



# UNIVERSITÀ DI PARMA

DIPARTIMENTO DI MEDICINA E CHIRURGIA

CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN PSICOBIOLOGIA E  
NEUROSCIENZE COGNITIVE

## CARATTERIZZAZIONE MORFOLOGICA E ASSESSMENT NEUROPSICOLOGICO IN UNA COORTE DI PAZIENTI CON DEFICIT COGNITIVO LIEVE E DIAGNOSI DI MALATTIA DI ALZHEIMER

Relatore: *Chiar.mo Prof.* LEONARDO FOGASSI

Controrelatore: *Chiar.mo Dott.* ANTONINO ERRANTE

Laureanda:  
ELEONORA SICURI

ANNO ACCADEMICO: 2022-2023

# Indice

ABSTRACT.....	3
CAPITOLO 1 – MALATTIA DI ALZHEIMER	
1.1 Introduzione alla malattia di Alzheimer e primi cenni al suo fenotipo clinico.....	5
1.2 Fisiopatologia: il primo stadio preclinico.....	8
1.3 Secondo stadio clinico: Mild Cognitive Impairment (MCI) e conclamata demenza di Alzheimer.....	15
1.4 Atrofia dell’ippocampo nei pazienti diagnosticati con MCI o AD.....	23
CAPITOLO 2 - CAPACITÀ IMITATIVA IN PAZIENTI CON DIAGNOSI DI ALZHEIMER E ASSESSMENT NEUROPSICOLOGICO	
2.1 La capacità imitativa nella malattia di Alzheimer.....	28
2.2 Test neuropsicologici e valutazione delle funzioni cognitive in pazienti con AD.....	35
2.3 Indagine della relazione tra il processo atrofico e il deficit clinico: tecniche morfologiche.....	51
2.4 Obiettivi e ipotesi dello studio.....	57
CAPITOLO 3 – MATERIALI E METODI	
3.1 Partecipanti.....	59
3.2 Assessment neuropsicologico.....	60
3.3 Studio comportamentale.....	63
3.3.1 Acquisizione delle immagini morfologiche in Risonanza Magnetica (MRI).....	65
3.3.2 Scoring della performance imitativa.....	67
3.4 Analisi statistiche dei dati MRI.....	70

## CAPITOLO 4 – RISULTATI

4.1 Risultati della valutazione neuropsicologica.....	73
4.2 Risultati MRI: mappe di <i>overlap</i> .....	89
4.3 Risultati della <i>Voxel-Based Morphometry</i> sulle immagini MRI.....	94
4.4 Risultati della regressione.....	102
DISCUSSIONE E CONCLUSIONI.....	108
APPENDICE.....	115
BIBLIOGRAFIA.....	123

## Abstract (ITA)

La malattia di Alzheimer (AD) è una delle più comuni forme di demenza, termine con il quale si intende un progressivo declino del funzionamento cognitivo e motorio, che fa sì che il paziente che ne è affetto non sia gradualmente più in grado di svolgere le attività quotidiane in modo autonomo, né di prendere decisioni adeguate al contesto, o di controllare appropriatamente i propri comportamenti ed emozioni. L'iniziale quadro clinico della AD è rappresentato principalmente da un'inefficienza della memoria episodica, che si può riscontrare nella fase intermedia di Deficit Cognitivo Lieve (o *Mild Cognitive Impairment*, MCI), in cui però l'autonomia del paziente è preservata, per poi aggravarsi con l'avanzamento della patologia, la cui sintomatologia potrebbe includere, in aggiunta, compromissioni motorie, linguistiche, gravi deficit mnestici, richiedendo, pertanto, un aiuto costante nella vita di tutti i giorni. Dal punto di vista, invece, strutturale, l'aumento a livello cerebrale delle proteine *tau* e *beta-amiloide* produce agglomerati intra ed extra-cellulari che, concentrandosi dapprima nei lobi temporali mediali, riduce nell'arco di pochi anni, l'efficienza funzionale del cervello, finendo per diffondersi anche a livello corticale nei lobi prefrontali, nello stadio finale della malattia. Nella prima parte del presente elaborato si fornirà una dettagliata descrizione dei cambiamenti neuro-cognitivi e morfologici che avvengono nelle differenti fasi della AD, passando, in un secondo momento, all'approfondimento della capacità di imitazione in questo tipo di pazienti, aggiungendo una breve introduzione su quelle che sono le aree cerebrali cardini che supportano tale abilità: le regioni parieto-frontali con proprietà specchio. La letteratura, infatti, evidenzia un possibile collegamento tra la funzione motoria e lo sviluppo della malattia di Alzheimer -sebbene questa relazione non sia stata ad oggi sufficientemente analizzata- mettendo in luce una significativa alterazione nell'attivazione del circuito *mirror* nei pazienti AD, dato, questo, che confermerebbe un potenziale collegamento tra il funzionamento motorio, inclusa l'imitazione, ed i processi neurodegenerativi. Saranno, pertanto, delineati metodi e risultati dello studio, oggetto del presente lavoro, il quale prevede un compito di osservazione-imitazione all'interno della Risonanza Magnetica relativo ad azioni bimanuali, volte alla produzione di un origami tramite un foglio di carta. Come ipotizzato, la performance motoria risulta essere significativamente diversa tra i pazienti con Alzheimer e quelli con MCI, e nel campione di soli pazienti quest'ultima correla con diversi punteggi di test neuropsicologici, tra i quali lo screening cognitivo MOCA. Tutti i pazienti sono in grado di riprodurre tali azioni complesse, e nello specifico, il sottocampione di coloro che hanno diagnosi di MCI mostra una prestazione migliore rispetto a quelli con conclamata diagnosi di demenza di Alzheimer lieve, in linea con le evidenze in letteratura. Circa la distribuzione di sostanza grigia e bianca tra sani e pazienti, si rileva una differenza significativamente notevole nelle strutture sottocorticali, principalmente nell'ippocampo, l'amigdala, il cervelletto motorio e i gangli della base; le aree del circuito *mirror*, al contrario, non sembrano avere una degenerazione pari a quelle sovra-citate. È il risparmio delle regioni sottocorticali, ma non corticali, ad essere, inoltre, predetto dallo screening cognitivo e dalla qualità della performance (in misura maggiore dal primo rispetto alla seconda).

## **Abstract (ENG)**

The Alzheimer's disease (AD) is one of the most common forms of dementia, a term that refers to a progressive decline in cognitive and motor functioning, which causes the affected patient to gradually become unable to perform daily activities independently, or to make context-appropriate decisions, or to appropriately control his or her behaviours and emotions. The initial clinical picture of AD is mainly represented by an inefficiency of episodic memory, which can be seen in the intermediate stage of Mild Cognitive Deficit (or Mild Cognitive Impairment, MCI), in which, however, the patient's autonomy is preserved, and then worsens as the disease progresses. The symptomatology might include, in addition, motor impairments, language, severe mnemonic deficits, requiring, therefore, constant help in everyday life. On the other hand, from the structural point of view, the brain's increase in tau and beta-amyloid proteins produces intra- and extra-cellular clusters (it begins to concentrate in the medial temporal lobes) that reduces within a few years, the brain's functional efficiency, eventually spreading even to the cortical level in the prefrontal lobes, in the final stage of the disease. The first part of this dissertation will provide a detailed description of the neuro-cognitive and morphological changes that occur in the different stages of AD, while in the second part, will go the into-depth in the study of the ability to imitate in this type of patients, adding a brief introduction to what are the pivotal brain areas that support this ability: the parieto-frontal regions with mirror properties. The literature, in fact, points to a possible link between motor function and the development of Alzheimer's disease -although this relationship has not been sufficiently analysed to date- emphasizing a significant alteration in the activation of the mirror circuit in AD patients, that would confirm a potential link between motor functioning, including imitation, and neurodegenerative processes. Methods and results of the study will describe an observation-imitation task performed in the MRI machine, characterised by bimanual actions, aimed at the production of an origami using a sheet of paper. As hypothesized, motor performance turned out to be significantly different between patients with Alzheimer's and those with MCI, and in the patient-only sample the performance correlates with different neuropsychological test scores, including MOCA, the cognitive screening test. All patients were able to reproduce such complex actions, and specifically, the subsample of those diagnosed with MCI showed better performance than those with established diagnosis of mild Alzheimer's dementia, in line with the evidence in the literature. Concerning the comparison of the distribution of grey and white matter between healthy subjects and patients, there was a significantly noticeable difference in the subcortical structures, mainly in the hippocampus, amygdala, motor cerebellum and basal ganglia; areas of the mirror network, on the contrary, do not seem to have a comparable degeneration. Finally, the sparing of subcortical, but not cortical, regions is predicted by cognitive screening and performance quality.

# Capitolo 1 - Malattia di Alzheimer

## **1.1 Introduzione alla malattia di Alzheimer e primi cenni al suo fenotipo clinico**

*“She is completely disoriented in time and space. [...] Her memory is seriously impaired. If objects are shown to her, she names them correctly, but almost immediately afterwards she has forgotten everything.”*

È con queste parole che il dott. Alois Alzheimer nel lontano 1906 aveva descritto, per la prima volta, alcuni dei tipici sintomi della malattia di Alzheimer (AD, Alzheimer Disease).

Studi focalizzati sulla malattia di Alzheimer cominciarono a proliferare solo circa 40 anni fa, sebbene già agli inizi del secolo scorso il dott. Alzheimer avesse pubblicato la dettagliata descrizione della sua paziente, Auguste Deter. Inizialmente non si diede alla patologia sufficiente importanza, nonostante la sintomatologia piuttosto variegata e grave. I primi sintomi sui quali il medico mise il focus furono i considerevoli deficit mnemonici (*“if objects are shown to her, she names them correctly, but almost immediately afterwards she has forgotten everything”*, Alzheimer et al, 1995); anche il linguaggio presentava serie problematiche, come l’incapacità di comprendere alcune domande che le venivano poste o pronunciare incorrettamente determinate parole (*“When reading a test, she [...], reads by spelling words individually, or by making them meaningless through her pronunciation.”*). Esami post-mortem hanno esaminato il tessuto cerebrale della paziente, confermando molte caratteristiche che ad oggi sono conosciute e considerate essere marcatori specifici per la malattia di Alzheimer, quali placche amiloidi e grovigli neurofibrillari, che descriveremo in seguito.

La malattia di Alzheimer rappresenta una forma di demenza, la quale può essere descritta come una graduale inefficienza del nostro cervello nel funzionare correttamente e nel permettere

all'individuo che ne è affetto di svolgere le attività quotidiane in modo autonomo e sicuro, controllare le proprie emozioni adeguatamente, usare la capacità di giudizio, pianificare o ragionare in maniera agile e adattativa. Negli stadi severi, il paziente potrebbe non essere più in grado di prendersi cura di sé e svolgere banali faccende senza l'aiuto di un caregiver. Il termine più generico "demenza" può presentare decine e decine di cause differenti e sintomatologie diverse tra loro (sebbene, generalmente, tante siano le similitudini), ma l'Alzheimer pare essere la più comune. Studiosi americani hanno messo in evidenza che solo negli Stati Uniti, ben 6 milioni di pazienti possiedono ad oggi una diagnosi di AD e tale patologia è ritenuta essere la settima causa di morte. La diagnosi di demenza deve incontrare diversi criteri, i quali riguardano sia sintomi cognitivi che comportamentali, tra i quali una sostanziosa interferenza con le usuali attività a casa o al lavoro (non causata naturalmente da maggiori disturbi psichiatrici o da deliri); inoltre il deficit comportamentale e cognitivo concerne minimo due dei seguenti domini: la memoria, come ad esempio dimenticarsi di andare ad appuntamenti o eventi importanti, perdersi in un ambiente conosciuto, fare spesso le stesse domande o ripetere le medesime informazioni; il ragionamento, come la comprensione di situazioni pericolose, scarsa abilità nella presa di decisione o nella pianificazione; le abilità visuo-spaziali, riguardanti la capacità di riconoscere oggetti o persone oppure orientare adeguatamente i vestiti sul proprio corpo; il linguaggio, sia nel parlato, nella lettura che nella scrittura; la personalità ed il comportamento, che potrebbero avere cambiamenti repentini e delineare un complessivo umore fatto di notevoli oscillazioni, che vanno dall'apatia, atteggiamenti sociali indesiderati, mancanza di motivazione all'anedonia (McKhann et al., 2011).

Analizzando più nello specifico le accurate parole di Alois Alzheimer su colei che è considerata uno dei primi esempi di pazienti con la malattia di Alzheimer, apprendiamo che la donna, cinquantunenne, presenta disorientamento spaziale e temporale e una rapida perdita di memoria, atteggiamenti psicotici e deliranti come il pensiero che qualcuno sta cercando di ucciderla con conseguenti comportamenti inappropriati come piangere e urlare per molte ore di seguito. Un sintomo molto pronunciato e ripetuto più volte all'interno della minuziosa descrizione, è la grave difficoltà a ricordare informazioni appena apprese: ciò la definiamo amnesia anterograda ed è uno dei *core deficits* della AD. Di Auguste Deter sono descritte anche le problematiche incontrate durante la lettura di un testo: salta spesso da una riga all'altra o pronuncia incorrettamente una parola conosciuta,

seppur prima di questo momento non avesse mai avuto simili compromissioni. Allora, sfortunatamente, non erano ancora presenti metodologie e strumenti con alta risoluzione di cui siamo dotati oggi per valutare la condizione cerebrale *in vivo*; della paziente si studiò a lungo il cervello *post-mortem*. Ciò che si notò immediatamente concerne l'atrofia della macrostruttura cerebrale, con morte cellulare soprattutto negli strati superficiali, ed inoltre un ammasso di filamenti neurofibrillari. Questi ultimi si trovano in particolare nel lobo temporale mediale dei pazienti con AD (Alzheimer et al, 1995).

Nelle ultime decine di anni si è posto l'accento su un ulteriore cambiamento cognitivo evidente con il passare del tempo: l'intelligenza fluida e cristallizzata, che risultano essere particolarmente in declino in chi soffre di Alzheimer, poiché accompagnato da una grossa compromissione della memoria. La prima tipologia di intelligenza è delineata dalla memoria di lavoro, il corretto recupero mnestico (il quale rappresenta l'ultima fase della memoria e anche l'obiettivo ultimo di questa: difatti, particolarmente deficitario nella AD è il meccanismo mnestico che consente al soggetto di riportare alla luce informazioni recentemente apprese e conservate nel magazzino a lungo termine), il pensiero astratto e le capacità di problem-solving, le quali non sono altro che le modalità che usiamo per raggiungere uno scopo attraverso strumenti fisici e/o psicologici creativi e inusuali. La seconda intelligenza menzionata è quella cristallizzata, che concerne come le informazioni su di sé, gli altri e il mondo attraverso l'esperienza si solidificano, grazie al proprio ambiente socioculturale in cui ci si sviluppa ed inoltre, più è stimolante e più possibilità il soggetto avrà di muoversi al suo interno senza incontrare spiacevoli ostacoli. Queste due tipologie di intelligenza si intersecano e influenzano costantemente: più è deficitaria la fluida, più si dimostrerà poco efficiente la cristallizzata. Purtroppo, dal momento che è un'influente funzione trasversale a tutte le altre, quando la memoria risulta essere compromessa, anche il funzionamento qualitativo del resto si dimostra essere notevolmente scarso.

Da decine e decine di anni, ci si è posti il quesito riguardante la sottile differenza tra normalità e patologia: circa la memoria, si può essere certi che piccole dimenticanze o un recupero non sempre efficace, in particolare con l'avanzare dell'età, sia fisiologico. Inizia a diventare un sintomo su cui

mettere il focus nel momento in cui il soggetto ha grandi perdite di memoria su informazioni importanti e da sempre conosciute, come date o l'identità di persone care, o si trova a ripetere continuamente informazioni in un breve lasso di tempo. Circa l'intelligenza fluida, l'aver numerose difficoltà nel pianificare o rispettare uno schema mentale o di azioni da eseguire, può essere un primo allarme di demenza, così come fare fatica a completare un banale compito quotidiano (prendere un appuntamento, pagare la bolletta, etc.). In un individuo senza la malattia di Alzheimer potrebbero esserci sporadiche difficoltà a sviluppare un piano o commettere errori di copiatura o di calcolo, dovuto ad esempio a stress e stanchezza psicofisici, di cui tutti noi soffriamo di tanto in tanto e che sappiamo essere la causa di alcuni deficit mnestici, di apprendimento o attenzione. Inoltre, anche soggetti senza atrofia nei lobi temporali mediali possono avere saltuariamente confusione temporale, causa esperienze psicofisiche avverse che diminuiscono la cognizione del tempo. Questo è alquanto pronunciato in chi soffre di AD, dove il momento presente non è sempre vissuto con consapevolezza, ma c'è frequentemente smarrimento sia sul dove che sul periodo temporale in cui ci si sta trovando, spesso con scambio delle identità di persone o eventi vissuti. Dal punto di vista comportamentale, se si ritiene normale, anche con l'età, essere meno inclini allo svolgimento di attività sociali ed essere occasionalmente irritabili, è considerato un segnale su cui porre l'attenzione clinica l'atteggiamento inappropriato alla circostanza in cui si è in quel dato momento, ed essere tanto vulnerabili e poco presenti su ciò che sta accadendo da lasciarsi ingannare o non comprendere situazioni pericolose e nocive per sé e gli altri. A ciò si aggiungono non di rado sentimenti di grande angoscia e depressione, frequente demotivazione e irascibilità (“*overreacting*”), impulsività e apatia (Atri, 2019).

## **1.2 Fisiopatologia: il primo stadio preclinico**

Nel 2011 gli originali criteri per la demenza di Alzheimer sono stati revisionati, dopo anni di accurato approfondimento alla storia clinica di tale patologia, consentendo di ampliare gli stadi da cui essa è composta e di far luce non unicamente sui sintomi evidenti dei pazienti, ma anche su quelli che potremmo ritenere “invisibili”, ma pur sempre presenti. Difatti, circa 30 anni prima della rivoluzionaria revisione eseguita dal gruppo di McKhann, l'Alzheimer veniva analizzata solo qualora la sintomatologia fosse indubbiamente riconducibile alla patologia, caratterizzata da gravi deficit

mnestici, disorientamento e alterazioni comportamentali, ponendo l'attenzione su quello che oggi si considera uno degli ultimi stadi della patologia. La mancanza di strumenti adeguati nel secolo scorso rendeva chiaramente difficoltosa l'indagine circa i marcatori che oggi, invece, siamo in grado di studiare, permettendo ai medici di sapere con sufficiente sicurezza se un dato paziente ha o meno la probabilità di sviluppare tale tipologia di demenza. Difatti, oggi si parla di un primo stadio preclinico, dove la sintomatologia è piuttosto lieve dal punto di vista fenotipico, ma all'interno dei processi cerebrali di tipo chimico e neurotrasmettitoriale si può osservare una serie di malfunzionamenti a causa dei quali la malattia si manifesterà. Il paziente potrebbe iniziare a provare un graduale disinteresse nelle attività che precedentemente lo divertivano, o maggior stanchezza e affaticamento inusuali, piccole dimenticanze, a cui però spesso non si dà molto peso, considerando queste come piccole difficoltà legate allo stress o all'avanzare dell'età. Con esami e strumenti più approfonditi, è piuttosto semplice identificare l'esordio della malattia anche anni prima che i veri e propri sintomi limitanti e gravi prendano il sopravvento: esistono "biomarcatori" che possono essere ritenuti primi segnali di allarme, i quali con una certezza sufficientemente alta permettono al medico di dare alla patologia un'occhiata particolareggiata nelle sue sfumature e di analizzarla a fondo in misura maggiore rispetto al passato. Alcuni dei marcatori più rilevanti sono due tipologie di proteine, che si depositano in agglomerati all'interno di particolari aree cerebrali, diventando così considerevolmente dannose: la proteina beta-amiloide e la proteina tau. La presenza delle prime può essere analizzata attraverso alcuni esami, come la PET (*positron emission tomography*) oppure con l'analisi del liquido cerebro-spinale effettuando una puntura lombare tra la vertebra L3 e L4. Per i pazienti affetti da Alzheimer, l'esame PET effettuato con un particolare radiofarmaco, il fluoridesossiglucosio (FDG-PET), è notevolmente utile per evidenziare l'ipocaptazione cerebrale di glucosio (uno delle principali componenti del carburante che necessita il cervello per funzionare), la quale correla con un'ampia disfunzione e perdita sinaptica. Tale test fa parte di una lunga serie di metodiche di medicina nucleare e, seppur invasivo, è riconosciuto essere uno strumento diagnostico valido per poter confermare la presenza dei primi segnali della patologia, che possono confluire nella condizione di Mild Cognitive Impairment (MCI), supportando la probabilità di esordio della malattia di Alzheimer, che non tutti i pazienti con MCI vanno a sviluppare (fig.1) (Ceramì et al., 2014). Coloro che presentano il tipico pattern temporo-parietale ipoattivo potrebbero essere collocati all'interno di una fase precedente a quella conclamata di Alzheimer e a rischio di esordio della stessa. Più in dettaglio, l'ipometabolismo che si evidenzia da tale test nel cervello affetto da MCI di tipo amnesico (che descriveremo tra qualche

paragrafo) è presente in particolar modo nella corteccia cingolata posteriore, nel giro paraippocampale e nel giro temporale inferiore; mentre nel cervello affetto da Alzheimer avanzata (in cui una grande percentuale è atrofizzata) un elevato ipometabolismo si presenta, oltre che di nuovo nella corteccia cingolata posteriore, anche nel precuneo e nelle aree parieto-temporali estendendosi fino a quelle frontali.

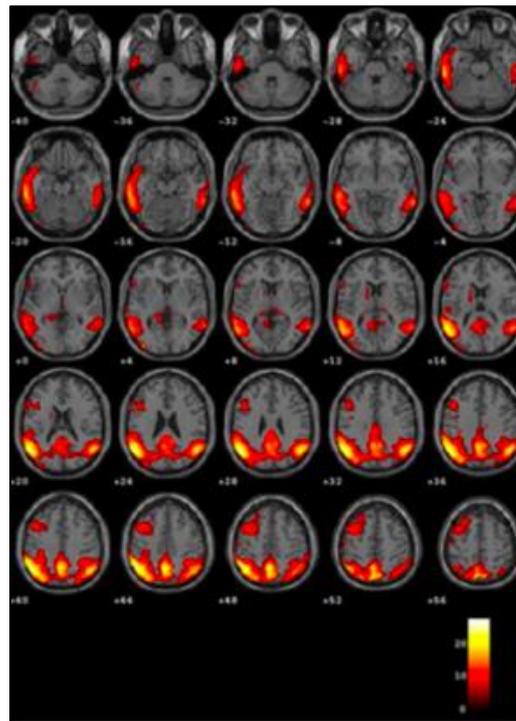


Fig.1: Imaging metabolico del FDG-PET che evidenzia il pattern cerebrale di ipocaptazione di glucosio nelle aree temporo-occipitale in un paziente con Alzheimer (Cerami et al., 2014).

Dal momento che sono esami piuttosto invasivi, da anni si stanno cercando altri metodi per arrivare alle medesime conclusioni individuando i biomarcatori più facilmente nel sangue. Le proteine beta-amiloidi gradualmente potrebbero accumularsi, formando nel tempo le cosiddette placche amiloidi a livello extracellulare, dapprima nelle aree associative e successivamente nelle temporali e nel tronco encefalico. La proteina tau, invece, che si accumula nei cosiddetti grovigli neurofibrillari, rappresenta specificamente lo stato di neurodegenerazione, indicando quindi un

crescente declino nel funzionamento cerebrale. Con l'avanzare dell'età, tau aumenta in tutti i soggetti, sani e con AD, ma in assenza delle placche amiloidi il quadro clinico non risulta essere grave. Se, al contrario, c'è compresenza di entrambe le proteine, la degenerazione è accompagnata da una sintomatologia patologica su cui occorrerebbe porre l'attenzione clinica. Un ulteriore esame PET diagnostico nel quale si usa, questa volta, un tracciante per l'amiloide è funzionale al fine di rilevare l'eventuale presenza di depositi di quest'ultima, la quale, se presente, si legherà alla molecola iniettata e nell'immagine finale le aree con le placche risulteranno "illuminate" di colore giallo e rosso. Qualora il paziente non presenti accumuli di beta-amiloide, non si può concludere non abbia demenza di alcun tipo, ma unicamente che il suo cervello pare non essere affetto da AD, dal momento che alcune varianti, come la fronto-temporale, non possono essere diagnosticate attraverso il marcatore amiloide, non essendo tale proteina una caratteristica di quest'ultima demenza. Il tracciante per tau che si lega, invece, alla proteina tau in rapida crescita nei pazienti Alzheimer, è indicativo, della gravità e del declino che contraddistinguono la demenza: nei loro cervelli è in particolar modo presente nei lobi parietali, nel precuneo e nella corteccia cingolata posteriore (fig. 2) (Mueller et al., 2020).

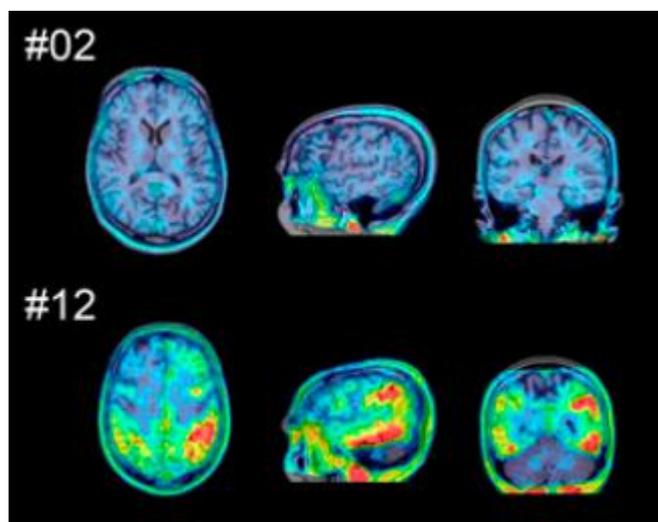


Fig. 2: Esame PET con tracciante per la proteina tau in un soggetto sano (sopra) e in un paziente con demenza di Alzheimer (sotto). (Mueller et al., 2020).

Nello specifico, quando il livello di amiloide diventa eccessivo, si presenta una rapidissima diffusione di tau nel cervello e una dettagliata analisi di tali proteine è fondamentale al fine di comprendere meglio il decorso della malattia e lo stadio in cui già si trova il paziente. Velocemente, i neuroni danneggiati da tali nocive proteine in agglomerati muoiono, portando ad un'inesorabile degradazione dei tessuti cerebrali, i quali si atrofizzano e non permettono più alle diverse regioni di comunicare adeguatamente tra loro: le connessioni sinaptiche vengono meno, le cellule microgliali responsabili dell'eliminazione dei detriti neuronali non funzionano e ciò che resta è un ridotto numero di neuroni e una crescente incapacità nella trasmissione dei loro messaggi elettrochimici (Albert et al., 2011). Ciò dà luogo ad una lunga e progressiva cascata di meccanismi trasmettitoriali disfunzionali che si ampliano portando ad una considerevole atrofia della sostanza grigia, la quale è ben visibile da una semplice TAC, che sfrutta i raggi X consentendo di localizzare rapidamente le regioni più colpite e quelle ancora piuttosto intatte (fig. 3). Nelle malattie neurodegenerative, generalmente, il cervello presenta una maggior atrofia posteriore, in particolar modo nel precuneo o nel lobo parietale, che si estenderà nelle ultime fasi della malattia anche in quelle più anteriori.

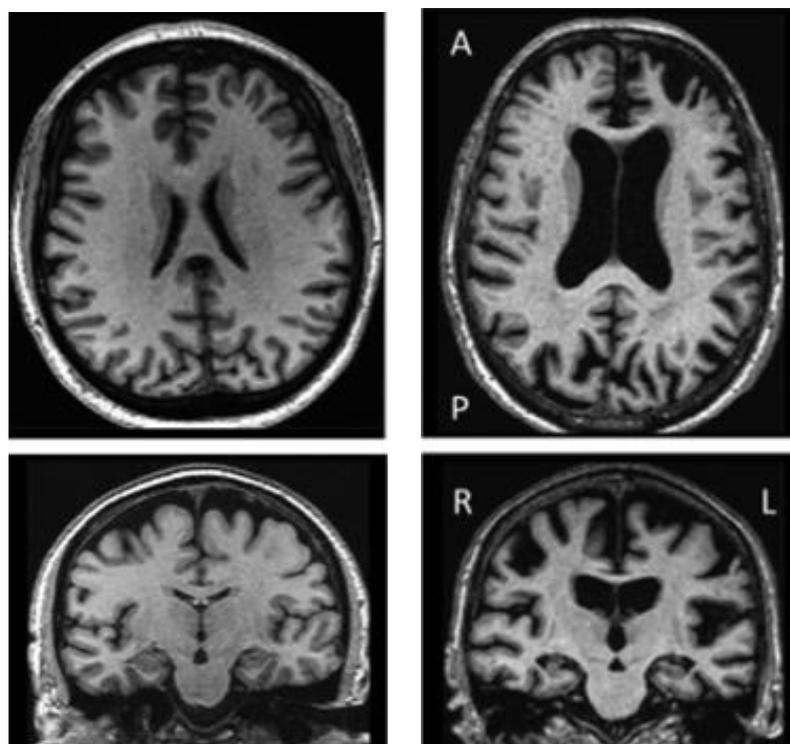


Fig. 3: Tagli assiale (sopra) e coronale (sotto) in cui si mostra l'evidente atrofia cerebrale confrontando un soggetto sano (a sinistra) e con un paziente con malattia di Alzheimer. (Ferreira et al., 2017).

Naturalmente, tali marcatori non sono da considerarsi gli unici in grado di dare informazioni fisiopatologiche sulla malattia, in quanto gli esami poco invasivi a cui solitamente sono somministrati i pazienti, sono spesso grossolani e sono ancora in corso particolari studi per accentuare le specificità caratterizzanti il cervello che sta sviluppando AD: gli esami che analizzano i *biomarkers* liquorali e i test genetici sono più sicuri e dettagliati, ma sono considerati eccessivamente invasivi, costosi e vengono per questo effettuati in rari casi. Dal punto di vista genetico, sebbene la malattia di Alzheimer sia determinata solo nell'1-3% dei casi, sono stati identificati certi geni che potrebbero essere coinvolti: ad oggi di tutte le variazioni genetiche associate ad AD, solo tre sembrano essere parte della causa della patologia e qualora un soggetto ereditasse la versione alterata dei geni APP, PSEN1 (più frequente) oppure PSEN2, si è evidenziato ci sia alta probabilità che l'esordio avvenga circa a 65 anni d'età o talvolta molto prima. Nelle forme sporadiche di AD, ovvero dove la patologia non è geneticamente determinata, il principale fattore di rischio è rappresentato dall'isoforma ε4 (epsilon 4) del gene APOE, il quale può presentare diverse varianti alleliche e qualora ci sia omozigosi (condizione per quale la coppia di alleli è identica) esiste un'alta percentuale di probabilità di sviluppo. È bene precisare che le forme genetiche rappresentano circa l'1% di adulti che sviluppano la AD e rappresentano una condizione molto rara nei late-onset, ossia nei pazienti al di sopra dei 65 anni di età; mentre è più frequente nei pazienti più giovani (5-10%).

Questi appena descritti sono fattori di rischio per lo sviluppo della malattia di Alzheimer, tra i quali in particolar modo spicca la vulnerabilità genetica, sebbene non sia stato individuato un gene specifico coinvolto nella sua trasmissione generazionale. In altre parole, non esiste un gene per così dire malato o difettoso che se posseduto provoca inequivocabilmente l'esordio di una malattia, ma esistono forme alterate di geni che con una probabilità non assoluta potrebbero aumentare il rischio dei tipici sintomi della AD. Occorre tenere a mente, però, che circa nel 99% dei casi la AD è sporadica, ovvero non determinata dalla mutazione di un unico gene, ma da una causa multifattoriale. La variante di demenza con la percentuale più alta di contributo genetico al suo esordio è quella fronto-temporale, caratterizzata da sintomi in particolar modo comportamentali, come un comportamento esageratamente disinibito o inappropriato, e un coinvolgimento di più geni. La maggioranza delle malattie senza una solida base genetica presenta alquanto fattori di rischio, che possono riferirsi anche a comportamenti messi in atto dal paziente volontariamente o all'aver subito esperienze avverse, in

grado di incrementare la probabilità che la malattia esordisca e si manifesti nel corso della propria vita. Altri esempi di *risk factors* per l'AD sono malattie vascolari, quali diabete, ipertensione, che a loro volta causano problematiche cardiovascolari e obesità. Quest'ultimo fattore può essere legato anche ad una ridotta attività fisica, la quale ha svariati effetti negativi sia fisici che psicologici. Dal punto di vista maggiormente psicologico (con ricadute comunque sul versante fisico, essendo strettamente collegati gli aspetti psicologici e fisici) è un fattore di rischio l'aver avuto una diagnosi di un disturbo dell'umore, come la depressione, o di un disturbo correlato all'ansia, come quello post-traumatico da stress (Atri, 2019). L'aver vissuto un'infanzia con abusi e maltrattamenti è certamente un fattore di rischio elevato. Il dato da tenere in considerazione è che non tutti coloro che presentano certi fattori di rischio vedranno l'esordio di una specifica patologia da adulti o anziani, ma la percentuale di coloro che hanno una diagnosi ne ha sicuramente alcuni tra quelli descritti.

Quelli che sono chiamati, al contrario, fattori protettivi sono elementi che, se incontrati dal paziente durante la sua vita, potrebbero (di nuovo, solo con una certa probabilità e non nella totalità dei pazienti) diminuire il rischio di sviluppare l'Alzheimer; ritenuto essere uno tra i più rilevanti, non solo per la riduzione del rischio della malattia che stiamo trattando, ma anche per molti altri disturbi, quali psichiatrici, è l'alta riserva cerebrale e cognitiva: con riserva cerebrale s'intende una condizione per cui il cervello possiede una certa resilienza per fronteggiare l'esordio di una malattia ed esiste, naturalmente, una enorme variabilità interindividuale, poiché ci si riferisce ad oggettive differenze nel funzionamento biologico e neurochimico tra un cervello e l'altro; mentre quella cognitiva si avvicina più a come il soggetto sopporta le situazioni ansiogene o stressogene nel quotidiano, grazie all'uso di strategie adattative. Fa parte della riserva cognitiva anche il livello di scolarità: è dimostrato che coloro che hanno terminato la scuola secondaria di secondo grado o che possiedono una laurea, hanno un più basso rischio di sviluppare malattie mentali neurodegenerative, come la demenza. Ciò non significa che chi ha una laurea risulta essere immune da demenze o altri disturbi psichiatrici, ma ci riferiamo ad un'inferiore vulnerabilità nel loro sviluppo o alla possibilità che l'esordio avvenga più avanti nel tempo. Nello specifico, si evidenzia un rischio di 2,2 volte maggiore di sviluppare AD in coloro che hanno meno di 8 anni di scolarità rispetto a chi ha studiato per 8 o più anni, e ricerche evidenziano che gli studenti universitari, rispetto a coloro che hanno abbandonato gli studi obbligatori, hanno una percentuale significativamente minore di diagnosi di psicopatologie o un esordio più tardivo di malattie neurodegenerative in età avanzata (Atri, 2019). Il medesimo dato è

equivalente in coloro che hanno un'occupazione lavorativa di basso livello, confrontati con individui con una posizione lavorativa più alta, in cui il lavoratore si trova ad avere maggiori responsabilità, a cooperare in *team* o avere necessità di parlare più lingue e interfacciarsi con un sistema lavorativo più complesso e dinamico. Un'altra componente notevolmente rilevante per accrescere ed arricchire la nostra riserva cognitiva è impegnarsi in attività di svago, quali eseguire attività fisica regolarmente, stare a contatto con la natura, fare volontariato, seguire corsi per imparare a suonare uno strumento musicale, o creare con il legno, l'argilla o curare un orto. I soggetti interessati in una o più delle precedenti attività hanno un 38% di rischio in meno di sviluppare la demenza, rispetto a chi non si intrattiene in nessuna pratica di svago e attività motoria. Difatti, grazie a dati come questi è stato possibile incrementare diversi tipi di trattamento cognitivo-comportamentale con pazienti affetti da Alzheimer, al fine di predisporli nell'esecuzione di alcune di tali attività, dimostrate avere un effetto protettivo anche nei soggetti più anziani: nella clinica, uno degli approcci che si è ritenuto essere più efficace è l'esercizio aerobico, il quale aumenta la capacità respiratoria e la riserva cognitiva (Stern, 2012).

### **1.3 Secondo stadio clinico: Mild Cognitive Impairment e conclamata Demenza di Alzheimer**

Qualora la cascata di alterazioni neurotrasmettitoriali e biochimiche non si arrestasse, il paziente può entrare in quella che è la seconda fase che sul continuum della malattia di Alzheimer si colloca a metà strada, in cui la sintomatologia è evidente, in particolar modo concernente problematiche mnestiche, ma non eccessivamente grave da interferire con lo svolgimento di mansioni domestiche o con la cura e igiene di sé. Gradualmente, l'accumulo di proteine beta-amiloidi che formano le placche extracellulari potrebbe incrementare, tale da determinare una serie di sintomi più chiari e definibili rispetto allo stadio preclinico, ma il cervello (e, di conseguenza, il quadro clinico) non presenta neanche la situazione atrofica molto severa che descriveremo nell'ultimo stadio di demenza. Tale stadio viene chiamato "Mild Cognitive Impairment" (MCI) o, in italiano, può essere tradotto con "disturbo cognitivo lieve" e ne vediamo ora i criteri. Il primo riguarda la preoccupazione, da parte generalmente di un familiare, circa un cambiamento nella performance cognitiva, che appare essere ridotta rispetto al precedente livello cognitivo del paziente. Potrebbe esserci un deficit lieve in uno o più domini, che non ci si aspetterebbe da un altro soggetto della stessa età e con il medesimo livello

di scolarità. Spesso i pazienti con MCI mostrano alcune difficoltà in faccende pratiche, precedentemente considerate ed eseguite con molta facilità e autonomia: tali difficoltà potrebbero riguardare la necessità di avere più tempo per terminare certi compiti, o il commettere maggiori errori, nonostante però -e qui annunciamo il secondo criterio diagnostico- rimangono perfettamente in grado di funzionare in maniera corretta ed efficiente senza un aiuto costante da parte di un familiare, elemento cardine che caratterizza la fase successiva del continuum. Difatti, come terzo criterio, incontriamo l'esclusione degli specifici criteri per la demenza, tenendo in considerazione, in simultanea, la presenza di uno stato lievemente patologico. Tipicamente, i pazienti diagnosticati con MCI presentano punteggi agli screening cognitivi circa 1 o 1.5 deviazioni standard sotto la media dei soggetti di controllo (Albert et al., 2011). Molti dei test a cui vengono sottoposti concernono la valutazione della memoria a breve termine, l'attenzione o le abilità spaziali.

Uno dei fattori di rischio di sviluppo del MCI è, come si è affermato anche per la diagnosi di conclamata malattia di Alzheimer, una mutazione nei geni APP, PSEN1 o PSEN2 che aumenta notevolmente la probabilità che il soggetto cominci a manifestare un quadro clinico legato alla condizione di lieve deficit cognitivo e che questo possa essere una fase antecedente all'esordio di AD. In molti casi, difatti, la maggioranza degli individui con tali geni nella loro forma alterata, sviluppano la demenza di Alzheimer precoce, ossia prima dei 65 anni d'età. La presenza, invece, della forma mutata del gene APOE in omozigosi aumenta il rischio di AD tardiva, ovvero un esordio successivo ai 65 anni del paziente. Perdi più, occorre ricordare che è altamente probabile che nei soggetti diagnosticati con MCI e possessori del gene alterato APOE il quadro clinico si aggravi nel giro di pochi anni, sfociando rapidamente nella demenza di Alzheimer, in confronto ai pazienti -con MCI- che non sono, però, possessori di tale specificità genetica.

Il Mild Cognitive Impairment può rappresentare unicamente uno stato di lieve deficit cognitivo, il quale potrebbe progredire ulteriormente, sfociando in una demenza non di tipo Alzheimer, come la variante fronto-temporale o corpi di Lewy, oppure può essere definito come una fase all'interno del continuum sul cui polo estremo destro collochiamo la demenza Alzheimer. In particolar modo, la maggioranza dei pazienti con un quadro amnesico, ovvero aventi difficoltà evidenti nella memoria a

breve termine ed episodica recente, possiede un MCI con un probabile decorso neurodegenerativo, finendo per confluire, così, nella terza fase caratterizzata da una sintomatologia alquanto severa. Dall'altro lato, in un soggetto che non presenta un MCI amnesico, la probabilità che tale stadio sfoci nella AD si abbassa notevolmente. La diagnosi di MCI non amnesico è caratterizzata da deficit in altri domini, diversi dall'alterazione del funzionamento dei magazzini mnemonici, come il linguaggio, l'orientamento visuo-spaziale o le funzioni esecutive. Questi ultimi ambiti appartengono alla più globale sfera dell'abilità cognitiva di ognuno di noi, la quale è fisiologico presentare un graduale declino con il passare del tempo: così come in condizioni di normale invecchiamento, anche nello sviluppo della demenza, i primi sintomi emergono a poco a poco, rendendosi sempre più accentuati agli occhi dei familiari, particolarmente nelle fasi più severe. Nel deficit lieve cognitivo, il cambiamento peggiorativo appartenente alla memoria, o alla capacità di ragionamento e giudizio o linguistiche sono maggiormente marcate rispetto al normale declino, ma non eccessivamente gravi come quelle che vengono riscontrate in pazienti con demenza, tali per cui questi ultimi hanno difficoltà a mettere in atto la quasi totalità delle mansioni e attività quotidiane, incluso il mantenimento delle relazioni interpersonali (fig. 4). È importante tenere a mente che la demenza mostra una sintomatologia che deriva sempre da una forma più sfumata e meno preoccupante, quale è il MCI, ma come abbiamo detto poc'anzi, quest'ultimo stadio non si riversa necessariamente nella demenza di Alzheimer. Il MCI amnesico e non amnesico possono entrambi essere classificati, inoltre, come a singolo dominio e a multi-dominio: se un paziente avesse un MCI amnesico multi-dominio, oltre che difficoltà alla memoria, potrebbe riportare anche deficit alle capacità linguistiche o attentive; oppure, un soggetto con MCI non amnesico a singolo dominio potrebbe presentare alti punteggi nei test sulla memoria, ma avere punteggi sotto la media nei test sull'orientamento visuo-spaziale.

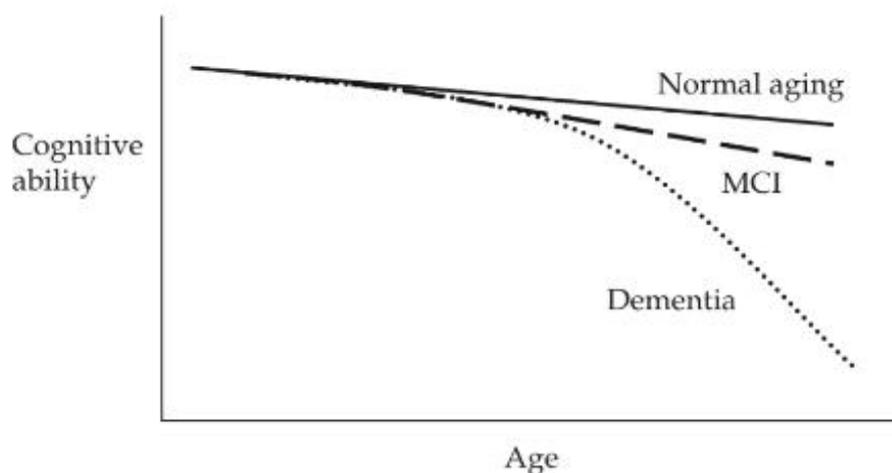


Fig. 4: Si raffigura il decorso delle abilità cognitive che subiscono un declino nel soggetto sano che invecchia, in un paziente con diagnosi di MCI ed in un paziente affetto da demenza, in funzione dell'età che avanza (Anderson, N., Murphy, K.J. & Troyer, A.K. 2012).

