. Caregiver Distress) utilizzando una scala a 5 punti. Il NPI-Q fornisce le valutazioni della gravità e del disagio per ciascun sintomo riportato e i punteggi totali di gravità e distress che riflettono la somma dei punteggi dei singoli domini.

Kaufer et al. (2000) hanno convalidato lo strumento in modo incrociato con il NPI in 60 pazienti con Alzheimer. L'affidabilità del NPI-Q era accettabile. La prevalenza di sintomi analoghi riportati su NPI e NPI-Q differiva in media del 5%; le valutazioni dei sintomi moderati o gravi differivano di meno del 2%.

Il NPI originale includeva 10 domini neuropsichiatrici; altri due, disturbi comportamentali notturni e cambiamenti nell'appetito sono stati aggiunti successivamente. Un'altra recente modifica del NPI originale è l'aggiunta di una Caregiver Distress Scale per valutare l'impatto

psicologico dei sintomi neuropsichiatrici segnalati come presenti. Il NPI-Q include entrambe queste aggiunte. In conclusione, questo strumento fornisce una valutazione breve, affidabile e basata su indicatori dei sintomi neuropsichiatrici e del disagio associato del caregiver che può essere adatta per l'uso nella pratica clinica generale.

CAPITOLO 3: LA RICERCA

3.1 Obiettivi

Il presente studio si pone come obiettivo principale quello di indagare i parametri cognitivi (misure di memoria episodica e semantica) e strumentali (positività a biomarcatori per Alzheimer ottenuti da liquido cerebrospinale e atrofia ippocampale valutata in vivo con risonanza magnetica) sensibili alla malattia d'Alzheimer (AD) come predittori di progressione da declino cognitivo lieve a demenza. Obiettivi specifici della ricerca sono stati, in primo luogo, il confronto tra soggetti sani e soggetti con declino cognitivo lieve, al fine di verificare le differenze relative al profilo cognitivo e ai biomarcatori.

Successivamente, si è cercato di indagare i migliori predittori di conversione da declino cognitivo lieve a demenza di Alzheimer, considerando diversi parametri cognitivi e strumentali.

Infine, sono stati confrontati il punteggio totale al Mini Mental State Examination (MMSE) e tempo di conversione tra pazienti MCI che convertono, stratificati per positività ai 3 parametri strumentali indagati, con lo scopo di controllare alla baseline la presenza di differenze significative.

3.2 Materiali e Metodi

3.2.1 Partecipanti

Il presente studio consiste in un'analisi retrospettiva di dati raccolti dal database dell'Alzheimer Disease Neuroimaging Initiative (ADNI). I dati sono stati raccolti in molteplici centri negli Stati Uniti e il progetto ha ricevuto l'approvazione del comitato etico di ciascuno dei centri. Ogni partecipante ha fornito il proprio consenso informato al momento.¹

I ricercatori coinvolti in questo studio hanno inviato formale domanda di accesso al completo database generato da ADNI, il quale ha approvato l'uso dei dati utilizzati per le analisi qui riportate.² In totale, sono stati selezionati 697 partecipanti dal database ADNI: 508 con declino cognitivo lieve e 189 controlli sani senza declino cognitivo. In particolare, dei 508 soggetti MCI, si avevano dati longitudinali; in tal modo sono stati identificati due gruppi di pazienti: quelli che durante il follow-up convertivano e quelli che non convertivano a demenza.

Criteri di inclusione:

1. Diagnosi clinica di declino cognitivo lieve;
2. Almeno due valutazioni cognitive inclusive di MMSE e di test di memoria episodica e semantica (una di baseline e una per valutare l'evoluzione del declino cognitivo nel tempo);

¹ *Data used in preparation of this article were obtained from the Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (ADNI) database (adni.loni.usc.edu). As such, the investigators within the ADNI contributed to the design and implementation of ADNI and/or provided data but did not participate in analysis or writing of this report. A complete listing of ADNI investigators can be found at: http://adni.loni.usc.edu/wp-content/uploads/how_to_apply/ADNI_Acknowledgement_List.pdf

² Data used in the preparation of this article were obtained from the Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (ADNI) database (adni.loni.usc.edu). The ADNI was launched in 2003 as a public-private partnership, led by Principal Investigator Michael W. Weiner, MD. The primary goal of ADNI has been to test whether serial magnetic resonance imaging (MRI), positron emission tomography (PET), other biological markers, and clinical and neuropsychological assessment can be combined to measure the progression of mild cognitive impairment (MCI) and early Alzheimer's disease (AD). For up-to-date information, see www.adni-info.org.

3. Disponibilità di una immagine di risonanza magnetica strutturale (T1) al baseline per la quantificazione del volume ippocampale;
4. Disponibilità di livelli liquorali di β amiloide ($A\beta$) e tau fosforilata (p-tau).

Il gruppo di pazienti è composto da 206 femmine e 302 maschi con età media di 72 anni (SD=7.41) e scolarità di 16 anni (SD=2.77). Il gruppo di controllo (92 femmine e 97 maschi) [(età media di 73 anni (SD=5.78); scolarità di 16 anni (SD=2.62)] è paragonabile per età e scolarità ai soggetti con AD oltre a soddisfare i sopracitati criteri 2), 3) e 4).

3.2.2 Test neuropsicologici

Per quanto riguarda le misure di memoria episodica, sono stati presi in considerazione i seguenti test cognitivi:

1. Memoria di prosa – rievocazione immediata e differita (10 minuti). E' considerato un test di memoria a lungo termine di materiale verbale. Consiste in un compito di apprendimento anterogrado, ossia di nuove informazioni, del contenuto di un breve racconto letto dall'esaminatore. In particolare, l'esaminatore legge il racconto al paziente e chiede di rievocarlo subito dopo la lettura (rievocazione immediata-RI). Infine, si chiede di rievocare in differita il racconto, dopo un intervallo temporale occupato da attività non interferenti (nello studio dopo 10 minuti). In letteratura, esistono diverse versioni della memoria di prosa e si differenziano in base all'evento principale del racconto e eventi secondari; alla rilettura o meno del racconto dopo la prima lettura; ai tempi di rievocazione e al calcolo del punteggio. La versione più recente è quella di Carlesimo et al. (2002), in cui al soggetto viene chiesto di ricordare la storia subito dopo la presentazione e dopo un intervallo di 20 minuti senza ripetizione.
2. Rey Auditory Verbal Learning Test (RAVLT) – rievocazione immediata (somma delle parole rievocate liberamente in 5 trial di apprendimento) e differita (30 min). Il RAVLT

è una misura della capacità di una persona di codificare, consolidare, memorizzare e recuperare informazioni verbali (Schoenberg et al., 2006). In particolare, questo test misura lo span di memoria immediata e fornisce una valutazione sull'apprendimento. Il test consiste di 5 presentazioni, con rievocazione immediata, di una lista di 15 parole. Successivamente vengono sommate le parole rievocate liberamente nei 5 trial di apprendimento. La ritenzione delle parole in ordine libero, può essere esaminata dopo 30 minuti, dopo ore o dopo giorni (rievoazione differita). L'esaminatore scrive le parole richiamate nell'ordine in cui il soggetto le rievoca. Quando il paziente riferisce di non ricordare più altre parole, l'esaminatore legge la lista con un secondo set di istruzioni: "quando avrò terminato di leggere la lista, voglio che lei mi dica tutte le parole che può ricordare, incluse le parole dette precedentemente". E' un esame di base per la memoria verbale anterograda; al punteggio di rievocazione immediata contribuisce anche la memoria a breve termine.

Mentre, i test cognitivi per le misure di memoria semantica erano i seguenti:

3. Fluenza semantica (categoria animali) – numero totale di risposte corrette, numero di perseverazioni e numero di intrusioni. Il test di Fluenza Verbale, valuta l'ampiezza del magazzino lessicale del paziente, le sue capacità di accesso al lessico e l'organizzazione lessicale (Novelli et al., 1986). Sono disponibili due tipologie di test per la fluenza verbale: test per la fluenza verbale fonemica e test per la fluenza verbale semantica. Il primo consiste nel chiedere al soggetto di dire tutte le parole che gli vengono in mente e che cominciano con una determinata lettera. Nello studio, è stato preso in considerazione il test di fluenza verbale per categorie semantiche (in particolare, categoria animali) che consiste nel chiedere al soggetto di dire tutte le parole che appartengono ad una data categoria. Il soggetto ha a disposizione 1 minuto di tempo per

ogni lettera o categoria. Il punteggio totale è la somma delle parole corrette fornite per ciascuna lettera o categoria.

4. Boston Naming Test (BNT) – numero di risposte corrette spontanee e numero di risposte corrette dopo cue semantico. Il Boston Naming Test è uno strumento di screening introdotto nel 1983 da Edith Kaplan, Harold Goodglass e Sandra Weintraub, che può aiutare a valutare il funzionamento cognitivo. In particolare, indaga l'abilità di ricerca di parole e le funzioni cognitive associate a quel compito. Spesso fa parte di numerosi test che vengono utilizzati per valutare una persona, se c'è preoccupazione che abbia l'Alzheimer o una demenza correlata. Il Boston Naming Test originale consiste di 60 disegni in linea nera, presentati in ordine dal più facile al più difficile, che il candidato deve identificare. L'amministratore del test mostra alla persona una alla volta ciascuna delle immagini e successivamente vengono dati 20 secondi per comunicare cosa rappresenta il disegno. Nel corso degli anni sono state utilizzate diverse versioni del test, alcune passano al disegno successivo dopo 20 secondi, mentre altre consentono alla persona che fornisce il test di offrire specifici indizi verbali in caso di difficoltà nell'identificare il disegno. Il punteggio varia in base alla versione del test che si sta utilizzando, ma in generale, ogni risposta corretta, sia prima che dopo i segnali verbali, viene conteggiata come un punto. Il Boston Naming Test è efficace nell'identificare la cognizione compromessa, in particolare il sintomo dell'afasia nella demenza. Numerosi studi hanno stabilito che le diverse versioni del test sono efficaci nell'identificare le persone con la malattia di Alzheimer e alcune ricerche indicano che il test può identificare le persone che non hanno ancora ricevuto diagnosi di malattia di Alzheimer, ma potrebbero essere nelle primissime fasi della demenza. La difficoltà di nominare e ricercare le parole è comune nel deterioramento cognitivo lieve (MCI) e in particolare nella malattia di Alzheimer (AD) (Dudas et al., 2005).

