



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

**SCUOLA DI DOTTORATO DI RICERCA IN SCIENZE BIOMEDICHE**

*Direttore della Scuola: Prof.ssa Franca Deriu*

**INDIRIZZO IN NEUROSCIENZE**

*Responsabile di Indirizzo: Prof.ssa Maria Speranza Desole*

**XXVI CICLO**

**CONTRIBUTO DEI POTENZIALI EVENTO-CORRELATI  
(ERPs) E DELLA SCINTIGRAFIA CEREBRALE DI  
PERFUSIONE (SPECT) 99mTc-HMPAO NELLA  
DIAGNOSI CLINICA E NEUROPSICOLOGICA DI  
PAZIENTI CON MILD COGNITIVE IMPAIRMENT (MCI)**

***Direttore:***

Prof.ssa Franca Deriu

***Tutor:***

Dott.ssa Maria Rita Piras

***Tesi di dottorato di:***

Dott.ssa Giovanna Sanna

**Anno Accademico 2012 - 2013**

*Alla mia famiglia*

## INDICE

1	MILD COGNITIVE IMPAIRMENT	2
	1.1 Criteri diagnostici	2
	1.2 Inquadramento clinico e sottotipi di malattia	7
	1.3 Epidemiologia	10
2	MCI E SISTEMI DI MEMORIA	12
3	POTENZIALI EVENTO-CORRELATI (ERPs)	22
	3.1 P300	23
	3.2 N400	25
4	SCINTIGRAFIA CEREBRALE (SPECT)	28
5	OBBIETTIVI DELLO STUDIO	33
6	PAZIENTI E METODI	35
	6.1 Pazienti	35
	6.2 Valutazione neuropsicologica	36
	6.3 Studio elettrofisiologico	42
	6.4 Studio scintigrafico	46
	6.5 Analisi statistica	50
7	RISULTATI	52
	7.1 Dati clinico-anamnestici	52
	7.2 Valutazione neuropsicologica	53
	7.3 ERPs	55
	7.4 SPECT	64
	7.5 Analisi statistica	73
8	DISCUSSIONE E CONCLUSIONI	77
9	BIBLIOGRAFIA	85

## 1. MILD COGNITIVE IMPAIRMENT

Il Mild Cognitive Impairment (MCI) è stato descritto come una entità clinica che rappresenta una fase di transizione fra un normale invecchiamento cognitivo e la demenza. Indica una popolazione di soggetti che non sono compromessi nello svolgimento delle attività della vita quotidiana ma che hanno un deficit cognitivo subclinico e isolato e sono potenzialmente a rischio di sviluppare la Malattia di Alzheimer (AD) (Petersen RC et al. 1999, 2001). L'ipotesi è che i soggetti che hanno sviluppato demenza hanno attraversato, in precedenza, una fase di compromissione cognitiva lieve caratterizzata dall'interessamento di una singola area cognitiva, molto probabilmente la memoria. (Petersen RC 1995, Serra L e Caltagirone C 2008). Le caratteristiche del deficit di memoria riscontrato in questa categoria di pazienti sono infatti più simili a quelle riscontrate nei pazienti affetti da AD che non negli anziani normali, mentre il funzionamento cognitivo generale è più vicino a quello dei controlli (Petersen RC 2000).

### 1.1 Criteri diagnostici

Nel 1999 Petersen ha proposto dei criteri operativi per effettuare una diagnosi di MCI che prevedevano la presenza di: 1) deficit di memoria; 2) normale autonomia nelle attività della vita quotidiana; 3) funzionamento cognitivo generale normale; 4) alterazioni della memoria non normali per età; 5) assenza di demenza (Petersen RC et al. 1999; 1995).

La definizione di demenza era stata pubblicata nel 1980 dalla American Psychiatric Association (1980) e nel 1984 dal National Institute of Neurological and Communicative Disorder and Stroke/the Alzheimer's Disease and Related Disorders Association

(NINCDS/ADRDA) (McKhann G et al. 1984). La American Psychiatric Association's indicava come demenze degenerative primarie i casi in cui c'era chiara evidenza di progressivo e significativo deterioramento intellettuale e sociale o nelle attività occupazionali (1980).

La definizione di McKhann G et al. (1984) diceva che la diagnosi di Malattia di Alzheimer (AD) probabile doveva includere deficit in due o più aree cognitive, con progressivo peggioramento della memoria e di altre funzioni cognitive e che doveva essere supportata da un deficit nello svolgimento delle attività della via quotidiana.