La malattia di Alzheimer può risultare da tutte e quattro le varianti di MCI, con la sola differenza che dove qualora ci fosse diagnosi di MCI amnestico, spesso tra le condizioni psichiatriche, potrebbero essere presenti anche stati depressivi. Inoltre, è interessante prestare attenzione ai biomarcatori relativi alla proteina Tau e beta-amiloide, poiché se nessuno dei due è presente (valutando ciò attraverso l'esame PET), allora la diagnosi per AD risulta essere notevolmente incerta, mentre se sono presenti unicamente le placche amiloidi oppure proteina tau, allora il livello di certezza con cui si eseguirebbe la diagnosi risulta essere intermedia; se, infine, entrambe sono positive, esiste un'alta probabilità. In quest'ultimo caso, sebbene il paziente potrebbe non avere un particolare declino manifesto e allarmante per i familiari, il risultato della PET è considerato un buon indicatore per il principio di demenza, o meglio, per quella che si chiama fase preclinica (Petersen, 2016). È da tenere sempre in considerazione, comunque, che non tutti i pazienti con diagnosi di MCI riceveranno anche in seguito una diagnosi di AD e, proprio per questo motivo, la condizione di deficit cognitivo lieve non riflette né predice un continuo peggioramento nel funzionamento globale dell'individuo, ma rimanda unicamente ad un cambiamento *parziale* nella personalità del soggetto e nelle sue modalità di interagire col mondo (le quali risultano essere ugualmente funzionali e adattative).

Soffermandosi più dettagliatamente sul MCI amnesico, i criteri che i soggetti devono soddisfare per la sua diagnosi sono i seguenti:

1. Consapevolezza soggettiva di avere difficoltà mnestiche
2. Oggettivo deficit mnestico per l'età del paziente
3. Assenza di un globale deficit cognitivo
4. Funzionamento generale largamente intatto
5. Assenza di demenza

Innanzitutto, il paziente comincia a lamentare difficoltà a ricordare appuntamenti, nomi o la localizzazione di oggetti che precedentemente ha spostato o riposto in casa propria: si inizia, dunque, a scrivere su *post-it* parole chiave per facilitare il recupero e non dimenticare di eseguire importanti compiti quotidiani o di fare specifiche commissioni. È una consapevolezza che nasce gradualmente, e s'instaura sempre più col passare del tempo e con l'aggravarsi della difficoltà. Specialmente se il paziente è piuttosto giovane, queste ultime sono ritenute essere la conseguenza di periodi stressogeni, ma purtroppo accade che si necessiti in misura sempre maggiore di un aiuto e supporto esterno per ricordare impegni o numeri di telefono. Con specifici test che il clinico somministra si è in grado di rendere oggettivo il deficit mnestico, il quale può avere differenti gravità, confrontando la performance rispetto ai punteggi normativi di controlli con la medesima età del paziente. La memoria è caratterizzata da tre principali processi: *encoding*, ovvero la codifica, *storage*, cioè l'immagazzinamento e infine il recupero. La codifica è il meccanismo che permette a una qualsiasi informazione visiva, uditiva o appartenente ad un'altra modalità sensoriale, di entrare all'interno del primo magazzino mnestico a breve termine: più il soggetto mostra concentrazione e attenzione durante la codifica di ciò che desidera memorizzare, più la traccia mnestica si solidificherà e diventerà resistente ad interferenze. Se, ad esempio, occorre imparare una lista di 10 parole, maggiore sarà il tempo di studio e di reiterazione delle stesse, più aumenterà la probabilità che esse scivolino all'interno del magazzino a lungo termine, immagazzinandosi per un certo periodo di tempo: da circa 1 minuto a, potenzialmente, tutta la vita. È fondamentale, per mantenere salde e robuste le informazioni importanti per noi, creare collegamenti tra ciò che di nuovo si è imparato e ciò che già giace dentro la nostra memoria, affinché possa essere, quando necessario, recuperato nel modo più facile e veloce possibile. È proprio il recupero ad essere l'obiettivo ultimo della memoria: se non

fossimo capaci di riportare in superficie nulla di quello che abbiamo in passato fatto, visto o ascoltato, non avrebbe senso, in primo luogo, codificare e immagazzinare informazioni, spendendo, tra l'altro, una grande quantità di energie e risorse cognitive. A risultare particolarmente alterato nei pazienti con MCI è il meccanismo che contribuisce a trasformare l'informazione con la quale si è appena entrati in contatto in una traccia mnestica solida che viene immagazzinata per un determinato lasso di tempo. Questo essenziale passaggio coinvolge in particolar modo le aree temporo-mesiali, ossia le prime regioni che nei pazienti in cui la demenza gradualmente esordisce e si manifesta, risultano essere danneggiate.

I pazienti diagnosticati con un MCI amnesico necessitano di vedere soddisfatto anche il criterio relativo ad una mancanza di deficit cognitivo globale: eccetto la memoria che si presenta inefficiente, altre abilità quali le funzioni linguistiche, attentive, visuo-spaziali risultano essere integre e correttamente funzionanti. Il soggetto, per questo motivo, possiamo ipotizzare mostri, negli screening cognitivi, punteggi nella norma e simili a quelli di un campione di soggetti sani con il medesimo livello di scolarità e la medesima età del paziente analizzato. Quest'ultimo presenta, inoltre, autonomia nello svolgimento di tutte le attività quotidiane senza gravi ed evidenti interferenze e grande indipendenza che gli consente di contare su sé stesso nel preparare da mangiare, pagare bollette o prendere mezzi di trasporto pubblici, permettendo alla sua vita di continuare ad essere globalmente funzionante. Al clinico, solitamente, preme chiedere informazioni concernenti il modo di vivere del paziente e le lacune che sono sorte recentemente ad un membro stretto della sua famiglia, il quale in genere è rappresentato dal coniuge o da un figlio, che è bene lo accompagni alle visite. È fondamentale avere, oltre il resoconto personale e soggettivo del soggetto stesso, anche di una persona che lo conosce profondamente e in grado di essersi accorta di piccoli cambiamenti in specifici domini cognitivi: arrivando all'ultimo ma non meno importante criterio, il medico dovrà valutare che il paziente non abbia, in quel dato momento, nessun criterio soddisfatto per la diagnosi di demenza, la quale si differenzia e distacca considerevolmente dalla condizione di MCI per l'autonomia quotidiana tanto scarsa da essere indispensabile l'aiuto parziale o completo di un caregiver.

Qualora il paziente raggiungesse lo stadio finale della patologia di Alzheimer, la sintomatologia risulta essere notevolmente grave all'interno di tutti i domini: a livello comportamentale accresce in maniera estrema, seppur sempre graduale, l'incapacità di prendersi cura autonomamente di sé, richiedendo il necessario supporto e aiuto fisico da parte di uno o più *caregivers*, così come peggiora in maniera piuttosto chiara a familiari e medici l'inadeguatezza degli atteggiamenti nei confronti di sé, degli altri e di ciò che sta attorno; dal punto di vista cognitivo-emozionale, l'autocontrollo delle proprie emozioni è grandemente debole ed alterato, con la presenza di intensa irritabilità e scatti di ira o intolleranza incontrollata. Tali severi sintomi, nella terza fase della AD, sono determinati da un profondo processo atrofico a carico di quasi tutto il cervello, che, come descritto precedentemente, comincia nelle regioni più posteriori, per poi diffondersi infine sino ai lobi frontali, i quali sono ritenuti essere di fondamentale importanza per la gestione adeguata dei propri comportamenti, movimenti a seconda del contesto in cui si è collocati, inibendoli quando necessario e controllando l'espressione emozionale.

La memoria è, chiaramente, uno dei primissimi segnali che lo sviluppo di tale malattia neurodegenerativa sia in corso, e in particolare alla fine degli stadi, è gravemente alterata portando il paziente a non riconoscere più le persone un tempo conosciute e i familiari, dimenticandosi parti essenziali di sé e della propria vita, mostrando in contemporanea un critico disorientamento spaziotemporale (Klimova et al., 2015). L'atrofia progressiva provoca costante morte cellulare ormai abbondantemente diffusa, con un picco di placche amiloidi e grovigli neurofibrillari che interrompono quasi totalmente il corretto funzionamento cerebrali in tutte le aree. Quanto più la densità di questi ultimi due biomarcatori aumenta, tanto più l'indice di atrofia si amplia, correlando con essa positivamente: inizialmente appaiono perlopiù nei lobi temporali dove risiedono ippocampo e corteccia entorinale (intensamente coinvolti anche nei primi stadi della patologia), per poi infiltrarsi nelle regioni parietali, occipitali, ed infine per diffondersi, in larga parte, in quelle frontali. Nella conclamata demenza di Alzheimer si arriva ad avere deterioramento nella trasmissione del segnale e morte assonale come conseguenze primarie, le quali sono associate inoltre ad intense implicazioni a carico del controllo motorio, comportamento, funzioni esecutive e mnestiche. Dal punto di vista strutturale, da studi di MRI si nota chiaramente, a causa dell'abbondante neurodegenerazione, anche una considerevole perdita del volume cerebrale, accompagnato da assottigliamento dei solchi (in

particolar modo risultano essere maggiormente sottili le aree temporali e frontali, rispetto alle occipitali) e significativo allargamento dei ventricoli (Blinkouskaya & Weickenmeier, 2021). Cambiamenti morfologici, questi, che possono avvenire anche in un lasso di tempo relativamente piccolo e che sono molto evidenti nel cervello di un paziente nella fase severa di AD (fig. 5). Difatti, oltre l'atrofia ippocampale descritta abbondantemente nel paragrafo precedente, anche l'assottigliamento corticale e i ventricoli allargati (e conseguente eccessiva diffusione di liquor) sono considerati essere predittori della malattia di Alzheimer. Quest'ultima alterazione avviene anche nel cervello sano durante il normale invecchiamento, ma nella AD l'espansione ventricolare accresce più del doppio di quanto succeda nella condizione non patologica.

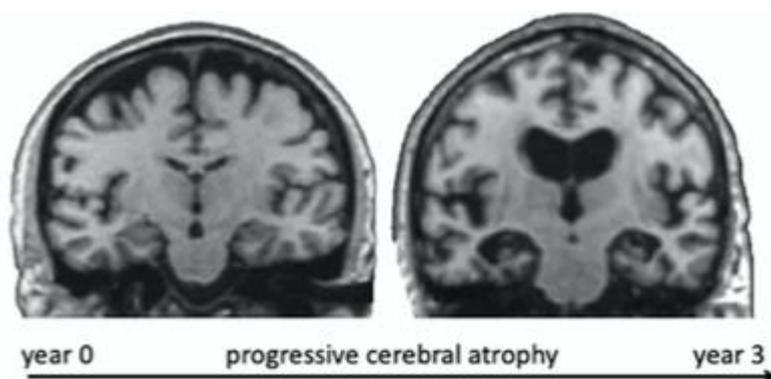


Fig. 5: Atrofia a cui il cervello con Alzheimer va incontro anche nel giro di pochi anni: i cambiamenti morfologici più evidenti sono l'allargamento eccessivo ventricolare, l'assottigliamento corticale e l'allargamento dei solchi cerebrali. (Blinkouskaya & Weickenmeier, 2021).

Inoltre, anche un cervello sano va incontro progressivamente ad atrofia e può presentare, da anziano, placche di beta-amiloide in varie regioni cerebrali come le frontali, la corteccia entorinale o l'ippocampo, ma in un cervello affetto da Alzheimer queste ultime insieme alla presenza di eccessiva proteina tau indicante un decorso neurodegenerativo, hanno effetti estremamente dannosi sull'intera morfologia e sui processi neurochimici cerebrali.

#### **1.4 Atrofia dell'ippocampo nei pazienti diagnosticati con MCI o AD**

L'ippocampo è una fondamentale struttura deputata alla memoria, con strette connessioni a svariate altre regioni cerebrali, ma in particolar modo presenta un'essenziale associazione con un'ulteriore struttura appartenente ai lobi temporali mediali (MTL), l'amigdala. Nella malattia di Alzheimer, già dalle prime fasi, come già descritto, l'alterazione della memoria è uno dei primi sintomi a comparire e che cominciano a preoccupare il paziente stesso così come i familiari. Deve, pertanto, esserci una forte relazione tra tale sintomatologia e la struttura cerebrale cardine coinvolta nei processi mnestici. Dapprima gli studi sull'analisi strutturale e funzionale dell'ippocampo sui soggetti sani hanno portato i ricercatori a possedere una quantità di informazioni tale da poter volgere lo sguardo anche ai pazienti, come quelli affetti da malattia di Alzheimer, i quali, per l'appunto, mostrano un ippocampo atrofico e rappresentano la categoria di pazienti più studiata avente disfunzionalità ippocampale. Occorre precisare, però, che l'atrofia ippocampale si trova in una vasta serie di condizioni patologiche e non può pertanto essere considerata un marcatore esclusivo della AD: un esempio è la demenza vascolare, che è considerata una demenza secondaria, la quale dal punto di vista fisiopatologico presenta come quella di Alzheimer una grande perdita neuronale in specifiche regioni dell'ippocampo (de Flores et al., 2017).

Dalla seconda metà del secolo scorso, gli studi su questa struttura hanno iniziato a proliferare considerevolmente, consentendo di incrementare le conoscenze rendendole sempre più dettagliate: innanzitutto, attraverso metodiche sofisticate quali la risonanza magnetica funzionale (fMRI), si è stati in grado di dare un profondo sguardo alla sua complessa struttura. L'ippocampo è, difatti, costituito da diverse parti, chiamate sottocampi, CA1, CA2, CA3, CA4, dal subicolo e dal giro dentato (fig. 6). Quest'ultimo ed il sottocampo CA4 sono le sue regioni più profonde e solitamente, nella malattia di Alzheimer, sono anche le ultime ad essere il target del denso accumulo di proteina tau. Il primo bersaglio, al contrario, sembra essere il sottocampo CA1, il quale, inoltre, si osserva mostrare una significativa perdita neuronale sempre maggiore nella AD (circa del 29% nei pazienti nell'iniziale stadio di Alzheimer, fino ad arrivare al 38% in coloro che si collocano nella fase finale di demenza severa). Le proteine tau e beta-amiloide si depositano abbondantemente nel primo sottocampo già dallo stadio iniziale, per poi diffondersi in maniera graduale con la progressione della patologia a

tutto il resto dell'ippocampo, rendendolo atrofico quasi totalmente nella fase più avanzata della demenza (de Flores et al., 2017). I sottocampi CA2/3 sembrano, invece, essere relativamente risparmiati e non giocare un evidente ruolo nella fisiopatologia della prima fase di AD (Moon et al., 2018). La morte neuronale con conseguente atrofia correla significativamente con la densità del deposito di grovigli neurofibrillari all'interno dell'ippocampo e occorre ricordare che il volume sembra già essere ridotto del 23% rispetto ai controlli di pari età nella fase preclinica (vale a dire, anche un decennio prima della diagnosi di demenza).

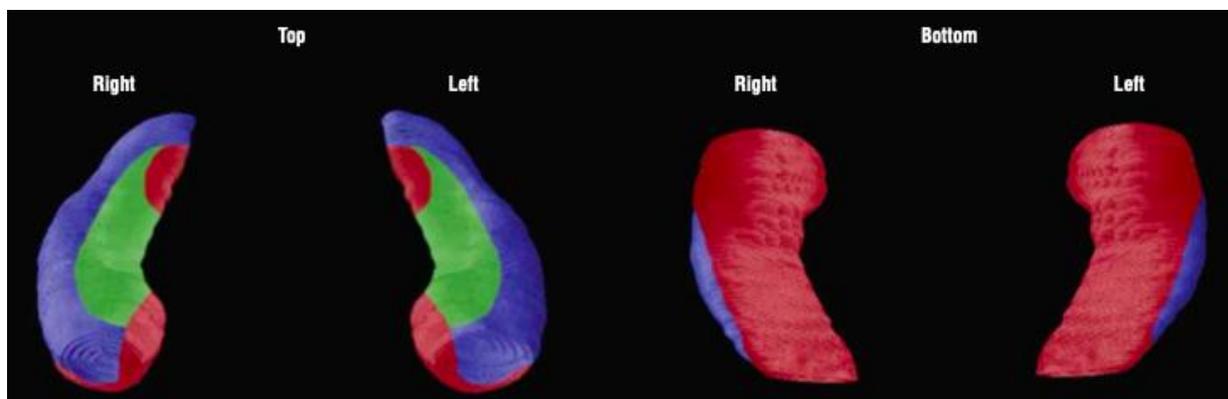


Fig. 6: Rappresentazione della struttura ippocampale e relative regioni, mappate sulla sua superficie: sottocampo CA1 in blu, sottocampi CA2/3 in verde ed il subicolo in rosso. (Apostolova et al., 2006).

Generalmente, il volume ippocampale si riduce annualmente del 4% circa in pazienti con la demenza di Alzheimer; per questo motivo, se questo si riduce più del 3% l'anno in coloro che sono affetti da MCI, il rischio di passaggio a AD è considerevolmente alto (Moon et al., 2018). I pazienti, inoltre, che da una condizione di MCI peggiorano e scivolano sfortunatamente allo stadio più grave di demenza di Alzheimer hanno un volume ippocampale più piccolo e un'atrofia in particolar modo evidente nel sottocampo CA1 e nel subicolo. Coloro che, al contrario, mostrano un volume nella norma e una relativa preservazione dei suoi sottocampi, presentano una minor probabilità di sviluppare, successivamente al MCI, la demenza (Apostolova et al., 2006).

Il cambiamento nel volume dell'ippocampo è considerato essere, pertanto, un indicatore molto valido e affidabile per la diagnosi di AD, in particolare nei pazienti più giovani (<65 anni). Nello specifico, studi dimostrano che una significativa atrofia può essere in grado di predire quali pazienti con MCI abbiano un rischio maggiore che la loro diagnosi si converta in demenza di Alzheimer: ad esempio, è stato evidenziato che la perdita di volume dell'ippocampo sinistro, rispetto a quello destro, nei pazienti MCI portatori della mutazione del gene APOE è uno dei marcatori più usati per valutare la potenziale conversione in AD (Moon et al., 2018). Nei portatori di tale forma genetica (la quale rappresenta, come già anticipato, il maggior fattore di rischio nella variante sporadica di Alzheimer), inoltre, lo spessore corticale del subicolo è significativamente minore rispetto a coloro che non possiedono tale mutazione (de Flores et al., 2017).

Le diverse regioni da cui l'ippocampo è composto non è ancora chiaro in che modo siano connesse con la memoria (episodica in particolare) alla quale esso è deputato: nonostante ciò, studiosi sono stati in grado di mettere in luce una forte correlazione tra l'atrofia del CA1 con una scarsa performance nel processo di immagazzinamento e debole recupero in pazienti affetti da MCI amnesico e AD; contrariamente, la salute del giro dentato e sottocampo 3 non correlano significativamente con nessun aspetto mnestico specifico, potendo sostenere, ancora una volta, che queste ultime non sembrano essere parti ippocampali con un marcato ruolo nella fisiopatologia della Alzheimer. I pazienti che presentano un pattern notevolmente grave di accumulo di grovigli neurofibrillari in queste ultime regioni (coinvolgendo, però, gradualmente l'interezza dell'ippocampo nello stadio ultimo della demenza) e nella maggior parte del sistema limbico, generando un'abbondante atrofia nei lobi temporali mediali, possono essere collocati in uno specifico sottotipo di Alzheimer, chiamato *limbic-predominant AD*, nel quale il deposito più diffuso e rapido nel generarsi si nota nell'ippocampo, lasciando relativamente incontaminata la corteccia cerebrale: è in questo sottotipo della patologia che si riscontra il più pericoloso processo atrofico nelle regioni medio-temporali. È ragionevolmente coerente la scarsissima performance nei test concernenti la memoria in tali pazienti, rispetto ai soggetti collocati nei restanti due sottotipi di Alzheimer, di cui uno non riguardante l'atrofia ippocampale (Whitwell et al., 2012). Quest'ultimo sottotipo viene denominato *hippocampal-sparing AD* e mostra un pattern atrofico esattamente opposto a quello *limbic-predominant*, poiché la proteina tau si mostra maggiormente diffusa in corteccia in confronto

al sistema limbico, il quale mostra un volume di sostanza grigia significativamente superiore rispetto alla prima variante e al *typical AD* (fig. 7).

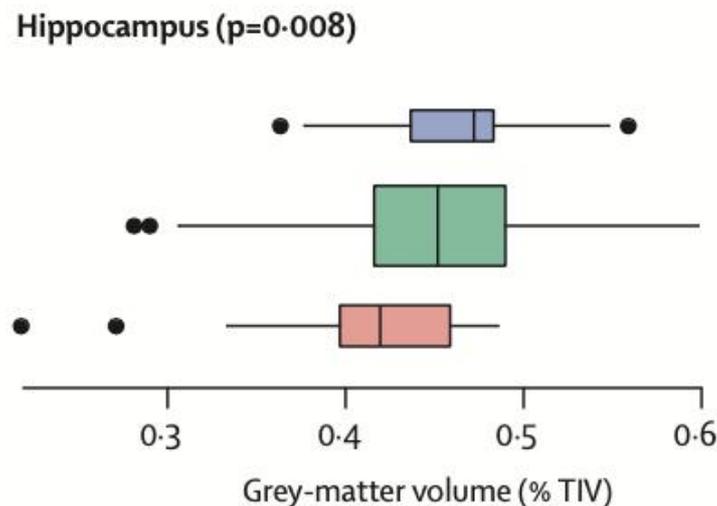


Fig. 7: Boxplot riguardanti il volume di sostanza grigia ippocampale nei 3 principali sottotipi di malattia di Alzheimer (hippocampal-sparing AD in blu, typical AD in verde e limbic-predominant in rosso). Si evidenzia un volume dell'ippocampo significativamente inferiore nel sottotipo concernente un'atrofia notevole nel sistema limbico rispetto ai restanti due, con un paio di outliers preoccupanti, collocati nella parte più bassa della scala. (Whitwell et al., 2012).

Oltre il severo quadro ippocampale nel *limbic-predominant AD*, l'atrofia è considerevolmente elevata anche all'interno di altre due strutture limbiche ad esso strettamente connesse, l'amigdala e la corteccia entorinale, le quali mostrano uno spessore corticale notevolmente sottile. I pazienti, al contrario, nei quali la perdita neuronale non interessa il sistema limbico tanto quanto quest'ultima variante, presentano un pattern alquanto grave principalmente nel lobo temporale posteriore, parietale inferiore e nel precuneo, con una maggior atrofia nell'emisfero destro. La forma tipica AD può essere considerata il sottotipo con il pattern atrofico più grave, caratterizzato da perdita neuronale abbondantemente diffusa nelle regioni posteriori, temporali estendendosi a quelle frontali, e presentando performance ai test neuropsicologici considerevolmente deficitarie. Un quadro molto simile è presente nei pazienti con la variante *limbic-predominant*, nella quale la grande perdita di sostanza grigia coinvolge in modo particolare i lobi medio-temporali danneggiando la maggior parte di strutture limbiche, deputate alla codifica e all'immagazzinamento di informazioni episodiche, visuo-spaziali e ricche in contenuto emozionale: i processi mnestici descritti nel precedente paragrafo,

difatti, risultano considerevolmente compromessi. Somministrando il test di screening cognitivo MMSE, che svizzeremo più in dettaglio in seguito, le cui scale valutano una lunga serie di funzioni cognitive, come l'orientamento, la memoria, l'attenzione ed il calcolo, il linguaggio, di nuovo si evidenziano punteggi patologici principalmente nel *typical AD* e nella variante con ampia atrofia nel sistema limbico, mentre leggermente superiori sono le prestazioni dei pazienti affetti dalla forma *hippocampal-sparing* (Ferreira et al., 2017).

# Capitolo 2 – Capacità imitativa in pazienti con diagnosi di Alzheimer e assessment neuropsicologico

## 2.1 La capacità imitativa nella malattia di Alzheimer

Un'enorme scoperta fatta ormai circa 30 anni fa, ha portato alla luce una nuova classe di neuroni aventi una caratteristica allora ancora sconosciuta, e che da quel momento in avanti è stata sotto i riflettori nel settore della ricerca in tutto il mondo. I neuroni specchio, come sono stati denominati da quando si sono approfondite le loro proprietà, è stato evidenziato scaricare sia quando si osserva un'azione, come una prensione di un oggetto, sia quando quella stessa azione la si esegue in prima persona. In altre parole, una medesima popolazione neuronale, non solamente si attiva se è il soggetto stesso a compiere un determinato movimento, ma anche qualora si vedesse quel movimento effettuato da un proprio simile, riciclando il substrato neurale in entrambe le circostanze ed accorciando le distanze tra ciò che si sa fare (poiché rientra nel proprio repertorio motorio) e ciò che si vede fare dall'altro (azione che si conosce e a cui si dà un significato). Il sistema specchio pare avere un coinvolgimento significativo all'interno della malattia di Alzheimer e MCI, di cui a breve descriveremo, in particolare, il ruolo ed attivazione nelle abilità imitative. Esistono molte varianti di neuroni specchio che nel macaco sono state notevolmente approfondite attraverso la registrazione di singoli neuroni (la quale non può essere effettuata sull'uomo), con una corrispondenza più o meno specifica riguardo all'azione osservata; alcuni scaricano nel momento in cui si vede l'altro raggiungere uno scopo (ad esempio, afferrare il cibo per mangiarlo, oppure per riporlo) indipendentemente dal movimento preciso che si esegue (apertura o chiusura delle dita) o dall'effettore utilizzato (mano o bocca). Certe popolazioni di neuroni specchio rispondono anche quando quell'azione non è totalmente osservata in modo esplicito, ma solo parzialmente (osservazione di una prensione con un pannello che ostacola la visione), o ancora quando l'azione non è vista, ma ascoltata (come il suono che la carta fa quando viene spezzata, o quando la nocciolina viene rotta). Riguardo agli atti motori parzialmente visti, occorre aggiungere un altro importante aspetto: l'intenzione. Il fatto che tali neuroni scarichino ugualmente, anche se al soggetto non è possibile vedere ciò che sta succedendo dietro la barriera, può far ipotizzare che questa rete neuronale

funzioni per codificare l'intenzionalità dell'altro nel mettere in atto una determinata azione, come afferrare una mela, che poco prima si è vista, ma che poi è stata coperta con un pannello nero (Umiltà et al., 2001). Nell'uomo, grazie a studi relativamente recenti, sembra essere presente un'organizzazione a catena di atti motori codificati da diverse regioni parieto-frontali, la quale sta alla base della comprensione dell'intenzionalità del nostro simile, così com'è stato messo in luce avvenire nel macaco. In uno studio di Cattaneo e collaboratori si indaga l'attivazione del muscolo miloioideo, deputato all'apertura della bocca, durante l'osservazione di un raggiungimento-afferramento con il fine di mangiare, ma non qualora il medesimo movimento preceda il piazzare in un contenitore l'oggetto o il pezzo di cibo, facendo presupporre che possa esistere un sistema in grado di predire l'altrui intenzione, ancor prima, logicamente, che l'obiettivo dell'azione venga raggiunto (Cattaneo et al., 2007).

Un'altra categoria di neuroni trovata nella scimmia risponde, invece, se l'azione compiuta da un altro individuo rimane nel proprio spazio peripersonale (con ciò s'intende lo spazio immediatamente attorno a noi, ossia quello dentro il quale possiamo agire con oggetti o nostri simili distendendo gli arti) o extrapersonale (ovvero, quello spazio lontano da noi, dal momento che, anche allungando gli arti superiori o inferiori, non siamo in grado di agire al suo interno. Ciò prevede, quindi, che il soggetto si sposti con alcune modalità di locomozione qualora lo si voglia raggiungere). La distanza tra chi osserva e chi agisce è assai rilevante per determinare un output adeguato, che esso sia di approccio, condivisione, o al contrario di allontanamento da qualcosa o qualcuno che potrebbe essere per noi nocivo. Qualunque sia la tipologia di codifica che ciascuna popolazione possiede, il circuito specchio, anche umano, è in grado di rappresentare scopi e possibilità d'azione sia che vengano eseguite in prima persona, o osservate in un altro individuo, reclutando le medesime rappresentazioni motorie e/o sensoriali, avvicinando ognuno di noi a quello che l'altro ha intenzione di effettuare, o a ciò che sta in quel momento provando o al significato della sua azione.

Nell'uomo alcune tra le principali aree appartenenti al circuito specchio (analizzato con tecniche naturalmente non invasive, le quali invece sono state utilizzate nel macaco dagli albori della loro scoperta, permettendo di studiarlo in modo nettamente più approfondito) sono, tra quelle collocate nel lobo frontale, il giro frontale inferiore (area che corrisponde nel macaco alla corteccia

premotoria ventrale F5), e all'interno del lobo parietale, il lobulo parietale inferiore, più dorsalmente nel solco intraparietale, così come la corteccia motoria primaria (M1) e diverse strutture limbiche, collocate nel lobo temporale, come l'ippocampo. Nei soggetti umani, contrariamente alle scimmie, i neuroni con proprietà specchio si attivano sia con interazioni costituite da un reale contatto tra la mano e un oggetto, sia qualora le azioni, ad esempio di afferramento, siano unicamente mimate in assenza dello stimolo fisico, facendo presupporre che siamo in grado di reclutare le stesse rappresentazioni che vengono usate nel primo caso, anche se l'oggetto non è presente, inferendo lo scopo dell'azione dell'agente. Nella fig. 8 troviamo la grande quantità di regioni cerebrali umane all'interno delle quali si collocano popolazioni neuronali con tali codifiche, includendo, oltre le aree che si possono considerare "classiche", anche quelle di più recente scoperta.

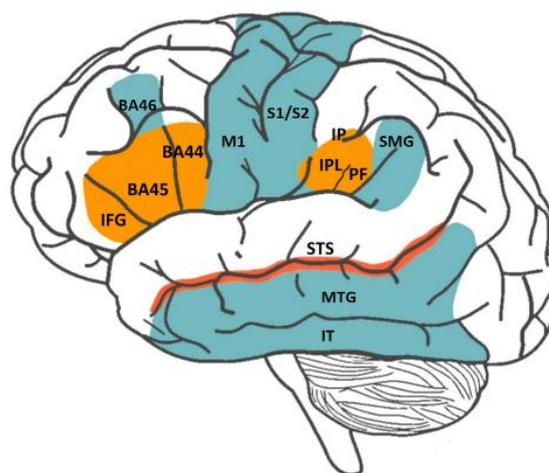


Fig. 8: Aree corticali dotate di proprietà specchio nell'uomo. Nel lobo frontale troviamo le aree di Brodmann 44, 45, il giro frontale inferiore (IFG), strettamente connesso, nel lobo parietale al lobulo parietale inferiore (IPL), mentre nel lobo temporale, una regione appartenente al circuito mirror è il solco temporale superiore (STS). (Farina et al., 2020).

Attraverso studi con risonanza magnetica funzionale sull'uomo, gli atti motori transitivi, ovvero dove è presente un'interazione tra mano e oggetto e in cui lo scopo può essere il mangiare, lo spostare, il lanciare o rompere quest'ultimo, sono stati trovati essere rappresentati maggiormente nel solco intraparietale (IPS), ed in particolar modo, il movimento di raggiungimento pare essere codificato nel lobulo parietale superiore, estendendosi ventralmente all'interno, di nuovo, del IPS.

Quelle che, invece, sono chiamate azioni intransitive non mostrano nessun oggetto con cui entrare in contatto, ma si riferiscono unicamente ad atti manuali senza un significato preciso oppure possono rappresentare delle pantomime (ad esempio mimare di raccogliere una mela e portarsela alla bocca, in assenza, però, della mela stessa) e sembrano contribuire alla loro codifica la parte più posteriore del giro sopramarginale e, posteriormente, il giro angolare. Infine, una codifica che risulta essere squisitamente umana è quella relativa all'osservazione di azioni eseguite tramite strumenti e utensili, che coinvolgono una ridotta regione nel lobo parietale, ossia la parte più rostrale del giro sopramarginale, la quale è collocata ventralmente alla regione che rappresenta gli atti motori dell'afferramento con la mano (Cattaneo e Rizzolatti, 2009). In breve, quindi, il sistema specchio umano è coinvolto nella comprensione degli scopi delle azioni altrui e delle intenzioni sottostanti, e ciò pare essere alla base dei processi di apprendimento osservativo e dell'imitazione, la quale rappresenta una capacità pienamente umana. C'è un abbondante numero di studi in letteratura che mettono in luce il fatto che le azioni e movimenti che accendono considerevolmente il nostro sistema specchio sono quelli appartenenti al repertorio motorio di ciascuno di noi: l'azione dell'avvicinare un pezzo di cibo per mangiare, sia che essa sia eseguita da un altro individuo o da una scimmia, attiverà in chi osserva un'elevata risonanza motoria; ma ciò non accade qualora il soggetto stia guardando un cane abbaiare, poiché tale azione non rientra nel suo repertorio motorio (Buccino et al., 2004): questo dato, pertanto, è in linea con quello che suggerisce che l'intensità di attivazione specchio correla positivamente con quanto familiari sono, per chi osserva, i movimenti osservati nell'altro. Una delle principali capacità scarsamente studiate del regno animale così come nell'uomo è l'imitazione, che consiste nel riprodurre nella maniera più fedele possibile ciò che si osserva, trascurando l'obiettivo finale. Al contrario, invece, quando si parla di emulazione si fa riferimento alla grande attenzione posta proprio sullo scopo dell'azione, ignorando la serie di passaggi necessari per raggiungerlo. La scimmia, ad esempio, è in grado di emulare un proprio simile o un umano, arrivando al medesimo traguardo, ma effettuando azioni intermedie totalmente differenti dal modello, usando, quindi, movimenti già noti e presenti nel proprio repertorio, tralasciando ciò che vede non essere familiare. Dal momento che l'abilità imitativa e l'attivazione specchio si ipotizzano essere alquanto deficitari nei pazienti affetti da Alzheimer, negli ultimi anni rilevanti studi si sono concentrati specificamente sulla integrità del network specchio nei pazienti affetti da AD e MCI. Il motivo principale per il quale si decide di valutare il sistema mirror correlandolo a problematiche cognitive più o meno lievi è perché recentemente è aumentato notevolmente l'interesse nei confronti del collegamento tra il

funzionamento delle aree parieto-frontali e l'esordio di demenze: è un'evidenza scientifica che graduali deficit motori in un individuo possano predire, anche di qualche anno, problemi cognitivi caratterizzanti ad esempio la malattia di Alzheimer. Ciò, quindi, porterebbe medici e ricercatori a spostare il focus dall'ambito unicamente cognitivo nel quale generalmente quest'ultima demenza viene collocata, ad un settore maggiormente motorio, il quale si presume possa essere alquanto rilevante nel declino degenerativo di funzioni come quelle esecutive o mnestiche. Difatti, nello studio del presente elaborato, che verrà esaminato nel successivo capitolo, si è cercato di mettere l'accento sulla performance motoria di tipo imitativa, relazionandola ai punteggi che ogni paziente (appartenente al sottocampione AD o MCI) ha ottenuto nello svolgimento di test neuropsicologici, che approfondiremo nel dettaglio all'interno del prossimo paragrafo.

La performance motoria concernente l'imitazione è stata indagata parecchio da diversi gruppi di ricercatori, e attraverso svariati paradigmi dove ciò che si osserva può essere sia un modello umano che pertanto esegue movimenti biologici, sia un modello per così dire artificiale, come un simbolo o una forma geometrica, che può muoversi in determinate direzioni sullo schermo da dover essere con l'effettore mano o braccio riprodotto. Questa seconda condizione è stata da molti utilizzata, denominandola talvolta *pointing movement experiment* (Bisio et al., 2012), chiedendo al partecipante di muovere, ad esempio, il braccio destro, al fine di imitare la traiettoria percorsa dallo stimolo osservato, una volta che quest'ultimo si fosse arrestato. Alcuni dei più rilevanti risultati su cui vale la pena soffermarsi riguardano, innanzitutto, il fatto che il picco massimo di velocità si mostra circa allo stesso momento sia nel gruppo di pazienti che in quello dei controlli, ma ciò che differisce significativamente è la continuità del movimento del braccio, considerevolmente alterata nei primi, e più omogenea nei secondi. In coloro che possiedono una diagnosi di AD il movimento appare, generalmente, a scatti ed irregolare. In altre parole, ai soggetti sperimentali occorre significativamente più tempo per imitare correttamente il movimento, rispetto ai partecipanti sani. Secondariamente, è importante mettere in luce il dato riguardante una correlazione positiva tra la velocità media e il punteggio sullo screening cognitivo: i soggetti sono, difatti, tanto più lenti quanto più la compromissione cognitiva risulta severa. Inoltre, punteggi bassi nella valutazione cognitiva sono talora presenti anche in pazienti che cominciano l'atto motorio in modo anticipato, mentre ancora il modello è in movimento, e in coloro che presentano una significativa lentezza durante la performance

motoria. Una rilevante differenza tra pazienti e controlli (dato, questo, che è largamente riportato in letteratura nei compiti motori) riguarda specificamente tala grande difficoltà (da parte dei primi) nell'aspettare che lo stimolo da imitare, qualunque esso sia, finisca di muoversi, prima di compiere l'atto motorio a loro volta: i pazienti tendono a cominciare il movimento mentre ancora lo stimolo si sta spostando da un punto all'altro dello schermo, deviando perciò dalla consegna che lo sperimentatore fornisce loro inizialmente. Questo è un fenomeno che si riferisce alla mancanza d'inibizione motoria, dal momento che si osserva spesso incapacità nell'inibire una risposta motoria a livello volontario. Può essere talvolta fondamentale indagare l'integrità della memoria di lavoro, siccome è lecito ipotizzare che l'anticipazione del movimento senza aspettare che lo stimolo abbia finito di muoversi da parte dei pazienti AD, sia effettuata a causa di un deficit nel memorizzare l'istruzione data dallo sperimentatore, ossia di ripetere ciò che si è osservato con l'arto superiore. È risultato essere chiaro, nello studio di Bisio (2012), che i pazienti sono in grado di percepire visivamente i cambiamenti nella velocità dello stimolo ed utilizzare questa informazione durante la loro performance d'imitazione: è quindi improbabile che l'ipotesi appena descritta sia valida.

Nella condizione in cui il modello da imitare sia umano, i risultati della performance nei pazienti affetti da Alzheimer non sembrano essere particolarmente differenti da quelli poc'anzi descritti. All'interno di un paradigma messo a punto, nuovamente, da Bisio e collaboratori (2016), il partecipante osserva un dimostratore umano, il quale mette in atto un movimento, che può presentare tre velocità diverse. Ciò che viene valutato è l'abilità nel rispettare la consegna presentata dallo sperimentatore, ossia aspettare che lo stimolo termini il proprio movimento per poter dare inizio alla propria imitazione. Se i soggetti sani riescono ad attendere la fine del movimento osservato sullo schermo, i pazienti AD presentano un'anticipazione significativa nel cominciare il movimento, dandogli inizio quando ancora il braccio del modello si sta muovendo. Un altro aspetto essenziale è l'accurata precisione sulla velocità: questa è totalmente mancante nel gruppo sperimentale. Leggermente migliore è la performance dei pazienti quando ad essere imitato è il dimostratore umano, rispetto ad uno stimolo non biologico e la differenza maggiore è ben evidente quando la velocità dell'umano aumenta: in tal caso, anche la performance del soggetto migliora ed è individuabile la capacità di aver discriminato le due tipologie di velocità, seppur l'imitazione sia ancora deficitaria rispetto ai controlli. Analizzando, ancora una volta, la relazione tra funzioni cognitive e performance,

è chiaro come quanto più il punteggio allo screening cognitivo è basso (in particolare nei pazienti con demenza, dove funzioni come il linguaggio, la memoria, orientamento spazio-temporale risultano essere sensibilmente compromesse), tanto più deficitaria è l'imitazione. In altre parole, la condizione cognitiva in cui l'individuo si trova riflette la propria performance di abilità imitativa.

Globalmente, nei compiti motori, anche in assenza di imitazione, i pazienti con demenza di Alzheimer mostrano un pattern di attivazione del circuito specchio considerevolmente diverso e alterato rispetto ai controlli, correlando positivamente con il processo atrofico progressivo e con funzioni cognitive deficitarie: campioni di pazienti con diagnosi AD con la richiesta di afferrare diverse tipologie di oggetti orientati secondo differenti angolazioni, presentano un quadro piuttosto grave, rispetto ai sani, nei quali si evidenzia un funzionante network specchio bilaterale; i soggetti con MCI, invece, rappresentano solitamente una via di mezzo tra i due campioni appena descritti, poiché seppur alcuni dei nodi principali del sistema specchio, come il solco temporale superiore, non scaricano, altre aree parieto-frontali risultano essere attivate, anche se le parietali mostrano talora una scarica qualitativamente inferiore rispetto al gruppo di anziani sani. I pazienti AD, inoltre, i quali performano, in generale, considerevolmente peggio di tutti gli altri partecipanti, controlli e con MCI, nei test neuropsicologici, mostrano un'attivazione cerebellare che si ipotizza possa rappresentare un meccanismo compensatorio al danno prefrontale e parietale (Farina et al., 2017); mentre i pazienti con MCI possiedono spesso una prestazione migliore, eccetto significative difficoltà in compiti concernenti la memoria episodica e la fluenza semantica, di cui vedremo a breve i più significativi e usati test che vengono usati per la loro valutazione. Per riassumere, è evidente una significativa alterazione nell'attivazione del sistema specchio in particolare nei pazienti AD, che confermerebbe un possibile collegamento tra il funzionamento motorio, inclusa la capacità imitativa, ed i processi neurodegenerativi.

## **2.2 Test neuropsicologici e valutazione delle funzioni cognitive in pazienti con AD**

Risulta essere di fondamentale importanza l'assessment neuropsicologico effettuato dal clinico nei confronti del paziente, al quale non è ancora stata fatta una diagnosi: l'assessment consiste in una valutazione considerevolmente approfondita in cui ci si serve di parecchi test standardizzati che indagano specifiche funzioni cognitive, quali il linguaggio, le differenti tipologie di memoria, l'orientamento spazio-temporale, l'attenzione e così via. Nella seguente sezione, descriviamo inizialmente due dei test di screening cognitivo più impiegati nei contesti clinico-diagnostici, i quali vengono facilmente somministrati in pochi minuti e sono utili per una valutazione di primo livello, che fornisce al clinico le necessarie informazioni circa la presenza o meno di un potenziale declino cognitivo ed il suo grado di severità. Entrambi valutano superficialmente un gran numero di abilità, che necessiterebbero di un'ulteriore indagine qualora presentassero prestazioni notevolmente deficitarie. In un secondo momento, ci si soffermerà sui test dominio-specifici, i quali, per l'appunto, vengono utilizzati al fine di indagare specificamente una precisa funzione cognitiva.