Inoltre, di ciascun partecipante allo studio, sono stati ottenuti dati relativi al punteggio al Mini Mental State Examination (MMSE), al fine di valutare la severità del quadro cognitivo dei soggetti affetti da declino cognitivo lieve e confrontarlo con quello dei soggetti sani. In generale, il Mini-Mental State Examination, o MMSE (Folstein et al., 1975), è un test neuropsicologico di screening usato nella valutazione globale del funzionamento. Il punteggio totale, è dato dalla somma dei punteggi che il paziente ha ottenuto in ciascun item e può andare da un minimo di 0 (massimo deficit cognitivo) ad un massimo di 30 (nessun deficit cognitivo). Il punteggio soglia in genere è 23-24 e la maggior parte delle persone anziane non affette da demenza ottiene punteggi raramente al di sotto di 24.

Per ogni test (MMSE, test di memoria episodica e test di memoria semantica) si avevano almeno due valutazioni cognitive per ogni partecipante (controlli e pazienti): una di baseline e una per valutare l'evoluzione del declino cognitivo nel tempo.

3.2.3 Biomarcatori AD

Nel presente studio, sono stati indagati oltre i parametri cognitivi, anche i parametri strumentali, sensibili alla malattia di Alzheimer, per verificarne il ruolo di predittori di progressione da declino cognitivo lieve a demenza. I dati sono stati raccolti dal database dell'Alzheimer Disease Neuroimaging Initiative (ADNI) per tutti i partecipanti dello studio. Nello specifico, sono stati presi in considerazione due biomarcatori ricavati dal liquido cerebrospinale (β amiloide e tau fosforilata) e un marcatore di neuroimaging (atrofia ippocampale valutata in vivo con risonanza magnetica), utilizzando i seguenti parametri strumentali:

1. Positività per A β : livello di A β nel liquor ≤ 977 pg/mL (Hansson et al., 2018);
2. Positività per p-tau: rapporto di p-tau/A β ≥ 0.025 (Hansson et al., 2018);

3. Atrofia ippocampale: volume ippocampale inferiore a 2 deviazioni standard sotto la media del volume ippocampale del gruppo di partecipanti anziani senza declino cognitivo.

➤ *Specifiche ed elaborazione della risonanza magnetica:*

Le immagini strutturali di risonanza magnetica sono state preprocessate utilizzando una procedura di voxel-based morphometry standard (Ashburner & Friston, 2000) implementata con SPM12 (Wellcome Centre for Human Neuroimaging, London, UK - <https://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/software/spm12/>) su Matlab R2016b (The Mathworks, Natick, Massachusetts, USA). Le immagini sono state riorientate al piano bi-commissurale e segmentate in mappe di sostanza grigia, sostanza bianca e liquido cerebrospinale. Le mappe di sostanza grigia sono state corrette per inomogeneità di campo magnetico e successivamente normalizzate al template standard ICBM nello spazio Montreal Neurological Institute (MNI). Le mappe di sostanza grigia, infine, sono state trattate con la procedura dello smoothing applicando un Gaussian kernel isotropico di 8mm.

Infine, l'Automated Anatomical Labelling (AAL) atlas 2 (Rolls et al., 2015) è stato utilizzato per selezionare i due ippocampi che sono stati coregistrati all'immagine di sostanza grigia pre processata di un partecipante sano. Il volume in ml di entrambe gli ippocampi è successivamente stato estratto per ogni soggetto utilizzando la funzione "get_totals" di SPM. Infine i volumi dei due ippocampi sono stati sommati per ottenere il volume ippocampale totale.

3.2.4 Analisi statistiche

Tutte le analisi sono state condotte con il software SPSS Statistics Version 25 (IBM, Chicago, IL, USA) e la soglia di significatività usata è stata $p = 0.05$.

E' stato svolto un t-test per campioni indipendenti al fine di confrontare, a baseline, le variabili cognitive e cliniche continue e normalmente distribuite tra i due gruppi (soggetti con declino cognitivo lieve e controlli). La rievocazione immediata e differita nel test Memoria di prosa, la rievocazione immediata e differita nel Rey Auditory Verbal Learning Test (RAVLT); così come il numero di perseverazioni e intrusioni nella Fluenza semantica e il numero di risposte corrette dopo cue semantico nel Boston Naming Test (BNT), sono risultate non normalmente distribuite in entrambi i gruppi (test di Shapiro-Wilk significativo con $p < 0.001$). Di conseguenza, è stato usato un metodo non parametrico (test U di Mann-Whitney), per indagare le differenze tra i due gruppi.

Il test del chi quadro, invece, è stato usato per confrontare le frequenze di genere e la positività ai due biomarcatori per la malattia di Alzheimer ($A\beta$ e p-tau) tra i due gruppi.

Successivamente, il modello di regressione di Cox, è stato utilizzato per predire la conversione da declino cognitivo lieve a demenza nel gruppo dei pazienti, includendo tre blocchi di predittori (*Tabella 3.1*):

Tabella 3.1 Tre blocchi di predittori di conversione da declino cognitivo lieve a demenza di Alzheimer

1) TEST STRUMENTALI	2) TEST DI MEMORIA EPISODICA	3) TEST DI MEMORIA SEMANTICA
<ul style="list-style-type: none"> • Positività alla <u>Aβ</u> • Positività alla <u>p-tau</u> • <u>Atrofia ippocampale</u> 	<ul style="list-style-type: none"> • <u>Memoria di Prosa-</u> Rievocazione immediata • <u>Memoria di Prosa-</u> Rievocazione differita • <u>RAVLT-</u> Rievocazione immediata • <u>RAVLT-</u> Rievocazione differita 	<ul style="list-style-type: none"> • Punteggio totale di risposte corrette alla <u>Fluenza semantica</u> • Numero di perseverazioni alla <u>Fluenza semantica</u> • Numero di intrusioni alla <u>Fluenza semantica</u> • Numero di risposte corrette spontanee nel <u>BNT</u> • Numero di risposte corrette dopo cue semantico nel <u>BNT</u>

Il modello di regressione di Cox serve per predire la conversione nel gruppo dei pazienti, tenendo conto, non solo dei test cognitivi e dei biomarcatori come predittori, ma anche di una variabile temporale. Nello specifico, la variabile temporale utilizzata era il numero di giorni trascorsi tra la valutazione di baseline e la data di conversione a demenza (per i pazienti che convertono) oppure l'ultima valutazione disponibile per i pazienti stabili (quelli che non convertono a demenza).

In aggiunta, il gruppo di soggetti con MCI è stato suddiviso in pazienti che convertono e pazienti che non convertono a demenza. In particolare, il gruppo di soggetti che convertono, è stato ulteriormente diviso sulla base della positività o negatività ai tre parametri strumentali

indagati: positività per A β , positività per p-tau e atrofia ippocampale. In seguito, sono state condotte alcune analisi *post hoc* per confrontare il tempo di conversione e lo stato cognitivo globale (punteggio totale del MMSE) a baseline tra pazienti che convertono, stratificati per positività / negatività ai tre parametri strumentali, al fine di individuare eventuali differenze significative già alla prima osservazione (baseline). Si è proceduto ad una analisi ANCOVA, includendo come covariate gli anni di età e scolarità, al fine di controllare l'influenza di queste variabili sui punteggi, soprattutto per il Mini Mental State Examination.

3.3 Risultati

Le prime analisi statistiche svolte, avevano come obiettivo principale, quello di confrontare le variabili cognitive e strumentali tra il gruppo di soggetti sani e il gruppo di soggetti affetti da declino cognitivo lieve, al fine di verificare se questi avessero realmente un profilo cognitivo e di biomarcatori da MCI.

Come si osserva nella *Tabella 3.2*, i due gruppi (controllo e MCI) sono equiparabili per età, scolarità e proporzioni di genere.

Per quanto riguarda i punteggi al MMSE, i due gruppi differiscono in maniera significativa ($p < 0.05$). Il punteggio medio dei pazienti al MMSE è di 27.80 (SD=1.78); mentre del gruppo di controllo è di 29.10 (SD=1.08). Il gruppo di pazienti, in confronto ai controlli, presenta deficit in tutti i test cognitivi (differenze significative in tutte le misure di memoria episodica e semantica con $p < 0.05$), a parte le intrusioni nel test di Fluenza semantica (categoria animali) ($p = 0.613$). Inoltre, il gruppo di pazienti presenta frequenze significativamente più alte di partecipanti positivi ai biomarcatori liquorali per AD: beta amiloide (A β) e tau fosforilata (p-tau). Nel gruppo di soggetti MCI, 315 soggetti sono positivi al biomarcatore A β e 193 sono negativi; 296 soggetti sono positivi al secondo biomarcatore p-tau e 212 sono negativi allo

stesso. Per quanto riguarda il gruppo di controllo: 65 soggetti sono positivi al biomarcatore A β e 124 sono negativi, mentre per la p-tau 43 soggetti sono positivi e 146 sono negativi.