La eterogeneità dei sintomi d'esordio nei vari pazienti con MCI, hanno condotto Petersen RC et al. (2001) a proporre una estensione del concetto e nel 2004 una nuova classificazione basata sul fenotipo clinico associata a differenti categorie di progressione che divideva i pazienti MCI in singolo dominio o multidominio (se era interessata uno o più funzioni cognitive) e amnestico o non-amnestico (a seconda che la memoria fosse oppure no interessata) (Fig. 1) (Portet F et al. 2006; Petersen RC et al. 2004).

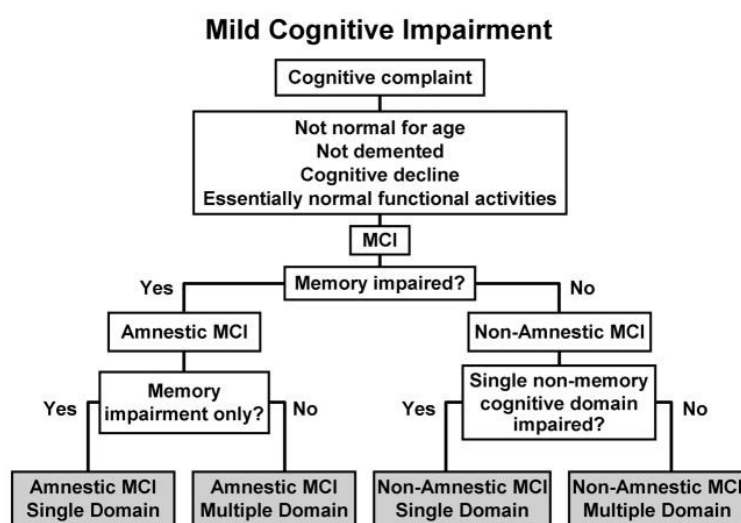


Fig. 1 Flowchart per la diagnosi di MCI e dei suoi sottotipi (Petersen RC 2004)

Giovanna Sanna

Contributo dei potenziali evento-correlati (ERPs) e della scintigrafia cerebrale di perfusione (SPECT) 99mTc-HMPAO nella diagnosi clinica e neuropsicologica di pazienti con Mild Cognitive Impairment (MCI)

Tesi di dottorato in Neuroscienze - Università Degli Studi di Sassari

Nel 2003 i criteri diagnostici proposti da Petersen sono stati revisionati da un gruppo multidisciplinare internazionale di esperti che ha discusso l'evoluzione del concetto di MCI con particolare attenzione alla presentazione clinica, all'assessment neuropsicologico e funzionale e al ruolo delle neuroimmagini, dei biomarkers e della genetica. Questo gruppo di lavoro internazionale, ha formulato specifiche raccomandazioni sui criteri generali di MCI includendo che: 1. l'individuo non doveva essere né normale né demente; 2. doveva essere presente un evidente deterioramento cognitivo, documentato in modo oggettivo nel tempo e/o un disturbo soggettivo di declino riportato dallo stesso soggetto e/o confermato da un familiare; 3. le attività della vita quotidiana dovevano essere preservate e le funzioni strumentali complesse dovevano essere intatte o minimamente deficitarie. Questi criteri servivano ad espandere il concetto di MCI coinvolgendo altri domini cognitivi oltre la memoria che potevano rappresentare i prodromi di altre forme di demenza (Winblad B et al. 2004).

Nel 2011 una task force portata avanti da U.S. National Institute on Aging (NIA) e da Alzheimer's Association (AA), ha proposto una revisione dei criteri diagnostici di MCI e della classificazione che richiede una oggettiva evidenza di deficit in uno o più domini cognitivi e performances inferiori a 1,5 deviazioni standard (DS) rispetto alla media per età e scolarità rispetto ai soggetti sani (Albert MS et al.2011). Nonostante i criteri diagnostici per MCI siano simili ai precedenti, (così come le caratteristiche fondamentali), questa revisione ha posto maggiore enfasi sul meccanismo eziologico probabile che determina il deficit cognitivo, focalizzando l'attenzione sulle fasi precoci della diagnosi di AD rispetto alle altre forme di demenza. La recente revisione dei criteri diagnostici prevede il supporto di biomarkers, metodi di

neuroimaging e l'analisi liquorale e conduce a quattro livelli di certezza (Tab. 1) (Karakaya T et al. 2013; Albert MS et al. 2011).