### **Mini Mental State Examination**

Uno dei test più utilizzati al fine di analizzare la qualità del declino di diversi domini cognitivi dei pazienti è il Mini Mental State Examination (MMSE), il quale è stato originariamente strutturato nel 1975 da Folstein come strumento di screening cognitivo. È, difatti, una batteria riguardante domande e compiti che ricoprono una varia gamma di funzioni: descriviamo, quindi, i primi item riguardanti l'orientamento temporale. Il soggetto dovrà rispondere circa il giorno, il mese, l'anno e la stagione in cui ci si trova in quel dato momento per indagare il fatto che abbia o meno un orientamento corretto e funzionante sul presente; per l'analisi di quello spaziale, le domande vertono sul luogo in cui sta avvenendo la visita, la città, regione e lo stato. Un altro dominio di fondamentale importanza che viene studiato è la memoria. Ricordiamo che tutte le domande per lo studio delle abilità cognitive che il MMSE indaga sono poche e rapide, con lo scopo di avere un primo assaggio delle principali informazioni su un eventuale declino e la sua entità. Se è confermato un decadimento di un certo livello, allora il medico o clinico si premurerà di somministrare ulteriori test specifici per le aree che sembrano essere particolarmente alterate e deficitarie, osservando i punteggi ottenuti in ciascuna

prova. Circa le funzioni mnestiche, ad esempio, si chiede al paziente di ripetere le tre parole pronunciate dallo sperimentatore, precisando che dovrà ricordarle per alcuni minuti, assegnando un punteggio da 0 a 3, a seconda di quante parole vengono recuperate. Nel frattempo, però, c'è una sezione di calcolo ed attenzione, nella quale il paziente è istruito a fare alcuni conti a mente a partire dal numero 100 a cui deve essere sottratto ogni volta 7; successivamente, dopo aver pronunciato una parola, si chiede di fare lo spelling (dire ogni singola lettera da cui essa è composta) sia normale che inverso, ossia partendo dall'ultima lettera sino alla prima. Un altro compito, a cui vengono dati 2 punti se eseguito senza errori, consiste nella denominazione di due oggetti, i quali vengono semplicemente presentati visivamente al paziente. Modificazioni semantiche, come denominare "lancette" un orologio viene considerato un errore. Successivamente alla denominazione, c'è un rapido compito di ripetizione, nel quale al soggetto è chiesto di ripetere una frase, a cui si assegna un solo punto se viene pronunciata al primo tentativo senza commettere errori fonetici o inversione o sostituzioni di parole. È eseguito, inoltre, un compito di esecuzione attraverso la manipolazione di un foglio bianco che viene appoggiato sul tavolo: lo sperimentatore descriverà i tre passaggi che il soggetto deve effettuare, per un massimo di 3 punti. La richiesta prevede che venga preso il foglio con la mano destra, piegato a metà e successivamente messo a terra. Si ricorda al paziente che potrà iniziare ad eseguire il compito unicamente nel momento in cui la consegna verbale verrà terminata. Il nono compito concerne una consegna scritta, contrariamente alla precedente: si mostra un cartoncino con una scritta ("*CHIUDA GLI OCCHI*") chiedendo di fare quanto si legge. È assegnato un punto se il soggetto esegue la consegna al primo tentativo. Il penultimo compito è sulla scrittura spontanea di una frase assegnando un punto qualora abbia un senso logico e contenga un soggetto ed un verbo, mentre quello finale analizza la prassia costruttiva, somministrando un foglio con due pentagoni che si intrecciano chiedendo di copiarli meglio che riesce (fig. 9). Viene dato un punto se il disegno è ricopiato correttamente, ignorando l'eventuale rotazione del foglio da parte del paziente (Folstein et al., 1975).

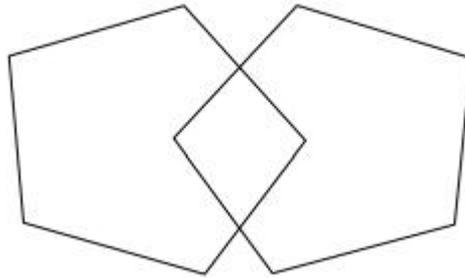


Fig 9: I due pentagoni in figura fanno parte dell'ultimo compito della batteria MMSE, al fine di analizzare la presenza di deficit nella prassia costruttiva del paziente. Occorre fare attenzione, per l'assegnazione del punteggio, che il poligono (disegnato dal soggetto) derivante dall'intersecazione dei pentagoni abbia 4 lati.

Il punteggio massimo che si può ottenere dal MMSE è 30, che rappresenta una performance ottimale, caratterizzante un soggetto senza alcun deficit cognitivo. Una volta sommati i punti assegnati a ciascun compito, occorre correggere il totale per l'età e la scolarità del soggetto, tenendo presente che il valore soglia è 24, al di sotto del quale il declino cognitivo dovrebbe essere ulteriormente approfondito e richiamare l'attenzione clinica.

### **Montreal Cognitive Assessment**

Un'ulteriore batteria largamente somministrata al fine di indagare la presenza di deficit cognitivo è il Montreal Cognitive Assessment o MOCA. Possiede compiti riguardanti le abilità visuo-costruttive, le quali mancano nel test precedentemente descritto ed in totale ha un maggior numero di compiti, ma sempre somministrabili in massimo 15 minuti. È considerato anch'esso rilevante per una prima valutazione, che verrà poi approfondita nel caso in cui il paziente dovesse presentare una scarsa performance in alcuni compiti, attraverso ulteriori test dominio-specifici. Le aree indagate dal MOCA sono quella visuo-spaziale ed esecutiva, la denominazione, attenzione, il linguaggio, l'astrazione, la memoria e l'orientamento, molte delle quali condivise con il MMSE.

I compiti che indagano le abilità esecutive rappresentano la copiatura di un cubo e il disegno spontaneo di un orologio, nel quale viene considerato di estrema importanza per il punteggio, il fatto che il paziente ne raffiguri il contorno, i numeri all'interno e le lancette (nella consegna viene chiesto di metterle indicanti le ore undici e dieci). Inoltre, è presente un rapido test in cui occorre unire un insieme di lettere e numeri seguendo una specifica strategia, che viene chiamato *Trail Making Test*. Per valutare l'abilità di denominare correttamente, si mostrano tre animali e si assegna un massimo punteggio di 3. Circa, invece, la memoria, come nel MMSE viene chiesto al paziente di ripetere un totale di 5 parole immediatamente dopo che sono pronunciate dallo sperimentatore, così come dopo circa 5 minuti (attraverso il cosiddetto richiamo differito). L'area attentiva viene studiata somministrando tre compiti: nel primo si legge al paziente una serie di numeri, i quali dovranno essere ripetuti in senso normale ed inverso, servendosi del *digit span*, che descriveremo più nel dettaglio con ulteriori singoli test; nel secondo, è studiata l'attenzione sostenuta del paziente, spiegando che gli verrà letta una lunga stringa di lettere e ogni qualvolta sentirà la "A" dovrà dare un colpetto con la mano sul tavolo, assegnando 0 punti nel caso commettesse più di 2 errori; il terzo, infine, consiste nel sottrarre 7 partendo dal numero 100 per 5 volte, al fine di indagare anche la capacità di calcolo a mente. Circa il linguaggio, si studia sia l'abilità di memorizzare e ripetere un paio di frasi, di cui una più semplice ed una più complessa, sia la fluenza, istruendolo a nominare il maggior numero di parole che gli vengono in mente che iniziano con la lettera "F", cronometrando un minuto di tempo. Un settore che non è esaminato nel MMSE è l'astrazione, sulla quale invece è presente un rapido compito nel MOCA, dove si chiede al soggetto di dire ciò che i due oggetti che gli verranno a breve comunicati hanno in comune (esempio: treno/bicicletta oppure orologio/righello). Le ultime domande concernono l'orientamento spaziale, e si chiede il giorno, mese, anno, la città in cui sta avvenendo la visita (Nasreddine et al, 2005).

Il massimo punteggio che si può ottenere è, di nuovo, 30 da dover però correggere per i due fondamentali fattori di età e scolarità del soggetto, per poi convertire il punteggio finale in quello equivalente: solo il punteggio equivalente uguale a 0 rappresenta una condizione patologica; 1 indica una performance da considerarsi borderline, dal 5° al 10° percentile, sino ad arrivare al massimo di 4, il quale indica una situazione sopra il 50° percentile. Strutturato da Nasreddine e collaboratori (2005), tale strumento è utilizzato in particolar modo per rilevare pazienti affetti da MCI o dalla forma

più lieve di malattia di Alzheimer: si evidenzia una sensibilità nettamente maggiore del MOCA a diagnosticare MCI (superiore del 70% circa) e Alzheimer lieve (superiore del 22%) rispetto al precedente test di screening MMSE.

Occorre tenere presente che, seppur largamente usate, queste batterie non risultano essere sufficienti al fine di avere un quadro preciso del declino cognitivo del paziente: è per questo motivo che il clinico si premurerà di somministrare alcuni dei seguenti test per approfondire una o più specifiche aree che sono risultate essere compromesse. Qualora, ad esempio, fosse la memoria a breve termine a mostrarsi alterata, una scelta potrebbe essere quella di sottoporre il paziente al test sul *digit span* o al test di Corsi.

### **Digit Span forward/backward e Test di Corsi**

Nei compiti di *span forward* o *backward* al soggetto è chiesto di ripetere la sequenza esatta di lettere, numeri, o atti motori che gli sono presentati rispettivamente nel giusto ordine o nell'ordine inverso. È, nei contesti clinici e di ricerca, largamente utilizzato al fine di valutare la memoria a breve termine verbale e visuo-spaziale: più precisamente, nella versione *forward* vengono indagati in particolar modo i processi mnestici che entrano in gioco nei *task* verbali, promuovendo il cosiddetto loop fonologico, così come quelli visuo-spaziali, agendo sul taccuino visuo-spaziale. La variante, al contrario, *backward* sembrerebbe essere controllata dall'esecutivo centrale, il quale è responsabile della regolazione dei precedenti due meccanismi (Monaco et al., 2013). Qualora si desideri esaminare la memoria a breve termine verbale è consigliato somministrare il *digit span*, per il quale occorrono pochi minuti. Si tratta di stringhe di numeri pronunciate al paziente che dovrà cercare di ricordare e ripetere immediatamente dopo, nell'ordine indicato dallo sperimentatore. Inizialmente, si comincia con stringhe costituite da soli tre numeri, per poi aumentare la difficoltà con l'aggiunta di un numero ad ogni sequenza. Nel caso, invece, dell'indagine dei processi mnestici visuo-spaziali, la scelta potrebbe cadere sul test di Corsi, anch'esso di rapida somministrazione, ma che necessita di uno strumento specifico, che nel *digit span* non è richiesto. Tenendo in considerazione le medesime sequenze usate per quest'ultimo test, lo sperimentatore produce una sequenza di atti motori, raggiungendo e toccando con l'indice dei cubetti (in totale 9) posti su una tavoletta di legno, i quali

sono numerati al fine di facilitare il compito di presentazione al paziente davanti a sé. Di nuovo, le sequenze partono dalla più corta, formata da solo 3 tocchi, proseguendo con un numero sempre maggiore di cubetti che si aggiungono alla lista di movimenti da dover ricordare per essere riprodotti.

Si evidenzia una correlazione negativa tra la performance di soggetti sani nello span, sia verbale che spaziale, e l'età: i punteggi sono di norma superiori, in entrambi compiti verbali e visuo-spaziali, durante lo *span forward* rispetto al *backward*, dal momento che quest'ultimo consuma maggiori risorse cognitive; inoltre, la prestazione risulta essere leggermente migliore nel *task* verbale rispetto al visuo-spaziale nella condizione in avanti, ma all'indietro si presenta il pattern opposto (fig. 10). Per entrambi i test, occorre che i punteggi ottenuti siano corretti per età ed anni di scolarità dei pazienti per poi convertirli in punteggi equivalenti.

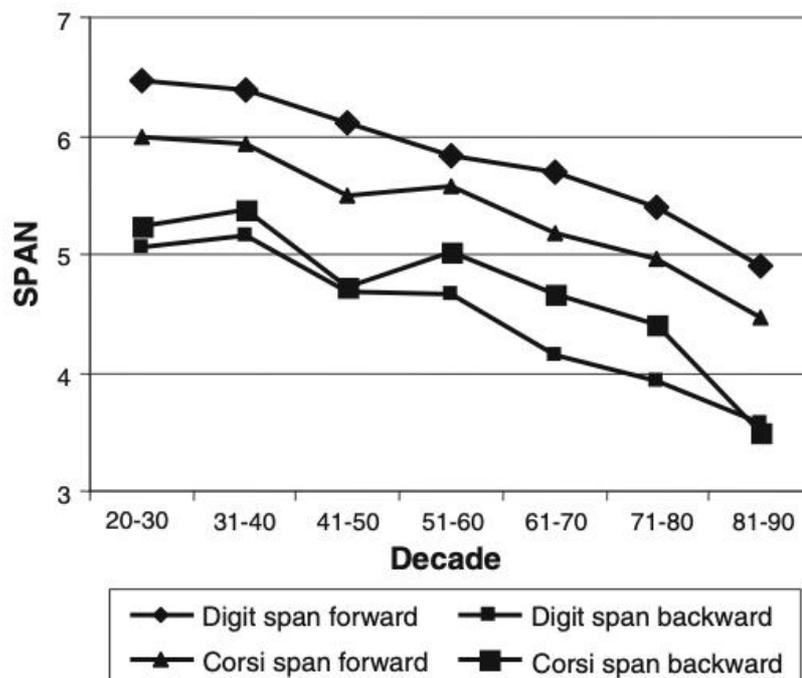


Fig. 10: Si riportano le medie della performance ottenuta da soggetti sani ai test di *digit span* e test di Corsi in funzione dell'età, suddivisa per decenni. (Monaco et al., 2013).

La memoria più a lungo termine, ovvero la capacità di mantenere nel magazzino mnestico informazioni per alcuni minuti, giorni, o addirittura anni, è severamente danneggiata nei pazienti affetti da malattia di Alzheimer, i quali possiedono enormi difficoltà nell'apprendimento di nuovi nomi, numeri o appuntamenti da ricordare e recuperare quando necessario, anche se si tratta di trattenerli per un breve lasso di tempo. Tale deficit lo abbiamo descritto nel precedente capitolo delineando i sottotipi della patologia, tra i quali troviamo il più evidente esempio di variante caratterizzato da questa grave alterazione, il sottotipo *limbic-predominant*, dove l'atrofia ippocampale e della vicina corteccia entorinale fa sì che i processi di immagazzinamento della traccia mnestica risultino estremamente deficitari. Un test spesso usato nell'assessment del paziente con probabile AD è il "Free and Cued Selective Reminding Test" (FCSRT), tarato per la popolazione italiana da Frasson e collaboratori (2011). Nel compito, vengono mostrate al paziente, una alla volta, tre tavole, su cui sono raffigurati 12 stimoli, come un leone, un pomodoro, una mela, un martello, e così via. Nella prima parte si inizia con una fase di codifica, nella quale lo sperimentatore fornisce un "cue", ossia un indizio affinché di fronte ai disegni il soggetto possa indovinare quale sia lo stimolo a cui si riferisce, e gli è chiesto di indicarlo: ad esempio, alla domanda "Quale tra questi è un ortaggio?" ci si aspetta che venga indicato il pomodoro e si pone una domanda per ogni disegno, finché tutti non sono stati correttamente individuati. Successivamente, con la tavola coperta, l'esaminatore fornisce nuovamente *cue* semantici al fine di rievocare nel paziente quale tra gli stimoli osservati in precedenza fosse un ortaggio, o un animale, in assenza dell'indizio visivo. La seconda fase, invece, riguarda la rievocazione sia immediata che differita di ciò che si è appreso: nella prima condizione, dopo aver inserito una breve interferenza per 20 secondi (conteggio all'indietro a partire da 100) si chiede di ripetere, anche in ordine sparso, tutti i disegni osservati; mentre nella seconda condizione, l'interferenza risulta essere notevolmente più disturbante dal momento che per circa 30 minuti il soggetto è sottoposto a compiti non verbali, per poi tornare alla rievocazione libera degli stimoli che si ricorda (Frasson et al., 2011). I punteggi che, una volta terminato il compito, si possono ottenere concernono l'*Immediate Free Recall* (IFR), legato alla rievocazione libera e immediata, l'*Immediate Total Recall* (ITR), per indagare il totale della rievocazione sia libera che guidata dallo sperimentatore tramite i cues, il *Delayed Total Recall* (DTR), il quale verte sul totale della rievocazione differita, l'*Index of Sensitivity of Cueing* (ISC), che non è altro che la differenza tra IFR e ITR, diviso per la differenza tra ITR e 36, che è il punteggio massimo che si può ottenere nel recupero immediato durante i trial. Per ultimo, si conta il numero delle intrusioni.

Tale *task* è adatto in particolar modo per una prima valutazione del deficit mnestico episodico e potrebbe essere molto utile per confermare una diagnosi precoce di AD, anche quando ancora nella fase preclinica lieve. Particolarmente interessante è l'analisi della performance dei pazienti durante il recupero delle informazioni visive in precedenza mostrate, poiché i pazienti con MCI o AD sono molto sensibili alle sovrapposizioni di compiti richiedenti le medesime risorse, le quali impediscono di immagazzinare correttamente ciò che si apprende e, di conseguenza, di rievocarle dopo un più o meno breve periodo di tempo. Allo stesso modo, la memoria a lungo termine può essere indagata dal punto di vista visuo-spaziale attraverso la riproduzione a mano di una figura geometrica complessa, come quella di Rey, la quale viene fatta ricopiare dal paziente sia immediatamente, che dopo circa dieci minuti successivamente all'esecuzione di alcuni compiti interferenti non di natura visuo-spaziali, assegnando punti ad ogni segno grafico corretto e corrispondente alla figura originale, correggendo infine per età e scolarità (Caffarra et al., 2002). La figura di Rey è considerevolmente efficace anche per lo studio della prassia costruttiva e delle diverse funzioni visuo-spaziali, di cui esistono ulteriori specifici compiti, quali il Test dell'Orologio e il Test di cancellazione di Campanelle, che in pochi minuti di somministrazione forniscono al clinico preziose informazioni su tali abilità.

### **Test per la prassia costruttiva e per le funzioni attentive**

Il test dell'orologio, originariamente creato da Freedman una trentina d'anni fa, valuta le abilità costruttive e visuo-spaziali dei pazienti con potenziale demenza ed è bene somministrarlo anche se il punteggio allo screening cognitivo del MMSE è al di sopra del punteggio cut-off. È un compito molto utilizzato per la sua facilità e brevità di esecuzione ed è sensibile, allo stesso tempo, ai primi segnali di deficit nelle funzioni esecutive. Ciò che per l'assegnazione dei punti occorre tenere in considerazione sono le lancette nella giusta ora, la quale è detta dall'esaminatore al momento della consegna, il centro dell'orologio da cui solitamente queste si originano e, infine, i 12 numeri disposti nel corretto ordine. Una rappresentazione caotica e alterata di tali caratteristiche indica un'immagine mentale di questo strumento perduta o parzialmente deficitaria, soprattutto quando il paziente, ad esempio affetto da demenza, omette numeri o li inserisce sbagliando la loro collocazione, o se

addirittura ne scrive di errati che l'orologio non contiene. La capacità visuo-spaziale particolarmente alterata la si riconosce qualora il soggetto non utilizzi l'intero spazio per graficarlo o vada fuori dal margine pre-disegnato, evidenziando una grande difficoltà nel riprodurre in uno spazio predeterminato la rappresentazione che dovrebbe possedere di ciò che gli è chiesto di riportare sul foglio. Le abilità costruttive risultano essere rilevanti nel disegnare correttamente lancette dritte, in cui una dovrebbe apparire più lunga dell'altra, e senza distorcere il quadrante da cui si parte: numeri molto ravvicinati tra loro, che non rispettano le giuste distanze dell'orologio o lancette storte e piccole sono potenziali allarmi per funzioni esecutivo-costruttive considerevolmente danneggiate e che richiedono necessariamente ulteriori accertamenti.

All'interno della batteria MOCA precedentemente descritta è presente la richiesta di graficare un orologio, senza partire da nessun segno grafico pre-disegnato: è pertanto un disegno libero; mentre nella taratura di Caffarra e collaboratori ai soggetti si poteva presentare la medesima consegna ma mostrando già il quadrante rotondo sul foglio da cui partire a inserire gli elementi che contraddistinguono un orologio. La somma dei punteggi assegnati, dopo aver accuratamente individuati eventuali errori o omissioni, va corretta solo per il fattore età (Caffarra et al., 2011).

Un ulteriore compito che viene largamente somministrato è il Test delle Campanelle, il quale consente al clinico di analizzare l'attenzione che viene posta sul foglio di lavoro denso di stimoli target e distrattori, da dover quindi ignorare, e la velocità visuo-motoria durante la performance. Dal momento che sul foglio A3 sono inseriti, oltre le campanelle da dover circondare con la penna quando trovate, molti altri stimoli interferenti, si tiene presente il numero di campanelle che sono state individuate nella parte destra ed in quella sinistra (per escludere una potenziale presenza di negligenza spaziale unilaterale), gli eventuali falsi allarmi o omissioni e il tempo totale che ha impiegato il paziente per svolgere la consegna. Più che essere considerato un test diagnostico, è piuttosto ritenuto un compito per screening e valutazione di deficit da neglect, che generalmente i pazienti affetti da MCI o AD (o una qualsiasi altra demenza primaria) non hanno; difatti, si evidenzia una performance spesso considerevolmente buona, anche se talvolta ci possono essere soggetti con grandi difficoltà nel passare in rassegna rapidamente e con strategia il foglio al fine di cancellare lo stimolo target,

mostrando nel visuo-spaziale una scarsa attenzione. Quest'ultima funzione è di essenziale importanza durante l'assessment dei pazienti con probabile diagnosi di AD poiché le alterazioni attentive (in particolar modo l'attenzione divisa e sostenuta) accompagnate da disturbi mnestici, quando identificate, sono in grado di fornire abbondanti informazioni sulla tipologia di demenza di cui sono affetti, così come il possibile stadio ed entità del declino (Gainotti et al., 2001). Uno tra questi è notevolmente simile all'identificazione delle campanelle ed è conosciuto come *Multiple Features Target Cancellation* (MFTC), nel quale si chiede al paziente di cancellare quanto più rapidamente riesce tutti gli stimoli identici al modello, collocato nella parte alta del foglio. Di nuovo, occorre che il soggetto osservi scrupolosamente tutte le 8 colonne di stimoli interferenti in mezzo ai quali sono presenti i target, che condividono con i distrattori determinate caratteristiche, rendendo più complesso il compito (tale situazione viene chiamata *conjunction search*, o attenzione combinata) e incrementando decisamente le risorse cognitive che servono per portare a termine la consegna. Inoltre, nella pratica clinica il MFTC è considerato uno strumento molto utile al fine di rilevare pazienti con MCI con alto rischio di conversione in AD, in base alla qualità della performance (Marra et al., 2013). Studi mettono in luce, in pazienti con demenza di Alzheimer durante questo compito di attenzione sostenuta, una bassa prestazione, accentuata dal gran numero di falsi allarmi: pare siano alquanto sensibili all'interferenza di distrattori verso i quali mostrano difficoltà ad utilizzare strategie inibitorie, ignorando ciò che risulta essere irrilevante.

Oltre il tempo di esecuzione, si tiene presente dell'accuratezza, ovvero il numero di risposte corrette (in totale sono 13 le figure che dovrebbero essere individuate dal paziente) e la quantità di falsi allarmi i quali, come anticipato poc'anzi, si associano alla scarsa capacità nell'autocontrollo e nella soppressione di azioni nei confronti di stimoli, come in questo caso, ininfluenti. Questa abilità inibitoria è necessaria anche nel Test di Stroop, dove al soggetto è chiesto di nominare il colore con cui le parole (indicanti colori) sono scritte, cercando pertanto di non focalizzarsi tanto sul significato della parola, quanto piuttosto sul colore del suo *font*. Di essenziale importanza è il fatto che la lettura sia automatizzata e risulta, pertanto, essere particolarmente difficoltoso il compito di soppressione di informazioni irrilevanti nel momento in cui il significato di ciò che ci si trova davanti viene processato in maniera del tutto automatica. Studi evidenziano che l'interferenza nello Stroop è presente sia nei soggetti giovani che nei più anziani, calcolando la differenza tra la denominazione del colore in

stimoli neutri (nei quali la semantica non interferisce con la corretta messa a fuoco sul colore) o congruenti, e la denominazione di stimoli incongruenti, come quelli inseriti nello Stroop. Tale fenomeno, che riflette l'attenzione selettiva, quando alterato, in particolare in anziani o pazienti con demenza, sembra essere associato con l'avanzare dell'età da un lato, e con un deficit nei processi inibitori, dall'altro: nella maggioranza dei casi, coloro che mostrano una sintomatologia legata allo spettro delle demenze, presentano performance peggiori di altre categorie di pazienti o di soggetti sani (Ben-David et al., 2014). Caffarra e collaboratori (2002) studiano l'effetto interferente di tale test in un campione normativo italiano strutturando la tabella di correzione dei punteggi ottenuti per età e anni di scolarità, successivamente all'aver rilevato il tempo di esecuzione e gli errori. Le prime due consegne degli autori concernono unicamente la lettura semplice di parole con inchiostro nero, in un primo momento, e la denominazione del colore di puntini colorati, in un secondo. La terza ed ultima richiesta riguarda l'inibizione più complessa da eseguire, attraverso cui si effettua il calcolo dell'effetto di interferenza relativo al tempo (sottraendo la media del tempo di esecuzione nei primi due compiti dal tempo totale del terzo) e agli errori eventuali del soggetto (sottraendo la media di errori commessi nei primi due compiti dagli errori nel terzo). Viene considerato uno strumento notevolmente utile nel contesto clinico con lo scopo di indagare le capacità attentive, le quali dovrebbero essere impiegate selettivamente dal soggetto per aumentare il focus su uno specifico stimolo e quelle soppressorie nei confronti di ciò che è ininfluenza per il test, come la lettura ed il significato della lista di parole.

Il test di Stroop è notevolmente funzionale, pertanto, al fine di indagare una tra le più importanti funzioni esecutive, come l'attenzione, la quale pare essere alquanto alterata nei pazienti affetti da Alzheimer, anche negli stadi iniziali della malattia: tale deficit attentivo potrebbe essere associato in modo particolare alle regioni frontali legate all'attenzione selettiva, che con l'età gradualmente si deteriorano anche nei soggetti sani. Il lento e progressivo danneggiamento delle funzioni cognitive esecutive è però considerevolmente maggiore, come è logico pensare, nei pazienti con qualche forma di demenza rispetto ai controlli di pari età. Studi evidenziano che l'interferenza di tale compito dipende dall'integrità, per l'appunto, delle cortecce prefrontali, la cui attivazione è stata analizzata da Yun e collaboratori (2011) attraverso l'esame basato sul FDG-PET, al fine di indagare nello specifico il metabolismo del glucosio cerebrale in determinate regioni: oltre a confermare la

significativa differenza nel compito neuropsicologico tra controlli e pazienti AD, si mette in luce un ipometabolismo nel campione dei pazienti nella stragrande maggioranza di aree frontali, quali il giro frontale superiore e inferiore bilaterale, il giro frontale medio dell'emisfero destro e la corteccia cingolata anteriore (ACC) destra (fig. 11). Si sottolinea, inoltre, come il marcato scarso metabolismo anche nelle aree corticali posteriori, come il lobulo parietale inferiore, la corteccia cingolata posteriore, e quella temporale, sia associato con il fenomeno interferente del test di Stroop.

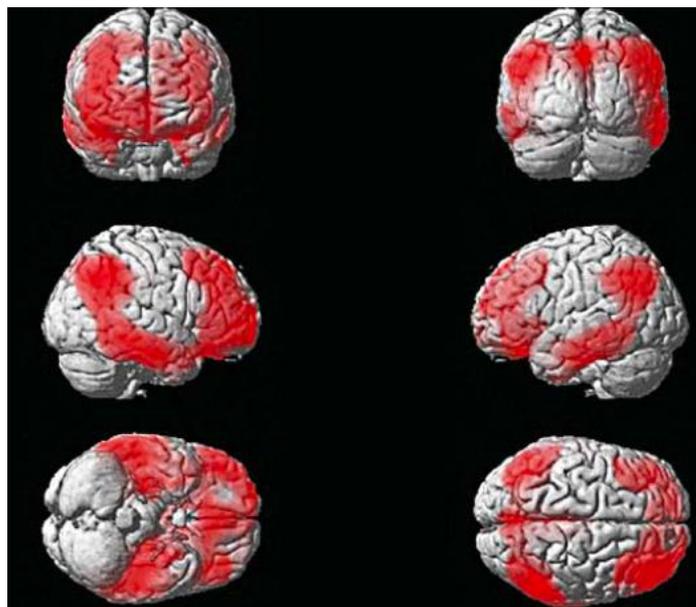


Fig. 11: In rosso le aree con un metabolismo del glucosio significativamente inferiore nel gruppo dei pazienti con malattia di Alzheimer rispetto a quello dei sani, diffusamente collocate in particolar modo tra le regioni parieto-frontali e temporali. (Yun et al., 2014).

Studi post-mortem hanno dimostrato che la performance deficitaria dei pazienti correla con un'evidente ed estesa presenza di proteina tau accumulata nei grovigli neurofibrillari, da regioni frontali, fino all'ippocampo e corteccia temporale superiore. Nel momento in cui però il processo atrofico e la debolissima attivazione funzionale di tali aree raggiungono il picco negli stadi avanzati della malattia, non si riscontra più un'associazione tra l'effetto Stroop e il metabolismo cerebrale, suggerendo che tale compito non rappresenti più un valido strumento per indagare il deficit cognitivo nell'Alzheimer grave.

## **Aprassia e funzioni linguistiche**

Una funzione che nei pazienti affetti da malattia di Alzheimer spesso risulta essere alterata è l'imitazione di gesti che possiedono un determinato significato, utilizzando unicamente le dita delle mani (ad esempio il segno delle forbici o di OK) oppure eseguendo movimenti più ampi con l'intero arto (come il saluto militare): alcuni potrebbero trovare difficoltà nell'effettuare la pantomima di tali gesti osservati nello sperimentatore, non riuscendo a rievocare la precisa rappresentazione visuo-motoria dell'atto da riprodurre. L'incapacità nell'imitare gesti viene denominata aprassia ideomotoria e nella pratica clinica è generalmente somministrato il semplice e rapido test strutturato da De Renzi e collaboratori, formato da 12 movimenti da dover osservare e riprodurre concernenti solo le dita e altrettanti 12 riguardanti anche il braccio che vengono eseguiti dallo sperimentatore di fronte al paziente per un massimo di tre volte fin tanto che quest'ultimo non lo imita correttamente. Il punteggio è così assegnato: 3 punti se è riprodotto senza errori alla prima osservazione; 2 punti se lo si esegue esattamente alla seconda riproduzione o 1 punto alla terza. Sommandoli, se il totale arriva ad essere inferiore di 53, allora la diagnosi di aprassia è certa, mentre la si esclude se il risultato è superiore a 62. Tale disturbo può essere ricordato come il sapere *cosa* fare, ma non *come* farlo e pertanto, durante il test ci si rende conto di come talvolta il soggetto abbia bisogno di più di una osservazione del gesto prima di farne la giusta pantomima o faccia spesso errori di omissione.

L'aprassia è stata evidenziata essere estremamente più frequente in pazienti con Alzheimer rispetto ai soggetti con MCI; inoltre, talora è anche presente, ma sempre con un'incidenza minore che nella AD, nella demenza vascolare. Tale sindrome si associa ad un danno cerebrale, atrofia o lesioni, in generale all'interno dei lobi parietali, i quali rappresentano uno dei nodi fondamentali del circuito specchio di cui parleremo nel prossimo capitolo e dove sono codificati gli schemi motori attraverso la moltitudine di connessioni verso i lobi frontali, in cui sono collocate le cortecce motorie. Vengono perse, pertanto, le rappresentazioni motorie necessarie per effettuare un gesto, simbolico o non, o per utilizzare uno specifico strumento e il paziente potrebbe non sapere come usarlo in modo appropriato. Tale alterazione è associata con la densità crescente di grovigli neurofibrillari nel lobo frontale, in particolar modo nella corteccia cingolata anteriore, la quale ha un rilevante ruolo nell'apprendimento

di performance legate alla memoria spaziale (evidenziato con studi su modelli animali), e di conseguenza nel reclutamento dei corretti schemi motori al fine di eseguire una sequenza di azioni (Giannakopoulos et al., 1998). Generalmente, i pazienti con una demenza di tipo severo presentano una aprassia considerevolmente più frequente rispetto ai pazienti in uno stato piuttosto lieve e si evidenzia, quindi, un disturbo aprassico maggiore con il peggiorare della patologia: circa uno su due soggetti con demenza moderata sono diagnosticati aprassici, mentre quasi la totalità di coloro che hanno raggiunto la fase finale grave mostra gravi problemi nell'imitare azioni o gesti finalistici. Inoltre, si mette in luce una percentuale significativamente maggiore di pazienti portatori della mutazione del gene APOE che non ha aprassia, rispetto a coloro che non sono portatori: la assenza di tale caratteristica genetica sembra rappresentare, quindi, un fattore di rischio per lo sviluppo del disturbo aprassico. Un'ultima correlazione trovata concerne un'alta incidenza di diagnosi di aprassia in pazienti con esordio precoce (*early onset*), i quali tendono a sviluppare più frequentemente tale sintomatologia rispetto a coloro che ricevono la diagnosi più tardi (Smits et al., 2014).

Oltre le problematiche nelle sequenze di movimenti con dita e mani al fine di raggiungere uno scopo, spesso i pazienti con AD presentano seri deficit nella sequenza di parole, per costruire frasi complete e farsi capire, o per comprendere ciò che l'altro sta dicendo: l'afasia è il disturbo che riguarda un'alterazione marcata nelle funzioni linguistiche, derivanti da lesioni o atrofie a carico delle principali regioni corticali deputate alla produzione e comprensione del linguaggio. Tra le Afasie Primarie Progressive (un insieme di deficit linguistici neurodegenerativi) rientra la cosiddetta variante logopenica, la quale interessa particolarmente le aree parieto-temporali ed è associata, nella maggioranza dei casi, alla malattia di Alzheimer, patologia che mostra per l'appunto un gradiente posteriore. Inoltre, presenta un esordio piuttosto tardivo ed è notevolmente chiara la difficoltà del paziente durante l'assessment, poiché ciò che gli riesce più faticoso è la denominazione degli oggetti intorno a sé, pur sapendo a cosa servono. Essendo progressivo, il disturbo peggiora con l'avanzare del tempo, fino ad avere serie problematiche nell'esprimersi e nella comprensione, ma già dall'esordio dei sintomi sono le abilità linguistiche a deteriorarsi per prime, al contrario di quelle mnestiche nella malattia di Alzheimer. Nello specifico, particolarmente nello stadio ultimo più severo di Alzheimer, la capacità di comprendere il significato di parole o frasi soprattutto familiari rimane intatta, ma risultano essere deficitarie la ripetizione (la quale generalmente non è problematica nella

prima fase della patologia), la comunicazione, che è poco fluente, la lettura e scrittura, le quali nei primi stadi sono preservate (Blinkouskaya e Weickenmeier, 2021). La doppia diagnosi in pazienti con AD e afasia logopenica è eseguita sulla base di un quadro clinico che presenta sia alterazioni mnestiche evidenti e specifiche per la patologia di Alzheimer, che deficit nelle componenti semantiche e pragmatiche del linguaggio: può accadere che tali soggetti presentino un rapido e generalizzato declino cognitivo concernente il linguaggio e che siano diagnosticati anche con demenza nel giro di pochi mesi. I principali due criteri diagnostici per l'afasia logopenica sono un recupero di singole parole estremamente scarso nella denominazione e nel parlato quotidiano ed una ripetizione deficitaria di frasi e parole; inoltre, potrebbero esserci problematiche nella comprensione di parole ascoltate o la commissione di errori fonologici (Beber et al., 2014).

Uno strumento molto valido al fine di indagare le abilità linguistiche appena citate in pazienti con conclamata demenza o con la cosiddetta afasia logopenica, è lo *Screening for Aphasia NeuroDegeneration* o SAND, somministrabile in circa venti minuti. È composto da prove concernenti la denominazione di 14 figure, in bianco e nero che possono contenere esseri viventi e non viventi, la comprensione di frasi pronunciate dall'esaminatore per poi dover indicare l'immagine che si pensa corrisponda al significato di ciascuna, la comprensione di singole parole (in totale 12) che occorre collegare all'immagine corrispondente, la ripetizione di 6 parole e 6 frasi, la lettura di parole e non-parole (ossia senza un significato), l'associazione semantica in cui si chiede di associare le due immagini che si crede possano avere qualcosa in comune, la scrittura di un'attività quotidiana, ed infine la descrizione di figure (Catricalà et al., 2017). Indaga, pertanto, la capacità del paziente di comprendere il significato di parole o semplici enunciati o la produzione di questi al fine di nominare oggetti o descrivere scene, la cui performance è nettamente inferiore nei pazienti AD rispetto a soggetti di pari età e anni di scolarità: i primi risultano avere parecchie difficoltà nel recuperare, soprattutto nello stadio terzo, le giuste parole e nell'esprimersi adeguatamente, nella denominazione e nella fluenza, la quale appare essere discontinua a causa della mancanza di accessibilità al lessico. Nello specifico, esistono ulteriori compiti a cui sottoporre il paziente per valutare la fluenza fonemica e semantica: per analizzare la fonemica si chiede di dire tutte le parole che vengono in mente che iniziano con una specifica lettera, nell'arco di un minuto; più parole è in grado di nominare, più si ipotizza abbia un funzionante accesso al magazzino mnestico verbale, in particolare a quello deputato ai domini del lessico e della semantica, da cui estrae con scioltezza e velocità l'insieme di parole

necessarie. La fluenza, invece, semantica si indaga attraverso un compito molto simile a quest'ultimo, dove viene però chiesto al soggetto di pronunciare quante più parole riesce appartenenti ad una determinata categoria semantica, come animali o frutta. Sono test utili e di rapida somministrazione per una prima valutazione sulle abilità lessico-semantiche, alla base di performance riguardanti la flessibilità della connessione tra le funzioni mnestiche semantiche e il recupero delle corrette informazioni in un dato momento, adottando inoltre la strategia più funzionale a tale fine. Patologie progressive come le afasie primarie o la demenza di Alzheimer presentano non pochi disturbi in questi compiti, evidenziando un inefficiente meccanismo di monitorare e portare alla luce ciò di cui si ha bisogno, filtrando per specifici requisiti e condizioni: si tratta di difficoltà che correlano in particolar modo a danni o atrofia nelle regioni temporali, le quali sono tra le prime ad essere coinvolte nel processo degenerativo della patologia di Alzheimer. La performance ai test che riguardano le fluenze appare, inoltre, essere associata al rischio che una fase ancora iniziale o la condizione di MCI progredisca in demenza conclamata di AD, e gli studiosi sostengono che una fluenza verbale idonea e nella media rappresenti un fattore protettivo nei confronti di un esordio di deficit cognitivo o di demenza. Uno dei fattori che abbiamo inizialmente descritto rischioso per lo sviluppo di AD, la presenza della mutazione del gene APOE, sembra non possedere nessun ruolo nella correlazione con le abilità linguistiche, mentre invece l'età e gli anni di scolarità contribuiscono alla prestazione ottimale o deficitaria nei test sulle fluenze. Anche l'etnia africo-americana, in un recente studio longitudinale, pare essere notevolmente rilevante come predittore per il rischio di conversione in demenza in soggetti con un lieve deficit cognitivo (Sutin et al., 2019) (fig. 12).

<b>Predictor</b>	<b>Conversion to Dementia</b>
Age (SD)	1.65 (1.52, 1.79)**
Education (SD)	.79 (.73, .85)**
Gender (female)	1.01 (.88, 1.15)
Race (African American)	1.56 (1.33, 1.84)**
Race (other or unknown)	1.07 (.84, 1.37)
Ethnicity (Hispanic)	1.13 (.90, 1.41)
Verbal Fluency (SD)	.77 (.72, .83)**

Fig.12: Si evidenziano i predittori che sembrano contribuire maggiormente nella predizione del rischio di conversione in demenza in soggetti diagnosticati con un lieve deficit cognitivo. Tra i predittori più significativi troviamo l'età, gli anni di scolarità, l'appartenenza all'etnia afroamericana e la performance scadente della fluenza verbale. (Sutin et al., 2019).

### **2.3 Indagine della relazione tra il processo atrofico e il deficit clinico: tecniche morfologiche**

L'essenziale passo successivo a ciò che è definito assessment neuropsicologico, riguarda il sottoporre il paziente ad un esame di imaging cerebrale, attraverso metodiche che ad oggi possiedono un'alta risoluzione, la quale si riferisce alla capacità che una tecnica ha di distinguere precisamente tra loro elementi molto vicini nello spazio o nel tempo (definendo così rispettivamente la risoluzione spaziale e temporale). Ad esempio, l'elettroencefalogramma (EEG) possiede una risoluzione temporale notevolmente alta, in grado di analizzare le onde elettriche prodotte dal nostro cervello con una precisione al millisecondo: esiste, pertanto, un'elevatissima capacità di specificare l'istante esatto in cui si verificano gli eventi nervosi. La risonanza magnetica (MRI) è caratterizzata, invece, da una risoluzione spaziale considerevolmente migliore rispetto all'EEG, essendo in grado di restituire immagini che rappresentano l'aumento di flusso ematico ossigenato verso le aree cerebrali più attive in quel dato momento, con una accuratezza legata a voxel tridimensionali di pochissimi millimetri. L'unità di misura della risonanza è la tesla (T), utilizzata al fine di misurare l'induzione magnetica, ovvero la densità del flusso magnetico, che è alla base del funzionamento di tale tecnica: maggiore è la tesla che la contraddistingue, maggiore sarà la risoluzione spaziale; ad oggi, le più usate sono quelle che possiedono 1,5 o 3 T, ma al momento sono in costruzione e usate per fini diagnostici anche di più potenti a 7 T. In seguito all'esame di MRI, specifici software statistici e matematici permettono ai ricercatori di individuare la relazione che sussiste tra la localizzazione della lesione (o atrofia, nel caso dei pazienti con malattia di Alzheimer) e un deficit cognitivo, rilevato durante l'assessment precedente. La metodica che può consentire questo tipo di conoscenza, a partire dall'imaging di risonanza, è la cosiddetta *Voxel-Based Lesion Symptom Mapping* (VLSM), la quale è eseguita strettamente con i pazienti, che presentano lesioni o processi atrofici da cui derivano determinati sintomi. Ad esempio, i cervelli di un gruppo di pazienti con una specifica compromissione potrebbero essere studiati, con una precisione tale da rappresentare una mappa di tutti i voxel (dove per voxel

s'intende ogni minuscola regione 3D che compone il nostro cervello, equivalente al pixel, definito come l'unità minima della superficie di un'immagine digitale) lesionati con la finalità di determinare le aree associate con la maggior probabilità ad un preciso deficit clinico. Si ha la possibilità, quindi, di stabilire, attraverso calcoli statistici, quali regioni (costituite da migliaia voxel) presentano un impatto significativo e consistente sulle variabili comportamentali indagate (fig. 13).

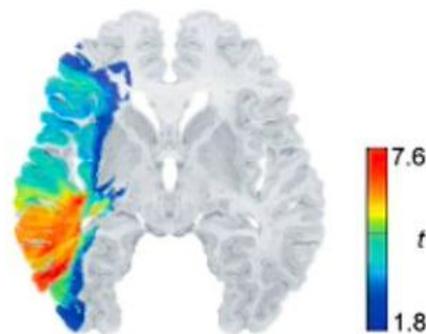


Fig. 13: Si evidenzia come le aree colorate in rosso risultino essere quelle con una maggior probabilità che la lesione al loro interno abbia un effetto significativamente grande sul deficit clinico osservato. In questo caso specifico, si tratta di un paziente con una compromissione uditiva e, difatti, i voxel relazionati maggiormente ad essa sono quelli del giro temporale medio, strettamente deputato alle funzioni di comprensione linguistica. (Bates et al., 2003).