Tabella 3.2. Caratteristiche dei gruppi (media \pm deviazione standard)

Variabile	Pazienti (n = 508)	Controlli (n = 189)	t	p
Età	72.31 \pm 7.41	73.07 \pm 5.78	1.43	0.155
Scolarità	16.21 \pm 2.77	16.43 \pm 2.62	0.97	0.333
Genere (F/M) ^a	206/302	92/97	3.71 ^b	0.054
MMSE	27.80 \pm 1.78	29.10 \pm 1.08	11.71	<0.001
MP – immediata ^c	9.00 (6)	14.00 (4)	-15.69 ^d	<0.001
MP – differita ^c	7.00 (6)	13.00 (3)	-18.29 ^d	<0.001
RAVLT – immediata ^c	33.00 (14)	45.00 (14)	-11.33 ^d	<0.001
RAVLT – differita ^c	3.00 (6)	8.00 (6)	-10.93 ^d	<0.001
FSa – totale	17.48 \pm 5.04	21.33 \pm 5.50	8.74	<0.001
FSa – perseverazioni ^c	0.00 (2)	0.00 (1)	2.91 ^d	0.004
FSa – intrusioni ^c	0.00 (0)	0.00 (0)	0.51 ^d	0.613
BNT – spontanee	26.23 \pm 3.53	28.19 \pm 2.17	8.82	<0.001
BNT – cue semantico ^c	1.00 (3)	0.00 (1)	5.55 ^d	<0.001
A β (+/-) ^a	315/193	65/124	43.37 ^b	<0.001
p-tau (+/-) ^a	296/212	43/146	69.56 ^b	<0.001

^a Frequenze

^b Chi quadro

^c Mediana (intervallo interquartile)

^d U di Mann-Whitney (standardizzato)

A β : beta amiloide, BNT: Boston Naming Test, p-tau: tau fosforilata, FSa: Fluenza semantica – animali, MMSE: Mini Mental State Examination, MP: Memoria di Prosa, RAVLT: Rey Auditory Verbal Learning Test

In seguito, il modello di regressione di Cox è stato utilizzato per valutare diversi markers di conversione a AD, al fine di stabilire il valore di significatività di ciascuno nella predizione della progressione della malattia. Tra i pazienti, 193 su 508 convertono a demenza durante

l'osservazione. Il tempo medio di conversione dall'osservazione alla baseline è di 934.05 ± 734.95 giorni (min = 168 giorni; max = 3287 giorni; mediana = 735 giorni; intervallo interquartile = 789 giorni)

La bontà (fit) del modello globale per la predizione della conversione da declino cognitivo lieve a demenza, risulta adeguata ($\chi^2 = 221.07$, gdl = 12, $p = 1.42 \times 10^{-40}$; -2 Log Likelihood = 1917.92). I risultati, osservabili in *Tabella 3.3*, evidenziano che due test strumentali risultano essere predittivi di conversione a demenza nel primo blocco: positività a p-tau e atrofia ippocampale. Mentre, la proteina β -amiloide ($A\beta$ -42) non risulta predittore di conversione affidabile ($p=0.370$). Inoltre, l'aggiunta del blocco di predittori di memoria episodica aumenta significativamente la bontà del modello ($\chi^2 = 92.612$, gdl = 4, $p = 3.67 \times 10^{-19}$).

In particolare, l'apprendimento di parole al RAVLT (rievocazione immediata totale nei 5 trial di apprendimento) e la rievocazione differita della Memoria di Prosa, emergono come predittori significativi di conversione. L'aggiunta dei test di memoria semantica, invece, non risulta dare un contributo significativo al modello di predizione ($\chi^2 = 5.672$, gdl = 5, $p = 0.339$).

Tabella 3.3 Risultati della regressione di Cox per la predizione della conversione da declino cognitivo lieve a demenza ($n = 508$).

Variabile	HR	IC 95%	p
<i>Blocco 1: Test strumentali</i>			
<i>Positività a $A\beta$</i>	1.302	0.732-2.315	0.370
<i>Positività a p-tau</i>	3.347	1.893-5.918	<0.001
<i>Atrofia ippocampale</i>	1.967	1.210-3.198	0.006
<i>Blocco 2: Test di memoria episodica</i>			
<i>MP – immediata</i>	1.035	0.971-1.103	0.285
<i>MP – differita</i>	0.868	0.813-0.926	<0.001
<i>RAVLT – immediata</i>	0.956	0.932-0.981	0.001
<i>RAVLT – differita</i>	0.967	0.897-1.041	0.368

Blocco 3: Test di memoria semantica

<i>FSa – totale</i>	0.967	0.932-1.003	0.069
<i>FSa – perseverazioni</i>	1.057	0.964-1.159	0.242
<i>FSa – intrusioni</i>	1.046	0.747-1.465	0.792
<i>BNT – spontanee</i>	0.994	0.952-1.038	0.793
<i>BNT – cue semantico</i>	0.994	0.994-1.083	0.897

A β : beta amiloide, BNT: Boston Naming Test, p-tau: tau fosforilata, FSa: Fluenza semantica – animali, HR: Hazard ratio, IC: Intervallo di confidenza, MMSE: Mini Mental State Examination, MP: Memoria di Prosa, RAVLT: Rey Auditory Verbal Learning Test

I risultati relativi alle analisi *post hoc* mostrano che, stratificando il gruppo di pazienti che convertono sulla base dei 3 biomarcatori (positività per A β , positività per p-tau e atrofia ippocampale), non ci sono differenze statisticamente significative di funzionamento cognitivo globale alla baseline (punteggio MMSE) e tempo di conversione tra coloro che risultano positivi o negativi ai diversi biomarcatori. Per quanto riguarda l'effetto delle due variabili (anni di scolarità e età); è stato visto che solo gli anni di scolarità emergono come predittori statisticamente significativi in tutti i modelli di ANCOVA creati per indagare la performance cognitiva globale (punteggio MMSE), mentre non risultano predittori significativi se si considera il tempo di conversione (*Tabella 3.4*). Prendendo in esame la differenza del tempo di conversione e del funzionamento cognitivo globale alla baseline (punteggio MMSE) tra positivi e negativi e controllando per l'età, quest'ultima non ha un impatto su nessuna delle due variabili.

Tabella 3.4 Risultati dell'ANCOVA per investigare differenze nei tempi di conversione e stato cognitivo di baseline nei pazienti che convertono da declino cognitivo lieve a demenza ($n = 193$).

Modello	MMSE (punteggio totale)		Tempo di conversione (giorni)	
	F	<i>p</i>	F	<i>p</i>
<i>Positività a Aβ (28-/165+)</i>	3.190	0.076	3.223	0.074
<i>Età</i>	1.844	0.176	0.031	0.860
<i>Scolarità</i>	7.047	0.009	0.603	0.438
<i>Positività a p-tau (30-/163+)</i>	3.429	0.066	2.771	0.098
<i>Età</i>	1.638	0.202	0.070	0.792
<i>Scolarità</i>	7.481	0.007	0.490	0.485
<i>Atrofia ippocampale (171-/22+)</i>	2.856	0.093	1.151	0.285
<i>Età</i>	0.784	0.377	0.254	0.615
<i>Scolarità</i>	7.095	0.008	0.553	0.458

A β : beta amiloide, p-tau: tau fosforilata, MMSE: Mini Mental State Examination

3.4 Discussione

Diversi studi longitudinali indicano che soggetti con diagnosi di Mild Cognitive Impairment, presentano un elevato rischio di conversione in demenza, specialmente in demenza di tipo AD (Perri et al., 2001; Morris et al., 2001). La stima del rischio varia a seconda degli studi che indicano percentuali diverse di pazienti affetti da MCI che sviluppano demenza e che vanno dal 10 al 15% all'anno, per salire a percentuali variabili dal 20 al 50% in 2-3 anni (Black et al., 1999). Pertanto, gli sforzi dei ricercatori e dei clinici sono tesi a individuare segni clinici e

marcatori specifici in cui il declino cognitivo dovrebbe evolvere. Con il presente studio retrospettivo, sono stati indagati per la prima volta parametri cognitivi (misure di memoria episodica e semantica) e strumentali (positività dei biomarcatori liquorali e di imaging per AD) come possibili predittori di progressione da MCI a demenza.

Rispetto ai controlli sani, i soggetti con MCI presentavano performance significativamente deficitaria in tutte le misure cognitive, a parte il numero di intrusioni nel test di fluenza semantica. Infatti, anche il punteggio MMSE medio del gruppo MCI è significativamente inferiore a quello appartenente al gruppo di soggetti sani. I pazienti inclusi in questo studio, quindi, sembrano avere un profilo simile a quello di campioni osservati in altri studi, che hanno identificato soggetti con MCI con un punteggio MMSE simile, (Dickerson et al., 2013; Giraldo et al., 2021). Giraldo et al., (2021), miravano a valutare sei punteggi compositi per quantificare il danno dominio-specifico e successivamente a caratterizzare l'eterogeneità dei pazienti a rischio di sviluppare la demenza di Alzheimer. Per quanto riguarda il confronto di variabili strumentali, il gruppo di soggetti MCI presenta frequenze significativamente più alte di partecipanti positivi ai biomarcatori liquorali, rispetto al gruppo di controllo.

L'utilizzo di dati longitudinali, ha permesso di individuare, tra i pazienti, quelli che convertivano o meno. In particolare, 193 su 508 partecipanti convertono a demenza durante l'osservazione, in media 934.05 ± 734.95 giorni dall'osservazione di baseline.

La seconda fase dello studio ha avuto lo scopo di predire la conversione da declino cognitivo lieve a demenza usando un modello di regressione di Cox, la bontà del quale è risultata adeguata. In particolare, il nostro studio ha dimostrato che la conversione a demenza è condizionata solo dalla p-tau e dall'atrofia ippocampale ma non dal dosaggio della beta amiloide, considerato un marker fondamentale per AD. La proteina β -amiloide, è meno associata alla neurodegenerazione rispetto alla p-tau, per cui avere più alto livello di tau,

aumenta la probabilità che questi pazienti declinino prima. Un recente studio di Iaccarino et al. (2018), infatti, ha indagato in vivo la relazione tra la distribuzione di proteina β -amiloide e p-tau e l'associazione tra i livelli delle due proteine e la presenza di neurodegenerazione in un campione di 30 pazienti ad uno stadio di AD lieve, risultati positivi alla tomografia ad emissione di positroni (Amy-PET) e 12 soggetti sani negativi alla Amy-PET. I partecipanti sono stati sottoposti inoltre a risonanza magnetica cerebrale (MRI) ed esame PET con tracciante per valutare l'accumulo cerebrale di p-tau. Dai risultati di questo studio è emerso che l'accumulo di p-tau è associato a neurodegenerazione nelle regioni occipitali e che tale relazione sembra non essere mediata dal carico di proteina β -amiloide. La distribuzione della proteina β -amiloide invece è apparsa più omogenea, con maggior interessamento delle aree corticali associative. Secondo gli autori, questo risultato suggerisce che interventi terapeutici rivolti alla limitazione della diffusione di p-tau, potrebbero influire in modo positivo riducendo l'evoluzione dell'atrofia cerebrale e, di conseguenza del declino cognitivo.