Diagnostic Category	Biomarker Probability of AD Etiology	A $\beta$ (PET or CSF)	Neuronal Injury (tau, FDG, sMRI)
MCI - criteria	ambiguous	conflicting, indeterminant or untested	conflicting, indeterminant or untested
MCI due to AD - intermediate likelihood	Intermediate	positive	untested
		untested	positive
MCI due to AD - high likelihood	High	positive	positive
MCI due to AD - unlikely	Low	negative	negative

AD: Alzheimer's disease; A $\beta$ : amyloid beta peptide; PET: positron emission tomography; CSF: cerebrospinal fluid; FDG: fluorodeoxyglucose; sMRI: structural magnetic resonance imaging.

Tab. 1 Revisione dei criteri diagnostici per MCI dovuto ad AD (Karakaya T 2013)

È stato inoltre introdotta un'altra entità clinica, il “disturbo cognitivo soggettivo”, che si riferisce a quei pazienti che lamentano deficit mnesici senza alterazioni significative ai test neuropsicologici. È una sindrome eterogenea sulla quale non esiste consenso, anche se si ipotizza che alcuni di questi pazienti potrebbero presentare uno stadio molto precoce di malattia. L'identificazione di un gruppo di individui in stadio preclinico permetterebbe l'introduzione di nuove strategie terapeutiche che consentirebbero di anticipare anche solo di un anno l'inizio della terapia; questo porterebbe a una riduzione nella prevalenza mondiale di 9 milioni negli ultimi 40 anni (Garcia-Ptacek S et al. 2013, Dubois B et al. 2010). Tuttavia alcuni autori si domandano se i soggetti che riferiscono tale disturbo siano persone che andranno incontro a deterioramento cognitivo o se siano solo disturbi influenzati dagli stati depressivi, fattori di personalità, ansia, deficit di attenzione (Garcia-Ptacek S et al. 2013, Lenihan ME et al. 2012): gli studi sulla relazione fra deficit soggettivo e funzionamento cognitivo sono contraddittori (Reisberg B et al. 2008; Gagnon M et al. 1994; O'Connor DW et al. 1990) e la depressione rappresenta un fattore di confondimento (Jonker C et

Giovanna Sanna

Contributo dei potenziali evento-correlati (ERPs) e della scintigrafia cerebrale di perfusione (SPECT) 99mTc-HMPAO nella diagnosi clinica e neuropsicologica di pazienti con Mild Cognitive Impairment (MCI)

Tesi di dottorato in Neuroscienze - Università Degli Studi di Sassari

al. 2000; Jorm AF et al. 2001; Paradise MB et al.2011; O'Connor DW et al. 1990). Le contraddizioni originano anche dal fatto che esistono differenze metodologiche e un follow-up insufficiente: Jorm AF et al. (2001) non hanno riscontrato nel loro studio una relazione fra deficit soggettivi e rendimento cognitivo basale al MMSE, ma i segni di deterioramento cognitivo sono comparsi successivamente. Anche Tobianski R et al. (1995), Geerling MI et al. (1999) e Amariglio RE et al. (2011) hanno confermato nei loro studi questi dati.

Nella quinta edizione del Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-5) del 2012 è stato introdotto il concetto di "Mild Neurocognitive Disorder" che offre una opportunità per la diagnosi precoce e il trattamento del declino cognitivo prima che il deficit del paziente progredisca verso la forma maggiore di demenza o altre condizioni disabilitanti. Il Mild Neurocognitive Disorders va oltre i normali problemi dell'invecchiamento. Descrive un livello di declino cognitivo che richiede l'utilizzo di strategie compensatorie da parte del paziente che possano consentirgli di mantenere l'indipendenza e di svolgere le normali attività nella vita quotidiana. Per poter effettuare una diagnosi di Mild Neurocognitive Disorders, devono essere presenti cambiamenti che influenzano la funzione cognitiva. Questi sintomi sono usualmente osservati dall'individuo, un parente o care-giver, come un amico, un collega, un medico o sono individuati attraverso test obbiettivi.

È fondamentale diagnosticare gli individui con deficit cognitivi fin dagli stadi iniziali: l'identificazione precoce del Mild Neurocognitive Disorder potrebbe permettere dei trattamenti più efficaci che non hanno invece molta indicazione nelle fasi più severe di malattia e potrebbe impedire una lenta progressione.



## 1.2 Inquadramento clinico e sottotipi di malattia

Un ampio range di funzioni cognitive sembrano essere compromesse in persone che successivamente potrebbero evolvere verso una demenza rispetto a persone asintomatiche e comprendono memoria, linguaggio, attenzione, funzioni visuospatiali, abilità percettive e esecutive.