Sebbene non siano tanti, alcuni studi si sono recentemente attenzionati su pazienti affetti da demenza, in particolare da quella di Alzheimer, mettendo a punto la VLSM con il fine di analizzare la quantità di sostanza bianca, la quale generalmente presenta le cosiddette iperintensità, legate ad abbondante degradazione della stessa. Uno di questi, è lo studio di Morgen e collaboratori (2015), il quale evidenzia che l'effetto più rilevante che l'iperintensità della sostanza bianca ha sul versante cognitivo, si presenta all'interno del sottocampione di pazienti che non sono portatori dell'allele  $\epsilon 4$  (appartenente al gene APOE, descritto nel primo capitolo come il principale rischio per l'esordio della AD nelle forme sporadiche). I non portatori mostrano un impatto significativo, rispetto ai portatori, della perdita di sostanza bianca, in particolar modo nelle regioni frontali, sui deficit soprattutto esecutivi, i quali all'interno di tale studio, vengono approfonditi attraverso il Trail Making Test, adatto per l'indagine delle abilità di *shifting*, flessibilità cognitiva, e pianificazione spaziale (fig. 14). Prendendo, invece, in considerazione unicamente la sostanza grigia, attraverso la *Voxel-Based Lesion Symptom Mapping* si è in grado di valutare gli effetti del suo volume nel cervello dei pazienti

(facendone anche la media per ciascun sottocampione), così come si è fatto per la bianca: nello studio di Morgen collaboratori si mette in luce una significativa probabilità che un ridotto volume di sostanza grigia nell'emisfero destro frontale e nelle aree parietali e temporali bilaterali correli con una scarsa performance al Trail Making Test, particolarmente in coloro che sono portatori dell'allele epsilon 4 di APOE, mentre non sembrano avere un grande effetto le aree frontali nei non portatori. All'interno della VLSM la metodica che fornisce una suddivisione netta e chiara tra la sostanza bianca, la grigia e il liquor cerebro-spinale è chiamata segmentazione, partendo dall'immagine di risonanza grezza.

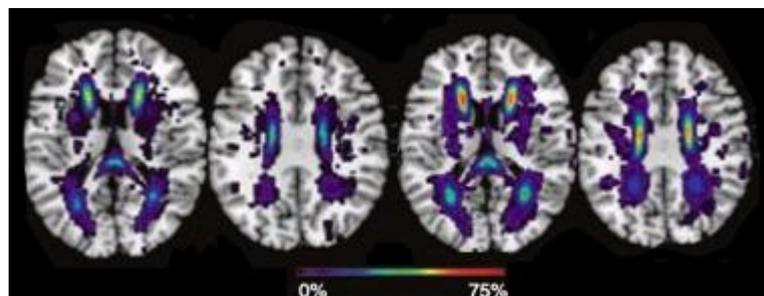


Fig. 14: Mappe della iperintensità della sostanza bianca basata sui singoli voxel (VLSM) di pazienti con malattia di Alzheimer portatori (a sinistra) e non portatori (a destra) dell'allele  $\epsilon 4$  del gene APOE: si può notare come i secondi presentino una mappa di probabilità maggiormente superiore rispetto ai primi circa la relazione tra la densità della sostanza bianca e i deficit clinici esecutivi. (Morgen et al., 2015).

Nel lavoro del presente elaborato, non è stata utilizzata la *Voxel-Based Lesion Symptom Mapping*, dal momento che la maggioranza di studi in letteratura ricorre ad essa non tanto per l'indagine di atrofia, ovvero degradazione progressiva di sostanza dovuta, ad esempio, ad una demenza, quanto piuttosto per l'analisi su pazienti con lesioni, come quelle che mostrano coloro che hanno subito un ictus. Come descriveremo più in dettaglio nel prossimo capitolo, si è ugualmente usata un'analisi simil VLSM, tramite un modello lineare di regressione, poiché permette di rispondere all'incirca alla medesima domanda, ossia quali sono i test e scale neuro-cognitive in grado di spiegare maggiormente il risparmio della sostanza grigia cerebrale.

Un'ulteriore tecnica basata sulla valutazione dei singoli voxel da cui il cervello è composto, è la *Voxel-Based Morphometry* (VBM), eseguita al fine di identificare differenze locali nella

composizione dei tessuti così come la loro integrità, confrontando pazienti neurologicamente compromessi con i soggetti sani. La VBM e VLSM sono entrambe tecniche morfologiche in grado di associare la struttura, più o meno deficitaria, con la probabilità che abbia un effetto significativo su una precisa funzione, effettuando ciò a partire dalla generazione di mappe statistiche convertite ed inserite in uno spazio standardizzato (normalizzazione). La *Voxel-Based Morphometry* può essere usata anche per la detezione della malattia di Alzheimer, indagando la densità di sostanza grigia, soggetta ad atrofia, nella neocorteccia o in strutture sottocorticali al fine di distinguere i pazienti dai sani. Dal momento che l'ippocampo è una delle regioni maggiormente colpite nella AD, da cui derivano le tipiche compromissioni mnestiche, grazie a tale tecnica morfologica può essere possibile segmentare il volume ippocampale per confrontarlo, successivamente tra i due gruppi di campioni, procedimento eseguito da Gupta e collaboratori (2019) servendosi di un software statistico chiamato FreeSurfer. Quest'ultimo consente di estrarre le caratteristiche specifiche di determinate regioni corticali o sottocorticali da ciascuna delle immagini di risonanza, parcellizzando, ad esempio, i sottocampi dell'ippocampo. Difatti, le più estese aree che la VBM presenta come significativamente differenti, nel confronto tra pazienti e controlli, circa la riduzione di sostanza grigia, sono collocate bilateralmente nei lobi mediali temporali, includendo ippocampo ed amigdala. In particolar modo, sono i voxel all'interno delle regioni temporoparietali a presentare una significativa e notevole probabilità di essere relazionati con una performance considerevolmente scarsa nel MMSE eseguito da pazienti con Alzheimer moderata. FreeSurfer può, inoltre, essere utilizzato al fine di stimare lo spessore corticale, il quale ci si aspetta essere abbondantemente inferiore nei pazienti con demenza, rispetto ai sani. Quest'ultimo corrisponde, in breve, alla distanza tra i limiti della sostanza grigia e bianca e all'interno del cervello sano, sebbene non sia di facile calcolo dati i numerosi solchi e giri, oscilla di media tra i 2,5 e 3 mm. Attraverso tale software, le immagini originali grezze di risonanza vengono pre-processate e da queste si estraggono le stime dello spessore. Conoscere, pertanto, lo spessore corticale in pazienti che ancora non hanno ricevuto una diagnosi di Alzheimer pare essere un rilevante marcatore utile al clinico per essere indirizzato verso una possibile diagnosi, escludendone altre: un ridotto spessore nelle regioni tipicamente coinvolte nella AD correla positivamente con un ritardo nel recupero mnestico, caratteristica centrale della patologia (Busovaca et al., 2015). Recentemente, il gruppo di ricerca di Ji e collaboratori (2021) ha indagato il tronco dell'encefalo (costituito da mesencefalo, ponte e midollo allungato), nelle prime fasi della malattia dell'Alzheimer, grazie all'utilizzo di ITK-SNAP, software che, come il toolbox FreeSurfer, permette

di segmentare strutture tridimensionali a partire da quella grezza originale. Successivamente, ciascun tronco dell'encefalo, isolato dalle adiacenti strutture e segmentato, è inserito nello spazio normalizzato. Dallo studio dei voxel di tale struttura si osserva che esso va incontro ad un evidente processo atrofico già dal primo stadio AD, in particolare il nucleo del rafe dorsale (nel quale si accumulano notevolmente i grovigli neurofibrillari di proteina tau). L'analisi VBM mostra come il ponte bilaterale e la regione sinistra del mesencefalo siano significativamente differenti tra il campione di pazienti affetti da AD e quello dei soggetti sani, avanzando l'ipotesi che la atrofia strutturale del tronco encefalico possa essere considerato una tra le prime regioni ad avere un notevole coinvolgimento nei cambiamenti patologici della Alzheimer (Ji et al., 2021).

La sostanza bianca (*white matter*, WM), costituita da fasci di fibre che risultano progressivamente compromessi nella malattia di Alzheimer, viene indagata anche con una innovativa tecnica di connettività, chiamata *Diffusion Tensor Imaging*, o DTI, la quale misura la diffusione delle molecole di acqua e la loro direzione, sfruttando la risonanza magnetica funzionale. Il tensore di diffusione permette di visualizzare non solo il tessuto biologico da cui proviene il segnale, ma anche la direzione dell'acqua al suo interno: ciò consente di analizzare in vivo l'architettura microstrutturale del cervello sia in condizioni fisiologiche che in quelle patologiche, come le demenze, nelle quali ci si aspetterebbero alterazioni e cambiamenti nella direzionalità della diffusione dell'acqua. Una delle misure più spesso utilizzate è la anisotropia frazionaria (FA), che rappresenta una stima dell'integrità microstrutturale: studi basati sulla DTI evidenziano una ridotta anisotropia nel corpo calloso anteriore e posteriore nei pazienti con patologia di Alzheimer e ciò si nota essere correlato significativamente con una riduzione della sostanza grigia nei lobi parieto-frontali e temporali bilateralmente, così come nell'ippocampo (Sydykova et al., 2007). La degenerazione delle fibre del corpo calloso è significativamente inferiore nel gruppo di pazienti AD, rispetto ai pazienti affetti da Mild Cognitive Impairment e, naturalmente, ai sani. Un crescente numero di studi in linea con tale dato considera la neurodegenerazione della WM uno specifico e precoce biomarcatore nella malattia di Alzheimer, rilevando inoltre come l'asinotropia frazionaria sia un comune segno anche nei pazienti con MCI, dove la maggioranza purtroppo sfocia in AD entro pochi anni. Studi recenti evidenziano che in particolare le alterazioni microstrutturali più evidenti osservate con la trattografia DTI sono quelle riguardanti i tratti limbici e temporoparietali, i quali proprio nella prima fase preclinica potrebbe

risultare essere un potenziale marcatore utile per una precoce diagnosi ed in più si mette in luce un ridotto assottigliamento nella maggior parte dei fasci, in prevalenza nel fascicolo arcuato e uncinato, con un ruolo fondamentale nella produzione e comprensione linguistica, e nel fascio fronto-occipitale inferiore. (Esrael et al., 2021) (fig. 15).

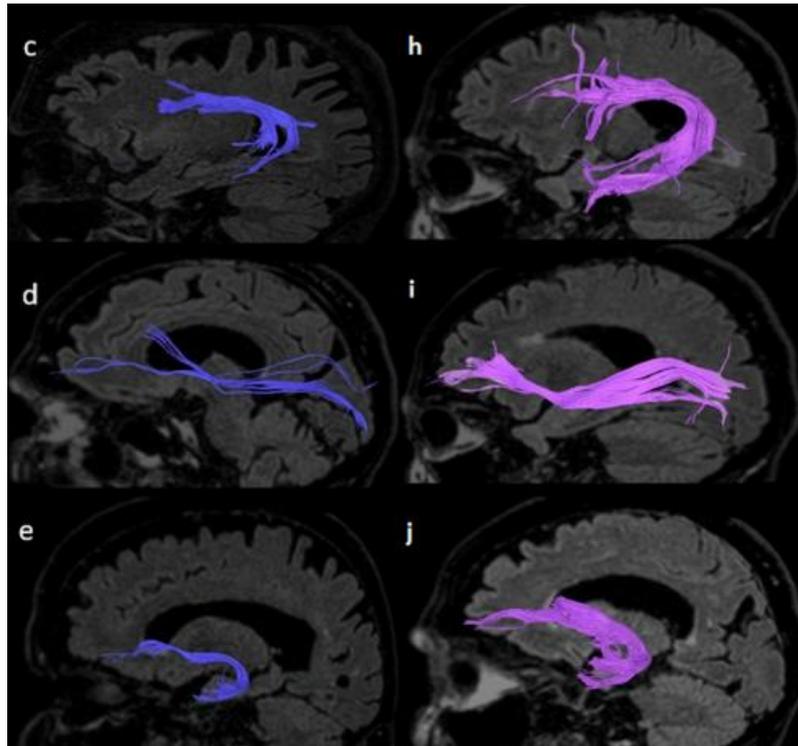


Fig. 15: Degradazione dei fasci di sostanza bianca in pazienti con malattia di Alzheimer (colonna di sinistra), in confronto ai soggetti sani (colonna di destra): rispettivamente nella prima e terza riga sono rappresentati i fascicoli arcuato ed uncinato e nella seconda riga si mostra il fascio fronto-occipitale inferiore. (Esrael et al., 2021).

È importante notare come il quadro particolarmente alterato che viene rilevato dai parametri della *Diffusion Tensor Imaging* correli sempre con compromissioni cliniche, tipiche della patologia di Alzheimer, soprattutto nel dominio mnestico. Le tecniche morfologiche qui descritte hanno, difatti, il vantaggio di consentire la visualizzazione dell'integrità della sostanza bianca e grigia che compongono il nostro cervello (attraverso la loro segmentazione) o stimare lo spessore corticale, al fine di possedere il quadro morfologico del paziente, utile per effettuare la diagnosi ed ipotizzarne l'entità del declino, oltre che associare, una volta somministrati i test neuropsicologici per valutare il

funzionamento cognitivo descritti precedentemente, la densità di atrofia che si presenta nelle malattie neurodegenerative all'efficienza delle diverse funzioni neuro-cognitive.

## **2.4 Obiettivi e ipotesi dello studio**

Il presente studio ha lo scopo di valutare, inizialmente, quale relazione esista tra la capacità imitativa dei pazienti e la integrità delle loro funzioni cognitive e, secondariamente, la relazione tra queste ultime e l'estensione della atrofia cerebrale. Si indaga, pertanto, il quadro morfologico dei pazienti con AD e con Deficit Cognitivo Lieve (MCI), confrontandolo con quello di soggetti sani, al fine di valutarne la gravità, oltre che individuare le aree cerebrali maggiormente colpite dal processo atrofico, associando ciò al quadro clinico, ricco di test che studiano una grande varietà di funzioni psicologiche. Risulta essere, però, anche notevolmente interessante l'analisi della performance di imitazione nei pazienti, per comprenderne la relazione con i prevalenti deficit neuro-cognitivi da cui sono affetti, dal momento che tale abilità recluta una svariata gamma di funzioni, quali la memoria di lavoro, l'attenzione, la pianificazione di sequenze di atti motori, tenendo per di più conto dell'orientamento spaziale con cui muoversi.

Sulla base delle evidenze, descritte finora, circa la capacità imitativa di soggetti con AD e deficit cognitivo lieve e le alterazioni morfologiche riscontrate, è possibile ipotizzare che:

a) il campione dei pazienti mostri una prestazione imitativa significativamente inferiore rispetto ai soggetti sani, sebbene la letteratura non riporti dati sempre in linea con la differenza tra il sottocampione dei pazienti con AD e quello con MCI, dal momento che non esistono ad ora dati sul compito di imitazione come quello proposto nel presente lavoro. Secondariamente, ci si può aspettare di osservare una relazione positiva tra tale performance e l'integrità delle funzioni neuro-cognitive;

b) vi sia una compromissione maggiore delle aree fronto-parietali appartenenti al circuito specchio e deputate alla preparazione e messa in atto di azioni, così come al mantenimento attivo di

informazioni utili per il compito che si sta eseguendo, nei pazienti in confronto ai controlli, e con conseguente relazione significativa con il quadro clinico relativo all'integrità del funzionamento cognitivo e con la qualità della performance imitativa;

c) nello specifico, un processo atrofico più consistente, caratterizzato da maggior degenerazione della sostanza grigia e dei tratti di sostanza bianca, in coloro che possiedono una diagnosi di conclamata demenza di Alzheimer o MCI, rispetto ai sani. Inoltre, ci si aspetta a tal proposito, date le evidenze riportate dalla letteratura, una differenza significativa tra i pazienti con AD e coloro che sono affetti da MCI, circa la qualità della performance imitativa e l'integrità globale delle funzioni cognitive, ipotizzando un quadro maggiormente compromesso nei primi, rispetto ai secondi, sia nel compito motorio in MRI che all'interno dell'assessment neuro-cognitivo.

L'obiettivo dello studio, pertanto, verte sulla valutazione dell'integrità delle funzioni cognitive associate a potenziali deficit osservati (e determinati da una atrofia che coinvolge specifiche aree cerebrali) nel compito motorio imitativo, dal momento che diversi studi recentemente hanno evidenziato che anche compromissioni motorie possono in un qualche modo predire ulteriori problemi neuro-cognitivi all'interno della malattia di Alzheimer, indirizzando il focus in ricerca e la possibile diagnosi nella clinica in questa direzione.

# Capitolo 3 – Materiali e Metodi

## 3.1 Partecipanti

Lo studio, oggetto del presente elaborato, si costituisce di due parti: una valutazione neuropsicologica a cui tutti i partecipanti sono stati sottoposti ed un compito di osservazione-esecuzione svolto in risonanza magnetica funzionale 3 Tesla all'ospedale Maggiore di Parma. I soggetti reclutati sono in totale 29, di cui 8 pazienti e 21 soggetti di controllo. I primi, al fine di essere inseriti all'interno del campione sperimentale, occorreva possedessero i seguenti criteri d'inclusione:

- Una diagnosi di MCI (basandosi sui criteri di Albert et al., 2011) o malattia di Alzheimer (basandosi sui criteri di McKhann et al., 2011);
- Età compresa tra i 50 e 80 anni;
- Un punteggio grezzo di  $\geq 22$  al test MMSE, svolto durante l'iniziale assessment;
- Assenza di specifici deficit sensoriali, quali visivi, che potessero impedire il corretto svolgimento del compito motorio durante l'esame di MRI ed un livello di collaborazione e comprensione sufficienti a tal fine.

Nello specifico, il sottocampione di pazienti era formato da 5 uomini e 3 donne, con un'età compresa tra i 56 e i 75 anni ( $M=67,8 \pm 6$ ) ed una scolarità media di 11,6 anni. Degli 8 pazienti, 4 hanno ricevuto una diagnosi di MCI (di cui 3 uomini e una donna) e altrettanti 4 presentano una diagnosi di conclamata AD lieve (di cui due uomini e due donne). I partecipanti del gruppo di controllo non dovevano presentare alcuna malattia neurologica o anomalia cerebrale conclamata, escludendo soggetti con tumori, ictus, epilessia e ischemie. Inoltre, i soggetti dello studio non dovevano avere pacemaker, defibrillatori cardiaci o stimolatori midollari, né alcun materiale metallico incompatibile con la macchina di risonanza magnetica (RM), come viti, protesi o valvole cardiache. Per escludere,

difatti, coloro che potessero non essere compatibili con tale esame, si sono invitati tutti i partecipanti a compilare il modulo delle controindicazioni alla RM, e le risposte individuali sono state successivamente lette dal medico radiologo con attenzione, che approva lo svolgimento dell'esame. Inoltre, tutti i partecipanti hanno fornito il loro consenso informato al prendere parte allo studio in conformità con la Dichiarazione di Helsinki.

### **3.2 Assessment neuropsicologico**

I soggetti appartenenti al gruppo sperimentale sono stati, come precedentemente anticipato, sottoposti ad una batteria di test ritenuti essenziali al fine di valutare il funzionamento di una vasta serie di funzioni cognitive, quali la memoria, l'orientamento visuo-spaziale, la prassia, il linguaggio e l'attenzione, in due sedute differenti: una parte di test è stata svolta dal medico neurologo presso il proprio ambulatorio all'Ospedale e comprendeva lo screening cognitivo del MMSE o MOCA, la figura di Rey (ricopiata sul momento al fine di indagare la memoria a breve termine, e quella differita per lo studio della memoria a lungo termine), il test di Stroop che analizza l'attenzione e le funzioni esecutive, il SAND e le fluenze verbali/semantiche per la valutazione dell'area linguistica, ADL (*Activities of Daily Life*) e IADL (*Instrumental Activities of Daily Life*) i quali indagano l'autonomia del paziente nello svolgimento delle attività quotidiane concernenti l'igiene personale, la deambulazione autonoma, la preparazione dei pasti o la comunicazione e il supporto sociale, ed infine, il *Geriatric Depression Scale* (GDS), che rappresenta una delle scale più utilizzate per lo studio di una potenziale sintomatologia depressiva nei soggetti anziani fragili o con una demenza lieve, come nel nostro caso. La restante parte dei test è stata somministrata il giorno stesso del compito in risonanza, poco prima che il paziente venisse invitato a prepararsi per entrare nello scanner. Tra tali test ci sono il *digit span forward* e *backward* e il test di Corsi, entrambi per la valutazione della capacità mnestica a breve termine, la denominazione di azioni che indaga la capacità di recuperare i corretti verbi dall'osservazione di una vignetta, il test dell'orologio e quello di cancellazione delle campanelle per indagare le funzioni visuo-spaziali e la prassia costruttiva, il test dell'aprassia ed infine, l'*Edinburgh Handedness Inventory*, utilizzato al fine di stabilire la dominanza manuale (tabella 1). Per una completa e dettagliata descrizione dei suddetti test neuro-cognitivi, si rimanda al paragrafo 2.2 del secondo capitolo.

I soggetti di controllo, invece, sono stati unicamente sottoposti allo screening cognitivo attraverso il MMSE, al fine da confermare l'assenza di eventuali compromissioni cognitive ed un funzionamento cognitivo nella norma. Inoltre, a fini statistici, per tutti coloro a cui si è somministrato lo screening alternativo MOCA, si è convertito il punteggio finale in punteggio equivalente (PE) MMSE, mediante i criteri delineati da Bergeron e collaboratori (2017).

ESAME NEUROPSICOLOGICO					
SCREENING COGNITIVO		P. Grezzo	P. Corretto	Cut-off	P. Equivalente
Moca ( <i>Santangelo, 2015</i> )	Totale Rievocazione			15.5 m.v 1.77	
<b>MEMORIA A BREVE TERMINE</b>					
Digit span forward ( <i>Monaco, 2013</i> ) Digit span backward ( <i>Monaco, 2013</i> ) Test di Corsi ( <i>Mammarella et al., 2008</i> )	Forward Backward			4.25 2.64	
<b>MEMORIA A LUNGO TERMINE</b>					
Free and Cued Selective Reminding Test (FCSRT) ( <i>Frasson, 2011</i> )	IFR ITR ISC DFR ITR intrus			19.6 35 0.9 6.31 11 1	
Figura di Rey differita ( <i>Caffarra, 2002</i> )				9.46	
<b>LINGUAGGIO</b>					
Fluenze fonemiche ( <i>Carlesimo, 1996</i> ) Fluenze semantiche ( <i>Zarino, 2015</i> ) SAND ( <i>Catricalà, 2017</i> ) Denominazione di Azioni ( <i>Capasso e Miceli, 2001</i> )				17.34 23,58 9,969 6.1	
<b>ATTENZIONE E FUNZIONI ESECUTIVE</b>					
Multiple Features Cancellation Test (MFTC) ( <i>Marra, 2013</i> )	Accuratezza Falsi allarmi Tempo			0.869 2.77 135.73	
Stroop Test ( <i>Caffarra, 2002</i> )	Errori Tempo			4.24 36.92	
<b>PRASSIA COSTRUTTIVA E FUNZIONI VISUO-SPAZIALI</b>					
Figura di Rey copia ( <i>Caffarra, 2002</i> ) Test Orologio ( <i>Caffarra et al., 2011</i> ) Test di cancellazione di Campanelle ( <i>Vallar et al, 1994</i> )	Tempo Asimmetria Omissioni			28.87  ≥ 3	
<b>PREFERENZA MANUALE</b>					
Edinburgh Handedness Inventory ( <i>Oldfield, 1971</i> )					
<b>APRASSIA IDEOMOTORIA</b>					
Test di Aprassia ( <i>De Renzi et al., 1980</i> )				>62	

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

Tab. 1: Batteria di test somministrata ad ogni paziente all'interno dell'assessment neuropsicologico effettuato in due sedute separate.

### **3.3 Studio comportamentale**

La seconda fase dello studio consiste in un compito di esecuzione e uno di pura osservazione, da svolgersi all'interno dello scanner della risonanza magnetica 3 T. Nel compito di osservazione i soggetti dovevano osservare dei video che mostravano due mani in prospettiva soggettiva che, compiendo specifici movimenti consistenti in passaggi e pieghe solo con la mano destra o solo con quella sinistra o con entrambe, ripiegano un foglio colorato in modo sempre differente, fino a costruire una sorta di "origami"; in altre sequenze, invece, si avvicinano al foglio raggiungendolo, ma senza interagire con esso, per poi tornare alla loro posizione di partenza. Ogni sequenza possiede tre passaggi, che rappresentano l'azione di muovere un lembo di carta in una certa direzione, e tre pieghe, le quali corrispondono all'atto motorio di stiramento del foglio, successivo al passaggio. Il paziente doveva guardare i video proposti, cercando di rimanere il più fermo possibile con la testa e con il corpo; la consegna era di riprodurre quanto più fedelmente possibile i movimenti delle mani dell'attore che interagiscono con il foglio di carta. Sdraiato nello scanner, veniva posizionato in modo tale da inserire il capo all'interno di un caschetto con inseriti dei visori, che gli consentivano di vedere solamente i video davanti a sé. La sessione sperimentale consiste in due RUN di video, ciascuna contenente 8 sequenze di origami di 16 secondi ognuna.

#### **Seconda condizione (imitazione)**

La seconda condizione consisteva nell'osservare nuovamente video di origami, ma in questo caso il paziente doveva, successiva, riprodurre il più fedelmente possibile quanto osservato. Una volta sdraiato nello scanner, si collocava all'altezza del bacino del soggetto un tavolino di legno inclinato (senza parti metalliche, per poter essere totalmente compatibile con il sistema di RM), su cui era invitato ad appoggiare entrambe le mani distanziate tra di loro per tutta la durata del compito esecutivo, eccetto durante la riproduzione dei movimenti, come mostrato nella figura 16.



Fig. 16: Paziente disteso all'interno dello scanner della RM con entrambe le mani poggiate sul tavolino di legno, sul quale avrebbe svolto i piegamenti del foglio durante il compito imitativo.

Prima che venga inserito nello scanner, al soggetto vengono descritti i diversi step di cui si compone ciascuna sequenza, mostrando al soggetto un esempio concreto, esattamente identico a ciò che avrebbe visto nella sessione sperimentale.

Nella sessione sperimentale, per due secondi, viene presentata la scritta "OSSERVA", segnale che sta per cominciare il primo video. Immediatamente dopo aver posto lo sguardo su una croce bianca di fissazione al centro dello schermo nero, compaiono le due mani dell'attore, le quali da una posizione di partenza uguale a quella del paziente sul tavolino, iniziano a muoversi ripiegando su sé stesso il foglio colorato. In seguito alla durata di 16 secondi di ciascuna sequenza, appare una seconda scritta, "RIPETI L'AZIONE" che, nuovamente, permane per 2 secondi, e durante la quale lo sperimentatore adagia un foglio quadrato dalle dimensioni di 21x21 cm sul tavolo. All'apparizione di un pallino verde il paziente sa di poter iniziare a riprodurre l'origami, senza però la possibilità, ricordiamo, di vedere le proprie mani. Dopo i 16 secondi a disposizione per effettuare in prima persona l'origami, al soggetto viene sottratto il foglio, che lo abbia o non lo abbia portato completamente a termine (fig. 17).



Fig. 17: Cronologia degli eventi in una sequenza appartenente al compito di imitazione.

Per entrambi i compiti di osservazione ed esecuzione si è utilizzato un disegno sperimentale *event-related* e durante la condizione di esecuzione si è video-registrata la seduta mediante una Go-Pro, fissata ad un sistema di legno, collocato dentro lo scanner in modo tale che le mani del paziente sul tavolino fossero adeguatamente riprese. Le fasi della procedura sperimentale che più ci interessano ai fini della successiva descrizione dei risultati, sono l'iniziale acquisizione delle immagini morfologiche cerebrali (chiamate BRAVO MIK), le quali verranno in un secondo momento approfonditamente analizzate, e la performance motoria dei pazienti e dei soggetti di controllo durante le ultime due RUN imitative: per arrivare a conoscere quanto bene i partecipanti allo studio hanno riprodotto gli origami osservati, ci si è serviti di una apposita tabella di scoring, che in seguito delineeremo nel dettaglio. Prima, viene descritto il sistema che permette di acquisire immagini del cervello utili per lo studio dell'atrofia nei pazienti con MCI o AD al fine di eseguire un confronto con la struttura cerebrale di soggetti sani.

### **3.3.1 Acquisizione delle immagini morfologiche in Risonanza Magnetica (MRI)**

La risonanza magnetica (*Magnetic Resonance Imaging*, MRI) è una delle tecniche di neuroimmagine strutturale più impiegata all'interno delle neuroscienze cognitive ai fini di ricerca di base e largamente usata anche per la formulazione di diagnosi cliniche in ambito medico. Il soggetto è posto in una bobina, la quale si basa su un potente campo magnetico uniforme e a intensità elevata

dell'ordine di 1-3 Tesla, che modifica l'allineamento degli atomi di idrogeno (il più abbondante elemento dei tessuti). Il loro orientamento si uniforma con quello del campo magnetico stesso tramite impulsi che la bobina emette a opportuna radiofrequenza: tale energia viene assorbita dagli atomi di idrogeno finché non è interrotta, determinando così il ritorno del loro orientamento alla disposizione originaria. L'energia che è assorbita in primo luogo, e riemessa in seguito, produce il segnale elettromagnetico, il quale è rilevato dalla apparecchiatura del sistema e successivamente adoperato al fine di ricostruire la mappa del cervello oggetto di studio: in breve, essa rappresenterà una mappa del contenuto di idrogeno nei diversi tessuti di cui il cervello è composto.

Ciò che viene restituito è un insieme di immagini cerebrali, che con specifici software possono essere nel dettaglio indagate circa l'integrità della sostanza bianca e grigia, la densità del liquor cerebrospinale ed è possibile riconoscere anche masse tumorali. È uno strumento che consente di ricevere immagini, non solo bidimensionali da visualizzare tramite i tagli coronale, sagittale e assiale, ma anche nelle tre dimensioni, con una risoluzione spaziale relativamente elevata, essendo in grado di identificare differenze in diversi punti dello spazio molto ravvicinati tra loro. Dal punto di vista strutturale, pertanto, la RM rappresenta un'ottima tecnica di indagine cerebrale, utile per discriminare differenti aspetti morfologici ed effettuare il confronto tra più cervelli analizzati. La tecnologia basata sulla risonanza è sfruttata inoltre per produrre immagini riguardanti la funzionalità cerebrale, ossia di come il cervello lavora e si attiva in vivo. La risonanza magnetica funzionale crea, difatti, mappe che mettono in evidenza l'afflusso di sangue ossigenato, presente nelle aree maggiormente attive in quel dato momento: quanto più una regione viene reclutata al fine di svolgere un compito, tanto più richiederà sangue ossigenato, il quale, avendo proprietà magnetiche che influenzano le onde radio emesse dagli atomi di idrogeno, risulterà in un segnale particolarmente chiaro ed evidente sulle immagini finali (tale segnale è denominato BOLD, *blood-oxygen-level-dependent*). Nel presente lavoro, però, si prenderanno in considerazione unicamente le immagini strutturali, ovvero lo stato del cervello di ciascun paziente a riposo nello scanner, trascurando le attivazioni in vivo, ossia il modo in cui il cervello si attiva, nel nostro caso, durante il compito sperimentale imitativo.

Le immagini strutturali nel presente lavoro sono state acquisite mediante il tomografo operante a 3 Tesla, presso l’Ospedale Maggiore di Parma, attraverso la sequenza 3D ad alta risoluzione spaziale (3D BRAVO MIK), che possiede i seguenti parametri: *section thickness*: 0.9 mm; TR/TE: 12.36/5.18 ms; *flip angle*: 13°.

### **3.3.2 Scoring della performance imitativa**

In seguito all’esame in risonanza, per prima cosa si è eseguito lo *scoring* del compito motorio di imitazione di ogni soggetto, ovvero si sono assegnati punteggi a diversi parametri, importanti per il successivo calcolo della performance quantitativa. Ci si concentra, pertanto, sulle due RUN motorie descritte in precedenza, tenendo in considerazione in primis i video dell’attore, i quali sono stati presi come modello su cui basare quelli di ogni paziente e soggetto sano. Innanzitutto, si è creata una tabella per ogni sequenza di ogni RUN motoria, costituita da 3 colonne, di cui la prima associata ai parametri fondamentali a cui fare attenzione e che a breve delineeremo, mentre la seconda e la terza servono rispettivamente per i punteggi del soggetto e dell’attore. Un’ultima colonna, infine, concerne eventuali note che possano essere utili per interpretare alcuni di questi parametri (tabella 2).

Si è calcolato, per primo, il tempo di esecuzione, ossia il tempo in secondi impiegati dal soggetto nello scanner per effettuare l’intera sequenza; non essendo una prova di velocità, ci si aspetta che il tempo impiegato dal modello e dal soggetto di controllo all’incirca coincidano e che, al contrario, il paziente con diagnosi di MCI o AD impieghi più tempo nell’eseguire l’origami correttamente rispetto al modello, come evidenziato da Bisio e collaboratori (2012). Nello specifico, si misurava il tempo dall’istante in cui le mani del soggetto toccavano per la prima volta il foglio adagiato sul tavolino, sino a quando veniva effettuata l’ultima piega, riportando le mani alla loro posizione di partenza. Si faceva attenzione, in seguito, a come l’attore effettuava le pieghe sul foglio, poiché talora usava unicamente la destra, talora solo la sinistra, o altre volte ancora entrambe: per una esatta riproduzione della sequenza, occorrerebbe imitare ogni singolo movimento eseguito dalla mano osservata (ricordiamo, vista in prospettiva soggettiva). Venivano riportate le volte in cui l’attore e il soggetto (correttamente o sbagliando) utilizzavano solo la destra, solo la sinistra o entrambe per

eseguire un passaggio o una piega. Facciamo chiarezza su questi ultimi due parametri, notevolmente rilevanti per il finale calcolo della percentuale di performance: il primo risulta essere il movimento che si fa al fine di spostare un lembo di carta da un punto di partenza ad un terminale. Ad esempio, se si prende l'angolo destro in alto per avvicinarlo a quello sinistro opposto, in basso, si sta eseguendo un passaggio; la piega, invece, non è altro che ciò che viene effettuato dopo aver piegato una parte di foglio, con il fine di distendere e spianare quella rimasta rialzata: successivamente ad ogni passaggio, c'è da parte del modello una piega e tali movimenti possono essere effettuati con una o l'altra mano. Riguardo a tali parametri, veniva appuntato sulla tabella il numero di pieghe e di passaggi eseguiti correttamente dal soggetto sperimentale, anche se lo faceva usando una mano diversa dalla mano utilizzata dall'attore. Inoltre, un ulteriore aspetto da tenere in considerazione è la perseverazione di pieghe, ovvero l'esecuzione di pieghe del foglio che non erano richieste, perché non osservate nel video-modello. Infine, venivano annotate le eventuali rotazioni del foglio di carta che il soggetto faceva successivamente ad un passaggio: generalmente l'attore non esegue mai rotazioni, eccetto in un paio di sequenze in totale all'interno delle due RUN imitative. Un esempio di tutti i parametri finora citati e descritti è riportato sotto forma di tabella, identica a quella usata per l'effettivo scoring delle due RUN imitative (tabella 2).

<b>SEQUENZA 1 IMI</b>	<b>PUNTEGGIO SOGGETTO</b>	<b>PUNTEGGIO ATTORE</b>	<b>NOTE:</b>
<b>Tempo di esecuzione</b> (secondi impiegati dal soggetto per eseguire l'intera sequenza dal momento in cui prende il foglio all'ultima piega)		12,69	
<b>Utilizzo mano destra</b> (numero di volte in cui il soggetto utilizza la mano destra per eseguire un passaggio/piega della sequenza)		0	
<b>Utilizzo mano sinistra</b> (numero di volte in cui il soggetto utilizza la mano sinistra per eseguire un passaggio/piega della sequenza)		2	
<b>Utilizzo di entrambe le mani</b> (numero di volte in cui il soggetto utilizza entrambe le mani per eseguire un passaggio/piega della sequenza)		4	
<b>PERSEVERAZIONI di piegamenti</b> (numero di pieghe complessive effettuate dal soggetto nell'intera sequenza)		0	
<b>Numero di piegamenti eseguiti correttamente</b> (numero di pieghe eseguite correttamente dal soggetto nell'intera sequenza)		3	
<b>Numero di passaggi</b> (movimento prima del piegamento)		3	
<b>Numero di passaggi eseguiti correttamente</b> (movimento prima del piegamento)		3	
<b>Rotazioni</b> (numero di rotazioni del foglio eseguite dal soggetto dopo il primo passaggio)		0	

Tab. 2: Tabella di scoring per il compito di imitazione. Ci si riferisce alla prima sequenza della prima RUN motoria, dove i punteggi ai parametri del modello sono già stati assegnati.

Come è possibile notare dalla tabella riportata, l'attore non esegue nessuna rotazione, e naturalmente alcuna perseverazione, essendo egli il modello da imitare. Utilizza ben 4 volte entrambe le mani per effettuare pieghe o passaggi e due solo con la sinistra, senza mai eseguire movimenti unicamente con la mano destra; come anticipato poc'anzi, ad ogni passaggio segue sempre una piega, e difatti in ogni sequenza sono presenti 3 passaggi e altrettante pieghe, sebbene gli origami risultino essere notevolmente differenti l'uno dall'altro. Nel caso in cui il paziente o il controllo dovesse correttamente imitare questi ultimi movimenti, ma sbagliando l'uso delle mani, dal punto di vista qualitativo si riporta e considera ciò come un errore, anche se quantitativamente non influirà sulla percentuale di performance motoria finale. Difatti, l'analisi qualitativa verte sull'effettiva accuratezza dell'uso della mano destra, sinistra o entrambe nell'esecuzione di pieghe e passaggi. Ciò che nel presente lavoro interessa è, invece, la performance quantitativa, legata al numero esatto di questi

ultimi all'interno di ciascuna sequenza, trascurando i punteggi riferiti al secondo, terzo e quarto parametro riportati in tabella. Essa è calcolata, mediante un foglio di lavoro di Excel, tramite i seguenti passi: in primo luogo si considera la Performance Totale, per la quale viene eseguita la somma tra pieghe e passaggi correttamente effettuati in tutte le 16 sequenze totali, facendone successivamente la media. In seguito, si è confrontata la performance imitativa del modello, sempre equivalente a 6, data da 3 passaggi e 3 pieghe, con quella del soggetto sperimentale, in base a quanto bene avesse riprodotto tali movimenti. Il valore ottenuto si riporta in percentuale, corrispondente a quella che abbiamo chiamato "performance quantitativa" nelle 2 RUN della sessione sperimentale. Sulla piattaforma Excel, pertanto, sono stati creati tanti fogli di lavoro quanti sono i soggetti su cui eseguire lo scoring imitativo, denominati con i codici assegnati loro dall'inizio dello studio (ossia, il prefisso **ALZ\_** seguito da un numero crescente a partire da 01). Naturalmente, in un'unica tabella Excel sono state riportate, raggruppandole, le percentuali della performance motoria di tutti i soggetti sperimentali, ad ora 29, così da poter essere più facilmente visualizzate e confrontate tra i tre sottocampioni.

Le analisi statistiche sugli indici descritti sopra sono state effettuate mediante il software RStudio, utilizzando, in particolare, i test non parametrici Tau di Kendall per gli indici di correlazione e quello di Wilcoxon per evidenziare possibili effetti differenziali tra medie.

### **3.4 Analisi statistiche dei dati MRI**

Le analisi di pre-processing dei dati ottenuti in Risonanza Magnetica vertono, in primo luogo, sulla segmentazione di tutte le immagini morfologiche dei soggetti sani e dei pazienti, fase che consiste nella suddivisione dei tessuti da cui il cervello è composto, ovvero la sostanza bianca, la sostanza grigia e il liquor cerebro-spinale a partire dall'immagine MRI grezza: il software matematico MATLAB r2022a utilizzato per tale procedura, restituisce ciascuna immagine segmentata avente il prefisso "c" seguito da un numero, da 1 a 3, corrispondente rispettivamente al fatto che quella data immagine si riferisca alla sola sostanza grigia, bianca o al solo liquor. Per la nostra analisi abbiamo tenuto in considerazione i primi due tessuti. Successivamente, sono state riportate all'interno di uno

spazio standard (spazio MNI), con coordinate x, y, z tramite la fase della normalizzazione, eseguita su un template di voxel da 1 mm. In questo caso, il prefisso per ogni immagine solo standardizzata è “w”, mentre per quelle segmentate-normalizzate il codice è “wc”. Le procedure citate risultano essere fondamentali per individuare una mappa di *overlap* della distribuzione dei tessuti cerebrali nei pazienti e controlli e a tal fine è stato usato il toolbox Image Calculator dello stesso MATLAB (ImCalc SPM12). Eseguendo ciò, è stata esaminata la media della distribuzione della sostanza grigia o bianca di tutti i sani e di tutti i pazienti (effettuando una semplice somma e dividendo in seguito per il numero totale dei soggetti) mediante MRICroGL, piattaforma per la visualizzazione di immagini MRI. L'*overlap* consente, pertanto, di individuare le differenze di tale distribuzione tra i due campioni: inoltre, essendo, questa, una misura qualitativa, la differenza potrebbe risultare, in un secondo momento, non significativa. Ad ogni modo, nel caso in cui dovessero spiccare differenze evidenti in determinate regioni, si terrà a mente che la differenza della distribuzione della sostanza, ad esempio, bianca, nell'*overlap* di pazienti e controlli è unicamente qualitativa. Attraverso MRICroGL si è utilizzato l'opzione di visualizzazione *RENDER* per l'analisi del cervello nelle sue tre dimensioni e il *multi-planar*, che permette di analizzare in simultanea un'unica *slice* nei tre tagli assiale, coronale e sagittale. In aggiunta, è stata scelta la scala di colori NIH e parametri 0.1 e 1.01 rispettivamente per i campi *darkest* e *brightest*. In aggiunta, si sono confrontati i due gruppi analizzando specifiche regioni di interesse (ROI) dal punto di vista qualitativo, le quali sono state estrapolate mediante DSI-studio, software di trattografia in grado di mappare le connessioni cerebrali e di fornire le “maschere” di sostanza grigia o i tratti di fibre. Le aree di sostanza grigia che sono state esaminate sono l'area BA 44, 46, il parietale inferiore, il giro precentrale e il sopramarginale; i tratti di sostanza bianca di nostro interesse sono stati: il fascicolo longitudinale superiore, l'uncinato e l'arcuato e il fronto-occipitale inferiore.

In secondo luogo, si effettua la procedura *Voxel-Based-Morphometry* (VBM, per una descrizione dettagliata si rimanda al paragrafo 2.3 del capitolo 2), la quale rappresenta una misura quantitativa, basata su statistica-T. Essa consente di effettuare un'analisi differenziale che verte sul confronto tra pazienti i controlli, inizialmente eseguita *whole-brain*: mediante il software MATLAB si ottiene la mappa di contrasto controlli > pazienti, la quale è stata sogliata a  $p < 0.05$ , e il *family-wise error* (FWE) corretto a livello di cluster con un'estensione di 106 voxel. Inoltre, è stato applicato

un leggero *smoothing* di 2 mm. In seguito, è stata eseguita la VBM ROI-based, analizzando, nuovamente, la sostanza grigia e la sostanza bianca confrontando i gruppi di sani e pazienti. Una mappa dettagliata del cervelletto è stata ottenuta attraverso il toolbox SUIIT di SPM12, con una threshold pari a 2. Sono state analizzate, inoltre, le ROI concernenti i lobi parietali, la corteccia premotoria ventrale (BA 44) e la prefrontale dorsolaterale (BA 46). Infine, l'atlante *spm\_anaotmy\_toolbox* (versione 3) ha permesso di approfondire le aree coinvolte dall'atrofia dei pazienti AD e MCI, esaminando accuratamente i sottocampi della struttura ippocampale, tramite l'utilizzo del toolbox Julich-Brain (<https://julich-brain-atlas.de/>), e i lobuli cerebellari maggiormente compromessi. L'indagine eseguita con tale livello di approfondimento è stata possibile grazie alla normalizzazione sul template di voxel da 1 mm, anziché 2 mm. L'analisi VBM consente, pertanto, di confrontare la distribuzione dei tessuti cerebrali tra i due gruppi sperimentali (già indagata qualitativamente nella fase precedente attraverso un'analisi esplorativa) dal punto di vista quantitativo, al fine di conoscere la significatività statistica della differenza osservata.