In uno studio precedente Dickerson et al. (2013) si sono posti l'obiettivo di indagare i predittori di conversione da MCI a AD, tuttavia non includendo test cognitivi. In particolare, hanno confrontato l'utilità dell'analisi liquorale e degli indici MRI (volume ippocampale e riduzione dello spessore corticale) nella predizione di conversione a Malattia di Alzheimer, studiando 154 pazienti con MCI. In linea con i risultati dello studio, la misurazione della proteina p-tau nel liquor rispetto a quella della β -amiloide, si rivelava un biomarker migliore nel predire la conversione a AD. Inoltre, in questo studio la progressione che avveniva in un anno era meglio predetta dai markers di neurodegenerazione riscontrabili con l'MRI ma non dalla presenza di amiloide. Il risultato opposto, invece, è stato osservato nei pazienti in cui la progressione di malattia avveniva dopo i 3 anni. Gli autori, in aggiunta, hanno riscontrato che la riduzione dello spessore corticale si rivelava un biomarker migliore dell'atrofia ippocampale nel predire la conversione a AD.

Quest'ultimo parametro, tuttavia, sembra essere un buon predittore di conversione se utilizzato con altri biomarker: pazienti con MCI che svilupperanno demenza hanno volume ippocampale minore alla RM, più alti livelli di proteina tau nel liquor e deficit metabolici (misurati con la PET) rispetto ai pazienti con MCI che non progrediranno (Frisoni et al., 2004).

Per quanto riguarda il rapporto p-tau/A β , indagato nel nostro studio, i dati in letteratura dimostrano che sia il rapporto t-Tau/A β 1-42, sia il rapporto p-Tau/A β 1-42 sono i più sensibili predittori di AD (Shaw et al., 2009).

La presente ricerca, ha indagato oltre ai parametri strumentali, anche quelli cognitivi (misure di memoria episodica e semantica) come predittori di progressione da declino cognitivo lieve a demenza. In particolare, l'aggiunta dei test di memoria episodica come l'apprendimento di parole (RAVLT- rievocazione immediata nei 5 trial) e la rievocazione differita della Memoria di Prosa, ha portato ad un aumento significativo della bontà del modello.

Quindi nel nostro modello le risorse cognitive per ricordare parole non semanticamente correlate tra loro e la rievocazione differita di informazioni episodiche ma semanticamente organizzate in una storia sembrano essere una misura affidabile di progressione di malattia.

Una possibile spiegazione di questo risultato è che l'apprendimento di un breve brano può risultare più facile dell'apprendimento di una lista di parole per i pazienti e, di conseguenza, un deficit di performance nei pazienti che convertiranno potrebbe essere evidente solo nel compito mnestico che richiede un carico cognitivo maggiore. La rievocazione differita di una lista di parole, invece, è un compito nel quale i pazienti possono mostrare deficit evidenti nelle fasi iniziali della malattia e, per questo motivo, potrebbe essere meno sensibile ad un declino cognitivo in una fase successiva. La rievocazione differita di una storia, invece, risulterebbe più facile per i pazienti perché supportata dall'organizzazione semantica del compito e, quindi, potrebbe costituire una misura utile nell'individuare pazienti che progrediranno a demenza.

Belleville et al. (2017), hanno pubblicato una meta-analisi su 28 ricerche longitudinali, per determinare se i test neuropsicologici attualmente disponibili fossero in grado di predire la conversione da MCI a demenza di Alzheimer. Tra tutti i test presi in considerazione, i test di memoria episodica verbale, sia di prosa sia di liste di parole (RAVLT), si sono dimostrati i più predittivi di conversione a demenza, mostrando un'accuratezza a distanza di circa 3 anni uguale o maggiore al 90%.

I risultati del presente studio, mostrano che l'aggiunta dei test di memoria semantica, invece, non risulta dare un contributo significativo al modello di predizione. In letteratura emergono risultati contrastanti poiché oltre ai deficit della memoria episodica, anche i disturbi della memoria semantica sono spesso presenti nell'aMCI e predittivi di conversione da MCI a demenza (Venneri et al., 2011; Vita et al., 2014). I deficit di memoria episodica in pazienti con MCI coinvolgono le strutture del lobo temporale mesiale (in particolare la corteccia entorinale e l'ippocampo). La corteccia entorinale, precocemente compromessa in pazienti con MCI amnesico (aMCI), è una zona di convergenza di informazioni proveniente da afferenze sensoriali diverse e potrebbe quindi giocare un ruolo importante nella formazione e nel recupero anche delle rappresentazioni semantiche. Hodges e Patterson (1995) hanno però fatto notare che un disturbo della memoria semantica è presente in molti ma non in tutti i pazienti con forme iniziali di AD. Questo suggerirebbe che un danno alla corteccia entorinale non basta a produrre un deficit significativo della memoria semantica, che diventerebbe evidente soltanto quando la patologia si estende dalla formazione ippocampale. Disturbi semantico-lessicali, pur essendo presenti fin dallo stadio dell'aMCI, diventano molto più evidenti quando la patologia degenerativa si estende dalla faccia mesiale alla convessità del lobo temporale.

La non significatività, in termini predittivi, dei test di memoria semantica può essere attribuita al fatto che, il deficit di memoria episodica è una delle caratteristiche principali sia della malattia

di Alzheimer che del decadimento cognitivo lieve (Sexton et al., 2010), per cui in un modello che considera diversi predittori, la misura che meglio predice la conversione è quella episodica. Inoltre, i parametri strumentali già da soli risultano molto significativi, spiegando maggiormente il modello di predizione. L'ipotesi che ne consegue è che includendo nel modello solo parametri cognitivi, le misure semantiche potrebbero risultare statisticamente significative. A supporto di questa ipotesi, il test di fluenza semantica, nel modello utilizzato, ha un p-value vicino alla significatività ($p=0.069$). Belleville et al., nel 2017, hanno pubblicato una meta-analisi per determinare quali test neuropsicologici fossero in grado di predire la conversione da MCI a demenza di Alzheimer. La combinazione della memoria episodica (test di prosa e RAVLT) e della fluenza per categorie semantiche, ha raggiunto un'eccellente sensibilità (0.84) e una specificità molto buona (0.79). In particolare, i compiti di fluenza semantica hanno prodotto un'eccellente sensibilità (0.842) per lunghi follow-up (da 31 a 36 mesi), scarsa (0.540) per brevi follow-up (da 12 a 24 mesi). Questo perché, studi con follow-up molto brevi, potrebbero aumentare la probabilità di falsi negativi, in quanto non concedono tempo sufficiente per individuare se i soggetti progrediscono fino a soddisfare i criteri di demenza. La sensibilità è qui riferita alla capacità del test di identificare pazienti MCI che in seguito progrediranno verso la demenza. La specificità, invece, si riferisce alla capacità del test di identificare quei pazienti che rimarranno stabili. Un test ideale dovrebbe avere il 100% di sensibilità e specificità, ciò si tradurrebbe in una perfetta accuratezza predittiva. A tal proposito, Grande et al. (2018), hanno dimostrato che quando al Free and Cued Selective Reminding Test (test adattato ad indagare il deficit di memoria episodica e in grado di predire la conversione da MCI a demenza di AD), si associa il test di fluenza semantica, viene ampiamente migliorato il valore di specificità fino al raggiungimento del 100%.

Questi studi supportano l'ipotesi secondo cui, includendo nel modello solo parametri cognitivi, le misure semantiche raggiungerebbero la significatività e spiegano di conseguenza, la non significatività delle stesse nel modello utilizzato.

Nell'ultima parte della ricerca, ci si è soffermati sul gruppo di soggetti che convertono. Quest'ultimo, è stato ulteriormente diviso sulla base della positività o negatività ai tre parametri strumentali indagati: positività per A β , positività per p-tau e atrofia ippocampale. Le analisi *post hoc*, svolte per confrontare il tempo di conversione e lo stato cognitivo globale (punteggio totale del MMSE) a baseline, hanno evidenziato che non ci sono differenze statisticamente significative per queste due variabili tra coloro che risultano positivi/negativi ai diversi biomarcatori. L'ipotesi principale era che pazienti positivi ai biomarcatori, almeno p-tau e atrofia ippocampale, avrebbero mostrato un profilo cognitivo globale maggiormente compromesso e un tempo di conversione più corto dei pazienti negativi. Questo risultato potrebbe essere dovuto al numero contenuto dei pazienti convertiti a demenza e di quelli negativi per A β (28-/165+) e p-tau (30-/163+) e positivi per atrofia ippocampale (171-/22+).

Per quanto riguarda l'effetto delle variabili demografiche (anni di scolarità e età), è stato visto che solo gli anni di scolarità emergono come predittori statisticamente significativi in tutti i modelli di ANCOVA creati per indagare la performance cognitiva globale (punteggio MMSE), mentre non risultano predittori significativi se si considera il tempo di conversione. Questo risultato riconduce al concetto di riserva cognitiva. In generale, la riserva cognitiva è l'abilità mentale di un individuo nel resistere e recuperare le proprie capacità in seguito ad un danno cerebrale (Gehres et al., 2016). Essa è sviluppata da fattori quali l'istruzione, l'occupazione e le attività del tempo libero ed è stato dimostrato che agisce da fattore protettivo contro il declino cognitivo (Scarmeas et al., 2003). Dunque, pazienti con un più elevato livello di istruzione, presentano una riserva cognitiva maggiore rispetto ai pazienti con livello di istruzione più basso,

riescono a compensare i deficit cognitivi dovuti a malattie a carico del sistema nervoso con conseguente posticipo dell'esordio clinico dei sintomi (Stern et al., 2002).