È stato ipotizzato che sottotipi specifici di MCI potrebbero essere associati con diversi outcomes (Fig. 2).

MCI amnestico (aMCI) potrebbe essere associato a maggiore rischio di progressione verso AD considerando il deficit della memoria episodica come sintomo clinico prodromico di AD.

MCI multidominio amnestico (mMCI-a) potrebbe essere associato a maggiore rischio di progressione verso AD, demenza vascolare (VD), o demenza a corpi di Lewy (LBD) (Forlenza OV et al. 2013, Portet F et al. 2006). MCI multidominio non-amnestico (mMCI-na), che esordisce con interessamento di uno o più funzioni cognitive diverse dalla memoria, sembra associato ad un alto rischio di progressione a demenza frontotemporale (FTD), afasia progressiva primaria (AAP) o altri disturbi non dementigeni come la depressione (Fig. 2) (Petersen RC 2003, 2004).

Dal punto di vista cognitivo, fattori predittivi di progressione da MCI a AD (Gauthier S et al. 2006, Flicker C et al. 1991; Chen P et al. 2000; Ritchie K et al. 2001) comprendono alterazioni più marcate nei test psicometrici relativi alla memoria episodica (Roberts JL et al. 2009; Grober E et al. 2008; Guarch J et al. 2008; Perri R et al. 2007), alla memoria visiva (Guarch J et al. 2008), alle funzioni esecutive e all'intelligenza verbale (Grober E et al. 2008).

**MCI Subtypes**

		Etiology			
		Degen- erative	Vascular	Psychiatric	Medical conditions
Clinical classification	Amnesic MCI	Single domain	AD		Depr
		Multiple domain	AD	VaD	Depr
	Non- amnesic MCI	Single domain	FTD		
		Multiple domain	DLB	VaD	

Fig. 2 Possibili outcome dei sottotipi di MCI quando associati alla presunta patogenesi (Petersen RC, 2003)

Vari studi hanno dimostrato che i pazienti affetti da mMCI hanno una probabilità significativamente maggiore di sviluppare demenza rispetto ai pazienti che presentano un aMCI (Alexopoulos P et al. 2006).

Anche le alterazioni funzionali svolgono un ruolo fondamentale nella diagnosi di MCI.

Il MCI è infatti una condizione geneticamente complessa e, al momento, la maggior parte dei geni interessati non sono noti. Si suppone che molti fattori, sia genetici che ambientali, siano coinvolti nella patogenesi della malattia.

Tra i markers biologici la proteina tau totale, pospho-tau e Abeta42 potrebbero essere d'aiuto nel differenziare un AD in fase precoce da un normale invecchiamento o da varie forme di demenza; nel 2006 Hansson O et al. sottolineavano la presenza, in pazienti MCI con profilo AD, di basse concentrazioni liquorali di A $\beta$  e aumento di valori di tau totale e fosforilata.

Altre proteine in corso di studio come la presenilina 1 (PSEN1) e 2 (PSEN2), PRNP possono essere utili nel determinare l'eziologia del deficit cognitivo nei pazienti giovani dove c'è una storia familiare di AD o altre malattie neurodegenerative.

Già nel 1996 Petersen RC et al. hanno dimostrato come la presenza in forma omozigote del gene che codifica ApoE4 costituisca il migliore predittore di conversione in AD di pazienti con MCI. Un altro studio ha dimostrato come la presenza di ApoE4 in MCI sia un predittore attendibile di AD se associato a deficit di memoria (Tierney MC et al. 1996), soprattutto nelle forme familiari ad esordio tardivo (Corder EH et al. 1993).

Le neuroimmagini potrebbero esser utilizzate per due scopi. Nel primo caso, consentono di identificare specifiche cause di declino cognitivo (ematomi subdurali, tumori cerebrali, idrocefalo normoteso) e permettono di effettuare una diagnosi differenziale. In secondo luogo, potrebbero essere utilizzate per valutare la probabile conversione in demenza e la misura della progressione della malattia neurodegenerativa (Winblad B et al. 2004).

La risonanza magnetica (MRI) quantitativa è stata forse la metodica più frequentemente utilizzata per lo studio dei pazienti con MCI. La MRI è un marker di progressione della malattia da MCI a AD così come la misurazione volumetrica del volume della formazione ippocampale, della corteccia entorinale, dell'intero cervello e del volume dei ventricoli (Winblad B et al. 2004).