Infine, il passaggio ultimo dell'analisi consiste nella creazione di un modello lineare di regressione, nel quale i predittori utilizzati sono lo screening cognitivo MOCA e la performance imitativa (espressa, ricordiamo, in percentuale per tutti i partecipanti); la variabile dipendente è stata, naturalmente, la quantità -ovvero, il numero di voxel- di sostanza grigia, dapprima, e bianca, successivamente, all'interno del gruppo dei pazienti.

## Capitolo 4 – Risultati

### 4.1 Risultati della valutazione neuropsicologica

Il gruppo dei pazienti, all'interno del quale troviamo sia 4 diagnosi di Mild Cognitive Impairment che 4 di Alzheimer lieve, ha ottenuto nello screening cognitivo MOCA un punteggio medio di 18.8 con una deviazione standard di 4.5, a fronte del punteggio di 24.2 con deviazione standard di 2.7 nei controlli (fig. 18). Si nota, pertanto, una variabilità più ampia nel primo campione rispetto al secondo, sebbene occorra tenere a mente, durante la presentazione dei risultati, che i pazienti sono in totale 8, definendo così un maggior sbilanciamento tra i gruppi e riducendo la potenza dei test che sono stati applicati. La differenza evidenziata risulta essere statisticamente significativa, con un p-value considerevolmente al di sotto della soglia stabilita (ovvero,  $p=0.05$ ). Ciò è linea con quanto ipotizzato precedentemente l'esecuzione dell'analisi: è logico prevedere un funzionamento cognitivo globale efficiente in soggetti senza alcuna diagnosi di demenza o compromissione lieve, con un risultato allo screening MOCA piuttosto elevato, anche nei controlli più anziani. Al contrario, è normale aspettarsi una minor efficienza cognitiva da parte di soggetti con una di queste diagnosi, inclusa una più ampia variabilità intragruppo, dal momento che in questa prima analisi MCI e AD vengono accorpati in un unico campione.

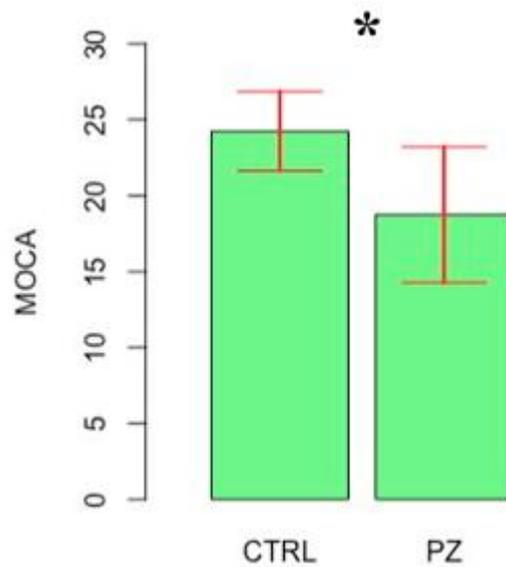


Fig 18: Differenza di medie del punteggio MOCA tra il gruppo sperimentale dei pazienti (N=8) e dei controlli (N=21).

Risulta particolarmente interessante, a questo proposito, sapere se la differenza media dei punteggi al MOCA è significativamente diversa tra i pazienti con diagnosi differente, di cui una, relativa ad uno stadio più lieve ed una sintomatologia ancora poco definita, e l'altra caratterizzata da un quadro clinico notevolmente più grave, in quasi tutti le aree psicologiche. È, pertanto fondamentale, mettere in luce la performance all'iniziale assessment neuro-cognitivo nel solo gruppo di pazienti, suddividendoli in due sottocampioni in base alla diagnosi ricevuta: si può notare, mediante una prima occhiata alla performance dello screening cognitivo dei singoli soggetti, un punteggio considerevolmente basso in 3 pazienti AD su 4 ( $AD.01 = 15$ ,  $AD.02 = 13$ ,  $AD.04 = 13$ ), mentre coloro che sono affetti da MCI paiono ottenere tutti risultati nel complesso alti. La media dei primi è pari a 16, e 21.5 nei secondi, con deviazione standard di 4.8 e 2.0, rispettivamente. Tale differenza, però, non sembra essere significativa, con un  $p\text{-value} = 0.1$  (fig. 19). Nonostante la statistica non rilevi una differenza significativa, ad uno sguardo più approfondito ad ogni soggetto in ulteriori test maggiormente specifici per alcuni settori cognitivi, si possono certamente riscontrare parecchie differenze, come quelle che a breve delineeremo, concernenti in particolar modo l'abilità imitativa.

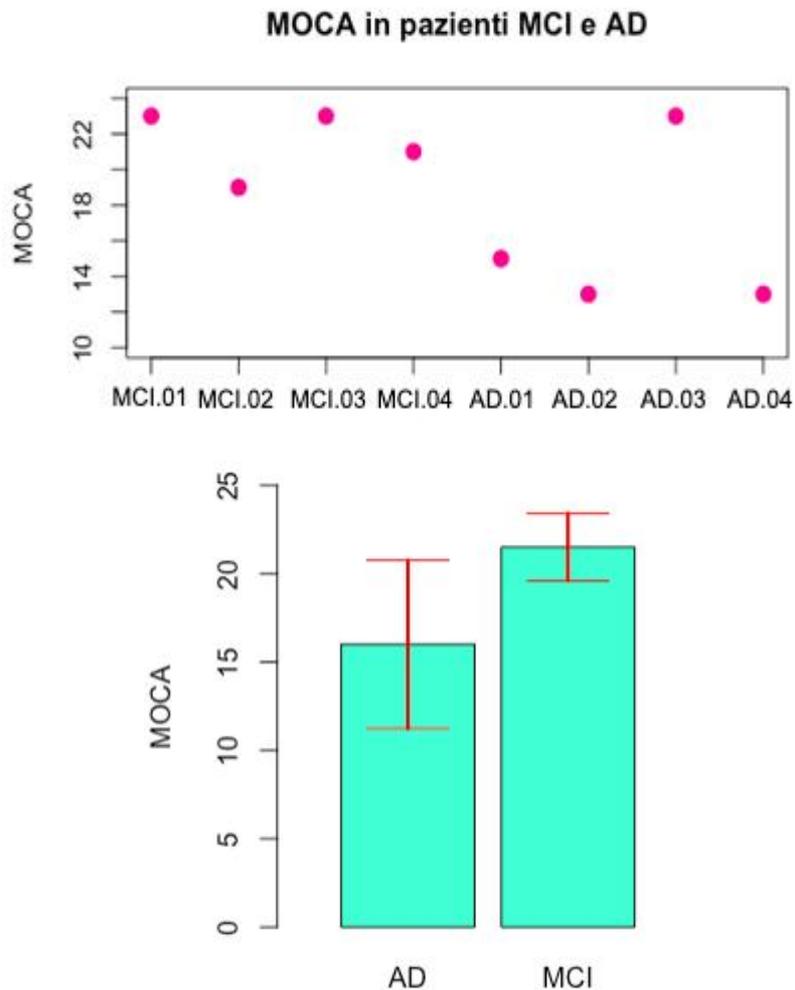


Fig. 19: in alto, rappresentazione grafica dei punteggi ottenuti nel test MOCA dai singoli pazienti, di cui i primi 4 da sinistra con diagnosi MCI, ed i restanti con diagnosi AD. In basso, la differenza delle medie (non significativa) con relative barre d'errore.

### Performance Imitativa

Ricordiamo che la performance del compito di osservazione-imitazione è stata calcolata sotto forma di percentuale, con un minimo di 0 ed un massimo di 100 %. Il gruppo dei sani ha eseguito, nelle 2 RUN motorie, una prestazione nel complesso soddisfacente, pari a 64.9 %, con una deviazione standard parecchio ampia, uguale a 17.8, la quale non era attesa. Risulta essere certamente peggiore la performance media dei pazienti (MCI e AD) pari a 48.9 e deviazione standard = 22.8. In entrambi i campioni la variabilità è piuttosto grande, oscillando abbondantemente intragruppo (fig. 20). A

causa della poca potenza statistica, tale differenza non è significativa ( $p = .07$ ), sebbene si possa prevedere come nella popolazione di riferimento, i soggetti affetti da demenza, anche lieve, ottengano nel compito imitativo un esito significativamente minore rispetto a soggetti sani di pari età, come evidenziato da studi di Farina e collaboratori (2017) e Bisio e collaboratori (2012).

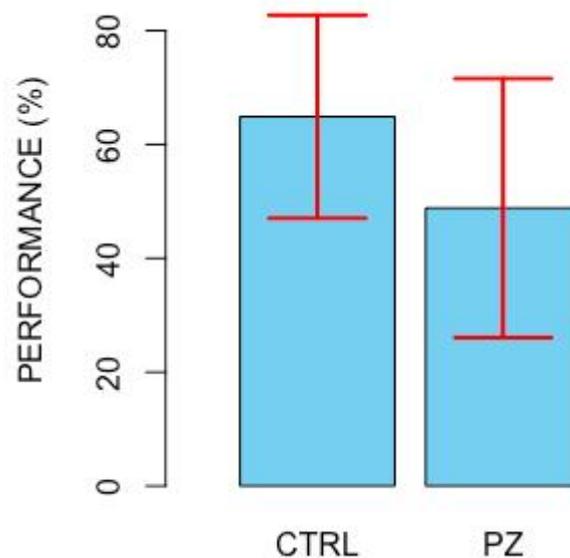


Fig. 20: Differenza delle medie (non significativa) della performance imitativa svolta all'interno della RM.

Soffermiamoci ora sull'esito della qualità dell'imitazione all'interno del campione dei pazienti, prendendo in considerazione le diagnosi come sottogruppi indipendenti: osservando rapidamente il grafico in alto della Fig. 22, relativo al risultato in percentuale di ogni singolo soggetto, è evidente come i pazienti con diagnosi di Alzheimer abbiano eseguito il compito in maniera drasticamente peggiore, rispetto a coloro che possiedono MCI; difatti, ben 3 su 4 pazienti con AD presentano il proprio esito nella fascia più inferiore dell'asse Y, che indica una compromissione piuttosto seria nella funzione imitativa, la quale pare non essere tanto severa nel sottogruppo MCI, dal momento che al suo interno si possono individuare anche percentuali molto elevate, una delle quali tocca l'80% di efficienza (fig. 21). Nello specifico, la media in quest'ultimo gruppo è pari a 65.4, valore che si sovrappone del tutto a quello riferito ai controlli: si può pertanto concludere che,

nonostante i pazienti in questione siano solamente 4, la qualità dell'abilità motoria di soggetti con MCI sia considerevolmente simile a quella di soggetti sani. La media, al contrario, dei pazienti AD è uguale a 32.3, mostrando chiaramente una prestazione deficitaria. Le deviazioni standard, molto simili nei due sottocampioni: sono pari, rispettivamente, a 16 e 15. Dal punto di vista statistico, la differenza delle loro performance medie è significativa, sebbene il p-value sia a soglia.

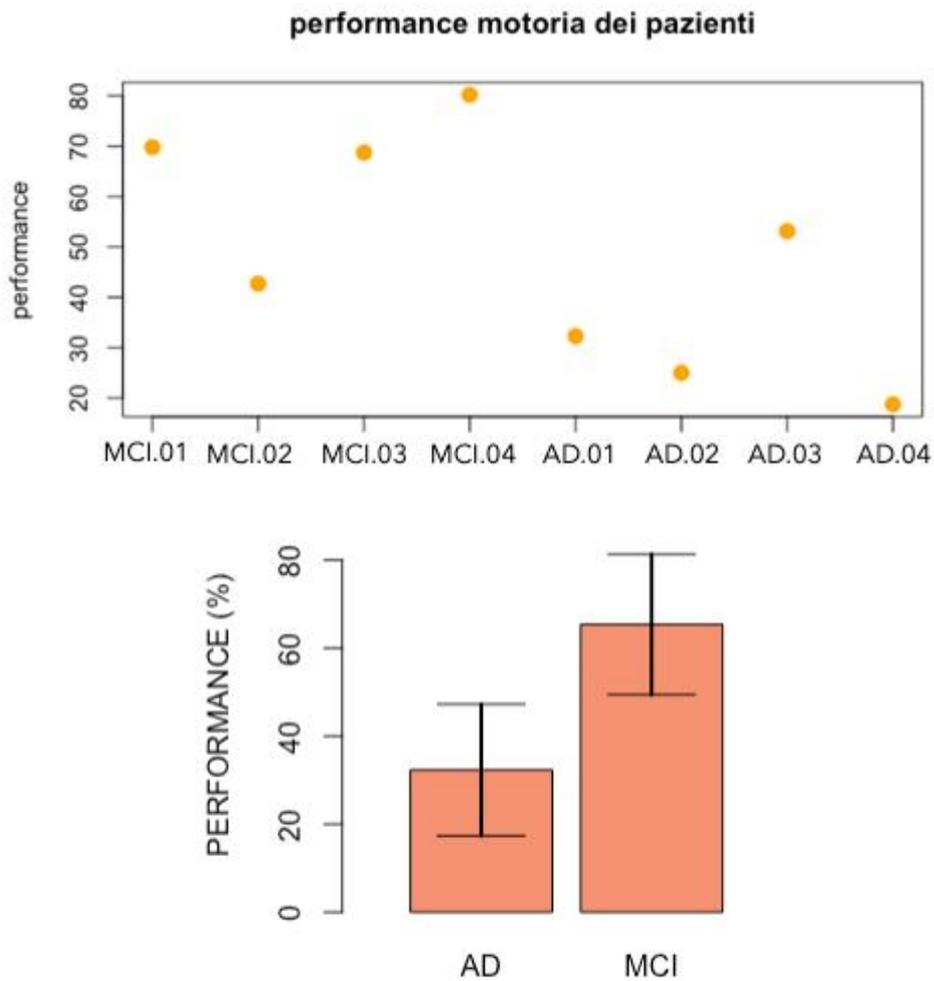


Fig. 21: In alto, la rappresentazione della performance imitativa in percentuale di ciascuno degli 8 pazienti. In basso, la differenza significativa delle medie nei sottocampioni di pazienti AD ed MCI, con relative barre d'errore.

È rilevante ora verificare come si comporta la capacità imitativa durante il compito motorio, in funzione del punteggio ottenuto allo screening cognitivo MOCA, il quale ricordiamo essere un test di relativamente rapida somministrazione che valuta in maniera piuttosto superficiale un gran numero

di aree psicologiche. Ci si potrebbe attendere che il risultato della performance cambi al variare dell'esito al MOCA, ovvero che soggetti con una prestazione scadente in task relativi in particolar modo all'ambito visuo-spaziale o all'orientamento e memoria, presentino non poche difficoltà all'interno della RM nell'esecuzione corretta degli origami. Difatti, ciò che risulta dall'analisi tra le due variabili è una correlazione positiva e di elevata entità, con un indice di Kendall pari a 0.7, e con un p-value = .003, confermando la significatività di tale relazione (fig. 22).

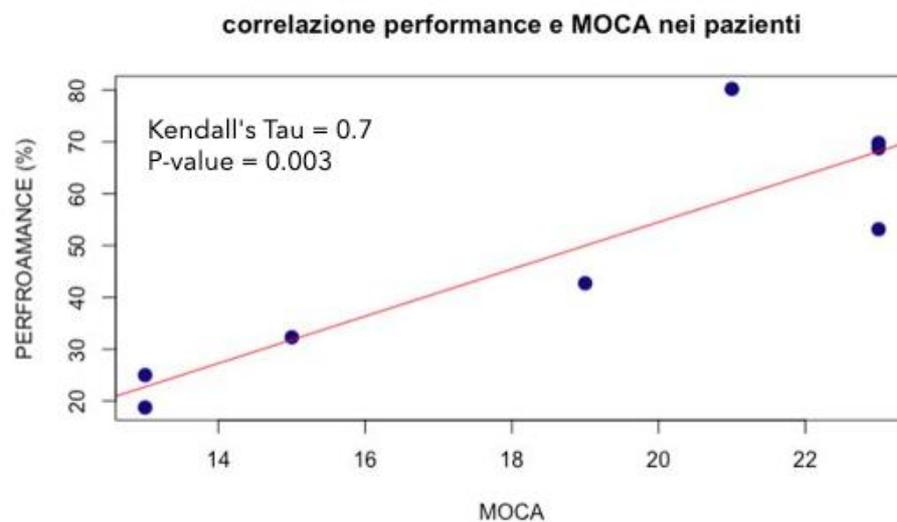


Fig. 22: Correlazione positiva e significativa tra la performance imitativa e il punteggio al MOCA all'interno del campione dei pazienti. La correlazione è di forte entità, con un indice di Kendall pari a .7.

Nella sezione seguente si andranno a delineare i risultati maggiormente rilevanti dal punto di vista psicologico, ottenuti nell'analisi su test svolti durante l'assessment iniziale, procedendo per aree cognitive specifiche. È stato, in primis, particolarmente importante raggruppare all'interno di una tabella i punteggi di ogni singolo paziente nei compiti che vertono su un determinato settore psicologico (tabella 3), suddivisione che è stata chiaramente descritta anche nel paragrafo 2.2. Ciascun paziente è stato denominato con un codice formato dal prefisso "MCI\_" o "AD\_" a seconda della diagnosi, seguito da un numero, da 01 a 04, come è possibile anche rilevare all'interno dei grafici precedentemente commentati. I primi valori riportati nella tabella sottostante riguardano il test MOCA, già abbondantemente analizzato sia tra i gruppi di controlli e pazienti, che all'interno del solo gruppo di pazienti con differenti diagnosi, su cui si è concluso che è possibile rilevare punteggi notevolmente inferiori in coloro che sono affetti da malattia di Alzheimer conclamata, rispetto a

coloro che hanno MCI, sebbene la differenza media dei punteggi non fosse risultata statisticamente significativa.

	MCI_01	MCI_02	MCI_03	MCI_04	AD_01	AD_02	AD_03	AD_04
<i>Screening cognitivo</i>								
<b>MOCA</b>	23	19	23	21	15	13	23	13
<i>Memoria e breve termine</i>								
<b>SPAN_FORWARD</b>	6	5	7	6	6	4	6	5
<b>SPAN_BACKWARD</b>	5	5	5	4	2	3	4	4
<b>CORSI_FORWARD</b>	4	2	3	3	0	0	0	3
<b>CORSI_BACKWARD</b>	4	4	3	4	0	0	2	4
<i>Memoria a lungo termine</i>								
<b>FCSRT_IFR</b>	22	14	20	11	23	n.a	24	15
<b>FCSRT_ITR</b>	36	28	32	33	35	n.a	36	35
<b>FCSRT_ISC</b>	1	0,63	0,75	0,87	0,92	n.a	1	0,95
<b>FCSRT_DFR</b>	0	3	6	4	6	n.a	10	4
<b>FCSRT_DTR</b>	12	4	11	10	12	n.a	12	7
<b>FCSRT_INSTRUSIONI</b>	1	5	5	1	0	n.a	0	2
<b>COPIA DI REY DIFFERITA</b>	25	0	13	0,96	1	0	n.a	0
<i>Linguaggio</i>								
<b>FLUENZE_VERBALI</b>	27	27	21	24,8	30	28	27	9
<b>FLUENZE_SEMANTICHE</b>	35	34	37	39,5	19	n.a	21	22
<b>SAND</b>	14	13	13	14	13	n.a	12,5	14
<b>DENOMINAZIONE</b>	9,5	8,5	9,5	8,9	9	6	8,5	7,5
<i>Attenzione/Funzioni esecutive</i>								

<b>MFTC_ACCURATEZZA</b>	0,96	0,96	1	0,96	0,6	n.a	1	1,33
<b>MFTC_FALSI ALLARMI</b>	0	0	0	0	11	n.a	0	1
<b>MFTC_TEMPO</b>	44	83	93	58	295	n.a	65	76
<b>STROOP_TEMPO</b>	21	28	37	15,5	30	29	38	27
<b>STROOP_ERRORI</b>	0,5	0,5	0	0	10	9	0	3
<i>Funzioni visuo-spaziali</i>								
<b>FIGURA DI REY</b>	33	32	33	32	5,5	24	n.a	34
<b>OROLOGIO</b>	4	3	4	1	0	0	0	0
<b>CAMPANELLE_OMISS</b>	1	3	0	8	10	4	7	9
<b>CAMPANELLE_ASIMM</b>	1	2	0	-1	3	3	0	-2
<b>CAMPANELLE_FALSI ALLARMI</b>	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>CAMPANELLE_TEMPO</b>	-16	38	-25	-34	219	38	33	78
<i>Aprassia Ideomotora</i>								
<b>APRASSIA</b>	71	66	61	68	65	68	64	64
<i>Preferenza Manuale</i>								
<b>EDINBURGH</b>	0,65	1	0,45	0	1	1	0,5	0,15

Tab. 3: Si riportano tutti i test svolti durante l'assessment neuropsicologico precedente al compito di imitazione. I test sono stati, per maggior chiarezza, suddivisi relativamente alle aree cognitive che vanno ad analizzare (in giallo). Le celle colorate in arancione indicano i punteggi patologici, al di sotto del cut-off.

Proseguendo verso una delle aree cognitive maggiormente compromesse nella demenza di Alzheimer, e sintomo cardine iniziale anche nel Mild Cognitive Impairment, mettiamo in luce i risultati più interessanti e significativi derivati dai compiti concernenti la memoria. Nello specifico, quella a breve termine, che ha una durata di poche decine di secondi, anche nei soggetti sani tende a diminuire di efficienza con l'avanzare dell'età (Monaco et al., 2013); tale andamento è considerevolmente accentuato nei pazienti con demenza, nei quali i magazzini mnestici sono alcuni dei primi processi ad essere coinvolti nei meccanismi patologici cerebrali della AD. Nel nostro campione, ad esempio, mentre lo span verbale non risulta possedere prestazioni molto diverse tra i due sottogruppi, quello visuo-spaziale, invece, indagato mediante il Test di Corsi *forward* e

*backward*, mostra evidenti differenze, le quali però non sorprendono, dal momento che anche questo settore cognitivo è notevolmente compromesso in questo tipo di patologia neurodegenerativa. La diagnosi di MCI pare non influenzare particolarmente la capacità di riprodurre una sequenza di movimenti che toccano diversi cubetti in uno spazio delimitato e definito dalla tavola di legno, dal momento che tutti e 4 i pazienti, soprattutto durante la consegna “all’inverso” o “*backward*”, mostrano una performance media di 3.75 sequenze (con crescente complessità) correttamente eseguite, a fronte della media di 1.5 dei pazienti AD. Solo due di questi ultimi pazienti su 4 effettuano il compito *backward*, mentre solamente uno quello *forward* (fig. 23).

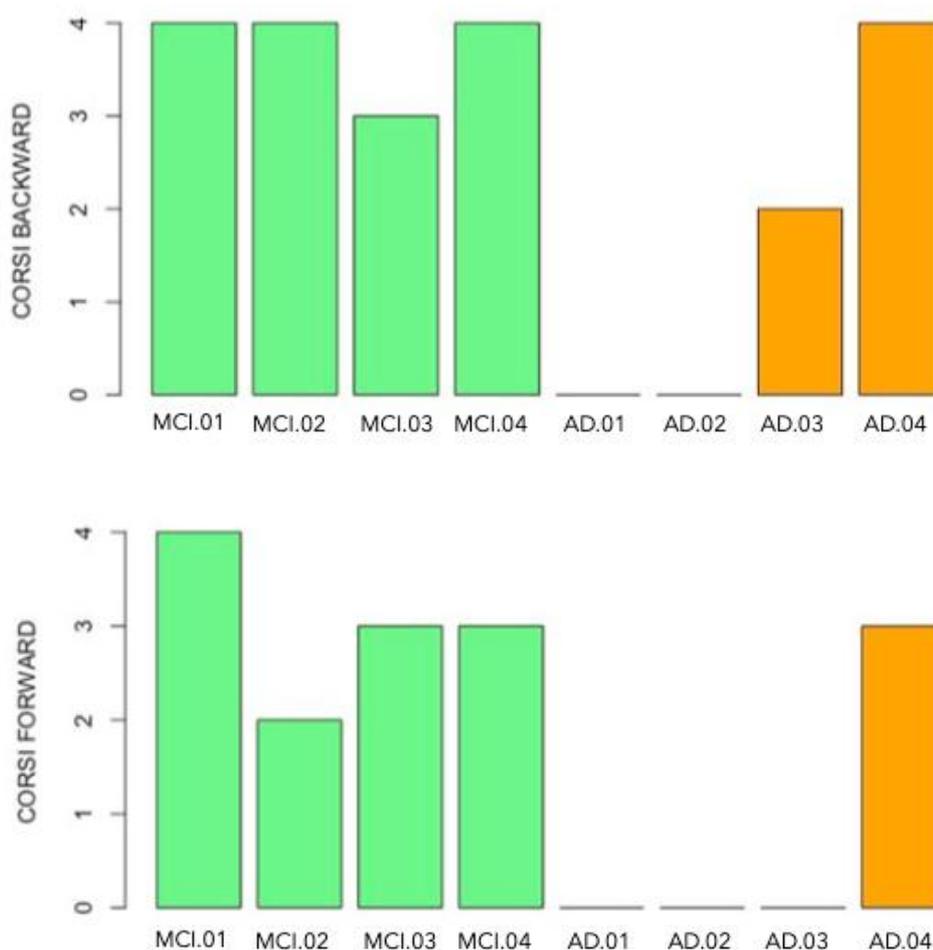


Fig. 23: In alto, la performance degli 8 pazienti è rappresentata mediante un grafico a barre (le barre verdi mostrano i 4 pazienti MCI, mentre quelle arancioni raffigurano quelli affetti da AD) al test di Corsi nella consegna “*backward*”. In basso, il grafico che rappresenta invece la consegna “*forward*”.

Si conclude, pertanto, che esiste una particolare difficoltà nei pazienti con AD nella capacità di ricordare specifici atti motori muovendosi in determinate direzioni osservate dallo sperimentatore, esplicitando un orientamento notevolmente peggiore rispetto a quelli affetti da MCI, i quali, almeno nei task di memoria breve concernente l'orientamento spaziale hanno una performance soddisfacente. Contrariamente alle ipotesi, è il compito "*forward*" a mettere più a dura prova i pazienti AD, con una media pari a 0.75, a fronte della media dei soggetti MCI uguale a 3.0; la performance migliore nel *backward* rispetto al *forward*, potrebbe comunque essere data da un effetto ordine, dal momento che quest'ultimo è stato somministrato prima, consentendo al soggetto di acquisire una certa pratica.

Circa la memoria a lungo termine, invece, è interessante notare una forte correlazione tra il compito in cui si invita al paziente di ricopiare la cosiddetta "figura di Rey" in differita, ossia dopo dieci minuti dalla prima osservazione e riproduzione, durante i quali si chiede di eseguire alcuni task di natura differente da quella visuo-spaziale. Dal momento che è notevolmente complessa, è fondamentale avere una buona memoria visiva, che immagazzini elementi grafici senza significato sparsi per tutto il foglio. Ci si potrebbe chiedere se la performance motoria d'imitazione eseguita nello scanner possa avere una qualche relazione con l'abilità di ricopiare una figura dopo qualche minuto di intervallo: effettivamente, le due variabili prese in considerazione sono correlate positivamente, con un indice di tau di Kendall pari a .6, sebbene però il p-value si trovi sopra soglia, determinando così un'assenza di significatività della relazione (fig. 24).

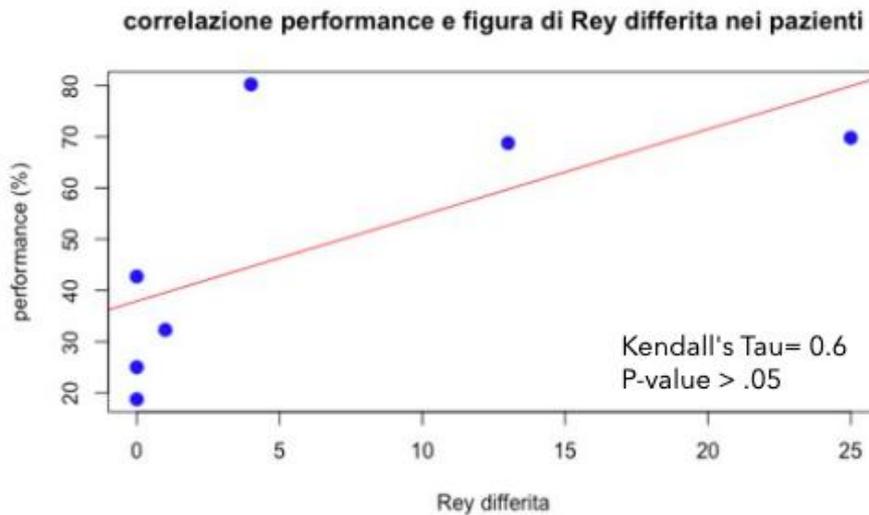


Fig. 24: Correlazione positiva, ma non significativa, tra la performance e la figura di Rey differita.

Il compito proposto all'interno della risonanza sfrutta particolarmente le risorse mnestiche a breve termine, dal momento che non appena si termina di osservare una sequenza di origami eseguita dall'attore, si è invitati a riprodurla immediatamente, come succede nel test di Corsi. Un ulteriore settore cognitivo piuttosto importante, è il linguaggio, poiché è noto come questo sia strettamente collegato al sistema motorio: mediante studi con bambini nell'arco di decenni, si riscontra un'intima relazione tra le competenze motorie che nel primo anno di vita subiscono rapidissimi cambiamenti e lo sviluppo delle abilità linguistiche. Ci si può aspettare che nel nostro campione di pazienti ci sia un'influenza tra la performance motoria che verte sull'imitazione e quella linguistica, come la denominazione dei verbi corretti a partire dall'osservazione di vignette. Su un totale di 10 immagini, tutti i soggetti hanno risposto correttamente ad almeno 6, mostrando così una performance piuttosto soddisfacente. Due pazienti con AD sono gli unici ad aver ottenuto un punteggio leggermente più basso rispetto ai restanti, ma si può concludere che nel complesso nessuno, neanche sulla base della diagnosi, ha presentato difficoltà (fig. 25). Per confermare l'ipotesi di una relazione tra area motoria e linguistica, ci siamo serviti di una correlazione tra la performance imitativa e il punteggio alla denominazione. Eccetto alcuni pazienti che non seguono perfettamente la tendenza, sembra esserci una correlazione positiva di media entità, e statisticamente significativa. Pare, dunque, che coloro che già dal punto di vista linguistico mostravano compromissioni, anche nel successivo compito di

riproduzione di azioni confermano avere difficoltà, esplicitando ancora una volta un profondo legame tra le due aree, entrambe fortemente connesse all'ambito psico-motorio.

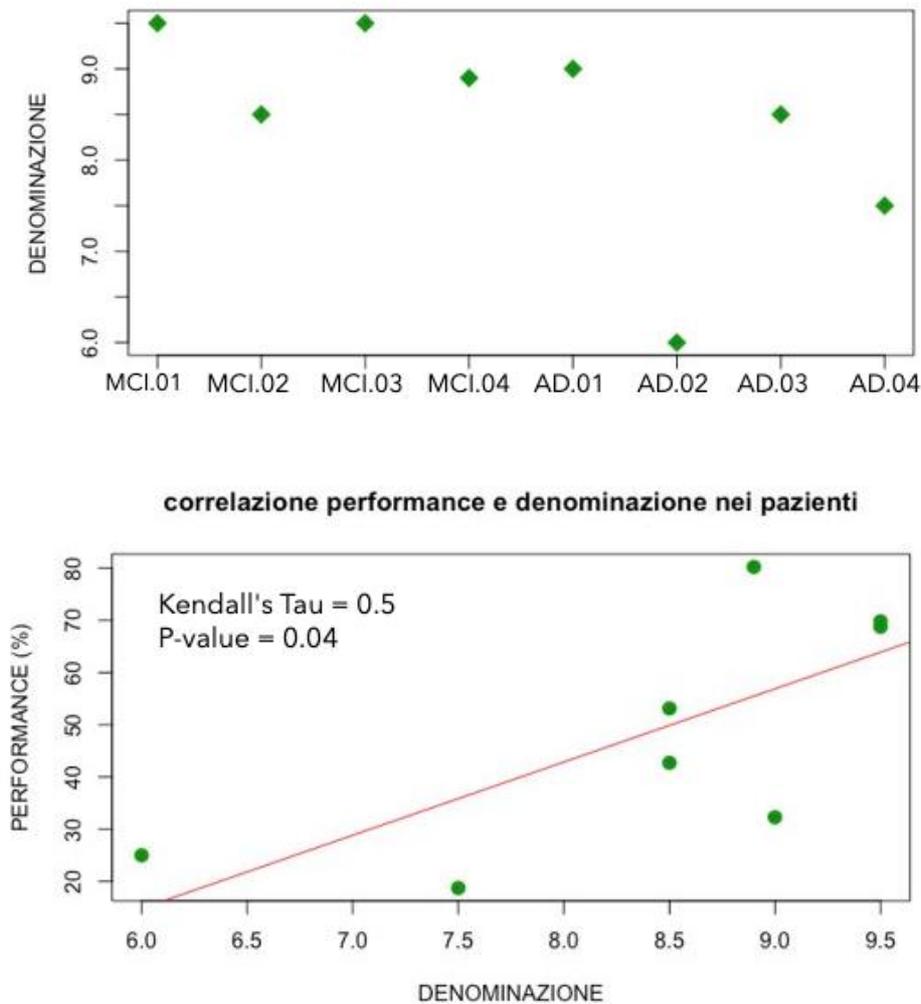
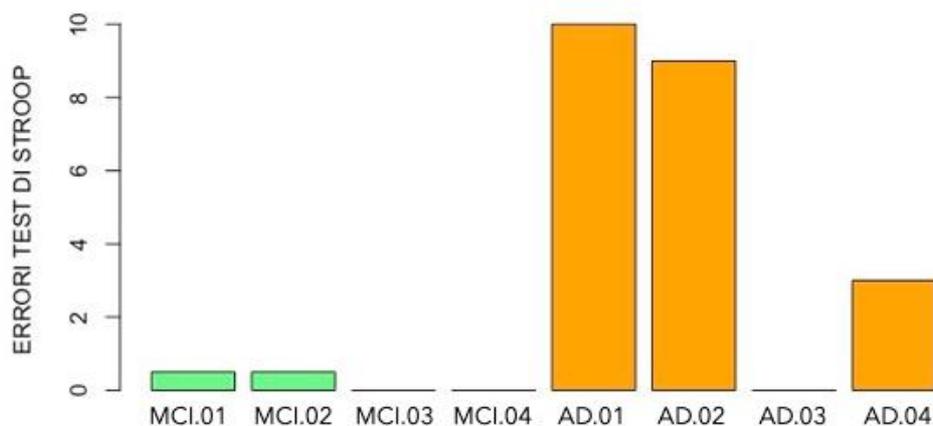


Fig. 25: In alto, la rappresentazione della prestazione al test di denominazione linguistica degli 8 pazienti. In basso, la correlazione positiva e significativa tra la performance imitativa e la denominazione, con un tau di Kendall uguale a 0.5.

Anche nel test di Stroop ad una prima occhiata alla performance dei soggetti, sembrerebbe esserci una differenza tra i pazienti MCI e AD: su 4 MCI, la metà non commette errori, i restanti fanno 0.5 errori ciascuno; mentre, al contrario, 3 pazienti AD commettono 3, 9 e 10 errori, e l'ultimo non ne fa alcuno (fig. 26, in alto). Già con tale rappresentazione dei punteggi sulle risposte sbagliate dei singoli soggetti, si è in grado di stabilire una chiara differenza tra le due diagnosi, dal momento

che il Mild Cognitive Impairment non pare influenzare significativamente la prestazione attentiva; d'altro canto, il maggior numero di errori commessi dai pazienti AD può far ipotizzare che il processo neurodegenerativo, anche nell'AD di tipo lieve, possa avere un effetto negativo sulle funzioni esecutive richieste nel test di Stroop. Se si indaga, invece, se la performance imitativa correla con il dato appena commentato, si evidenzia una correlazione di moderata entità (l'indice di Kendall è pari a 0.5) e negativa, poiché la variabile tratta errori, e quanto più il valore è basso più viene interpretato positivamente (Fig. 27, in basso). Difatti, come si può notare dal grafico (in basso), due soggetti che commettono 9 e 10 errori, hanno mostrato una performance di imitazione particolarmente scarsa, intorno al 30% dell'accuratezza. I pazienti MCI, al contrario, che mostrano un punteggio positivo agli errori del test, presentano anche una performance imitativa piuttosto soddisfacente. La correlazione ha un p-value leggermente sopra soglia.



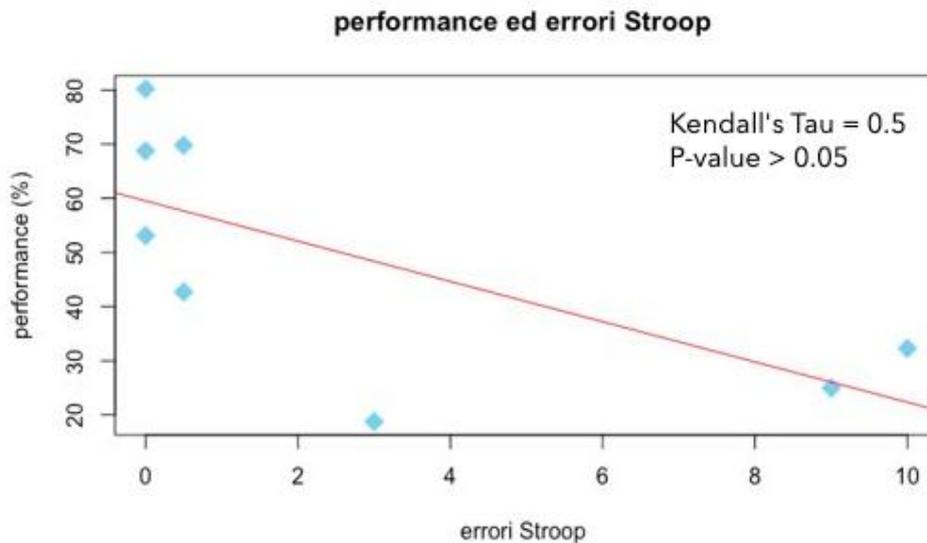
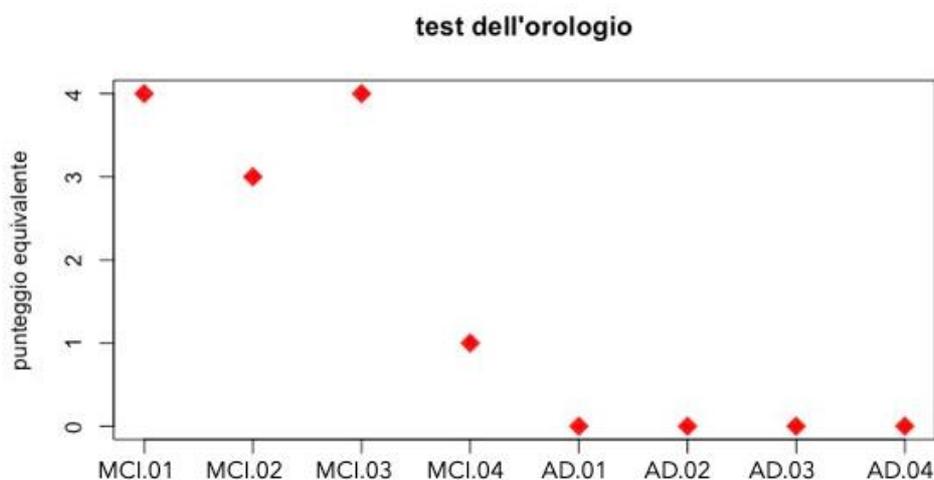
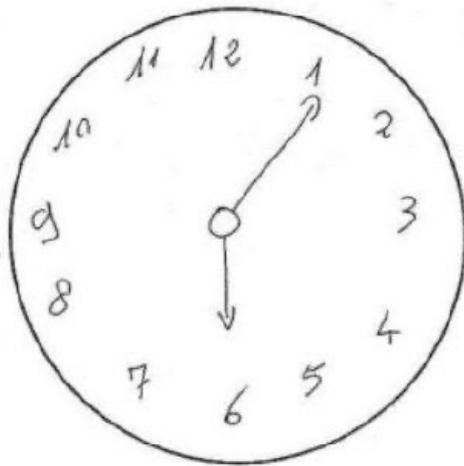


Fig. 26: In alto, il grafico sugli errori commessi dai singoli pazienti MCI e AD nel test di Stroop; in basso, la correlazione negativa, ma non significativa, tra la performance imitativa e gli errori commessi.

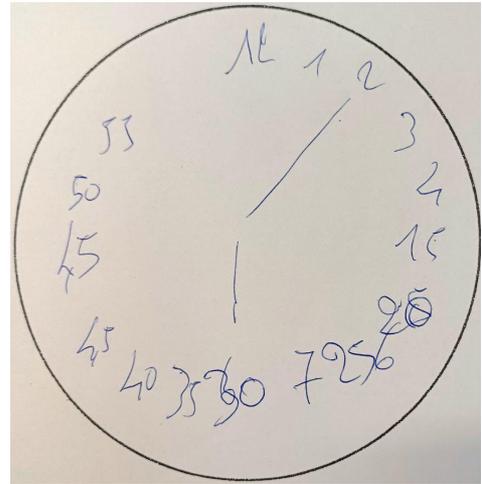
I soggetti presentano, con un trend molto simile a quello riscontrato nel test di Corsi all'inverso, non poche difficoltà nel disegno dell'orologio (Caffarra, 2011), in particolare i pazienti con diagnosi di Alzheimer: come si può chiaramente notare dal grafico (fig. 27, in alto) tutti e 4 ottengono il punteggio equivalente pari a 0, il quale rappresenta un indice patologico. La prassia costruttiva, pertanto, risulta essere notevolmente compromessa, anche nei primi stadi della malattia. Un solo paziente con MCI ottiene un punteggio piuttosto basso (MCI.04 con P.E uguale a 1), ma i restanti svolgono il test soddisfacentemente. Sotto la rappresentazione grafica, sono riportati alcuni esempi concreti di orologi, disegnati durante l'esecuzione del compito: quello creato da un paziente MCI con una buona prestazione, il quale possiede sia tutti i numeri, correttamente posizionati, che entrambe le lancette indicanti l'orario specificato durante la consegna, ovvero le 06:05. A lato, è riportato il disegno del paziente MCI.04 che, in confronto agli altri tre appartenenti al suo stesso sottogruppo, mostra una performance considerevolmente scarsa, alla quale è stato attribuito il P.E di 1, attirando l'attenzione clinica: i primi quattro numeri che egli inserisce all'interno del quadrante sono corretti, sebbene la loro collocazione non sia adeguata; quelli successivi, però, iniziano a corrispondere ai minuti, e non più alle ore, e pare difatti che prosegua saltando di 5 minuti in 5 minuti.

Le lancette originano dal centro e ci sono entrambe, e data la consegna, quella delle ore è giustamente posizionata dove dovrebbe essere il numero 6 (che il paziente ha sovrascritto erroneamente con 30), mentre quella dei minuti indica il numero 2, invece che l'1. Sembra, dunque, che la rappresentazione spaziale sia più o meno intatta, ma i dettagli di cui l'orologio è composto, come i numeri e la loro collocazione mancano, affiancati da una grande confusione sulla differenza di ore e minuti. Tale test, che richiede diverse funzioni, tra cui quelle di pianificazione e organizzazione spaziale, suggerisce che anche pazienti senza diagnosi conclamata di AD potrebbero talvolta presentare una compromissione alle funzioni visuo-spaziali e costruttive, isolate da altre prestazioni relativamente alte, come nel caso del paziente MCI.04, nel test visuo-spaziale di Corsi, dove la funzione cardine mantenuta attiva è la memoria di lavoro. È plausibile, pertanto, che il suo deficit visuo-spaziale maggiore non sia tanto il trattenere una sequenza mediante la memoria breve, quanto piuttosto il riportare in superficie specifiche informazioni contenute nel magazzino a lungo termine, da essere utilizzate al fine di costruire qualcosa *ex novo*, inserendo nelle corrette posizioni i dettagli da esso posseduti.