Tra i punti di forza della ricerca è da annoverare l'utilizzo di dati longitudinali, in quanto ha permesso di osservare i cambiamenti nel tempo e di individuare se i soggetti con declino cognitivo lieve sarebbero progrediti allo stadio di demenza. Un altro punto di forza dello studio è la numerosità campionaria: l'elevato numero di partecipanti garantisce l'attendibilità e la bontà dei risultati. Tuttavia, il campione ridotto dei soggetti MCI convertiti a demenza, suddivisi in base alla positività o negatività ai diversi biomarcatori, potrebbe aver influito sui risultati delle analisi del tempo di conversione e dello stato cognitivo globale (punteggio totale del MMSE) a baseline.

Applicando i dati al contesto clinico, si può affermare che la presente tesi può fornire indicazioni di natura teorico-pratica. Infatti, sono stati presi in considerazione non solo parametri cognitivi, ma anche biomarcatori per AD che sono in fase di studio per applicazioni in ambito clinico, in modo da avvalersi di tutti gli strumenti a disposizione per individuare, in una fase precoce, i soggetti a rischio di sviluppare la demenza dovuta a malattia di Alzheimer e per fornire trattamenti adeguati che rallentino il declino neurocognitivo.

La ricerca sui biomarker per la malattia di Alzheimer è un campo in rapido movimento e il loro uso nella pratica clinica quotidiana, ha generato anche dibattiti. Dubois et al. (2021), ad esempio, sostengono che individui cognitivamente integri possono risultare positivi a diversi biomarcatori, sia di patologia amiloide sia p-tau, ma non sviluppare manifestazioni cliniche nel corso della loro vita. Inoltre, un modello positivo di biomarcatori per AD può essere osservato in altre malattie neurologiche in cui la patologia AD è presente come comorbidità. Gli autori raccomandano che la diagnosi di AD sia limitata a persone che hanno biomarcatori positivi insieme a specifici fenotipi della malattia di Alzheimer; mentre individui cognitivamente integri

con biomarcatori positivi dovrebbero essere considerati solo a rischio di progressione verso AD.

I biomarcatori sono attualmente in fase di studio e si sono resi importanti per la diagnosi di AD anche nelle fasi di pre demenza (preD).

Ne consegue che, la classificazione del rischio per un singolo individuo di progressione da una condizione di MCI a demenza può essere migliorata basandosi su biomarcatori liquorali in aggiunta a esami cognitivi, clinici e di imaging raccomandati nella pratica routinaria (Handels et al., 2017). I risultati della presente ricerca supportano questa linea di pensiero e dimostrano l'alta capacità predittiva dei parametri cognitivi, in particolare delle misure di memoria episodica, in combinazione con la positività a biomarcatori per Alzheimer ottenuti da liquido cerebrospinale e all'atrofia ippocampale valutata in vivo con risonanza magnetica.

In conclusione, al fine di fornire trattamenti specifici in grado di interrompere, o almeno rallentare il processo neuropatologico di base, è fondamentale identificare i biomarcatori (clinici, neuropsicologici e biologici) di progressione del MCI. Tuttavia, al fine di ottimizzare tali trattamenti e renderli mirati per una specifica patologia, è importante anche porsi come obiettivo di ricerca, quello di descrivere in modo sempre più accurato le basi biologiche delle malattie neurodegenerative. Nelson et al. (2019), infatti introducono una manifestazione clinica riconosciuta di recente, fenotipicamente simile alla malattia di Alzheimer, chiamata Limbic-predominant Age-related TDP-43 Encephalopathy e identificata con l'acronimo "LATE". Colpisce la popolazione ultra ottantenne e la causa principale sembra essere l'accumulo della proteina TDP-43 nel cervello.

3.5 Conclusioni

Gli sforzi dei ricercatori e dei clinici sono tesi a individuare i soggetti a maggiore rischio di conversione dal MCI alla demenza di Alzheimer. In generale, la diagnosi di Mild Cognitive

Impairment e la predittività di conversione a AD assumono un ruolo fondamentale nell'impostazione dell'iter terapeutico del paziente perché permettono di ottimizzare il trattamento per lo specifico paziente, migliorando la qualità di vita e il tempo di vita attiva.

Il presente studio sottolinea e supporta l'importanza del ruolo dei biomarcatori di AD, nello specifico parametri strumentali in associazione ai parametri cognitivi, nel predire la conversione verso la demenza di Alzheimer dei pazienti con lieve compromissione delle funzioni cognitive, ovvero individui con rischio maggiore di sviluppare malattia di Alzheimer. Le persone che si trovano nella condizione di lieve compromissione delle funzioni cognitive per il 50% rimangono tali o regrediscono alla piena normalità. La rimanente metà, progredisce ad una forma di demenza nell'arco di 3-5 anni dalla diagnosi di MCI e tra tutte, la demenza di Alzheimer è la più frequente. A tal proposito dunque, è importante stabilire quali siano i marcatori più sensibili e specifici per predire la conversione del lieve declino cognitivo in malattia di Alzheimer.

Nel gruppo di pazienti con MCI è stato possibile individuare i parametri che meglio predicono la conversione da declino cognitivo lieve a demenza. La bontà del modello globale (costituito da test strumentali, test di memoria episodica e test di memoria semantica) per la predizione della conversione, risulta adeguata. Tuttavia, prendendo in considerazione i singoli blocchi di predittori, emergono delle differenze. In particolare, i test strumentali che risultano maggiormente predittivi sono: la positività a p-tau e l'atrofia ippocampale. Per cui, elevati livelli di p-tau e presenza di atrofia ippocampale valutata in vivo con risonanza magnetica, aumentano la probabilità che i pazienti con declino cognitivo lieve convertano a demenza. Per quanto riguarda i parametri cognitivi, l'aggiunta del blocco di predittori di memoria episodica, rispetto ai test di memoria semantica, aumenta significativamente la bontà del modello. Nello specifico, tra le misure di memoria episodica, l'apprendimento di parole al RAVLT

(rievocazione immediata totale nei 5 trial di apprendimento) e la rievocazione differita della Memoria di Prosa, emergono come predittori significativi di conversione.

Inoltre, stratificando il gruppo di pazienti che convertono sulla base dei tre biomarcatori (positività a A β , p-tau e atrofia ippocampale), si è visto che non si trovano differenze significative di funzionamento cognitivo globale alla baseline e tempo di conversione tra coloro che risultano positivi o negativi ai diversi biomarcatori. Per quanto riguarda l'effetto delle due variabili demografiche (anni di scolarità e età); è stato visto che solo gli anni di scolarità emergono come predittori statisticamente significativi in tutti i modelli di ANCOVA creati per indagare la performance cognitiva globale (punteggio MMSE), mentre non risultano predittori significativi se si considera il tempo di conversione.

E' auspicabile la prosecuzione di studi che integrino i vari tipi di biomarker (liquorali, di imaging morfologico e funzionale) predittivi di conversione e ulteriori test neuropsicologici (non solo misure di memoria episodica e semantica) sensibili ai deficit cognitivi che caratterizzano i soggetti MCI destinati ad evolvere a demenza.³

³ Data collection and sharing for this project was funded by the Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (ADNI) (National Institutes of Health Grant U01 AG024904) and DOD ADNI (Department of Defense award number W81XWH-12-2-0012). ADNI is funded by the National Institute on Aging, the National Institute of Biomedical Imaging and Bioengineering, and through generous contributions from the following: AbbVie, Alzheimer's Association; Alzheimer's Drug Discovery Foundation; Araclon Biotech; BioClinica, Inc.; Biogen; Bristol-Myers Squibb Company; CereSpir, Inc.; Cogstate; Eisai Inc.; Elan Pharmaceuticals, Inc.; Eli Lilly and Company; EuroImmun; F. Hoffmann-La Roche Ltd and its affiliated company Genentech, Inc.; Fujirebio; GE Healthcare; IXICO Ltd.; Janssen Alzheimer Immunotherapy Research & Development, LLC.; Johnson & Johnson Pharmaceutical Research & Development LLC.; Lumosity; Lundbeck; Merck & Co., Inc.; Meso Scale Diagnostics, LLC.; NeuroRx Research; Neurotrack Technologies; Novartis Pharmaceuticals Corporation; Pfizer Inc.; Piramal Imaging; Servier; Takeda Pharmaceutical Company; and Transition Therapeutics. The Canadian Institutes of Health Research is providing funds to support ADNI clinical sites in Canada. Private sector contributions are facilitated by the Foundation for the National Institutes of Health (www.fnih.org). The grantee organization is the Northern California Institute for Research and Education, and the study is coordinated by the Alzheimer's Therapeutic Research Institute at the University of Southern California. ADNI data are disseminated by the Laboratory for Neuro Imaging at the University of Southern California.

Bibliografía

Amieva, H., Lafont, S., Auriacombe, S., Rainville, C., Orgogozo, J. M., Dartigues, J. F., & Fabrigoule, C. (1998). Analysis of error types in the Trail Making Test evidences an inhibitory deficit in dementia of the Alzheimer type. *Journal of clinical and experimental neuropsychology*, 20(2), 280-285.

Arboleda-Velasquez, J. F., Lopera, F., O'Hare, M., Delgado-Tirado, S., Marino, C., Chmielewska, N., ... & Quiroz, Y. T. (2019). Resistance to autosomal dominant Alzheimer's disease in an APOE3 Christchurch homozygote: a case report. *Nature medicine*, 25(11), 1680-1683.

Artero, S., Petersen, R., Touchon, J., & Ritchie, K. (2006). Revised criteria for mild cognitive impairment: validation within a longitudinal population study. *Dementia and geriatric cognitive disorders*, 22(5-6), 465-470.

Ashburner, J., & Friston, K. J. (2000). Voxel-based morphometry—the methods. *Neuroimage*, 11(6), 805-821.