Ci sono evidenze che anche deficit nel flusso ematico regionale come misurato dalla SPECT e del metabolismo del glucosio come misurato da FDG PET, potrebbero predire una futura conversione dei pazienti con MCI verso AD (Winblad B et al. 2004, Jagust WJ et al. 2009). La PET FDG è una metodica di immagine funzionale meno frequentemente utilizzata a causa dei costi molto

elevati. Studi effettuati su pazienti con MCI hanno mostrato un pattern tipico di AD con ipometabolismo nelle regioni temporoparietali. Queste modalità d'immagine potrebbero riflettere la perdita di integrità sinaptica e fornire una informazione dinamica della progressione.

Di recente introduzione è l'uso di immagini molecolari dell'amiloide (Petersen RC et al. 2009, Klunk WE et al. 2004): il PIB.

Quindi nella analisi finale, il miglior modello predittivo sarà rappresentato dalla combinazione fra neuroimmagini e misure dei biomarker liquorali.

### **1.3 Epidemiologia**

La mancanza di precisi criteri metodologici nella identificazione di soggetti con MCI influisce sulla stima dell'incidenza della patologia.

Gli autori hanno mostrato che la classificazione degli individui come cognitivamente normali o alterati è altamente dipendente dalla scelta dei criteri di inclusione: quindi l'eterogeneità dell'approccio metodologico potrebbe essere alla base della larga variabilità nella prevalenza stimata, così come la definizione di declino cognitivo e il criterio diagnostico impiegato, l'età media, la scolarità, le caratteristiche demografiche, la sensibilità della batteria neuropsicologica utilizzata per valutare il deficit cognitivo, le procedure di reclutamento dei pazienti, la presenza di comorbidità psichiatriche come ansia, depressione, apatia, turbe del sonno (Gauthier S et al. 2006).

Studi di prevalenza sui disturbi di memoria nella popolazione variano dal 22 al 56% (Serra L e Caltagirone C 2008; De Carli C

2003). Come nella demenza, il tasso di prevalenza dipende fortemente dal range di età sottoposta allo studio, aumentando dal 3% in individui con 60 anni a oltre il 15% in quelli con 75 anni o oltre (Forlenza OV et al. 2013) e mostra variazioni considerevoli dal 3% al 53% (Folenzia OV et al. 2013; Ravaglia G et al. 2008, Kumar R et al. 2005, Ganguli M et al. 2004). I criteri adottati da Petersen (Petersen RC et al. 1997, 1999) sono i più restrittivi e generalmente producono una prevalenza del 3% nella popolazione studiata, che è quella con più alto tasso di conversione (Serra L e Caltagirone C 2008, Petersen RC et al. 2001).

Numerosi studi longitudinali hanno infatti dimostrato che i pazienti affetti da MCI presentano un aumentato rischio di conversione verso AD (Serra L e Caltagirone C 2008, Perri R et al. 2001). La stima del tasso di conversione in demenza varia moltissimo: si passa dal 10-15% all'anno (Petersen R et al. 1999, 2001, Tierney MC et al. 1996, Forlenza OV et al. 2013) fino al 20-25% in due-tre anni (Amieva H et al. 2004) a seconda dei criteri clinici e delle valutazioni più o meno accurate utilizzate per la selezione dei pazienti (Ritchie K e Touchon J 2000, Arnaiz E et al. 2004).

Tuttavia non tutti i pazienti affetti da MCI convertono in demenza; alcuni studi indicano infatti che circa il 60% di questi pazienti rimane cognitivamente stabile in un arco temporale di 2-3 anni (Tierney MC et al. 1996; Johnson KA et al. 1998, De Jager C e Budge MM 2005).

In una review sistematica, l'incidenza di tutti i sottotipi di MCI varia dal 51 al 76.8% ogni 1000 abitanti per anno. L'incidenza del sottotipo aMCI varia dal 9,9 al 40,6% ogni 1000 ab/aa; il sottotipo non amnestico dal 28 al 36,3% ogni 1000 ab/aa (Forlenza OV et al. 2013).

Gli autori concordano sul fatto che l'aumentare dell'età, la bassa scolarità, la riserva cognitiva e cerebrale e l'ipertensione sono dei fattori di rischio importanti per l'incidenza di MCI.

## 2. MCI e SISTEMI DI MEMORIA

La memoria umana viene concepita con una architettura funzionale estremamente complessa e articolata in componenti deputate alla elaborazione di diversi compiti cognitivi.