**MCI.03**



**MCI.04**

Fig. 27: In alto, la rappresentazione della performance al test dell'orologio dei singoli pazienti; in basso, due esempi di orologi disegnati da due pazienti con diagnosi di MCI: quello a sinistra, appartenente a un soggetto con buone capacità visuo-spaziale e costruttive, mentre a destra, quello rappresentativo di una performance evidentemente bassa e quasi patologica.

In ultima istanza, ci si è domandati se la preferenza manuale avesse un effetto sulla qualità della performance imitativa: nessun partecipante, tra gli 8 pazienti, è totalmente mancino, sebbene alcuni di loro siano ambidestri; preferenza manuale, questa, che potrebbe facilitare il compito motorio, dal momento che molti movimenti che devono essere riprodotti sono eseguiti con entrambe le mani dal modello. La correlazione che si evidenzia è di bassa entità e, in aggiunta, non significativa. Ad ogni modo, tre soggetti totalmente destrimani, che nel grafico (fig. 28) si collocano in corrispondenza del punteggio 1 nel *Edinburgh Inventory*, sembrano difatti aver performato leggermente peggio rispetto ad altri pazienti con un punteggio a metà strada tra l'uso della sola mano destra e l'ambidestrità, il quale sull'ascissa corrisponde allo 0.

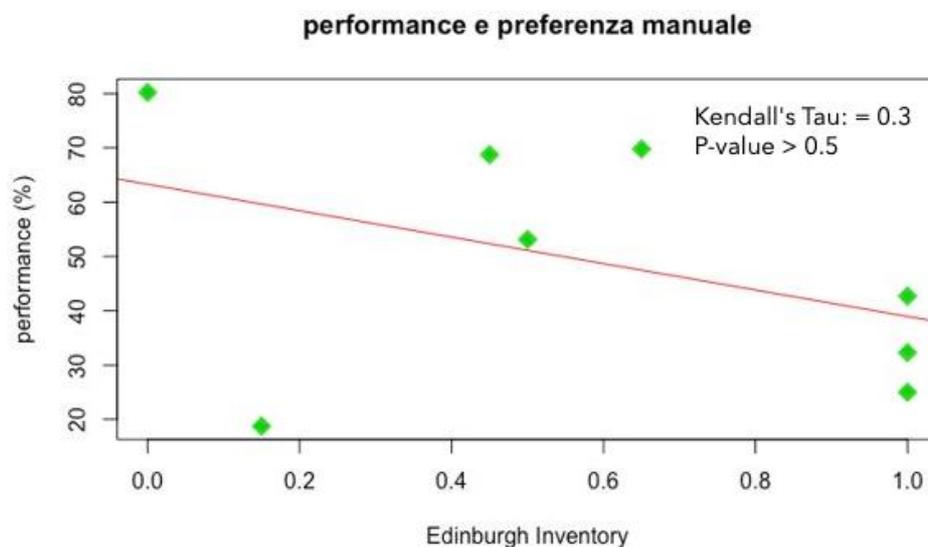


Fig. 28: Correlazione negativa e di bassa entità tra la preferenza manuale indagata mediante il Edinburgh Inventory e la performance imitativa. Il p-value, però, è soprasoglia, definendola non significativa.

Nonostante la correlazione non risulti essere statisticamente significativa, ipotizziamo che nel caso avessimo posseduto un più ampio campione, l'esito sarebbe stato opposto e maggiormente marcato, sebbene occorrerebbe controllare altre variabili. Ad esempio, analizziamo il caso del paziente che si colloca esattamente sul valore 0 della scala del test sulla manualità ed ottiene anche un punteggio molto elevato nel compito imitativo: ciò, si presume, è dovuto dal fatto che il suo funzionamento cognitivo globale non è tanto compromesso da influenzare negativamente la performance in RM; detto ciò, l'essere ambidestro potrebbe avere un piccolo ruolo nell'apportare beneficio al task, che si compone di atti motori da svolgersi necessariamente con entrambe le mani. La scarsa performance dei soggetti che si collocano nella parte destra della scala del *Edinburgh Inventory* potrebbe essere influenzata, ipotizziamo in piccola parte, dalla totale destrimania, ma di nuovo anche dall'integrità delle funzioni psicologiche richieste nel compito.

#### 4.2 Risultati MRI: mappe di overlap

Nella presente sezione, ci soffermeremo inizialmente sulle immagini dell'*overlap* di controlli e pazienti per apprezzare le differenze qualitative circa la distribuzione della sostanza grigia e bianca nei due gruppi di soggetti. Tale prima analisi è puramente esplorativa e pertanto di seguito presenteremo quelli che ci sembrano i risultati più rilevanti e marcati, tenendo a mente che occorrerà

eseguire la *Voxel-Based Morphometry* (VBM) per sapere se le differenze saranno o meno significative.

Uno dei principali risultati delle mappe di overlap che si evidenziano è sicuramente quello concernente una distinta regione corticale: i lobi parietali (fig. 29). Naturalmente, le aree che li compongono sono considerate fondamentali al fine di compiere determinati movimenti di afferramento di oggetti, appropriatamente alle loro forme e dimensioni, ed è di essenziale importanza la loro nota connessione con la corteccia motoria nel lobo frontale, con cui formano il già descritto circuito *mirror*. Nell'immagine sottostante, troviamo a sinistra la distribuzione media della sostanza grigia dei 21 controlli, mentre a destra quella degli 8 pazienti: si mette in luce una grave degenerazione di tale tessuto nei secondi, indicata con il colore blu, corrispondente ad una percentuale notevolmente bassa di soggetti che presentano sostanza grigia in quelle regioni cerebrali. La maggior colorazione rossa, d'altra parte, nella mappa dei controlli indica un'alta percentuale (circa dal 70% in poi) di soggetti nei quali tali aree mostrino quel tipo di sostanza.

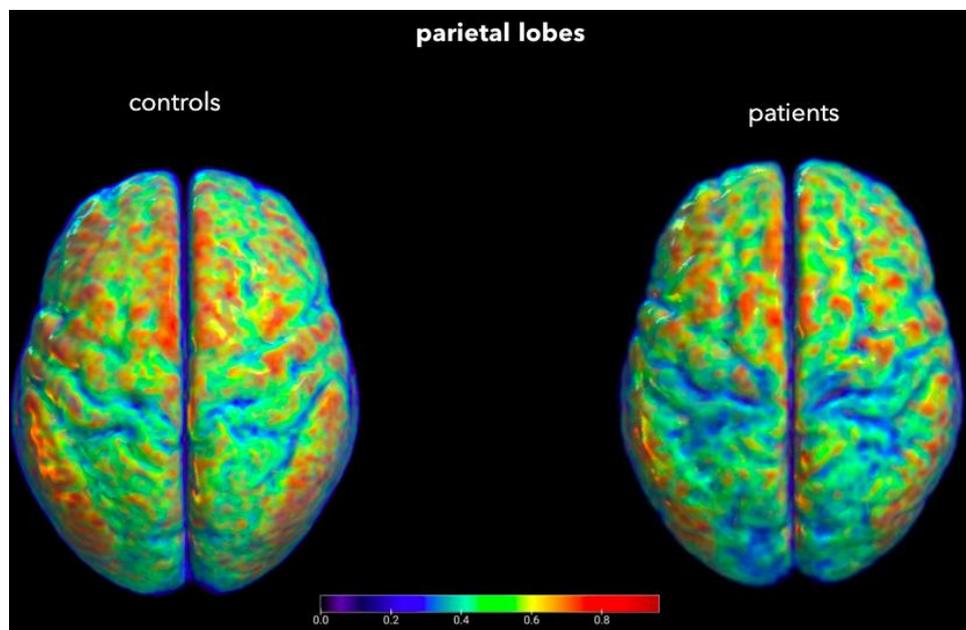


Fig. 29: Si nota una differenza qualitativa all'interno dei lobi parietali nelle mappe di overlap tra controlli (a sinistra) e pazienti (a destra), mostrata dalla maggior colorazione blu nei secondi.

Si potrebbe, pertanto, ipotizzare che, nel caso in cui tale differenza fosse significativa, i lobi parietali giochino un ruolo nella performance del compito imitativo, nel quale alcuni pazienti in particolare hanno ottenuto punteggi in percentuale considerevolmente bassi (si rimanda alla fig. 21 per una rapida visualizzazione delle performance nel gruppo dei pazienti). D'altro canto, però, tale dato risulterebbe di difficile interpretazione per coloro che hanno eseguito il compito sugli origami in maniera molto soddisfacente. In seguito, data la grande importanza dell'ippocampo all'interno della sintomatologia cardine della malattia di Alzheimer o MCI, concernente compromissioni sempre più severe alla memoria, si è investigata tale struttura al fine di indagare differenze qualitative nella distribuzione di sostanza grigia tra i due gruppi sperimentali. Ciò che in particolar modo può essere apprezzato è certamente il suo maggior assottigliamento all'interno del gruppo dei pazienti, molto evidente nel taglio sagittale della figura 30. Tale riduzione delle dimensioni della struttura ippocampale, che pare essere presente nei pazienti, consente di ipotizzare una progressiva perdita di sostanza grigia, la quale contribuirebbe all'insieme di deficit clinici che si riscontrano già nelle prime fasi lievi della patologia.

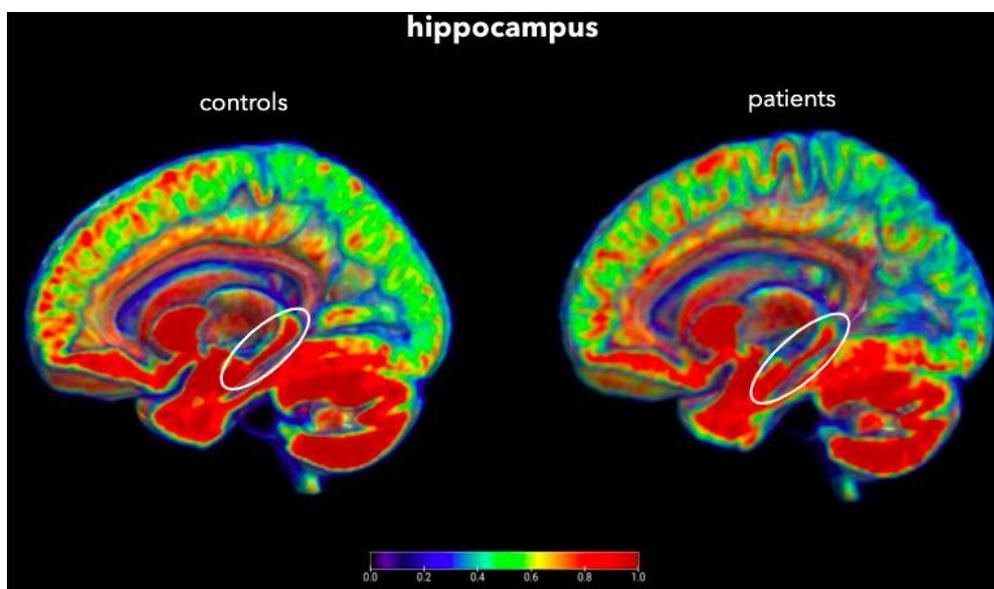
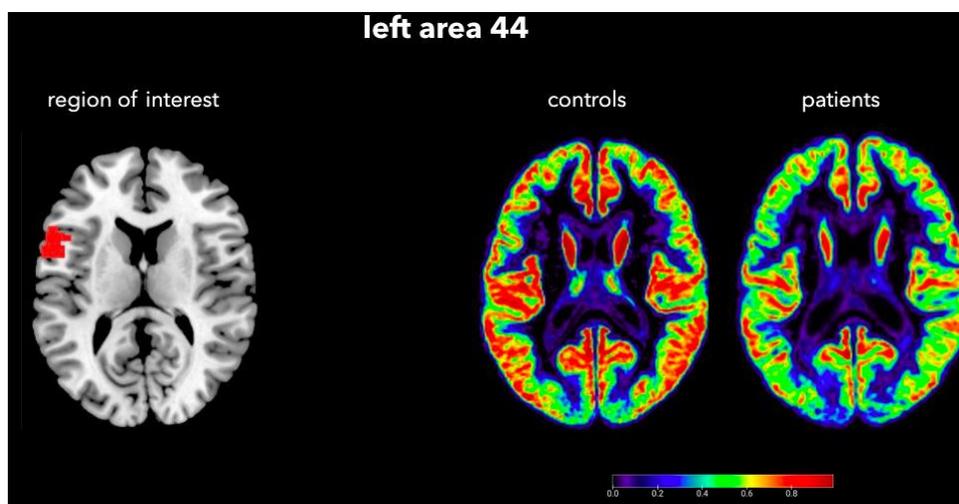


Fig. 30: L'ippocampo, cerchiato, visualizzato attraverso un taglio sagittale del cervello, risulta essere assottigliato nel gruppo dei pazienti, rispetto ai controlli.

Successivamente, si sono create maschere (*masks*) mediante il software DSI-studio al fine di confrontare con maggior chiarezza determinate regioni di interesse. Nel confronto della distribuzione

della sostanza grigia tra i due gruppi, tra le aree maggiormente rilevanti troviamo l'area di Brodmann 44 (BA44), situata nel lobo frontale, la quale corrisponde nell'uomo alla parte anteriore della corteccia premotoria ventrale della scimmia, di essenziale importanza per le funzioni in particolare linguistiche e motorie (che, come si è descritto nel precedente paragrafo, sono strettamente connesse tra loro). È soprattutto la BA44 collocata nell'emisfero di sinistra ad avere una maggior differenza nella sostanza grigia nel gruppo dei controlli e pazienti (fig. 31, in alto); un'ulteriore regione di particolare interesse è il giro precentrale, il quale mostra una differenza qualitativa, soprattutto a sinistra (nell'immagine, è riportato nella seconda riga); esso corrisponde alla corteccia motoria primaria (M1), somatotopicamente organizzata e coinvolta nella messa in atto di movimenti volontari, con accesso diretto al midollo spinale per l'invio degli output motori. Infine, un'ultima regione rilevante è risultata essere il lobulo parietale inferiore (in basso, nell'immagine), in particolar modo di sinistra, il quale è coinvolto nell'integrazione di informazioni sensorimotorie e nell'attenzione spaziale e visiva (Caspers et al., 2013), funzioni, queste, fondamentali nel compito d'imitazione oggetto di studio del presente lavoro.



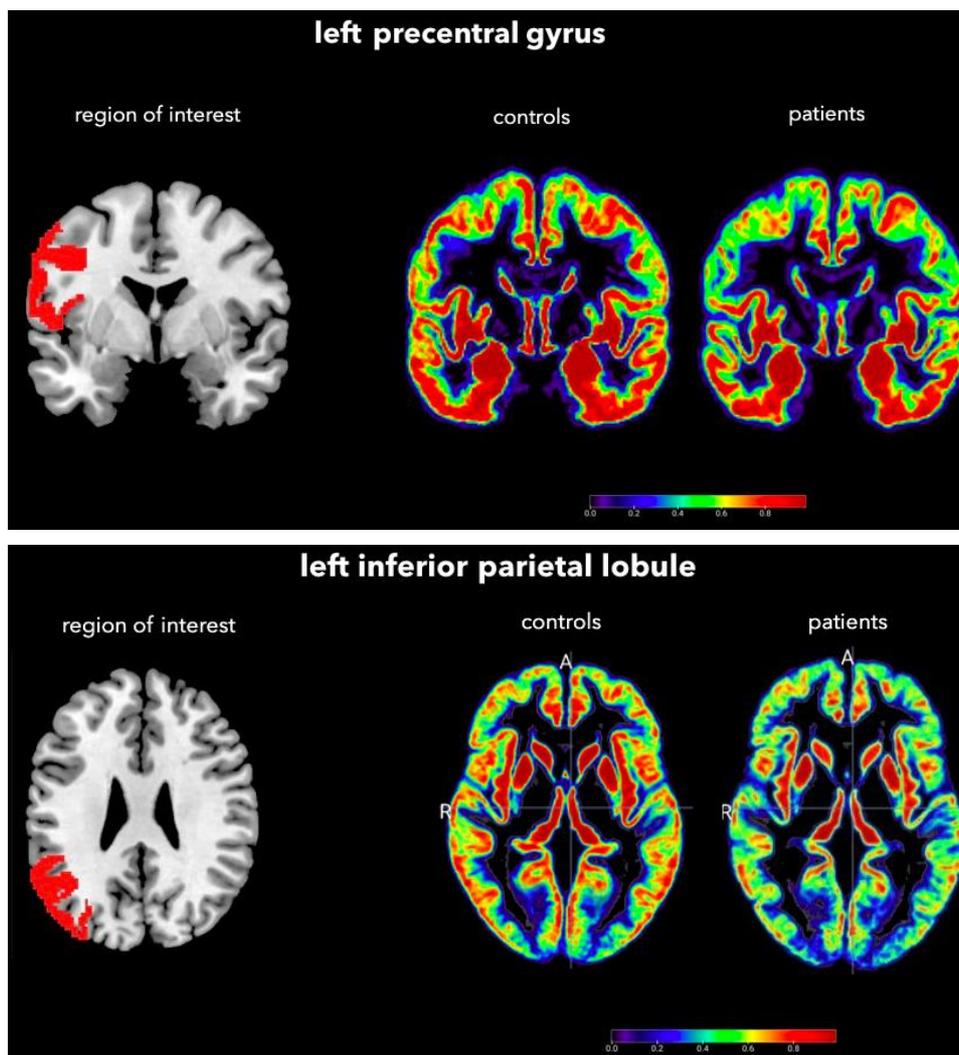


Fig. 31: Si riportano tre regioni di interesse (a sinistra si può notare la *mask* e sulla destra le due mappe di controlli e pazienti) che sembrano essere rilevanti: in alto in taglio assiale, la BA44; al centro in taglio coronale, il giro precentrale; l'ultima regione d'interesse, in basso con un taglio assiale, corrisponde al lobulo parietale inferiore.

Un aspetto particolarmente significativo nella malattia di Alzheimer è la notevole dilatazione dei ventricoli cerebrali (Blinkouskaya & Weickenmeier, 2021), la quale si è potuta apprezzare all'interno del gruppo dei pazienti del nostro studio, durante questa fase di analisi qualitativa: si è in grado di notare, infatti, una grande differenza già ad una prima occhiata al confronto tra i due gruppi, le cui mappe ricordiamo essere una media della distribuzione dei tessuti. Tale eccessiva dilatazione,

dovuta al progressivo processo atrofico, comporta, a sua volta, un'importante degenerazione dei tessuti circostanti i ventricoli (Fig. 32).

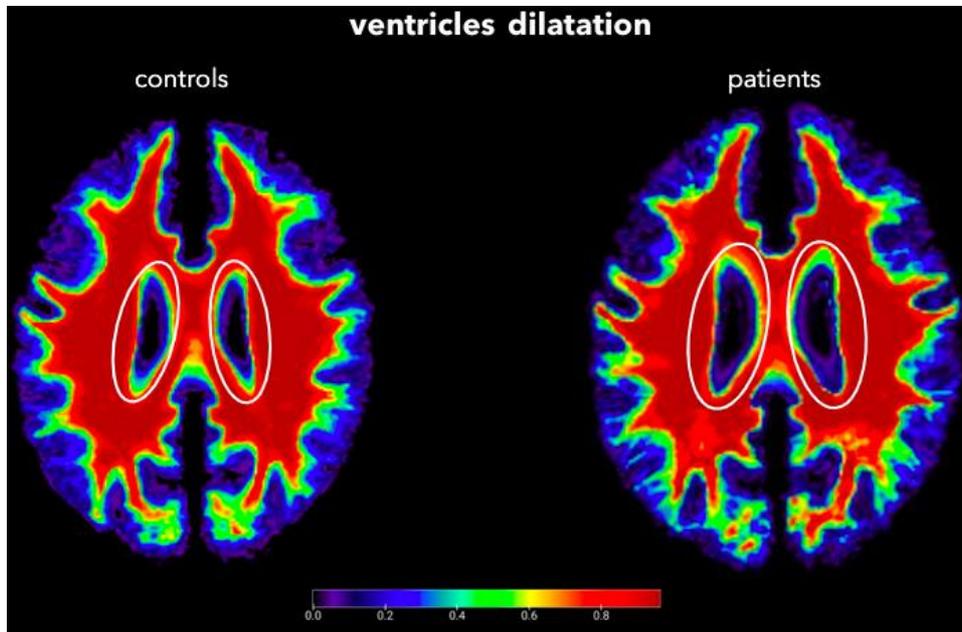


Fig. 32: Dilatazione dei ventricoli cerebrali (cerchiati) nel gruppo dei pazienti (a destra), in confronto ai soggetti di controllo (a sinistra).

L'estrapolazione di regioni di interesse è stata effettuata anche, come descritto nel precedente capitolo, sui fasci di sostanza bianca: dall'analisi delle mappe dell'*overlap* non si sono evidenziate, però, rilevanti differenze sulla distribuzione di tale tessuto durante il confronto tra i soggetti sani ed i pazienti. Si rimanda, comunque, all'appendice alla fine del presente elaborato per poter visualizzare le ROI di tutti i fasci presi in considerazione, ciascuna affiancata dalle due mappe dell'*overlap*.

#### **4.3 Risultati della *Voxel-Based Morphometry* sulle immagini MRI**

Successivamente all'analisi iniziale di tipo esplorativo, i cui risultati sono poc'anzi stati esposti, si è passati alla *Voxel-Based Morphometry* (VBM), la quale rappresenta una misura quantitativa, ed indica pertanto quali delle aree cerebrali, prima commentate e visualizzate dalle mappe di *overlap*, sono significativamente diverse nella distribuzione dei tessuti da cui sono

composte tra i due gruppi sperimentali presi in esame. L'ippocampo bilaterale, che nella precedente analisi appariva maggiormente assottigliato tra i pazienti rispetto ai soggetti sani, risulta essere significativamente differente circa la sostanza grigia che lo costituisce, confermando quindi la differenza, che fino ad ora restava unicamente qualitativa (fig. 33, a destra). Questo dato non stupisce, anzi è certamente in linea con gli studi riportati nel corso dei capitoli concernenti una compromissione considerevole della struttura ippocampale, la quale si evidenzia essere una delle prime regioni ad essere coinvolte dalla lenta ma inesorabile diffusione delle proteine nocive che nella malattia di Alzheimer si accumulano eccessivamente, e dalla conseguente atrofia degenerativa, che comincia a fare il suo decorso proprio nei lobi temporali mediali, dei quali una componente fondamentale è il sistema limbico, di cui l'ippocampo fa parte. La differenza quantitativamente significativa conferma, quindi, che la sintomatologia relativa ai deficit mnestici constatati mediante gli screening cognitivi o test dominio-specifici, derivano almeno parzialmente dalla severa perdita di sostanza grigia che tale struttura ha subito, al contrario del gruppo dei controlli. Un'ulteriore regione sottocorticale di particolare interesse durante l'analisi VBM è il cervelletto bilaterale: anch'esso pare essere significativamente differente circa la distribuzione della sua sostanza grigia tra i due gruppi sperimentali, specificamente in determinate regioni, che vedremo più in dettaglio a breve. Per ora, ci limitiamo ad osservare globalmente tutte le aree cerebrali che risultano essere differenti tra i pazienti e i sani: facendo ciò, la VBM *whole-brain* ci consente di confermare che nella struttura cerebellare dei primi sia presente una neurodegenerazione di sostanza grigia considerevolmente rilevante, e nello specifico si è in grado di notare una maggior perdita nel cervelletto inferiore (fig. 33, a sinistra).

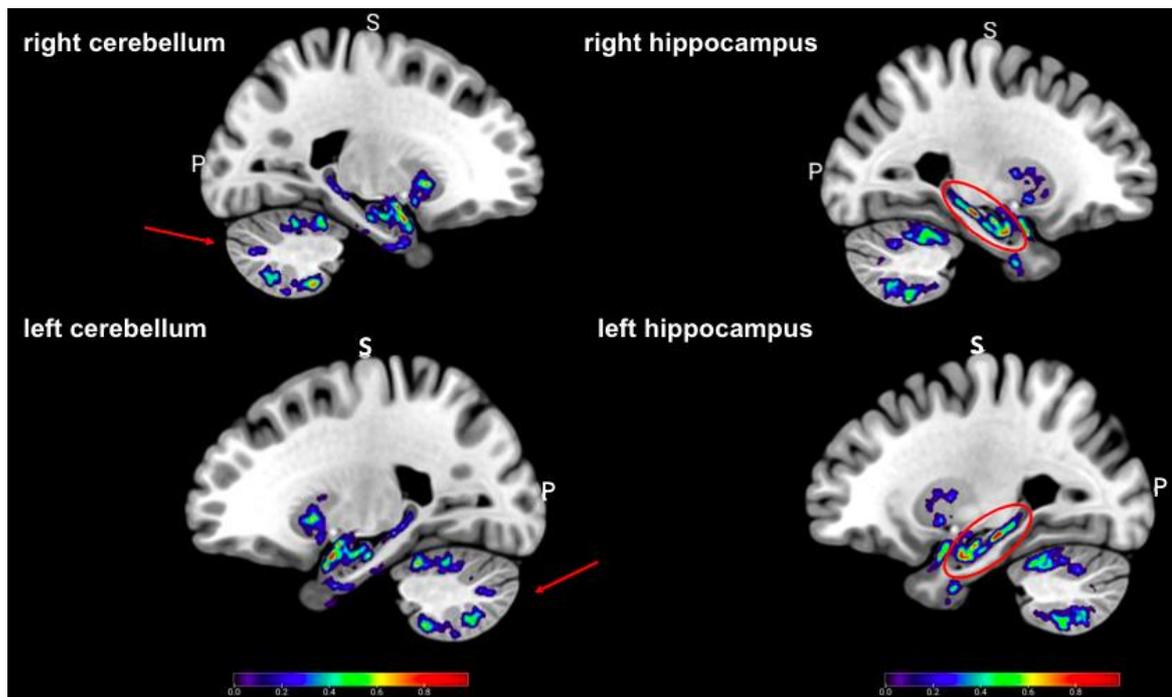


Fig. 33: L'analisi VBM mostra come entrambi il cervelletto (a sinistra, indicato con la freccia) e l'ippocampo (a destra, cerchiato) bilaterali siano significativamente differenti circa la loro distribuzione di sostanza grigia tra il gruppo di controlli e pazienti. Nelle scale di colore, il rosso indica una differenza significativa in quella determinata regione circa la distribuzione della sostanza grigia nei due gruppi; più la colorazione si avvicina al verde o al blu, più tale differenza si riduce.

L'unica regione corticale che pare essere significativamente differente tra i due gruppi, e pertanto caratterizzata da perdita neuronale nei pazienti, è la corteccia orbitofrontale bilaterale, la quale ha un ruolo distintivo nell'esperire le emozioni e nella rappresentazione della valenza di una ricompensa ricevuta o non ricevuta (fig. 34, a sinistra); riceve informazioni da cortecce che codificano stimoli appartenenti a diversi canali sensoriali che ne identificano la natura, ed è strettamente connessa con le cortecce premotorie, con la corteccia cingolata e con i gangli della base (Rolls et al., 2020). Tale degenerazione potrebbe contribuire, nei soggetti con malattia di Alzheimer, alla progressiva riduzione di consapevolezza su ciò che si esperisce dal punto di vista emotivo e di controllo sulle emozioni provate, vivendole in maniera esagerata ed impulsiva. Inoltre, anche il talamo, dall'analisi VBM, sembra essere significativamente differente, circa la sostanza grigia da cui è composto, tra i gruppi sperimentali, e nello specifico nella sua regione più caudale, corrispondente

al pulvinar (fig. 34, a destra), frequentemente associato al processamento dell'informazione visiva, che possiede reciproche connessioni con lo striato e le cortecce parieto-frontali.

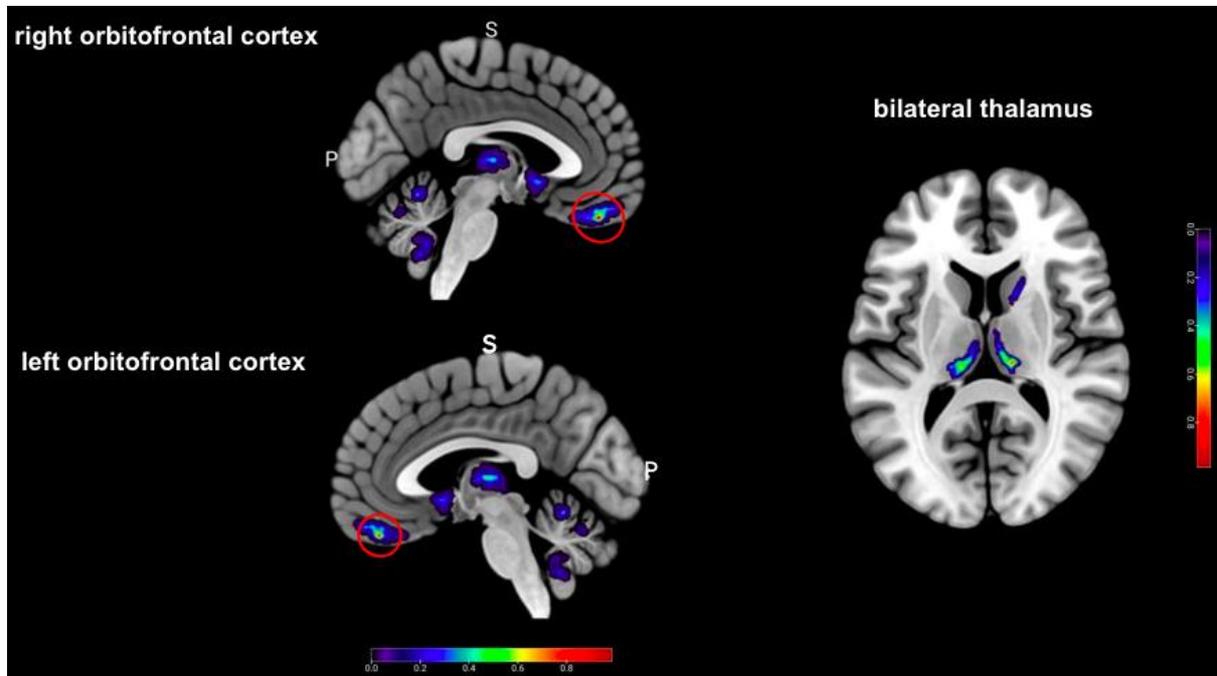


Fig. 34: Sulla sinistra, in taglio sagittale, si evidenzia, cerchiata, una porzione di corteccia orbitofrontale, la quale risulta essere significativamente diversa circa la sostanza grigia tra i gruppi di controlli e pazienti; a destra, una regione posteriore talamica, in taglio assiale, la quale di nuovo pare essere significativamente soggetta a perdita neuronale nei pazienti, rispetto ai soggetti sani.

Procedendo nell'indagine *whole-brain* si è in grado di apprezzare differenze anche nella sostanza bianca: alcuni dei risultati maggiormente marcati ed evidenti su cui è interessante soffermarsi concernono, a proposito dell'analisi di stimoli visivi, le radiazioni ottiche bilaterali (fig. 35, a sinistra), le quali rappresentano fasci di fibre che trasportano l'informazione visiva procedendo attraverso il nucleo genicolato laterale del talamo e terminando in corteccia visiva primaria, proiettando al banco superiore e inferiore della scissura calcarina. Alcuni studi riportano una compromissione della sostanza bianca che si estende al sistema visivo, anche nelle sue iniziali sezioni, come i nervi e tratti ottici, contribuendo alla sintomatologia relativa a deficit visivi, talora esperiti da pazienti AD (Nishioka et al., 2015). Occorre specificare che i soggetti sperimentali del nostro studio non presentano problemi di vista, riuscendo ad osservare correttamente le sequenze di origami

dell'attore all'interno dello scanner di MRI; la perdita di tessuto nelle radiazioni ottiche non spiegherebbe, pertanto, una performance deficitaria, dal momento che alcuni pazienti hanno ottenuto, come commentato nel primo paragrafo del presente capitolo, punteggi notevolmente soddisfacenti nel compito imitativo. Tali differenze nelle vie visive sembrano, dalla letteratura, riflettere, in aggiunta, quelle dello splenio del corpo calloso, ossia la sua porzione più posteriore, che studiosi hanno identificato essere soggetta a degenerazione nei pazienti MCI e AD (Nishioka et al., 2015; Cho et al., 2008): il corpo calloso è una delle regioni più mielinizzate del cervello, in cui lo splenio consiste in fibre di sostanza bianca che mettono in comunicazione a livello interemisferico le cortecce temporo-parieto-occipitali e anch'esso è significativamente differente tra i gruppi sperimentali (fig. 35, al centro). Compromissioni all'interno della connessione cortico-corticale tra l'emisfero destro e sinistro relative alla neurodegenerazione dello splenio concorrono all'insorgenza di crescenti deficit cognitivi e visivi. Infine, un'ultima regione in cui risulta una differenza significativa circa i tratti di sostanza bianca che da essa decorrono è la corteccia premotoria ventrale, soprattutto di sinistra, dove si colloca il fascicolo arcuato (fig. 35, a destra), che abbiamo rilevato essere differente qualitativamente nella distribuzione di sostanza grigia durante l'analisi delle mappe di *overlap*; il fatto che la trasmissione neuronale che origina da quest'area non sia completamente integra, potrebbe avere un ruolo nella mediazione deficitaria del linguaggio, sia parlato che compreso, confermata in alcuni pazienti del nostro studio, così come nell'attuazione di movimenti finalizzati, da inviare ad M1 per essere trasformati in output motorio.

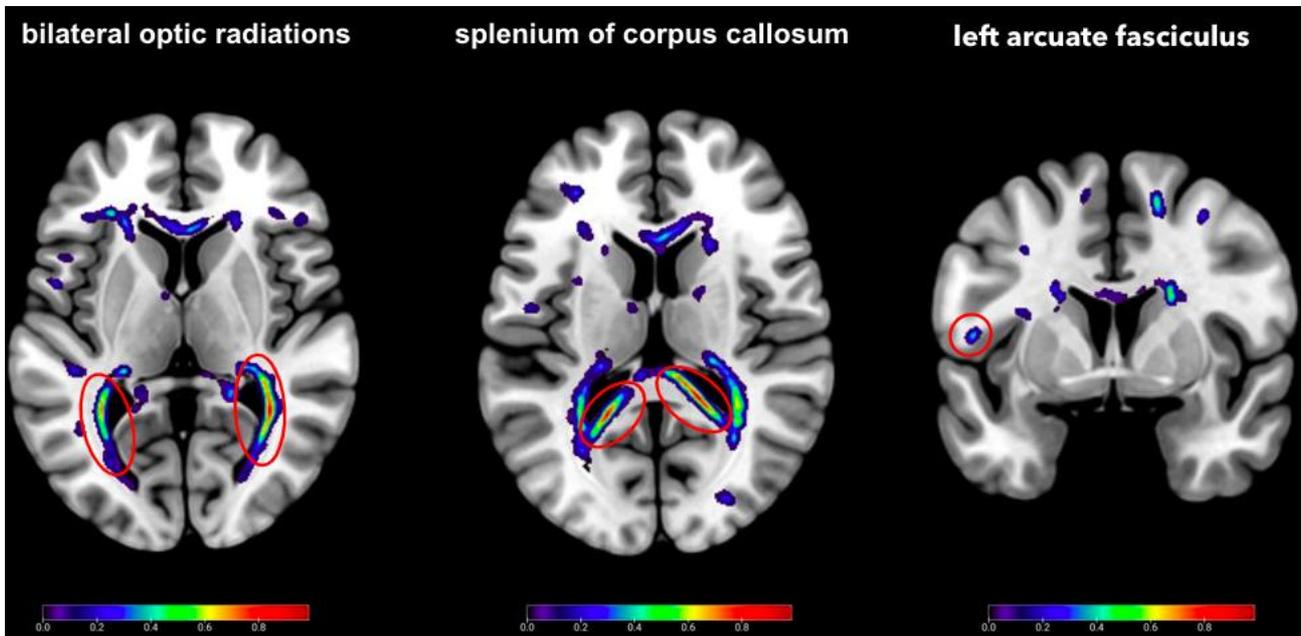


Fig. 35: In taglio assiale, si riportano le radiazioni ottiche e lo splenio del corpo calloso, cerchiati, che presentano una significativa perdita di sostanza bianca all'interno del gruppo dei pazienti rispetto ai sani; a destra, in taglio coronale, si evidenzia il fascicolo arcuato, adiacente alla corteccia premotoria ventrale sinistra.

Anche nell'analisi VBM si sono estrapolate regioni d'interesse, sia relative alla corteccia che al sottocorticale: sebbene nel confronto delle mappe di *overlap* tra i due gruppi, si potesse ipotizzare una differenza nella distribuzione di sostanza grigia nei lobi parietali e nell'area di Brodmann 44, queste regioni non sono apparse significativamente diverse, inclusa l'area BA46, corrispondente alla corteccia prefrontale dorso-laterale. Pertanto, nonostante nell'iniziale indagine esplorativa si apprezzassero differenze tra pazienti e soggetti sani, in quella quantitativa esse non risultano significative, e ciò presumibilmente a causa del campione di pazienti piuttosto piccolo. Le evidenze che meritano, però, maggior attenzione sono certamente quelle sul cervelletto e ippocampo, di cui si sono definite le ROI, oltre ad aver identificato tali regioni già attraverso la VBM *whole-brain* in maniera più grossolana. Nel cervelletto, ad uno sguardo più approfondito, si evidenzia una più ampia perdita dell'integrità di sostanza grigia nel network motorio, collocato specificamente nella porzione posteriore (fig. 36), nella quale è presente una mappa somatotopica, molto simile a quella che si trova nella corteccia motoria. Si mette in luce, quindi, una perdita di sostanza nei pazienti notevolmente superiore rispetto ai soggetti senza diagnosi.

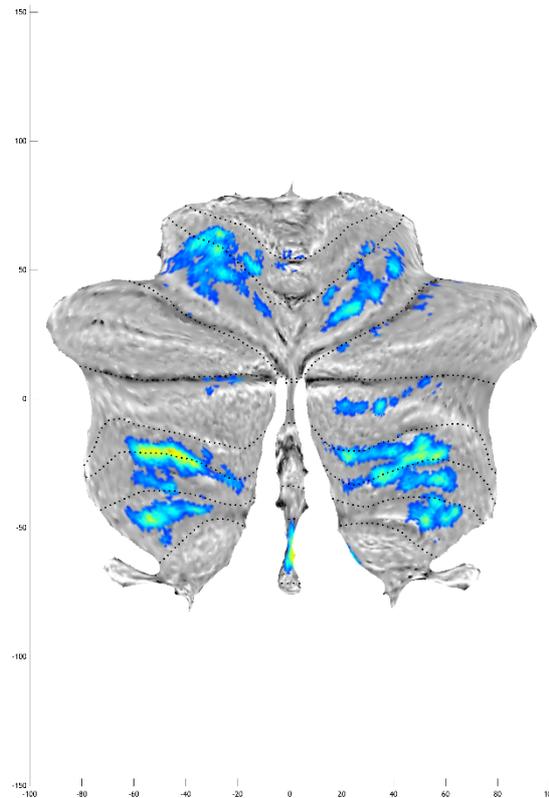


Fig. 36: Mappa del cervelletto estrapolata mediante il toolbox SUIT di Matlab dove si evidenzia una significativa perdita di sostanza grigia nel gruppo dei pazienti, corrispondenti alle regioni colorate in blu e azzurro (nella scala di colore, più ci si avvicina all'azzurro e verde, maggiore è la compromissione; nelle aree colorate in blu scuro, la degenerazione di sostanza è minore), in confronto ai sani, in particolar modo nelle regioni posteriori.

Grazie all'aiuto dell'atlante anatomico di SPM si è stati in grado, inoltre, di visualizzare nel dettaglio i lobuli cerebellari, identificando i più compromessi, come il I, II, VIIb, VIIIa e VIIIb, tutti collocati nella regione deputata alla codifica del movimento. Ancora una volta, pertanto, si mette in risalto lo stretto collegamento tra la diagnosi di Alzheimer (lieve, nel nostro caso) e i deficit al sistema motorio, come confermato da Farina e collaboratori (2017). Ulteriori aree, rilevate dall'atlante, considerevolmente coinvolte nel processo atrofico, sono la corteccia orbitofrontale ed il talamo bilaterale, confermando ciò che si osservava nella VBM *whole-brain*, ed in aggiunta, il putamen, nucleo accumbens e caudato (facenti parte dei gangli della base), il cingolo anteriore, l'insula e l'amigdala. La degenerazione di quest'ultima è particolarmente evidente e riportata nella figura 37,

sulla sinistra, attraverso un focus più preciso sul taglio coronale. Si potrebbe ipotizzare un ruolo rilevante nelle compromissioni cognitivo-emozionali tipiche della malattia di Alzheimer, dal momento che contribuisce al processamento dei ricordi, avendo un intimo collegamento con l'ippocampo, e nell'esperienza di emozioni, soprattutto come la paura o la rabbia. Anche l'insula e il giro del cingolo anteriore, d'altra parte, giocano un ruolo essenziale nel settore emotivo, e sono in aggiunta considerati dotati di proprietà specchio specifiche. In ultima analisi, l'atlante ha permesso anche di individuare i sottocampi della struttura ippocampale (per un maggior approfondimento sugli stessi si rimanda al paragrafo 1.4 del capitolo 1) dove si può identificare un 12% in media di degenerazione sia del giro dentato che del sottocampo CA1, confermando un loro coinvolgimento già dalle prime fasi della malattia, che ha parecchie evidenze in letteratura, come quella di de Flores e collaboratori (2017).

Si può, pertanto, concludere che ciò che pare essere a rischio di una grave neurodegenerazione già dai primi stadi della malattia di AD, è una grande varietà di strutture sottocorticali, rispetto, al contrario, alle corticali, le quali mediante la VBM non risultano essere significativamente differenti tra i gruppi sperimentali. Le aree parieto-frontali dotate di proprietà *mirror* nell'uomo delineate nel paragrafo 2.1 del capitolo 2, non sono emerse durante l'analisi, il che spiega come mai alcuni pazienti mostrino una buona capacità imitativa e un'alta percentuale di accuratezza nel compito eseguito in risonanza. L'analisi qualitativa ha permesso di rilevare alcuni effetti nel sottocorticale, come quello riguardante l'ippocampo, per poi essere confermati significativamente dalla misura quantitativa riferita alla *Voxel-Based Morphometry*.