Balthazar, M. L. F., Cendes, F., & Damasceno, B. P. (2008). Semantic error patterns on the Boston Naming Test in normal aging, amnesic mild cognitive impairment, and mild Alzheimer's disease: is there semantic disruption?. *Neuropsychology*, 22(6), 703.

Belleville, S., Fouquet, C., Hudon, C., Zomahoun, H. T. V., & Croteau, J. (2017). Neuropsychological measures that predict progression from mild cognitive impairment to Alzheimer's type dementia in older adults: a systematic review and meta-analysis. *Neuropsychology review*, 27(4), 328-353.

Bennett, D. A., Wilson, R. S., Schneider, J. A., Evans, D. A., Beckett, L. A., Aggarwal, N. T., ... & Bach, J. (2002). Natural history of mild cognitive impairment in older persons. *Neurology*, 59(2), 106-119.

Bertram, L., Lill, C. M., & Tanzi, R. E. (2010). The genetics of Alzheimer disease: back to the future. *Neuron*, 68(2), 270-281.

Bian, H., Van Swieten, J. C., Leight, S., Massimo, L., Wood, E., Forman, M., ... & Grossman, M. (2008). CSF biomarkers in frontotemporal lobar degeneration with known pathology. *Neurology*, 70(19 Part 2), 1827-1835.

- Bianchetti et al., 2003, *Non so cosa avrei fatto senza di te*, Modena, 29-33.
- Bianchetti et al., 2003, *Non so cosa avrei fatto senza di te*, Modena, 40-46.
- Bianchetti et al., 2003, *Non so cosa avrei fatto senza di te*, Modena, 53-57.
- Black, S. E. (1999). Can SPECT predict the future for mild cognitive impairment?. *Canadian journal of neurological sciences*, 26(1), 4-6.
- Bleich, S., Römer, K., Wiltfang, J., & Kornhuber, J. (2003). Glutamate and the glutamate receptor system: a target for drug action. *International journal of geriatric psychiatry*, 18(S1), S33-S40.
- Bolognani, S. A. P., Miranda, M. C., Martins, M., Rzezak, P., Bueno, O. F. A., Camargo, C. H. P. D., & Pompeia, S. (2015). Development of alternative versions of the Logical Memory subtest of the WMS-R for use in Brazil. *Dementia & neuropsychologia*, 9, 136-148.
- Botha, H., Mantyh, W. G., Graff-Radford, J., Machulda, M. M., Przybelski, S. A., Wiste, H. J., ... & Jones, D. T. (2018). Tau-negative amnestic dementia masquerading as Alzheimer disease dementia. *Neurology*, 90(11), 940-946.
- Bowie, C. R., & Harvey, P. D. (2006). Administration and interpretation of the Trail Making Test. *Nature protocols*, 1(5), 2277-2281.
- Bozoki, A., Giordani, B., Heidebrink, J. L., Berent, S., & Foster, N. L. (2001). Mild cognitive impairments predict dementia in nondemented elderly patients with memory loss. *Archives of neurology*, 58(3), 411-416.
- Braak, H., & Braak, E. (1991). Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta neuropathologica*, 82(4), 239-259.
- Bracco, L., Gallato, R., Grigoletto, F., Lippi, A., Lepore, V., Bino, G., ... & Amaducci, L. (1994). Factors affecting course and survival in Alzheimer's disease: a 9-year longitudinal study. *Archives of Neurology*, 51(12), 68-89.
- Bruscoli, M., & Lovestone, S. (2004). Is MCI really just early dementia? A systematic review of conversion studies. *International psychogeriatrics*, 16(2), 48-64.

Buchhave, P., Minthon, L., Zetterberg, H., Wallin, Å. K., Blennow, K., & Hansson, O. (2012). Cerebrospinal fluid levels of β -amyloid 1-42, but not of tau, are fully changed already 5 to 10 years before the onset of Alzheimer dementia. *Archives of general psychiatry*, 69(1), 98-106.

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.

Camacho, V., Gómez-Grande, A., Sopena, P., García-Solís, D., Río, M. G., Lorenzo, C., ... & Arbizu, J. (2018). Amyloid PET in neurodegenerative diseases with dementia. *Revista Española de Medicina Nuclear e Imagen Molecular (English Edition)*, 37(6), 397-406.

Carlesimo, G. A., Buccione, I., Fadda, L., Graceffa, A., Mauri, M., Lorusso, S., ... & Caltagirone, C. (2002). Standardizzazione di due test di memoria per uso clinico: Breve Racconto e Figura di Rey. *Nuova rivista di neurologia*, 12(1), 1-13.

Chapman, K. R., Bing-Canar, H., Alosco, M. L., Steinberg, E. G., Martin, B., Chaisson, C., ... & Stern, R. A. (2016). Mini Mental State Examination and Logical Memory scores for entry into Alzheimer's disease trials. *Alzheimer's research & therapy*, 8(1), 1-11.

Cui, Y., Liu, B., Luo, S., Zhen, X., Fan, M., Liu, T., ... & Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. (2011). Identification of conversion from mild cognitive impairment to Alzheimer's disease using multivariate predictors. *PloS one*, 6(7), e21896.

Cummings, J. L., Mega, M., Gray, K., Rosenberg-Thompson, S., Carusi, D. A., & Gornbein, J. (1994). The Neuropsychiatric Inventory: comprehensive assessment of psychopathology in dementia. *Neurology*, 44(12), 2308-2308.

Da, X., Toledo, J. B., Zee, J., Wolk, D. A., Xie, S. X., Ou, Y., ... & Alzheimer's Neuroimaging Initiative. (2014). Integration and relative value of biomarkers for prediction of MCI to AD progression: spatial patterns of brain atrophy, cognitive scores, APOE genotype and CSF biomarkers. *NeuroImage: Clinical*, 4, 164-173.

Daniela, P., Orazio, S., Alessandro, P., Mariano, N. F., Leonardo, I., Pasquale Anthony, D. R., ... & Carlo, C. (2014). A survey of FDG-and amyloid-PET imaging in dementia and GRADE analysis. *BioMed research international*, 2014.

Danysz, W., & Parsons, C. G. (2003). The NMDA receptor antagonist memantine as a symptomatological and neuroprotective treatment for Alzheimer's disease: preclinical evidence. *International journal of geriatric psychiatry*, 18(S1), S23-S32.

De Jonghe, J. F., Kat, M. G., Kalisvaart, C. J., & Boelaarts, L. (2003). Neuropsychiatric inventory questionnaire (NPI-Q): A validity study of the Dutch form. *Tijdschr Gerontol Geriatr*, 34(2), 74-77.

de Wilde, A., van der Flier, W. M., Pelkmans, W., Bouwman, F., Verwer, J., Groot, C., ... & Scheltens, P. (2018). Association of amyloid positron emission tomography with changes in diagnosis and patient treatment in an unselected memory clinic cohort: the ABIDE project. *JAMA neurology*, 75(9), 1062-1070.

Dickerson, B. C., & Wolk, D. (2013). Biomarker-based prediction of progression in MCI: comparison of AD-signature and hippocampal volume with spinal fluid amyloid- β and tau. *Frontiers in aging neuroscience*, 5, 55.

Dubois, B., Villain, N., Frisoni, G. B., Rabinovici, G. D., Sabbagh, M., Cappa, S., ... & Feldman, H. H. (2021). Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: recommendations of the International Working Group. *The Lancet Neurology*.

Dudas, R. B., Clague, F., Thompson, S. A., Graham, K. S., & Hodges, J. R. (2005). Episodic and semantic memory in mild cognitive impairment. *Neuropsychologia*, 43(9), 1266-1276.

Dukart, J., Mueller, K., Villringer, A., Kherif, F., Draganski, B., Frackowiak, R., ... & Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. (2013). Relationship between imaging biomarkers, age, progression and symptom severity in Alzheimer's disease. *NeuroImage: Clinical*, 3, 84-94.

Edition, F. (2013). Diagnostic and statistical manual of mental disorders. *Am Psychiatric Assoc*, 21.

Fagan, A. M., Roe, C. M., Xiong, C., Mintun, M. A., Morris, J. C., & Holtzman, D. M. (2007). Cerebrospinal fluid tau/ β -amyloid42 ratio as a prediction of cognitive decline in nondemented older adults. *Archives of neurology*, 64(3), 343-349.

Fan, Y., Batmanghelich, N., Clark, C. M., Davatzikos, C., & Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. (2008). Spatial patterns of brain atrophy in MCI patients, identified via high-dimensional pattern classification, predict subsequent cognitive decline. *Neuroimage*, 39(4), 1731-1743.

Fjell, A. M., Walhovd, K. B., Fennema-Notestine, C., McEvoy, L. K., Hagler, D. J., Holland, D., ... & Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. (2010). CSF biomarkers in prediction of cerebral and clinical change in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Journal of Neuroscience*, 30(6), 37-54.

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.

Forsberg, A., Engler, H., Almkvist, O., Blomquist, G., Hagman, G., Wall, A., ... & Nordberg, A. (2008). PET imaging of amyloid deposition in patients with mild cognitive impairment. *Neurobiology of aging*, 29(10), 1456-1465.

Frisoni, G. B., Padovani, A., & Wahlund, L. O. (2004). The prodementia diagnosis of Alzheimer disease. *Alzheimer's Disease Associated Disorders*, 639-648.

Gehres, S. W., Rocha, A., Leuzy, A., Loss, C. M., Viola, G. G., & Zimmer, E. R. (2016). Cognitive intervention as an early non-pharmacological strategy in Alzheimer's disease: a translational perspective. *Frontiers in aging neuroscience*, 8, 280.

Giraldo, D. L., Sijbers, J., Romero, E., & Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. (2021). Quantification of cognitive impairment to characterize heterogeneity of patients at risk of developing Alzheimer's disease dementia. *Alzheimer's & Dementia: Diagnosis, Assessment & Disease Monitoring*, 13(1), e12237

Graff, M. J., Vernooij-Dassen, M. J., Thijssen, M., Dekker, J., Hoefnagels, W. H., & Rikkert, M. G. O. (2006). Community based occupational therapy for patients with dementia and their care givers: randomised controlled trial. *Bmj*, *333*(7580), 1196.

Grande, G., Vanacore, N., Vetrano, D. L., Cova, I., Rizzuto, D., Mayer, F., ... & Pomati, S. (2018). Free and cued selective reminding test predicts progression to Alzheimer's disease in people with mild cognitive impairment. *Neurological Sciences*, *39*(11), 1867-1875.

Grober, E., Hall, C. B., Lipton, R. B., Zonderman, A. B., Resnick, S. M., & Kawas, C. (2008). Memory impairment, executive dysfunction, and intellectual decline in preclinical Alzheimer's disease. *Journal of the International Neuropsychological Society*, *14*(2), 266-278.

Grober, E., Sanders, A. E., Hall, C., & Lipton, R. B. (2010). Free and cued selective reminding identifies very mild dementia in primary care. *Alzheimer disease and associated disorders*, *24*(3), 284.

Hagenaars, S. P., Cox, S. R., Hill, W. D., Davies, G., Liewald, D. C., Harris, S. E., ... & Deary, I. J. (2018). Genetic contributions to trail making test performance in UK Biobank. *Molecular psychiatry*, *23*(7), 1575-1583.

Hajilou, B. B., & Done, D. J. (2007). Evidence for a dissociation of structural and semantic knowledge in dementia of the Alzheimer type (DAT). *Neuropsychologia*, *45*(4), 810-816.

Handels, R. L., Vos, S. J., Kramberger, M. G., Jelic, V., Blennow, K., van Buchem, M., ... & Visser, P. J. (2017). Predicting progression to dementia in persons with mild cognitive impairment using cerebrospinal fluid markers. *Alzheimer's & Dementia*, *13*(8), 903-912.

Hansson, O., Seibyl, J., Stomrud, E., Zetterberg, H., Trojanowski, J. Q., Bittner, T., ... & Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. (2018). CSF biomarkers of Alzheimer's disease concord with amyloid- β PET and predict clinical progression: a study of fully automated immunoassays in BioFINDER and ADNI cohorts. *Alzheimer's & Dementia*, *14*(11), 1470-1481.

Herholz, K., Westwood, S., Haense, C., & Dunn, G. (2011). Evaluation of a calibrated 18F-FDG PET score as a biomarker for progression in Alzheimer disease and mild cognitive impairment. *Journal of Nuclear Medicine*, 52(8), 1218-1226.

Hinrichs, C., Singh, V., Xu, G., Johnson, S. C., & Alzheimers Disease Neuroimaging Initiative. (2011). Predictive markers for AD in a multi-modality framework: an analysis of MCI progression in the ADNI population. *Neuroimage*, 55(2), 574-589.

Hodges, J. R., Graham, N., & Patterson, K. (1995). Charting the progression in semantic dementia: Implications for the organisation of semantic memory. *Memory*, 3(3-4), 463-495.

Huang, Y., Ito, K., Billing Jr, C. B., Anziano, R. J., & Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. (2015). Development of a straightforward and sensitive scale for MCI and early AD clinical trials. *Alzheimer's & Dementia*, 11(4), 404-414.

Iaccarino, L., Tammewar, G., Ayakta, N., Baker, S. L., Bejanin, A., Boxer, A. L., ... & Rabinovici, G. D. (2018). Local and distant relationships between amyloid, tau and neurodegeneration in Alzheimer's Disease. *NeuroImage: Clinical*, 17, 452-464.

Jack Jr, C. R., Wiste, H. J., Vemuri, P., Weigand, S. D., Senjem, M. L., Zeng, G., ... & Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. (2010). Brain beta-amyloid measures and magnetic resonance imaging atrophy both predict time-to-progression from mild cognitive impairment to Alzheimer's disease. *Brain*, 133(11), 3336-3348.

Kaufer, D. I., Cummings, J. L., Ketchel, P., Smith, V., MacMillan, A., Shelley, T., ... & DeKosky, S. T. (2000). Validation of the NPI-Q, a brief clinical form of the Neuropsychiatric Inventory. *The Journal of neuropsychiatry and clinical neurosciences*, 12(2), 233-239.

Kunkle, B. W., Grenier-Boley, B., Sims, R., Bis, J. C., Damotte, V., Naj, A. C., ... & Rotter, J. I. (2019). Genetic meta-analysis of diagnosed Alzheimer's disease identifies new risk loci and implicates A β , tau, immunity and lipid processing. *Nature genetics*, 51(3), 414-430.

Lambert, J. C., Ibrahim-Verbaas, C. A., Harold, D., Naj, A. C., Sims, R., Bellenguez, C., ... & Nalls, M. A. (2013). Meta-analysis of 74,046 individuals identifies 11 new susceptibility loci for Alzheimer's disease. *Nature genetics*, *45*(12), 1452-1458.

Lockhart, A., Lamb, J. R., Osredkar, T., Sue, L. I., Joyce, J. N., Ye, L., ... & Beach, T. G. (2007). PIB is a non-specific imaging marker of amyloid-beta (A β) peptide-related cerebral amyloidosis. *Brain*, *130*(10), 2607-2615.

Lowe, D. A., & Rogers, S. A. (2011). Estimating premorbid intelligence among older adults: The utility of the AMNART. *Journal of aging research*, *2011*.

Manly, J. J., Tang, M. X., Schupf, N., Stern, Y., Vonsattel, J. P. G., & Mayeux, R. (2008). Frequency and course of mild cognitive impairment in a multiethnic community. *Annals of Neurology: Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society*, *63*(4), 494-506.

Mattsson, N., Insel, P. S., Donohue, M., Jagust, W., Sperling, R., Aisen, P., ... & Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. (2015). Predicting reduction of cerebrospinal fluid β -amyloid 42 in cognitively healthy controls. *JAMA neurology*, *72*(5), 554-560.

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.

Morris, J. C., Storandt, M., Miller, J. P., McKeel, D. W., Price, J. L., Rubin, E. H., & Berg, L. (2001). Mild cognitive impairment represents early-stage Alzheimer disease. *Archives of neurology*, *58*(3), 397-405.

Mueller, S. G., Weiner, M. W., Thal, L. J., Petersen, R. C., Jack, C., Jagust, W., ... & Beckett, L. (2005). The Alzheimer's disease neuroimaging initiative. *Neuroimaging Clinics*, *15*(4), 869-877.

Musa, G., Henríquez, F., Muñoz-Neira, C., Delgado, C., Lillo, P., & Slachevsky, A. (2017). Utility of the neuropsychiatric inventory questionnaire (NPI-Q) in the assessment of a sample of patients with Alzheimer's disease in Chile. *Dementia & neuropsychologia*, *11*, 129-136.

- Nelson, P. T., Dickson, D. W., Trojanowski, J. Q., Jack, C. R., Boyle, P. A., Arfanakis, K., ... & Schneider, J. A. (2019). Limbic-predominant age-related TDP-43 encephalopathy (LATE): consensus working group report. *Brain*, *142*(6), 1503-1527.
- Nishiwaki, Y., Breeze, E., Smeeth, L., Bulpitt, C. J., Peters, R., & Fletcher, A. E. (2004). Validity of the Clock-Drawing Test as a screening tool for cognitive impairment in the elderly. *American journal of epidemiology*, *160*(8), 797-807.
- Novelli, G., Papagno, C., Capitani, E., & Laiacona, M. (1986). Tre test clinici di ricerca e produzione lessicale. Taratura su sogetti normali. *Archivio di psicologia, neurologia e psichiatria*.
- Pasquier, F., Grymonprez, L., Lebert, F., & Van der Linden, M. (2001). Memory Impairment Differs in Frontotemporal Dementia and Alzheimer's Disease. *Neurocase*, *7*(2), 2011-2034.
- Pellegrini, M., Alfano, V., & Palma, F. (2005). La malattia di Alzheimer. *Studi Urbinati, B-Scienze umane e sociali*, *75*, 145-160.
- Perri, R., Carlesimo, G. A., & Caltagirone, C. (2001). Mild cognitive impairment: studio italiano multicentrico. *Nuova Rivista di Psicologia*, *2*(9), 65-72.
- Petersen, R. C., Smith, G. E., Waring, S. C., Ivnik, R. J., Tangalos, E. G., & Kokmen, E. (1999). Mild cognitive impairment: clinical characterization and outcome. *Archives of neurology*, *56*(3), 303-308.
- Pierantozzi, M., & Scaricamazza, E. (2017). *Malattia di alzheimer e altre demenze diagnosi e terapia integrata*. Società editrice universo, Roma; 323-324.
- Quaranta, D., Piccininni, C., Caprara, A., Malandrino, A., Gainotti, G., & Marra, C. (2019). Semantic relations in a categorical verbal fluency test: an exploratory investigation in mild cognitive impairment. *Frontiers in psychology*, *10*, 2797.
- Quaranta, D., Gabriella Vita, M., Spinelli, P., Scaricamazza, E., Castelli, D., Lacidogna, G., ... & Marra, C. (2014). Does semantic memory impairment in amnesic MCI with hippocampal atrophy conform to a distinctive pattern of progression?. *Current Alzheimer Research*, *11*(4), 399-407.
- Rafii, M. S. (2014). Preclinical Alzheimer's disease therapeutics. *Journal of Alzheimer's Disease*, *42*(s4), S545-S549.