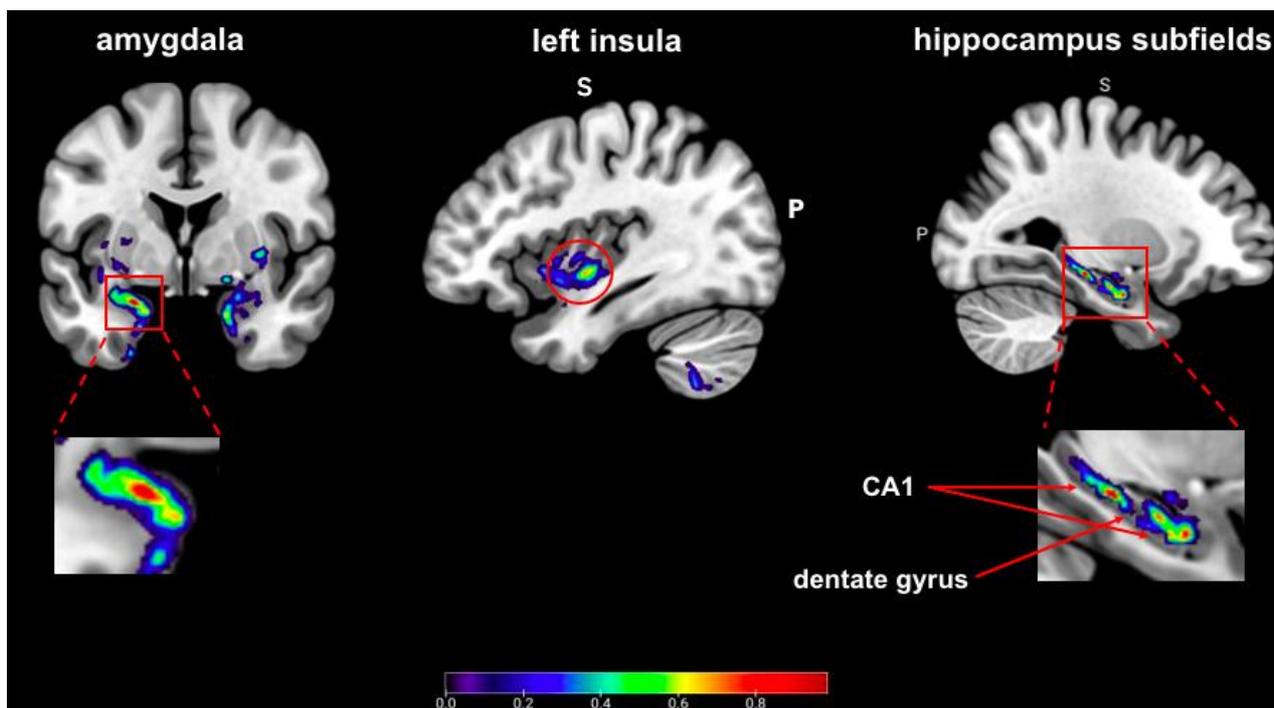


Fig. 37: Con un taglio coronale sulla sinistra, si evidenzia la significativa degenerazione dell'amigdala nel gruppo dei pazienti, in confronto a quello dei sani; al centro è riportata l'insula di sinistra, cerchiata; mentre a destra, si mette in luce attraverso un primo piano più preciso i sottocampi CA1 e il giro dentato dell'ippocampo, che risultano anch'essi significativamente differenti tra i due gruppi sperimentali.

#### 4.4 Risultati della regressione

In quest'ultima sezione si approfondirà la fase finale dell'analisi sulle immagini di Risonanza Magnetica attraverso la regressione. Il modello lineare di regressione effettuato ci indica se il risparmio di aree o strutture cerebrali è predetto linearmente dai predittori inseriti al suo interno, ossia lo screening cognitivo MOCA e la performance imitativa. In primo luogo, riportiamo di seguito quello che è il disegno sperimentale (fig. 38), all'interno del quale si evidenziano i predittori "PERFORMANCE" e "MOCA" e i rettangoli su scala di grigi per ciascun soggetto, dove il colore nero segnala un punteggio ottenuto notevolmente basso (come, ad esempio, una percentuale di accuratezza del 18% nel compito motorio, oppure il MOCA pari a 13), mentre il bianco indica, al contrario, un punteggio molto elevato (ad esempio, una performance uguale a 80% o il MOCA con

un punteggio di 28); i grigi specificano dei risultati discreti. Sulla destra, sono riportati i nomi di tutti i partecipanti allo studio, a partire dai quattro pazienti MCI, proseguendo con i quattro soggetti con diagnosi di AD, e terminando con i restanti 21 soggetti di controllo, ciascuno con il proprio codice riferito al gruppo sperimentale di appartenenza seguito da un numero. È chiaramente evidente la maggior presenza di celle colorate in nero all'interno del sottocampione AD, che presenta pazienti con un quadro piuttosto severo sia nel settore motorio, che in quello concernente svariati settori cognitivi.

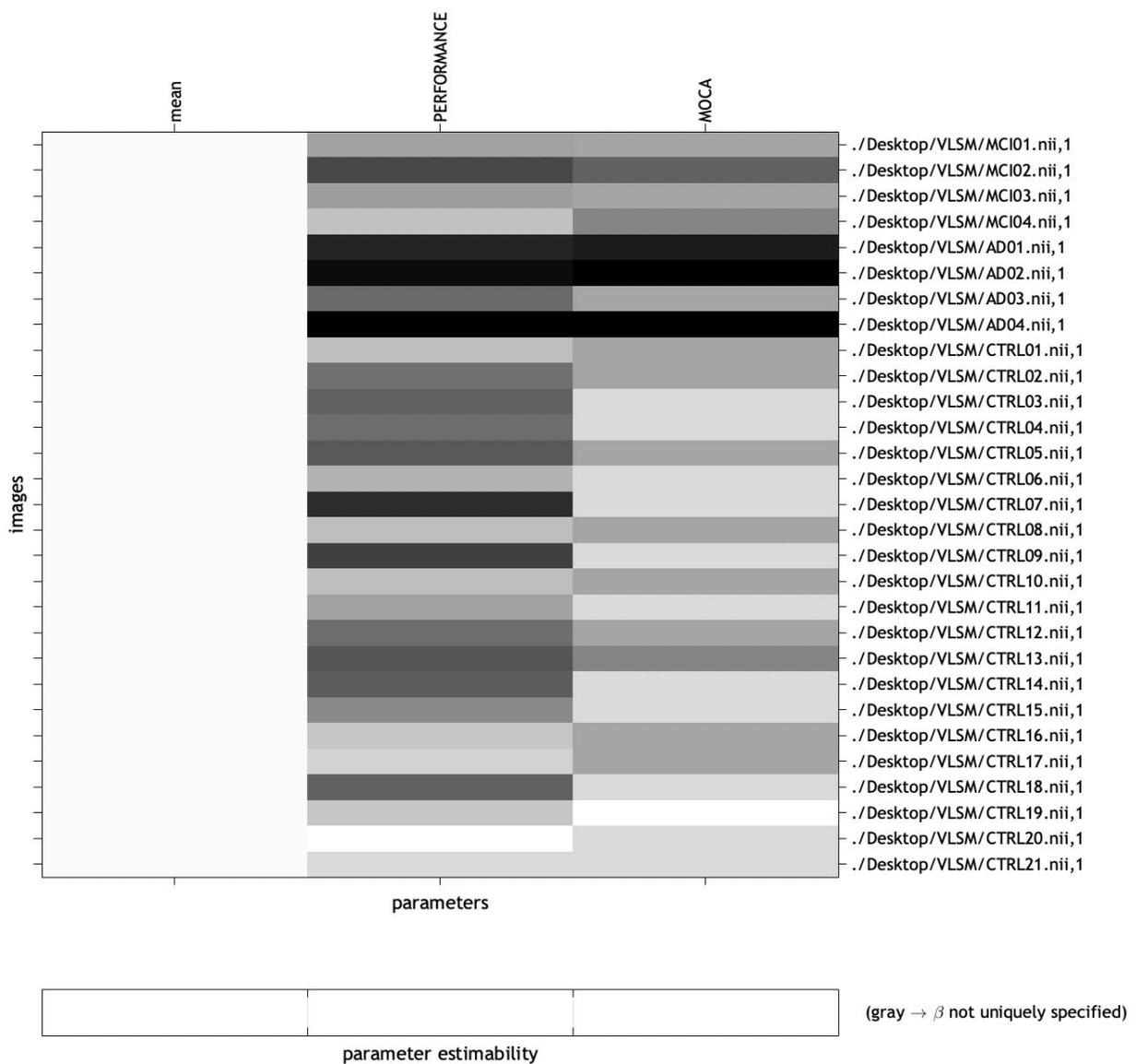


Fig. 38: Disegno sperimentale che comprende i due predittori (performance imitativa e MOCA) e ciascun soggetto sperimentale con le celle colorate in scala di grigi, corrispondenti al punteggio, alto, discreto o molto basso, ottenuto ad entrambi i task.

Analizziamo, dunque, i risultati della regressione partendo dall'indagine relativa alla sostanza grigia: nuovamente, come durante l'analisi VBM, gli effetti più significativi sono stati individuati nel sottocorticale e, specificamente, all'interno dei gangli della base. Di particolare interesse, si mettono in luce (Fig. 39), il putamen, sulla sinistra, e il nucleo caudato, a destra, entrambi risultati essere significativamente differenti circa la distribuzione della sostanza grigia di cui sono composti nella fase precedente di analisi. Com'è possibile rilevare dalle mappe riportate, il MOCA pare predire considerevolmente di più il risparmio di tali strutture, in confronto al compito imitativo. Ciò è chiaramente dovuto dal fatto che i predittori indagano settori differenti, uno indaga in maniera approfondita e predominante la capacità imitativa, che poggia sulla memoria di lavoro e sulle funzioni esecutive, e l'altro indaga superficialmente svariati ambiti cognitivi, tra i quali il linguaggio, le abilità visuo-spaziali, l'orientamento, la memoria.

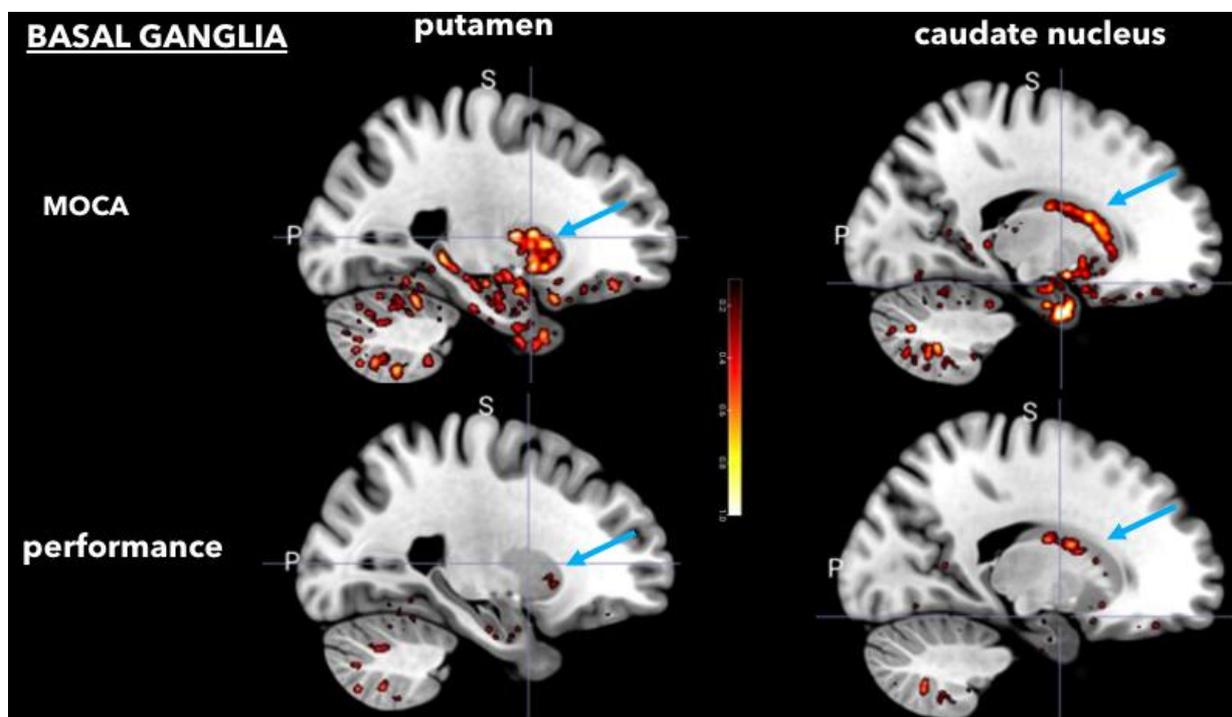


Fig. 39: A sinistra, il putamen, il cui risparmio della degenerazione di sostanza grigia è maggiormente predetta dal test di screening MOCA, rispetto al compito imitativo; a destra, troviamo il nucleo caudato, per il quale vale la medesima considerazione.

In ulteriori due strutture, il cervelletto e l'ippocampo (le quali all'interno del gruppo dei pazienti, attraverso la VBM, mostrano una significativa perdita di sostanza grigia) il risparmio è predetto maggiormente dal MOCA rispetto alla performance (fig. 40), così come si è trovato per i gangli della base. Difatti, già analizzando la differenza delle medie dei due predittori tra i sani ed i pazienti, e tra pazienti MCI e AD, si aveva la possibilità di apprezzare una maggior differenza nei punteggi allo screening cognitivo rispetto a quella nelle percentuali di accuratezza del compito motorio.

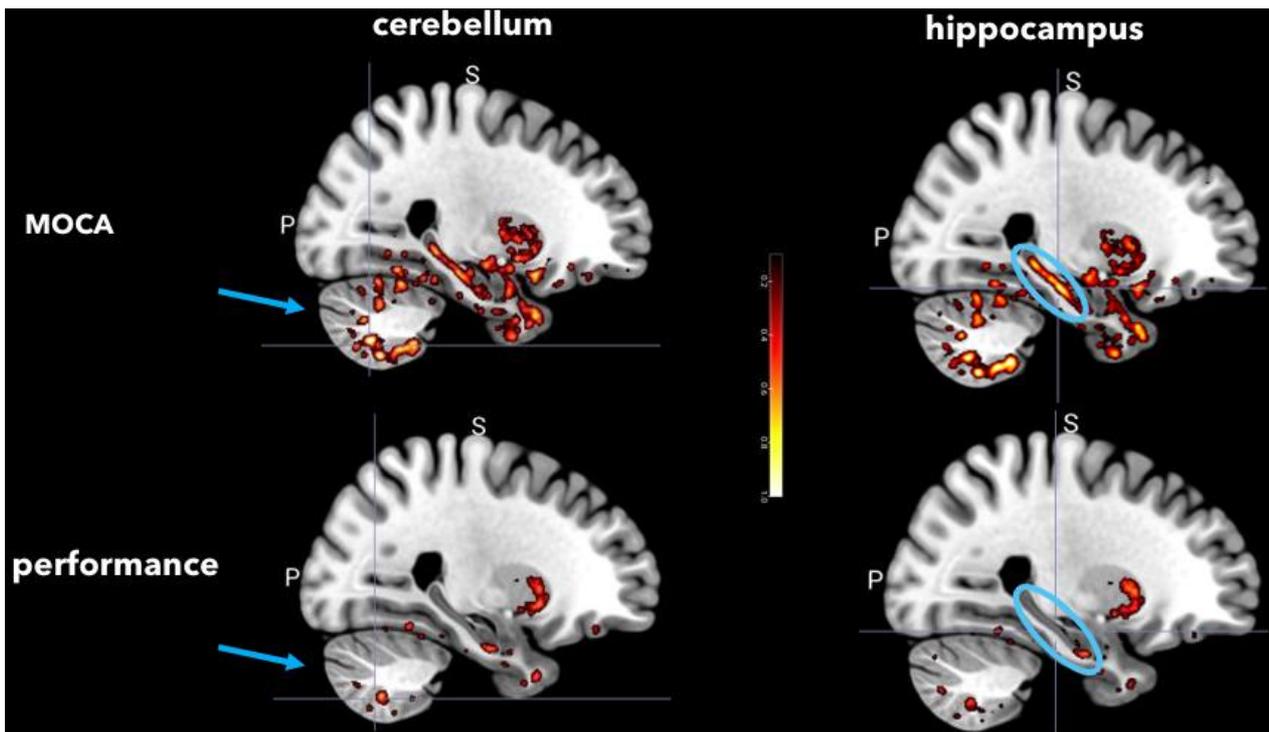


Fig. 40: Il risparmio del cervelletto (a sinistra) e dell'ippocampo (a destra) è predetto maggiormente, anche in questo caso, dal MOCA rispetto alla performance imitativa.

Per quanto concerne, invece, i tratti di sostanza bianca, è stata evidenziata una minor sovrapposizione di aree cerebrali predette da MOCA e dalla performance: le proiezioni cortico-ponto-

cerebellari sono, ad esempio, predette unicamente dallo screening cognitivo, così come la porzione anteriore del corpo calloso (a destra e a sinistra rispettivamente, in fig. 41), riguardante il passaggio di informazioni legate a regioni cognitive. Una breve parte del tratto destro delle radiazioni ottiche è predetta, anch'essa, dal MOCA (al centro, nella figura), ma non dalla performance. Già dalla fase quantitativa dell'analisi *Voxel-Based Morphometry* non sembravano esserci notevoli differenze nella sostanza bianca tra il gruppo di pazienti e quello di soggetti sani, eccetto qualche effetto sulle radiazioni ottiche e sul calloso, i quali risultano per l'appunto essere significativi anche nella presente analisi sul modello di regressione.

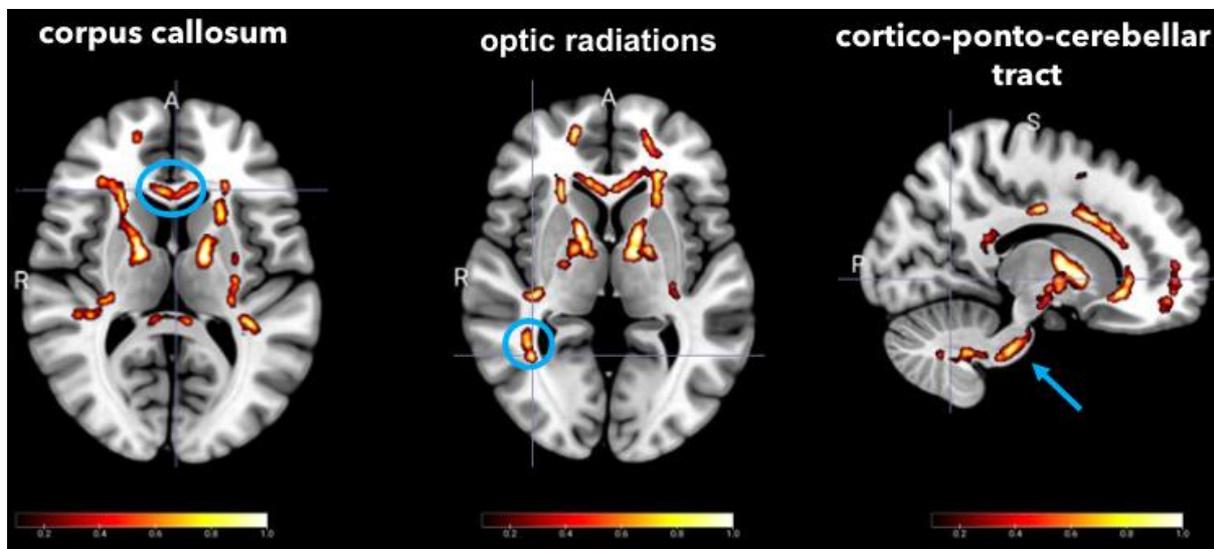


Fig. 41: Fasci di sostanza bianca predetti unicamente dal predittore MOCA: a sinistra, con taglio assiale si evidenzia la porzione anteriore del corpo calloso, cerchiata; al centro, con taglio assiale, si riporta la piccola porzione destra delle radiazioni ottiche; mentre nell'ultima mappa, si può notare il tratto cortico-ponto-cerebellare, indicato dalla freccia.

Il predittore “performance”, invece, predice da solo le proiezioni al di sotto della corteccia premotoria ventrale, deputate al decorso di informazioni motorie, tratti di sostanza bianca della regione opercolare dell'insula, i quali riguardano principalmente la trasmissione di messaggi concernenti il somatosensoriale (Fig. 42, a sinistra), le proiezioni dalla profondità cerebrale, dove sono presenti i gangli della base, che raggiungono la corteccia, ed infine, la porzione media e anteriore del giro del cingolo: quella media gioca un rilevante ruolo nella selezione della risposta motoria, mentre l'anteriore contribuisce al controllo delle emozioni, al comportamento sociale e ad una vasta

gamma di processi cognitivi (Fig. 42, a destra). Il compito eseguito dai partecipanti si basa, difatti, sull'osservazione di mani di un proprio simile, che svolgono un movimento con un foglio di carta, il quale dal soggetto dev'essere piegato nello stesso modo (selezione dell'output motorio), inibendo simultaneamente l'input di agire quando non è permesso, basandosi su memoria di lavoro, attenzione, e capacità visuo-spaziali (processi cognitivi).

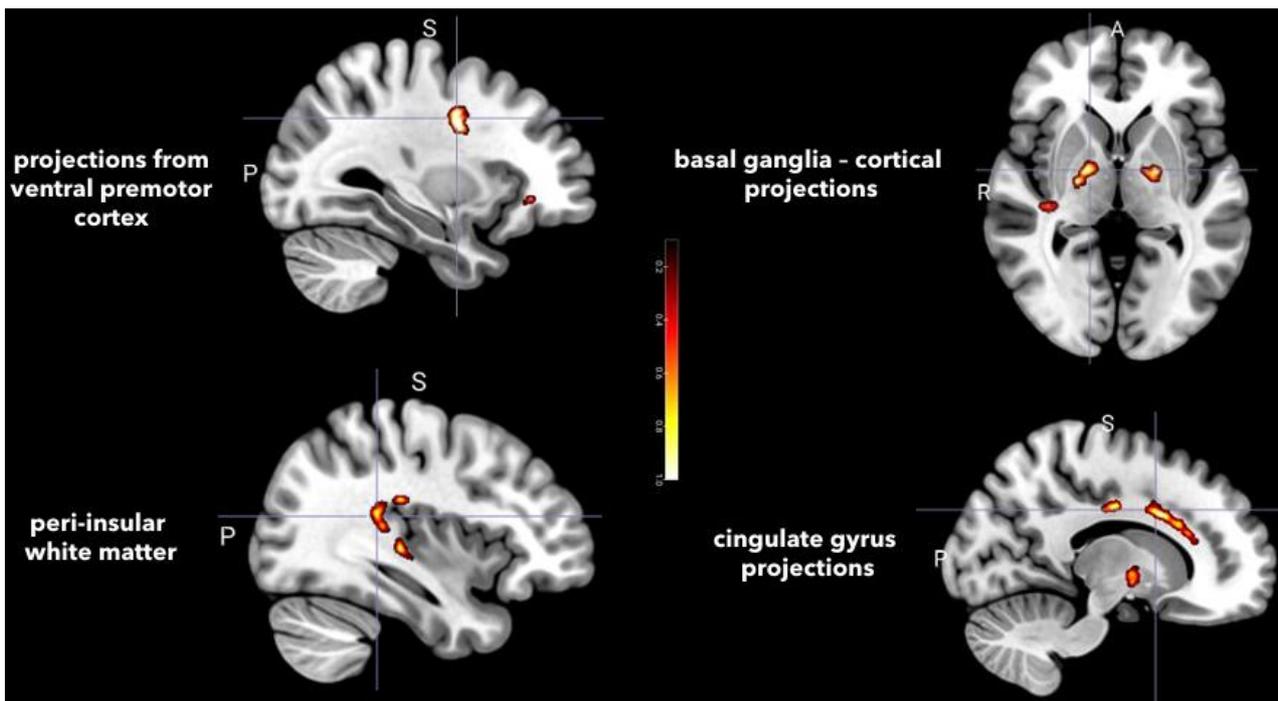


Fig. 42: Tratti di sostanza bianca, il cui risparmio è predetto unicamente dal compito motorio imitativo: a sinistra, si evidenziano le proiezioni dalla corteccia premotoria ventrale e quelle nella regione opercolare dell'insula; a destra, sono riportati i tratti di sostanza bianca dai gangli alla corteccia e quelli dal giro del cingolo.

Si può, pertanto, concludere che i predittori MOCA e performance, adoperati nel modello di regressione, possiedono in comune la maggioranza delle aree individuate, di cui predicono il risparmio di sostanza grigia, sebbene la performance imitativa lo faccia in misura minore. Al contrario, però, i tratti di sostanza bianca predicono differenti fasci: quelli riferiti al MOCA trasportano informazioni maggiormente cognitive e diffuse, dal momento che tale test analizza diverse aree cognitive, mentre il compito imitativo predice il risparmio di tratti concernenti output motori, come ci si sarebbe aspettato, poiché basato su un task motorio.

## Discussione e Conclusioni

L'assessment neuropsicologico effettuato su tutti i soggetti di controllo e pazienti con diagnosi MCI o AD lieve, ha dimostrato una differenza significativa nello screening cognitivo MOCA: in altre parole, esiste una evidente compromissione nei secondi rispetto ai primi, all'interno di svariati domini funzionali, quali attenzione, orientamento visuo-spaziale, memoria, capacità linguistiche. Si conferma, pertanto, che coloro che possiedono una diagnosi di conclamata demenza di Alzheimer, anche nella prima fase della patologia, o quando ancora la sintomatologia non permette di parlare di demenza, ma unicamente di compromissione cognitiva lieve, presentano un quadro considerevolmente e significativamente più grave e che, plausibilmente, degenererà con l'avanzare del tempo, rispetto a coloro che non possiedono tale diagnosi; dato, questo, in linea con la nostra iniziale ipotesi. All'interno del solo gruppo dei pazienti, tre soggetti con diagnosi AD ottengono punteggi notevolmente bassi rispetto a quelli affetti da MCI, sebbene tale differenza non risulti significativa: in letteratura, difatti, si evidenzia talvolta che pazienti affetti da MCI risultano ottenere punteggi considerevolmente bassi (Petersen, 2016; Yeung et al., 2020), e talvolta risultano punteggi maggiori in questi ultimi, contribuendo così alla mancanza di significatività nella differenza della performance allo screening cognitivo (che nel nostro caso potrebbe essere comunque data dal campione piuttosto ristretto). Può accadere, ad esempio, che alcuni pazienti MCI mostrino una integrità nel funzionamento cognitivo tanto seria da presentare una prestazione molto bassa nel MOCA, ma non tanto da possedere i requisiti clinici essenziali per essere diagnosticati con una conclamata demenza di Alzheimer.

Come parecchi studi in letteratura mostrano, la AD non è, come è stata considerata erroneamente per decenni, solo una malattia cognitiva, che coinvolge in misura maggiore le abilità mnestiche e di orientamento nello spazio e nel tempo, ma essa trascina inevitabilmente con il suo progressivo decorso, in aggiunta, diversi deficit motori, i quali hanno un inestricabile collegamento con i settori psicologici indagati dal test MOCA (Bisio et al., 2012; Farina et al., 2020). Difatti, i risultati circa la performance imitativa svolta in Risonanza Magnetica, hanno dimostrato una

significativa differenza tra i pazienti MCI e AD, in quanto questi ultimi hanno ottenuto percentuali di accuratezza sensibilmente basse, confermando le evidenze di Bisio e collaboratori (2016). Globalmente, si può affermare che i risultati ottenuti dimostrano che tutti i pazienti MCI sono stati in grado di eseguire tale compito, seppur basato su azioni bimanuali complesse, terminandolo in maniera totalmente soddisfacente dal punto di vista quantitativo: ciò significa che il numero di pieghe e passaggi del foglio sono stati nel complesso rispettati. I pazienti, invece, con diagnosi di AD hanno mostrato avere una ben maggiore difficoltà nell'esecuzione di tali atti motori, e quindi nell'associazione dei movimenti biologici ha appena osservati e la loro riproduzione fedele, facendo ipotizzare un deficit circa la memoria di lavoro, su cui tale compito è basato, la quale mantiene attive le informazioni rilevanti per essere, di lì a poche decine di secondi, riutilizzate.

Da notare, inoltre, l'elevata correlazione tra il MOCA e il compito di imitazione, da cui si conclude che chi presenta evidenti difficoltà nei task riguardanti la memoria, la denominazione, o le funzioni esecutive, mostra una performance quantitativa considerevolmente scarsa nell'imitazione. Tale dato, in linea con una delle iniziali ipotesi, dimostra nuovamente come non ci sia una netta linea di separazione tra l'area cognitiva e quella motoria, dal momento che quest'ultima si basa su abilità quali la memoria di lavoro, l'attenzione per focalizzarsi su uno specifico elemento rilevante per noi in quel contesto, l'orientamento visuo-spaziale per piegare il foglio nella corretta maniera, seguendo le indicazioni poco prima viste fare dal modello. Classicamente, i pazienti con probabile decorso verso la demenza conclamata di Alzheimer vengono sottoposti unicamente allo screening cognitivo al fine di valutare il loro funzionamento globale; data la relazione dimostrata nel presente lavoro, si potrebbe proporre di aggiungere all'assessment cognitivo il compito imitativo come ulteriore marker di alcuni processi neurali patologici: sebbene l'indagine sul MOCA non mostri alcuna differenza significativa all'interno delle diagnosi di MCI e AD, il task motorio può rilevare come il comportamento del soggetto vari in funzione dell'integrità del proprio funzionamento neuro-cognitivo, da cui è notevolmente influenzato.

Un caso particolarmente interessante e rappresentativo a tal riguardo è AD\_02, il quale mostra una performance alta al MOCA con un punteggio pari a 23, che indica un funzionamento cognitivo

apparentemente integro, ma nel momento del compito di osservazione-imitazione, presenta non poche difficoltà, ottenendo un'accuratezza al di sotto del 30%.

L'analisi sulla capacità linguistica, indagata attraverso il test di denominazione, dimostra la presenza di una correlazione, sebbene moderata, tra il linguaggio e l'abilità motoria o più nello specifico, imitativa, dimostrando l'interdipendenza tra tali settori. Difatti, i pazienti che sono in grado di denominare quante più azioni possibili, dalle vignette osservate, eseguono il compito motorio in Risonanza Magnetica in maniera soddisfacente; mentre, coloro che mostrano difficoltà nella denominazione dei verbi che esprimono ciò che i soggetti osservano, presentano anche una debole performance motoria, consentendo di ipotizzare un'intima connessione tra le abilità linguistiche e quelle motorie. Si evidenzia anche una correlazione negativa tra la capacità attentiva, analizzata mediante il test di Stroop rappresentata dal numero di errori, e la performance imitativa, la quale mostra punteggi in percentuale tanto più bassi quanto più alta è la quantità di errori commessi. Anzitutto, occorre specificare una chiara differenza tra i pazienti MCI e AD all'interno del test di Stroop: i primi, infatti, eseguono il compito senza difficoltà, terminandolo eccellentemente; al contrario, chi ha diagnosi di AD, eccetto uno, commette parecchi errori nel corso del compito attentivo, dimostrando come le funzioni esecutive ed attentive possano essere particolarmente compromesse anche nella prima fase della patologia.

Un ulteriore dominio fortemente indagato con i pazienti affetti da demenza di Alzheimer è quella concernente le abilità visuo-spaziali, generalmente analizzate attraverso la copia di figure o il disegno libero. Nella nostra analisi, è interessante soffermarsi sul test dell'Orologio (Caffarra et al., 2011), il quale, indagando la prassia costruttiva, analizza se il soggetto sia in grado di costruire o disegnare un oggetto, avendo compreso perfettamente la consegna. Il risultato sorprendente e notevolmente interessante concerne il fatto che tutti e quattro i pazienti con diagnosi di AD hanno ricevuto un punteggio pari a 0, indicante una performance tanto bassa da essere considerata come patologica e degna d'interesse clinico; al contrario, tre su quattro pazienti con MCI hanno raffigurato l'orologio correttamente, tranne uno, MCI\_04, il cui compito è stato valutato con il punteggio a soglia uguale a 1. Quest'ultimo merita un'attenzione particolare: come detto più volte, non tutti i pazienti

con MCI possiedono un'assoluta certezza che la loro condizione sfoci nella più seria demenza di Alzheimer, e un controllo periodico al funzionamento cognitivo globale potrebbe essere per il medico importante per poter ipotizzare che questo sia un segnale di peggioramento e di probabile decorso verso una fase più grave della malattia. Ciò che ci suggerisce il risultato del paziente MCI\_04, che ha una prestazione molto differente dal resto dei pazienti con la medesima diagnosi, è che, se da un lato si è dimostrato che l'integrità di alcune funzioni, come la capacità di imitazione, sia significativamente migliore in coloro che hanno MCI rispetto ai soggetti con AD, occorre, dall'altro lato non sottovalutare casi MCI meno preoccupanti in confronto alla demenza conclamata, dal momento che il quadro clinico potrebbe risultare particolarmente compromesso in certi ambiti cognitivi di essenziale importanza.

L'aspetto su cui è importante focalizzarsi è che la maggioranza dei test neuropsicologici somministrati correla con la performance imitativa, la quale ancora una volta si conferma essere uno strumento valido e da tenere in considerazione durante la valutazione che il clinico effettua sui pazienti MCI o AD. I dati appena esposti ci dimostrano, quindi, che nella malattia di Alzheimer, come confermato da Farina e collaboratori (2020), i sintomi motori e cognitivi potrebbero essere collocati all'interno di un continuum, poiché coinvolti entrambi in tale patologia, e ciò farebbe sì che aumenti l'interesse sulla connessione tra la malattia neurodegenerativa ed il sistema motorio, coinvolgendo aree che ne fanno parte. Le regioni corticali, però, deputate all'organizzazione dei movimenti con un determinato scopo, come quelle fronto-parietali dotate di proprietà specchio (per un maggior approfondimento, si rimanda al paragrafo 2.1), non sono risultate significativamente diverse tra il gruppo dei controlli e quello dei pazienti, come invece ci si poteva aspettare inizialmente; solo le strutture sottocorticali sono risultate differenti tra i due gruppi, quando analizzate con la *Voxel-Based Morphometry*. È importante premettere che quest'ultima è una tecnica parametrica, quindi si dovrebbe evitare di utilizzarla con campioni troppo ristretti, come quello oggetto di studio del presente lavoro. Il nostro studio, però, i cui risultati vengono interpretati con molta cautela e la cui statistica è stata impostata particolarmente restrittiva, è unicamente prospettico e prevede il reclutamento di ulteriori pazienti, di conseguenza l'obiettivo principale è stato quello di evidenziare gli effetti significativi, senza la pretesa di considerarsi un lavoro completo. Nello specifico, è particolarmente interessante evidenziare come la distribuzione della sostanza grigia nell'ippocampo

e nel cervelletto sia significativamente compromessa nei pazienti, rispetto ai soggetti sani. A tal proposito, è logico ipotizzare, dati i risultati piuttosto scarsi nei compiti mnestici negli AD, che la struttura ippocampale presenti in essi una degenerazione maggiormente ampia, in confronto a coloro che presentano una prestazione nella norma. La neurodegenerazione di sostanza grigia coinvolge, in aggiunta, il network motorio del cervelletto, il quale codifica i movimenti del corpo e degli arti e la loro coordinazione, ricevendo informazioni propriocettive e visive, e modulando l'output mediante l'invio di comandi motori alla corteccia cerebrale e al tronco encefalico. Pertanto, la performance imitativa con punteggi insufficienti per i pazienti con AD potrebbe, plausibilmente, derivare anche da una evidente e significativa compromissione delle rappresentazioni sensorimotorie cerebellari (attivate durante l'osservazione-imitazione di azioni legate alla manipolazione di oggetti, v. Errante & Fogassi, 2020). Inoltre, anche la corteccia insulare e l'amigdala mostrano una compromissione significativa nel gruppo dei pazienti, le quali spiegherebbero i deficit all'interno dell'ambito cognitivo-emozionale, contraddistinto spesso da un mancato controllo delle emozioni esperite, il quale rappresenta uno dei preponderanti sintomi nella malattia di Alzheimer (Farina et al., 2020). Circa l'analisi dei tratti di sostanza bianca, si mette in luce come i risultati confermino alcuni dati in letteratura riguardanti una progressiva compromissione delle vie visive in pazienti con malattia di Alzheimer (Nishioka et al., 2015), sebbene nel nostro campione non ci siano soggetti con problemi alla vista, possedendo pertanto tutti i requisiti per poter svolgere il compito imitativo in risonanza. In realtà anche nei pazienti di questo studio sono significativamente coinvolte le radiazioni ottiche bilaterali. Si può ipotizzare che la degenerazione di questi tratti non rappresentino al momento, in questi pazienti, un deficit rilevante, ma verosimilmente potrebbe diventarlo con il progredire della patologia, contribuendo all'insorgenza di deficit visivi, di cui talvolta i pazienti con AD sono affetti. Problematiche visive o cognitive si potrebbero rilevare anche a causa della notevole perdita di tessuto nel corpo calloso, in particolare nello splenio, la sua regione più posteriore, come è stato dimostrato nella presente analisi, in cui si evidenzia una maggior degenerazione nel campione dei pazienti rispetto ai soggetti sani, nei quali ci si aspetta un quadro di sostanza bianca. Un altro dato interessante riguarda una compromissione significativa del fascicolo arcuato (confermando i dati di Zhang et al., 2019), che potrebbe essere la ragione più probabile dei deficit linguistici riscontrati nella malattia di Alzheimer, sia in popolazione sia nel nostro piccolo campione, nel quale parecchi pazienti hanno presentato rilevanti problemi nella denominazione di verbi.

Le evidenze risultate dall'indagine sulle immagini MRI vertono, in conclusione, principalmente sulla degenerazione di sostanza nel sottocorticale, la quale non è presente in corteccia, come ci si poteva inizialmente aspettare, soprattutto all'interno delle regioni fronto-parietali: è plausibile che ciò sia dovuto dal fatto che l'atrofia da cui i pazienti sono colpiti non si sia ancora diffusa ampiamente a livello corticale. Si è evidenziata in particolar modo perdita di sostanza nella profondità dei lobi temporali mediali, che confermiamo essere una delle prime regioni ad essere il bersaglio del processo atrofico nella patologia di AD (Molinder et al., 2021).

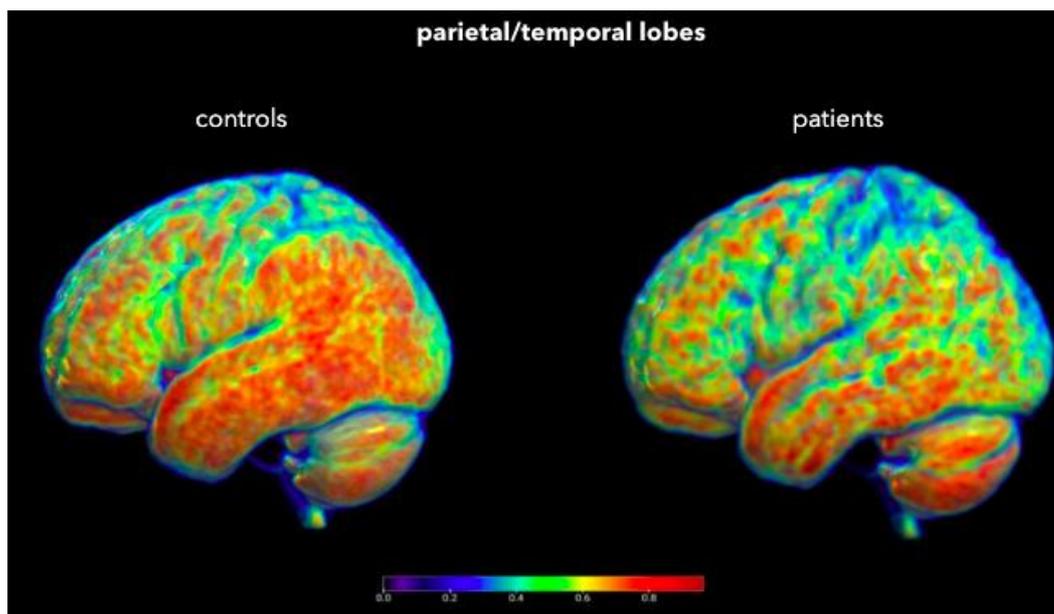
L'ultima fase della nostra analisi, riguardante la regressione, ha dimostrato che il test MOCA predice significativamente più della performance imitativa, il danno sottocorticale. Un esiguo numero di aree che mediante la *Voxel-Based Morphometry* sono risultate significativamente diverse tra i due gruppi sperimentali, risulta da entrambi i predittori, ma in misura maggiore dallo screening cognitivo il quale, rispetto al test di imitazione, è in grado di indagare un numero maggiore di aree cognitive. Esso predice il risparmio di sostanza grigia di alcune strutture nei gangli della base, come il putamen o il nucleo caudato, sebbene quest'ultimo sia predetto, anche se in misura minore, anche dalla performance imitativa. Anche il risparmio del cervelletto e dell'ippocampo, commentati poc'anzi nell'analisi sulla VBM, sono maggiormente predetti in maniera significativa dal MOCA; mentre, riguardo alla sostanza bianca, quest'ultimo predice il danno del corpo calloso, sia anteriore che posteriore, e delle radiazioni ottiche, in particolare nell'emisfero di sinistra, così come il tratto cortico-ponto-cerebellare, che trasporta le informazioni dalla corteccia cerebrale, passando per il ponte nel tronco encefalico e terminando nel cervelletto, formando quella che è una via extrapiramidale indiretta, deputata alla messa in atto di movimenti in modo fluido e coordinato, anche grazie al contributo dell'operato dei gangli della base. Le aree deputate a rappresentazioni cognitive significativamente differenti tra i due gruppi evidenziate dalla VBM non sembrano avere una relazione diretta con la performance imitativa in quest'ultima fase di analisi; è, invece, in chiara relazione con essa la circuiteria sottocorticale motoria, in parte condivisa anche con il MOCA. L'uso del task imitativo nell'assessment si giustifica, pertanto, anche con tale risultato finale.