- Ramakers, I. H. G. B., Visser, P. J., Aalten, P., Kester, A., Jolles, J., & Verhey, F. R. J. (2010). Affective symptoms as predictors of Alzheimer's disease in subjects with mild cognitive impairment: a 10-year follow-up study. *Psychological medicine*, *40*(7), 97-111.
- Rice, L., & Bisdas, S. (2017). The diagnostic value of FDG and amyloid PET in Alzheimer's disease—A systematic review. *European journal of radiology*, *94*, 16-24.
- Rizk-Jackson, A., Insel, P., Petersen, R., Aisen, P., Jack, C., & Weiner, M. (2013). Early indications of future cognitive decline: stable versus declining controls. *PloS one*, *8*(9), e74062.
- Rogers, T. T., Ivanoiu, A., Patterson, K., & Hodges, J. R. (2006). Semantic memory in Alzheimer's disease and the frontotemporal dementias: a longitudinal study of 236 patients. *Neuropsychology*, *20*(3), 319.
- Rolls, E. T., Joliot, M., & Tzourio-Mazoyer, N. (2015). Implementation of a new parcellation of the orbitofrontal cortex in the automated anatomical labeling atlas. *Neuroimage*, *122*, 1-5.
- Rosenberg, P. B., Martin, B. K., Frangakis, C., Mintzer, J. E., Weintraub, D., Porsteinsson, A. P., ... & DIADS-2 Research Group. (2010). Sertraline for the treatment of depression in Alzheimer disease. *The American Journal of Geriatric Psychiatry*, *18*(2), 136-145.
- Rossetti, H. C., Lacritz, L. H., Cullum, C. M., & Weiner, M. F. (2011). Normative data for the Montreal Cognitive Assessment (MoCA) in a population-based sample. *Neurology*, *77*(13), 1272-1275.
- Salthouse, T. A. (2011). What cognitive abilities are involved in trail-making performance?. *Intelligence*, *39*(4), 222-232.
- Sasaki, M., Kodama, C., Hidaka, S., Yamashita, F., Kinoshita, T., Nemoto, K., ... & Asada, T. (2009). Prevalence of four subtypes of mild cognitive impairment and APOE in a Japanese community. *International Journal of Geriatric Psychiatry: A journal of the psychiatry of late life and allied sciences*, *24*(10), 1119-1126.
- Scarmeas, N., & Stern, Y. (2003). Cognitive reserve and lifestyle. *Journal of clinical and experimental neuropsychology*, *25*(5), 625-633
- Schoenberg, M. R., Dawson, K. A., Duff, K., Patton, D., Scott, J. G., & Adams, R. L. (2006). Test performance and classification statistics for the Rey Auditory Verbal Learning Test in selected clinical samples. *Archives of Clinical Neuropsychology*, *21*(7), 693-703.

- Sexton, C. E., Mackay, C. E., Lonie, J. A., Bastin, M. E., Terrière, E., O'Carroll, R. E., & Ebmeier, K. P. (2010). MRI correlates of episodic memory in Alzheimer's disease, mild cognitive impairment, and healthy aging. *Psychiatry Research: Neuroimaging*, *184*(1), 57-62.
- Shaffer, J. L., Petrella, J. R., Sheldon, F. C., Choudhury, K. R., Calhoun, V. D., Coleman, R. E., ... & Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. (2013). Predicting cognitive decline in subjects at risk for Alzheimer disease by using combined cerebrospinal fluid, MR imaging, and PET biomarkers. *Radiology*, *266*(2), 834-856.
- Shaw, L. M., Vanderstichele, H., Knapik-Czajka, M., Clark, C. M., Aisen, P. S., Petersen, R. C., ... & Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. (2009). Cerebrospinal fluid biomarker signature in Alzheimer's disease neuroimaging initiative subjects. *Annals of neurology*, *65*(4), 403-413.
- Sjogren, M., Vanderstichele, H., Ågren, H., Zachrisson, O., Edsbacke, M., Wikkelso, C., ... & Blennow, K. (2001). Tau and A β 42 in cerebrospinal fluid from healthy adults 21–93 years of age: establishment of reference values. *Clinical chemistry*, *47*(10), 1776-1781.
- Solfrizzi, V., Panza, F., Colacicco, A. M., D'introno, A., Capurso, C., Torres, F., ... & Capurso, A. (2004). Vascular risk factors, incidence of MCI, and rates of progression to dementia. *Neurology*, *63*(10), 1882-1891.
- Spector, A., Thorgrimsen, L., Woods, B. O. B., Royan, L., Davies, S., Butterworth, M., & Orrell, M. (2003). Efficacy of an evidence-based cognitive stimulation therapy programme for people with dementia: randomised controlled trial. *The British Journal of Psychiatry*, *183*(3), 248-254.
- Stern, Y. (2002). What is cognitive reserve? Theory and research application of the reserve concept.
- Sunderland, T., Hill, J. L., Mellow, A. M., Lawlor, B. A., Gundersheimer, J., Newhouse, P. A., & Grafman, J. H. (1989). Clock drawing in Alzheimer's disease: a novel measure of dementia severity. *Journal of the American Geriatrics society*, *37*(8), 725-729.
- Taulbee, L. R., & Folsom, J. C. (1966). Reality orientation for geriatric patients. *Psychiatric Services*, *17*(5), 133-135.
- van der Lee, S. J., Wolters, F. J., Ikram, M. K., Hofman, A., Ikram, M. A., Amin, N., & van Duijn, C. M. (2018). The effect of APOE and other common genetic variants on the onset of

Alzheimer's disease and dementia: a community-based cohort study. *The Lancet Neurology*, 17(5), 434-444.

Vanacore, N., Di Pucchio, A., Lacorte, E., Bacigalupo, I., Mayer, F., Grande, G., ... & Canevelli, M. (2017). Dal mild cognitive impairment alla demenza: qual è il ruolo della sanità pubblica?. *Recenti Progressi in Medicina*, 108(5), 211-215.

Veneri, A., Gorgoglione, G., Toraci, C., Nocetti, L., Panzetti, P., & Nichelli, P. (2011). Combining neuropsychological and structural neuroimaging indicators of conversion to Alzheimer's disease in amnesic mild cognitive impairment. *Current Alzheimer Research*, 8(7), 789-797.

Villemagne, V. L., Burnham, S., Bourgeat, P., Brown, B., Ellis, K. A., Salvado, O., ... & Masters, C. L. (2013). Amyloid β deposition, neurodegeneration, and cognitive decline in sporadic Alzheimer's disease: a prospective cohort study. *The Lancet Neurology*, 12(4), 357-367.

Wahlin, T. B. R., Bäckman, L., Wahlin, Å., & Winblad, B. (1996). Trail Making Test performance in a community-based sample of healthy very old adults: Effects of age on completion time, but not on accuracy. *Archives of Gerontology and Geriatrics*, 22(1), 87-102.

Weiner, M. W., Aisen, P. S., Jack Jr, C. R., Jagust, W. J., Trojanowski, J. Q., Shaw, L., ... & Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. (2010). The Alzheimer's disease neuroimaging initiative: progress report and future plans. *Alzheimer's & Dementia*, 6(3), 202-211.

Weiner, M. W., Veitch, D. P., Aisen, P. S., Beckett, L. A., Cairns, N. J., Cedarbaum, J., ... & Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. (2015). Impact of the Alzheimer's disease neuroimaging initiative, 2004 to 2014. *Alzheimer's & Dementia*, 11(7), 865-884.

Weiner, M. W., Veitch, D. P., Aisen, P. S., Beckett, L. A., Cairns, N. J., Green, R. C., ... & Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. (2017). The Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative 3: Continued innovation for clinical trial improvement. *Alzheimer's & Dementia*, 13(5), 561-571.

Weiner, M. W., Veitch, D. P., Aisen, P. S., Beckett, L. A., Cairns, N. J., Cedarbaum, J., ... & Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. (2015). 2014 Update of the Alzheimer's Disease

Neuroimaging Initiative: a review of papers published since its inception. *Alzheimer's & dementia*, 11(6), e1-e120.

Whitehair, D. C., Sherzai, A., Emond, J., Raman, R., Aisen, P. S., Petersen, R. C., & Fleisher, A. S. (2010). Influence of apolipoprotein E ϵ 4 on rates of cognitive and functional decline in mild cognitive impairment. *Alzheimer's & Dementia*, 6(5), 412-419.

Whitwell, J. L., Wiste, H. J., Weigand, S. D., Rocca, W. A., Knopman, D. S., Roberts, R. O., ... & Alzheimer Disease Neuroimaging Initiative. (2012). Comparison of imaging biomarkers in the Alzheimer disease neuroimaging initiative and the Mayo Clinic Study of Aging. *Archives of neurology*, 69(5), 614-622.

Winblad, B., Palmer, K., Kivipelto, M., Jelic, V., Fratiglioni, L., & Wahlund, L. (2004). Mild cognitive impairment. *J Intern Med*, 256, 180-246.

World Health Organization. (1992). The ICD-10 classification of mental and behavioural disorders: clinical descriptions and diagnostic guidelines. *World Health Organization*.

Young, J., Modat, M., Cardoso, M. J., Mendelson, A., Cash, D., Ourselin, S., & Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. (2013). Accurate multimodal probabilistic prediction of conversion to Alzheimer's disease in patients with mild cognitive impairment. *NeuroImage: Clinical*, 2, 735-745.

Zhang, D., Wang, Y., Zhou, L., Yuan, H., Shen, D., & Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. (2011). Multimodal classification of Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Neuroimage*, 55(3), 101-112.

Sitografia

<http://www.brainer.it/appfondimenti/il-deterioramento-cognitivo/la-demenza/>

<https://www.itineraanziano.it/post/il-confine-tra-invecchiamento-sano-e-patologico>

<http://adni.loni.usc.edu/>

<https://www.multimedica.it/news/biomarkers-per-malattia-alzheimer/>

<https://www.alliancemedical.it/news/il-ruolo-della-pet-nella-diagnosi-precoca-della-malattia-di-alzheimer-intervista-alla-dottssa>

<https://www.idoctors.it/articolo/demenze--defini/414/19>

<https://www.centroalzheimer.org/area-familiari/la-malattia-di-alzheimer/malattia-di-alzheimer/decorso-della-malattia/>

<https://it.approby.com/come-le-schermate-dei-test-di-denominazione-di-boston-per-lalzheimer-e-la-demenza/>

<https://www.neuropsicologiaweb.it/index.php/neuropsicologia/test/13-slideshow-neuropsicologia/84-valutazione-dei-sintomi-neuropsichiatrici-e-comportamentali-della-demenza-neuropsychiatric-inventory-npi?showall=1>

<http://www.neuropsicologia.it/content/view/96/90/>