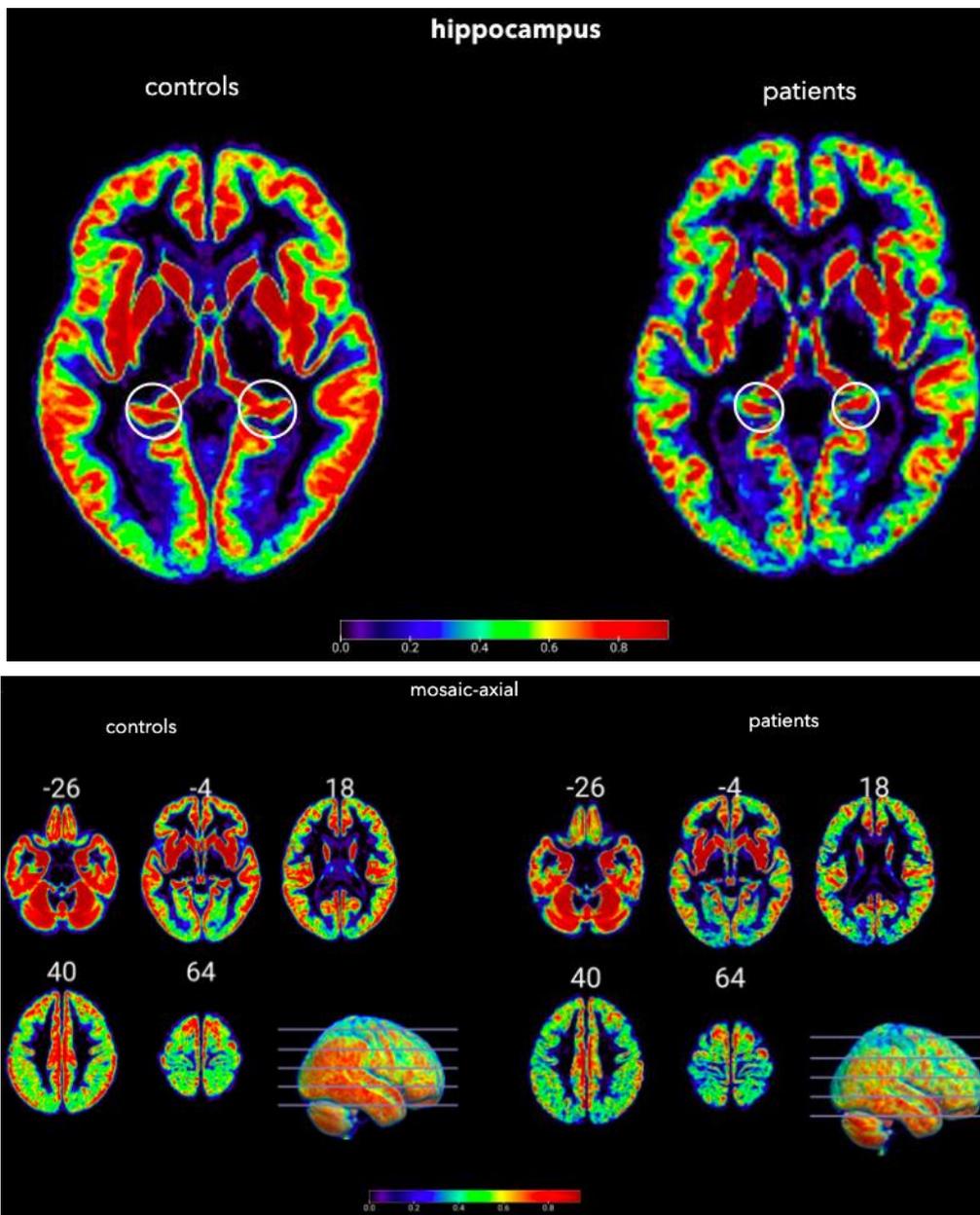
In conclusione, emerge l'utilità di inserire nell'assessment neuropsicologico anche il compito di osservazione-imitazione, affiancato come sempre dai tipici test somministrati ai pazienti con

diagnosi di MCI o AD, i quali devono cercare di essere il più vari ed esaustivi possibile al fine di comprendere al meglio il quadro clinico. Il task che si propone aggiungerebbe preziose informazioni sulla capacità di imitare azioni bimanuali complesse, come quelle legate alla creazione di origami, contribuendo ad una conoscenza più ampia su aspetti motori che non sempre si tengono in considerazione nell'ambito della patologia di Alzheimer. I disturbi motori che possono essere coinvolti anche nelle fasi iniziali di questi pazienti hanno necessità di essere valutati per conoscere, mediante l'analisi delle immagini MRI, quali parti del sistema motorio risultano essere maggiormente deficitarie. Studi futuri necessiterebbero di un numero più ampio di pazienti al fine di eseguire un confronto e un'indagine maggiormente rappresentativi della popolazione di riferimento. In aggiunta, sarebbe di grande importanza effettuare l'analisi concernente le immagini cerebrali ottenute in Risonanza Magnetica comparando i sottogruppi relativi alle diagnosi di MCI e AD, per poter osservare quali cambiamenti morfologici riguardano unicamente l'una o l'altra diagnosi, come l'assottigliamento ippocampale o la neurodegenerazione dei lobuli cerebellari motori. In aggiunta, occorre ricordare che il compito motorio di cui abbiamo finora parlato risente notevolmente degli input visivi, rappresentando pertanto un compito complesso: sarebbe quindi interessante, in lavori futuri, poter mettere a punto un disegno sperimentale con soli compiti motori semplici. Integrando il task complesso nella pratica clinica si può supportare la diagnosi da un lato, e farne uso come strategia di trattamento dall'altro, in particolare nei pazienti MCI, sia che abbiano o non abbiano rischio di conversione in AD, mentre per coloro che possiedono già una conclamata demenza è forse più opportuno utilizzare task semplici.

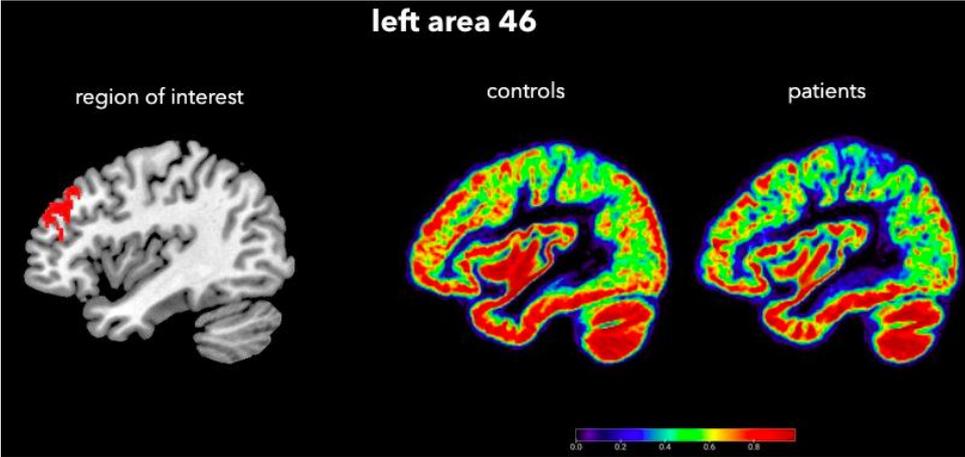
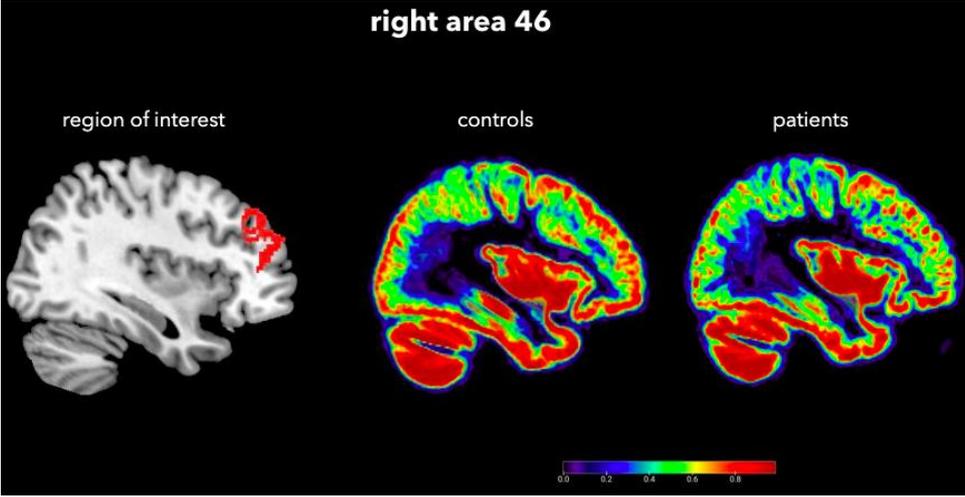
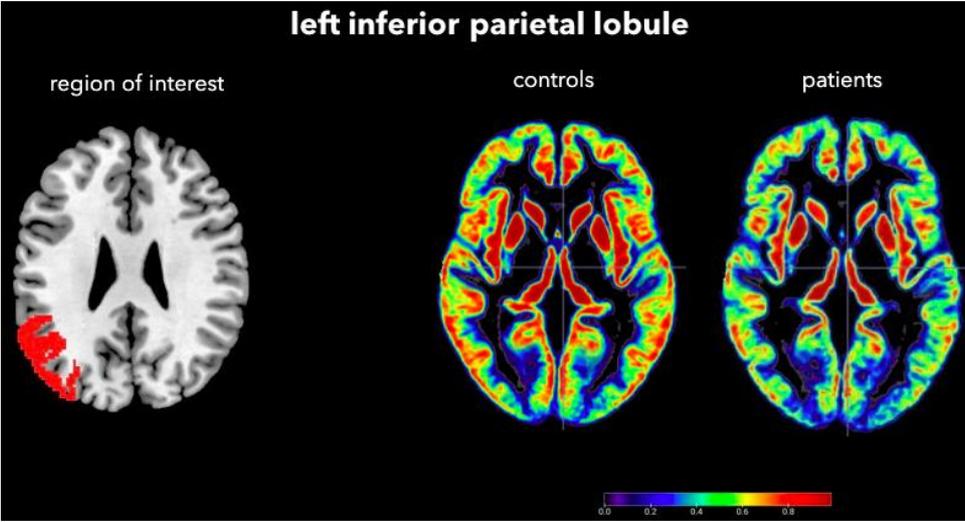
## Appendice

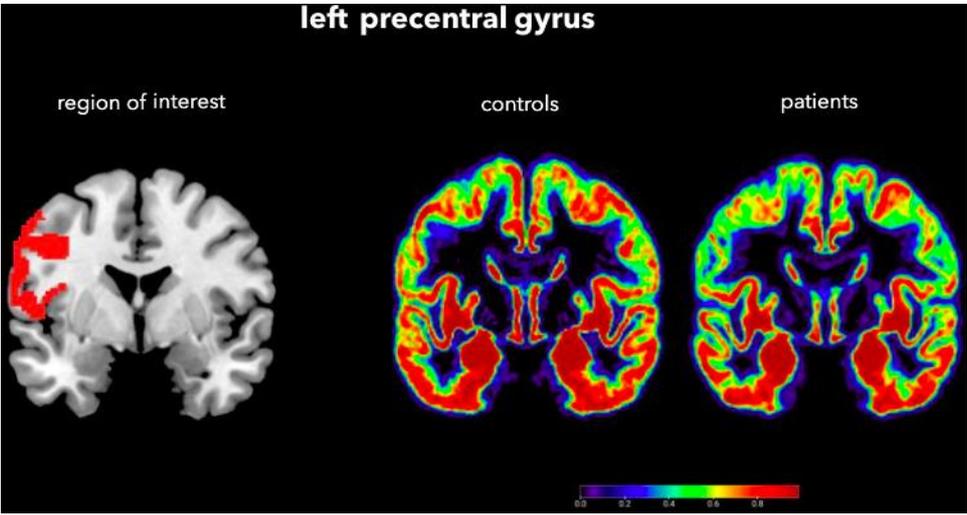
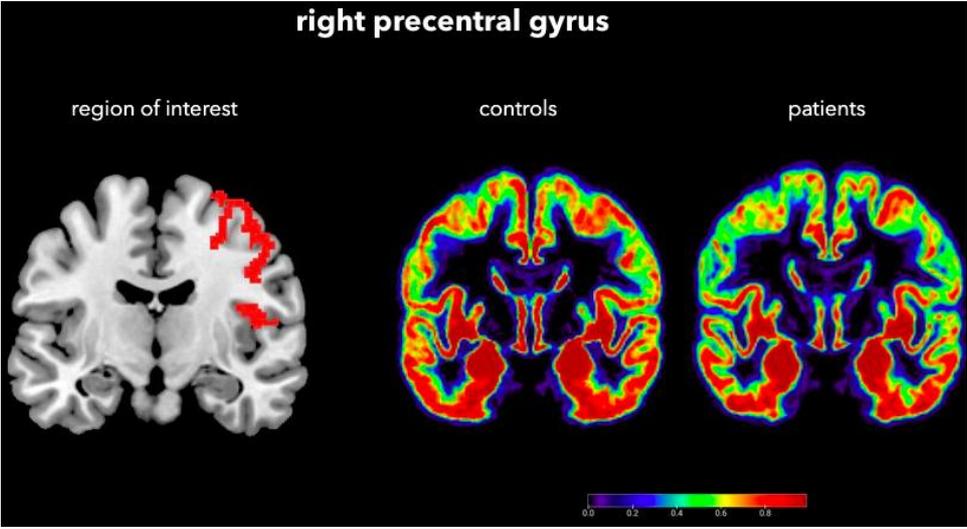
Di seguito, sono inserite le mappe *overlap* dei soggetti di controllo, a sinistra, e dei pazienti, a destra, al fine di visualizzare le differenze qualitative dei tessuti in specifiche regioni cerebrali: nella prima immagine, infatti, si può apprezzare una differenza all'interno dei lobi parietali e temporali; nella seconda sono cerchiati gli ippocampi bilaterali, i quali nel gruppo dei pazienti si presentano notevolmente più assottigliati; infine, nella terza immagine viene riportato un mosaico di fette cerebrali in taglio assiale, a partire dalla più profonda, in cui è possibile rilevare le strutture sottocorticali, sino ad arrivare alle fette superficiali che rappresentano per di più i lobi frontali e parietali.

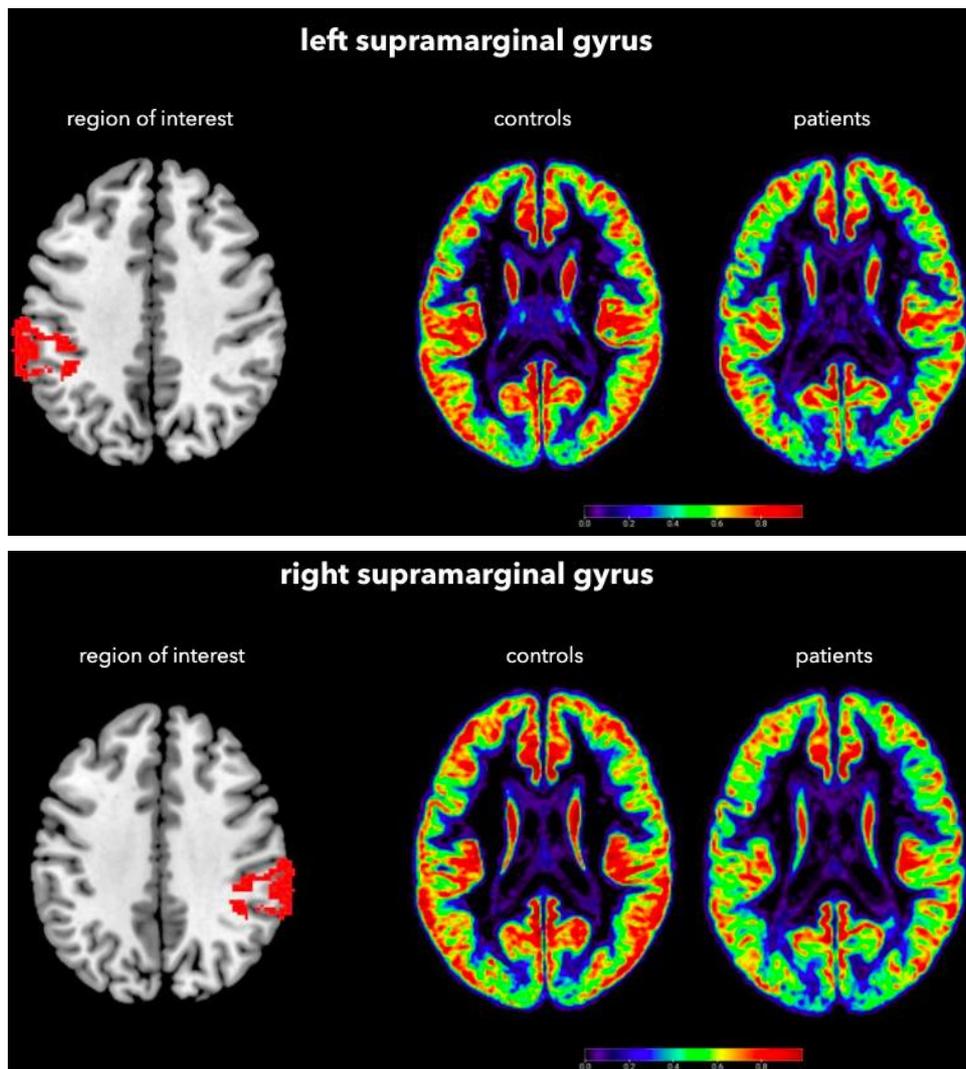




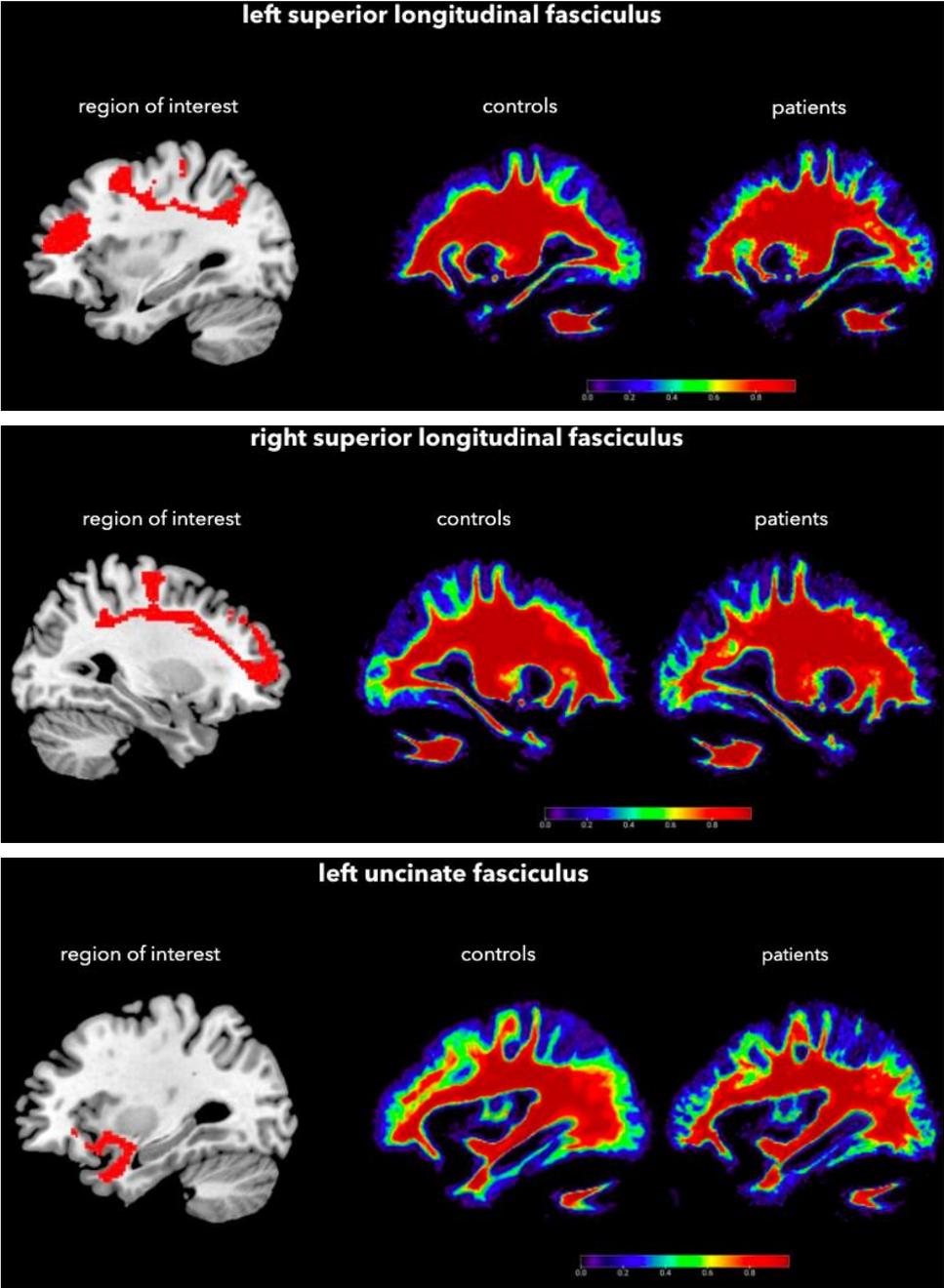
Successivamente, sono inserite maschere di aree cerebrali visualizzate con diversi tagli cerebrali, affiancate dalle mappe di *overlap* dei soggetti di controllo e dei pazienti. Nella parte alta di ogni immagine viene riportato il nome dell'area rappresentata.

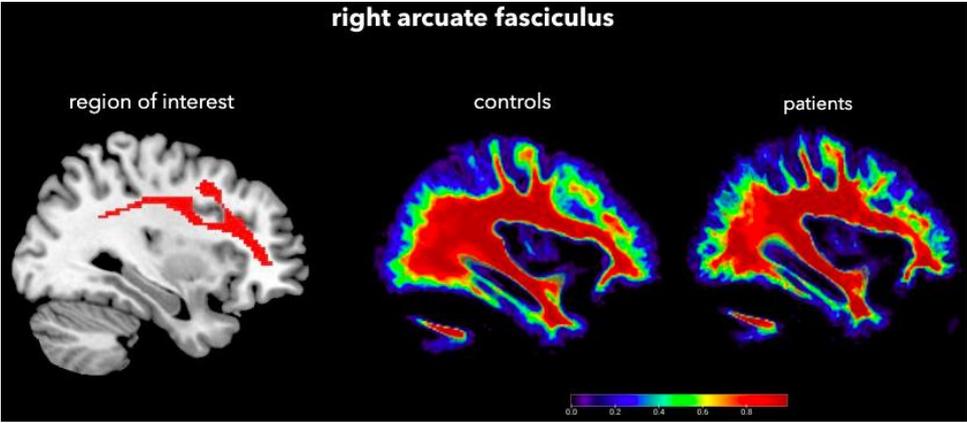
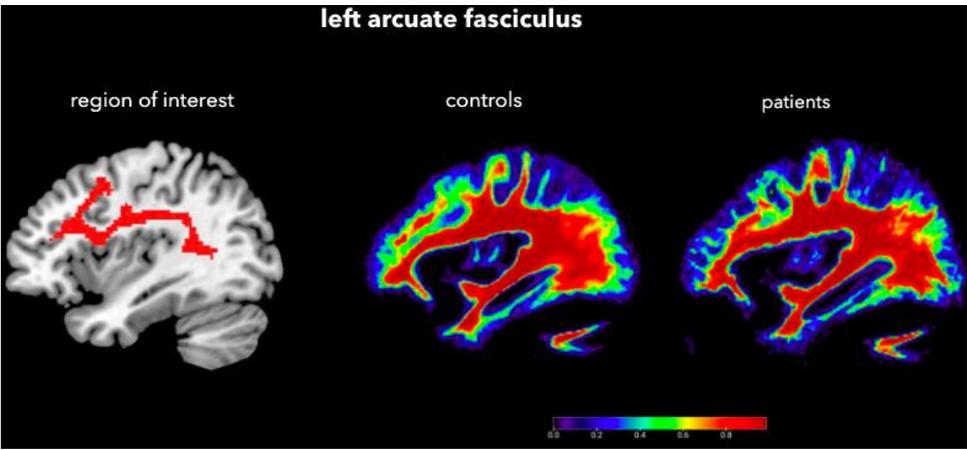
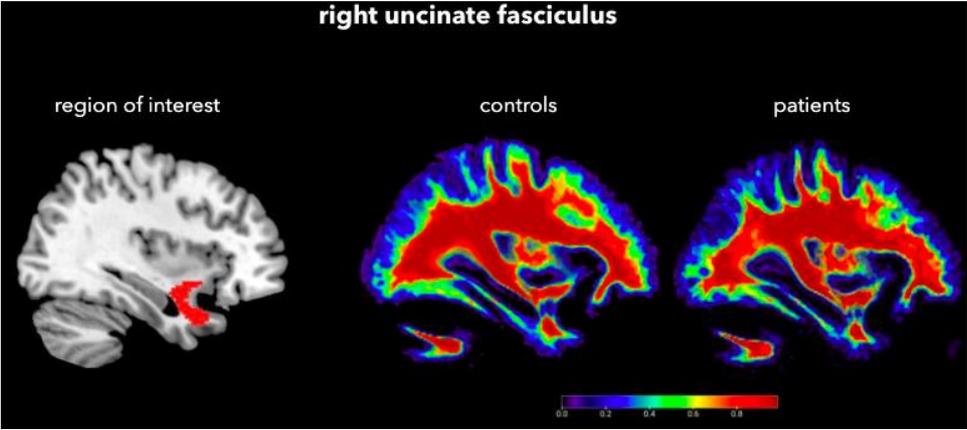


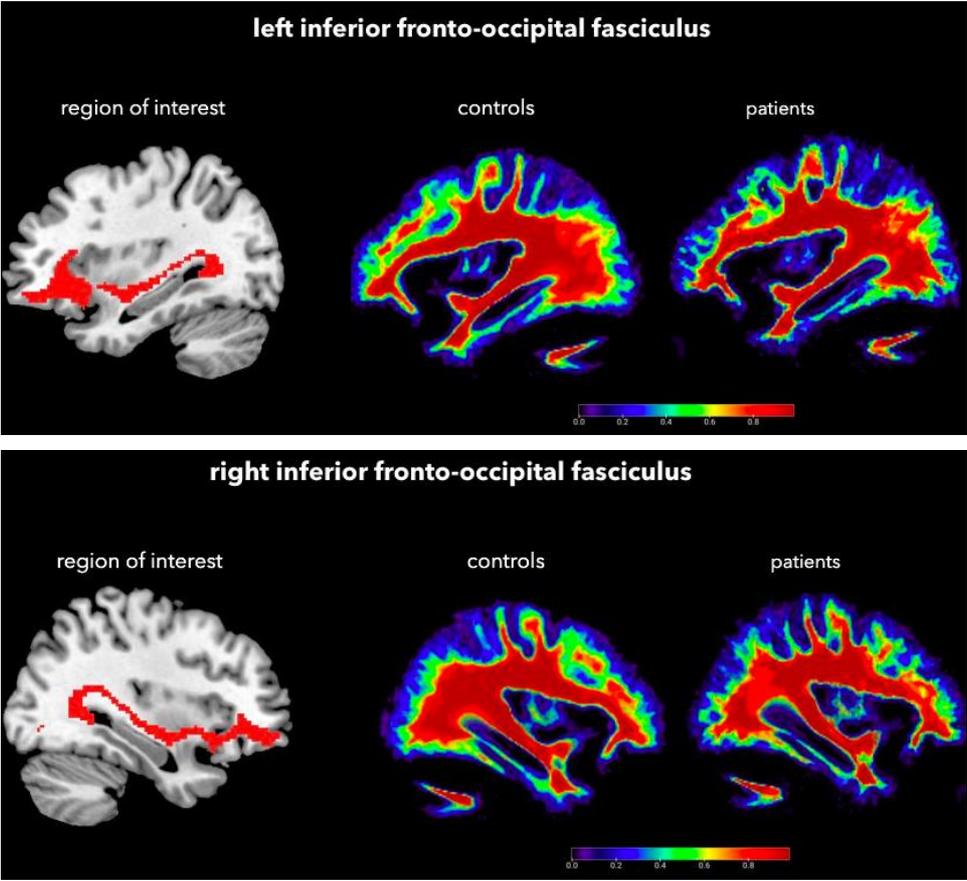




Infine, si riportano le maschere rappresentanti i fasci di sostanza bianca, affiancati nuovamente dalle mappe di *overlap* dei due gruppi sperimentali. Il nome di ciascuno è scritto nella parte alta di ogni immagine.







# Bibliografia

Albert, M. S., Dekosky, S. T., Dickson, D., Dubois, B., Feldman, H. H., Fox, N. C., Gamst, A., Holtzman, D. M., Jagust, W. J., Petersen, R. C., Snyder, P. J., Carrillo, M. C., Theis, B., & Phelps, C. H. (2011). The diagnosis of mild cognitive impairment due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimer's & dementia: the journal of the Alzheimer's Association*, 7(3), 270-279. <http://doi.org/10.1016/j.jalz.2011.03.008>

Alzheimer, A., Stelzmann, R. A., Schnitzlein, H. N., & Murtagh, F. R. (1995). An English translation of Alzheimer's 1907 paper, "Über eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde". *Clinical anatomy (New York, N.Y.)*, 8(6), 429–431. <https://doi.org/10.1002/ca.980080612>

Anderson, N., Murphy, K.J. & Troyer, A.K. (2012). *Living with Mild Cognitive Impairment*. OUP USA.

Apostolova, L. G., Dutton, R. A., Dinov, I. D., Hayashi, K. M., Toga, A. W., Cummings, J. L., & Thompson, P. M. (2006). Conversion of mild cognitive impairment to Alzheimer disease predicted by hippocampal atrophy maps. *Archives of neurology*, 63(5), 693–699. <https://doi.org/10.1001/archneur.63.5.693>

Atri A. (2019). The Alzheimer's Disease Clinical Spectrum: Diagnosis and Management. *The Medical clinics of North America*, 103(2), 263–293. <https://doi.org/10.1016/j.mcna.2018.10.009>

Bates, E., Wilson, S. M., Saygin, A. P., Dick, F., Sereno, M. I., Knight, R. T., & Dronkers, N. F. (2003). Voxel-based lesion-symptom mapping. *Nature neuroscience*, 6(5), 448–450. <https://doi.org/10.1038/nn1050>

Beber, B. C., Kochhann, R., da Silva, B. M., & Chaves, M. L. F. (2014). Logopenic aphasia or Alzheimer's disease: Different phases of the same disease?. *Dementia & neuropsychologia*, 8(3), 302–307. <https://doi.org/10.1590/S1980-57642014DN83000016>

Ben-David, B. M., Tewari, A., Shakuf, V., & Van Lieshout, P. H. (2014). Stroop effects in Alzheimer's disease: selective attention speed of processing, or color-naming? A meta-analysis. *Journal of Alzheimer's disease : JAD*, 38(4), 923–938. <https://doi.org/10.3233/JAD-131244>

Bergeron, D., Flynn, K., Verret, L., Poulin, S., Bouchard, R. W., Bocti, C., Fülöp, T., Lacombe, G., Gauthier, S., Nasreddine, Z., & Laforce, R. J. (2017). Multicenter Validation of an MMSE-MoCA Conversion Table. *Journal of the American Geriatrics Society*, 65(5), 1067–1072. <https://doi.org/10.1111/jgs.14779>

Bisio, A., Casteran, M., Ballay, Y., Manckoundia, P., Mourey, F., & Pozzo, T. (2016). Voluntary Imitation in Alzheimer's Disease Patients. *Frontiers in aging neuroscience*, 8, 48. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2016.00048>

Bisio, A., Casteran, M., Ballay, Y., Manckoundia, P., Mourey, F., & Pozzo, T. (2012). Motor resonance mechanisms are preserved in Alzheimer's disease patients. *Neuroscience*, 222, 58–68. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2012.07.017>

Blinkouskaya, Y., & Weickenmeier, J. (2021). Brain Shape Changes Associated With Cerebral Atrophy in Healthy Aging and Alzheimer's Disease. *Frontiers in Mechanical Engineering*, 7, 705653. <https://doi.org/10.3389/fmech.2021.705653>

Buccino, G., Lui, F., Canessa, N., Patteri, I., Lagravinese, G., Benuzzi, F., Porro, C. A., & Rizzolatti, G. (2004). Neural circuits involved in the recognition of actions performed by nonconspecifics: an fMRI study. *Journal of cognitive neuroscience*, 16(1), 114–126. <https://doi.org/10.1162/089892904322755601>

Busovaca, E., Zimmerman, M. E., Meier, I. B., Griffith, E. Y., Grieve, S. M., Korgaonkar, M. S., Williams, L. M., & Brickman, A. M. (2016). Is the Alzheimer's disease cortical thickness signature a biological marker for memory?. *Brain imaging and behavior*, 10(2), 517–523. <https://doi.org/10.1007/s11682-015-9413-5>

Caffarra, P., Gardini, S., Zonato, F., Concarì, L., Dieci, F., Copelli, S., Freedman, M., Stracciari, A., & Venneri, A. (2011). Italian norms for the Freedman version of the Clock Drawing

Test. *Journal of clinical and experimental neuropsychology*, 33(9), 982–988.  
<https://doi.org/10.1080/13803395.2011.589373>

Caffarra, P., Vezzadini, G., Dieci, F., Zonato, F., & Venneri, A. (2002). Rey-Osterrieth complex figure: normative values in an Italian population sample. *Neurological sciences : official journal of the Italian Neurological Society and of the Italian Society of Clinical Neurophysiology*, 22(6), 443–447. <https://doi.org/10.1007/s100720200003>

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

Catricalà, E., Gobbi, E., Battista, P., Miozzo, A., Polito, C., Boschi, V., Esposito, V., Cuoco, S., Barone, P., Sorbi, S., Cappa, S. F., & Garrard, P. (2017). SAND: a Screening for Aphasia in NeuroDegeneration. Development and normative data. *Neurological sciences : official journal of the Italian Neurological Society and of the Italian Society of Clinical Neurophysiology*, 38(8), 1469–1483. <https://doi.org/10.1007/s10072-017-3001-y>

Cattaneo, L., & Rizzolatti, G. (2009). The mirror neuron system. *Archives of neurology*, 66(5), 557–560. <https://doi.org/10.1001/archneurol.2009.41>

Cattaneo, L., Fabbri-Destro, M., Boria, S., Pieraccini, C., Monti, A., Cossu, G., & Rizzolatti, G. (2007). Impairment of actions chains in autism and its possible role in intention understanding. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(45), 17825–17830. <https://doi.org/10.1073/pnas.0706273104>

Cerami, C., Della Rosa, P. A., Magnani, G., Santangelo, R., Marcone, A., Cappa, S. F., & Perani, D. (2014). Brain metabolic maps in Mild Cognitive Impairment predict heterogeneity of progression to dementia. *NeuroImage. Clinical*, 7, 187–194.  
<https://doi.org/10.1016/j.nicl.2014.12.004>

Errante, A., & Fogassi, L. (2020). Activation of cerebellum and basal ganglia during the observation and execution of manipulative actions. *Scientific reports*, *10*(1), 12008. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-68928-w>

de Flores, R., La Joie, R., & Chételat, G. (2015). Structural imaging of hippocampal subfields in healthy aging and Alzheimer's disease. *Neuroscience*, *309*, 29–50. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.08.033>

Esrael, S.M.A.M., Hamed, A.M.M., Khedr, E.M. *et al.* Application of diffusion tensor imaging in Alzheimer's disease: quantification of white matter microstructural changes. *Egypt J Radiol Nucl Med* **52**, 89 (2021). <https://doi.org/10.1186/s43055-021-00460-x>

Farina, E., Baglio, F., Pomati, S., D'Amico, A., Campini, I. C., Di Tella, S., Belloni, G., & Pozzo, T. (2017). The Mirror Neurons Network in Aging, Mild Cognitive Impairment, and Alzheimer Disease: A functional MRI Study. *Frontiers in aging neuroscience*, *9*, 371. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2017.00371>

Farina, E., Borgnis, F., & Pozzo, T. (2020). Mirror neurons and their relationship with neurodegenerative disorders. *Journal of neuroscience research*, *98*(6), 1070–1094. <https://doi.org/10.1002/jnr.24579>

Ferreira, D., Verhagen, C., Hernández-Cabrera, J. A., Cavallin, L., Guo, C. J., Ekman, U., Muehlboeck, J. S., Simmons, A., Barroso, J., Wahlund, L. O., & Westman, E. (2017). Distinct subtypes of Alzheimer's disease based on patterns of brain atrophy: longitudinal trajectories and clinical applications. *Scientific reports*, *7*, 46263. <https://doi.org/10.1038/srep46263>

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. [https://doi.org/10.1016/0022-3956\(75\)90026-6](https://doi.org/10.1016/0022-3956(75)90026-6)

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. [https://doi.org/10.1016/0022-3956\(75\)90026-6](https://doi.org/10.1016/0022-3956(75)90026-6)

Frasson, P., Ghiretti, R., Catricalà, E., Pomati, S., Marcone, A., Parisi, L., Rossini, P. M., Cappa, S. F., Mariani, C., Vanacore, N., & Clerici, F. (2011). Free and Cued Selective Reminding Test: an Italian normative study. *Neurological sciences : official journal of the Italian Neurological Society and of the Italian Society of Clinical Neurophysiology*, 32(6), 1057–1062. <https://doi.org/10.1007/s10072-011-0607-3>

Gainotti, G., Marra, C., & Villa, G. (2001). A double dissociation between accuracy and time of execution on attentional tasks in Alzheimer's disease and multi-infarct dementia. *Brain : a journal of neurology*, 124(Pt 4), 731–738. <https://doi.org/10.1093/brain/124.4.731>

Giannakopoulos, P., Duc, M., Gold, G., Hof, P. R., Michel, J. P., & Bouras, C. (1998). Pathologic correlates of apraxia in Alzheimer disease. *Archives of neurology*, 55(5), 689–695. <https://doi.org/10.1001/archneur.55.5.689>

Gupta, Y., Lee, K. H., Choi, K. Y., Lee, J. J., Kim, B. C., Kwon, G. R., National Research Center for Dementia, & Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (2019). Early diagnosis of Alzheimer's disease using combined features from voxel-based morphometry and cortical, subcortical, and hippocampus regions of MRI T1 brain images. *PloS one*, 14(10), e0222446. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0222446>

Ji, X., Wang, H., Zhu, M., He, Y., Zhang, H., Chen, X., Gao, W., Fu, Y., & Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (2021). Brainstem atrophy in the early stage of Alzheimer's disease: a voxel-based morphometry study. *Brain imaging and behavior*, 15(1), 49–59. <https://doi.org/10.1007/s11682-019-00231-3>

Klimova, B., Maresova, P., Valis, M., Hort, J., & Kuca, K. (2015). Alzheimer's disease and language impairments: social intervention and medical treatment. *Clinical interventions in aging*, 10, 1401–1407. <https://doi.org/10.2147/CIA.S89714>

Marra, C., Gainotti, G., Scaricamazza, E., Piccininni, C., Ferraccioli, M., & Quaranta, D. (2013). The Multiple Features Target Cancellation (MFTC): an attentional visual conjunction search

test. Normative values for the Italian population. *Neurological sciences : official journal of the Italian Neurological Society and of the Italian Society of Clinical Neurophysiology*, 34(2), 173–180. <https://doi.org/10.1007/s10072-012-0975-3>

McKhann, G. M., Knopman, D. S., Chertkow, H., Hyman, B. T., Jack, C. R., Jr, Kawas, C. H., Klunk, W. E., Koroshetz, W. J., Manly, J. J., Mayeux, R., Mohs, R. C., Morris, J. C., Rossor, M. N., Scheltens, P., Carrillo, M. C., Thies, B., Weintraub, S., & 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 : the journal of the Alzheimer's Association*, 7(3), 263–269. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2011.03.005>

Molinder, A., Ziegelitz, D., Maier, S. E., & Eckerström, C. (2021). Validity and reliability of the medial temporal lobe atrophy scale in a memory clinic population. *BMC neurology*, 21(1), 289. <https://doi.org/10.1186/s12883-021-02325-2>

Monaco, M., Costa, A., Caltagirone, C., & Carlesimo, G. A. (2013). Forward and backward span for verbal and visuo-spatial data: standardization and normative data from an Italian adult population. *Neurological sciences : official journal of the Italian Neurological Society and of the Italian Society of Clinical Neurophysiology*, 34(5), 749–754. <https://doi.org/10.1007/s10072-012-1130-x>

Moon, S. W., Lee, B., & Choi, Y. C. (2018). Changes in the Hippocampal Volume and Shape in Early-Onset Mild Cognitive Impairment. *Psychiatry investigation*, 15(5), 531–537. <https://doi.org/10.30773/pi.2018.02.12>

Morgen, K., Schneider, M., Frölich, L., Tost, H., Plichta, M. M., Kölsch, H., Rakebrandt, F., Rienhoff, O., Jessen, F., Peters, O., Jahn, H., Luckhaus, C., Hüll, M., Gertz, H. J., Schröder, J., Hampel, H., Teipel, S. J., Pantel, J., Heuser, I., Wiltfang, J., ... Meyer-Lindenberg, A. (2015). Apolipoprotein E-dependent load of white matter hyperintensities in Alzheimer's disease: a voxel-based lesion mapping study. *Alzheimer's research & therapy*, 7(1), 27. <https://doi.org/10.1186/s13195-015-0111-8>

Mueller, A., Bullich, S., Barret, O., Madonia, J., Berndt, M., Papin, C., Perrotin, A., Koglin, N., Kroth, H., Pfeifer, A., Tamagnan, G., Seibyl, J. P., Marek, K., De Santi, S., Dinkelborg, L. M., & Stephens, A. W. (2020). Tau PET imaging with <sup>18</sup>F-PI-2620 in Patients with Alzheimer Disease and Healthy Controls: A First-in-Humans Study. *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine*, 61(6), 911–919. <https://doi.org/10.2967/jnumed.119.236224>

Nasreddine, Z. S., Phillips, N. A., Bédirian, V., Charbonneau, S., Whitehead, V., Collin, I., Cummings, J. L., & Chertkow, H. (2005). The Montreal Cognitive Assessment, MoCA: a brief screening tool for mild cognitive impairment. *Journal of the American Geriatrics Society*, 53(4), 695–699. <https://doi.org/10.1111/j.1532-5415.2005.53221.x>

Palesi, F., De Rinaldis, A., Vitali, P., Castellazzi, G., Casiraghi, L., Germani, G., Bernini, S., Anzalone, N., Ramusino, M. C., Denaro, F. M., Sinforiani, E., Costa, A., Magenes, G., D'Angelo, E., Gandini Wheeler-Kingshott, C. A. M., & Micieli, G. (2018). Specific Patterns of White Matter Alterations Help Distinguishing Alzheimer's and Vascular Dementia. *Frontiers in neuroscience*, 12, 274. <https://doi.org/10.3389/fnins.2018.00274>

Petersen R. C. (2016). Mild Cognitive Impairment. *Continuum (Minneapolis, Minn.)*, 22(2 Dementia), 404–418. <https://doi.org/10.1212/CON.0000000000000313>

Pinel, J. P. J., & Barnes, S. J. (2018). *Psicobiologia*. Edra

Poirer, J. & Gauthier. S., (2014). Alzheimer Disease. The complete Introduction. Dundurn Press.

Smits, L. L., Flapper, M., Sistermans, N., Pijnenburg, Y. A., Scheltens, P., & van der Flier, W. M. (2014). Apraxia in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: validity and reliability of the Van Heugten test for apraxia. *Dementia and geriatric cognitive disorders*, 38(1-2), 55–64. <https://doi.org/10.1159/000358168>

Stern Y. (2012). Cognitive reserve in ageing and Alzheimer's disease. *The Lancet. Neurology*, 11(11), 1006–1012. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(12\)70191-6](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(12)70191-6)

Sutin, A. R., Stephan, Y., & Terracciano, A. (2019). Verbal fluency and risk of dementia. *International journal of geriatric psychiatry*, 34(6), 863–867. <https://doi.org/10.1002/gps.5081>

Sydykova, D., Stahl, R., Dietrich, O., Ewers, M., Reiser, M. F., Schoenberg, S. O., Möller, H. J., Hampel, H., & Teipel, S. J. (2007). Fiber connections between the cerebral cortex and the corpus callosum in Alzheimer's disease: a diffusion tensor imaging and voxel-based morphometry study. *Cerebral cortex (New York, N.Y. : 1991)*, 17(10), 2276–2282. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhl136>

Umiltà, M. A., Kohler, E., Gallese, V., Fogassi, L., Fadiga, L., Keysers, C., & Rizzolatti, G. (2001). I know what you are doing. a neurophysiological study. *Neuron*, 31(1), 155–165. [https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(01\)00337-3](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(01)00337-3)

Whitwell, J. L., Dickson, D. W., Murray, M. E., Weigand, S. D., Tosakulwong, N., Senjem, M. L., Knopman, D. S., Boeve, B. F., Parisi, J. E., Petersen, R. C., Jack, C. R., Jr, & Josephs, K. A. (2012). Neuroimaging correlates of pathologically defined subtypes of Alzheimer's disease: a case-control study. *The Lancet. Neurology*, 11(10), 868–877. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(12\)70200-4](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(12)70200-4)

Yeung, P. Y., Wong, L. L. L., Chan, C. C., Yung, C. Y., Leung, L. M. J., Tam, Y. Y., Tang, L. N., Li, H. S., & Lau, M. L. (2020). Montreal Cognitive Assessment - Single Cutoff Achieves Screening Purpose. *Neuropsychiatric disease and treatment*, 16, 2681–2687. <https://doi.org/10.2147/NDT.S269243>

Yun, J. Y., Lee, D. Y., Seo, E. H., Choo, I. H., Park, S. Y., Kim, S. G., & Woo, J. I. (2011). Neural Correlates of Stroop Performance in Alzheimer's Disease: A FDG-PET Study. *Dementia and geriatric cognitive disorders extra*, 1(1), 190–201. <https://doi.org/10.1159/000329517>

Zhang, X., Sun, Y., Li, W., Liu, B., Wu, W., Zhao, H., Liu, R., Zhang, Y., Yin, Z., Yu, T., Qing, Z., Zhu, B., Xu, Y., Nedelska, Z., Hort, J., Zhang, B., & Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (2019). Characterization of white matter changes along fibers by automated fiber

quantification in the early stages of Alzheimer's disease. *NeuroImage. Clinical*, 22, 101723.  
<https://doi.org/10.1016/j.nicl.2019.10172>