Già nel 1949 Hebb DO aveva proposto la distinzione fra un sistema di memoria a breve termine (STM) che era basato su una temporanea attivazione elettrica e un sistema di una memoria a lungo termine (LTM) basato sulla crescita neuronale. Negli anni '60, hanno cominciato a svilupparsi nuovi modelli riguardanti i concetti di STM e LTM.

Tulving (Tulving E 1972) ha individuato almeno cinque categorie di sistemi di memoria umani riportati nella tabella 1.

*Major categories of human learning and memory*

System	Other terms	Subsystems	Retrieval
Procedural	Nondeclarative	Motor skills Cognitive skills Simple conditioning Simple associative learning	Implicit
PRS	Priming	Structural description Visual word form Auditory word form	Implicit
Semantic	Generic Factual Knowledge	Spatial Relational	Implicit
Primary	Working Short-term	Visual Auditory	Explicit
Episodic	Personal Autobiographical Event memory		Explicit

Tab. 1 Maggiori categorie di sistemi di memoria umani (Tulving E 1972)

I sistemi MLT devono essere distinti in diverse componenti che Squire e Stuart (1996) rivedono alla luce di studi condotti su pazienti amnesici e su modelli animali (Fig. 1).

Nell'ambito della MLT si distingue una memoria dichiarativa (esplicita) e una non-dichiarativa (implicita) la cui elaborazione è supportata da specifiche strutture cerebrali.

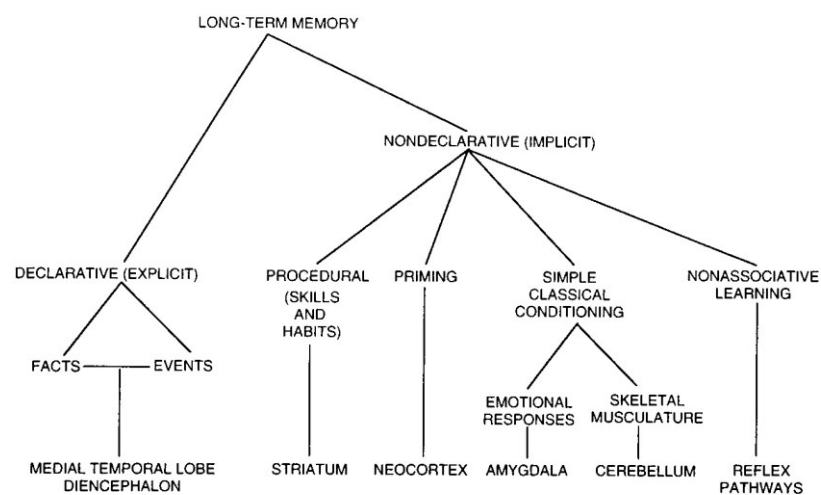


Fig. 1 Grafico dei sistemi di memoria a lungo termine e delle strutture cerebrali coinvolte in ciascun sistema (Squire LR e Zola M, 1996)

Nell'ambito della memoria dichiarativa, una distinzione fondamentale è quella che viene fatta fra memoria episodica e memoria semantica anch'esse elaborate da differenti substrati neuroanatomici (Fig. 2).



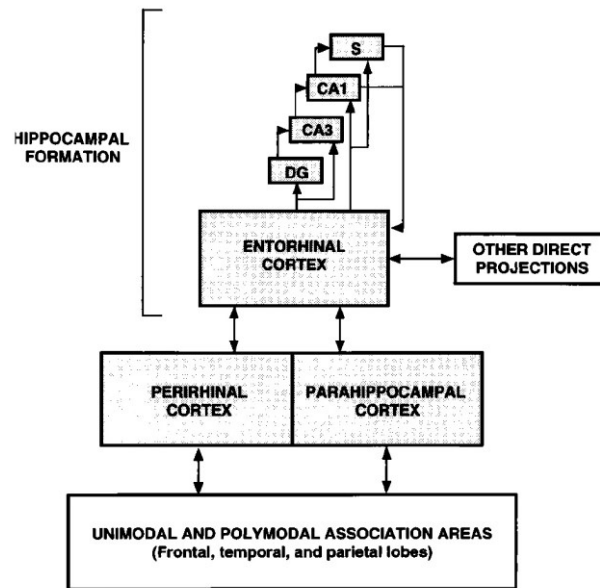


Fig. 2 Vista schematica del sistema di memoria del lobo temporale mediale. La corteccia entorinale è la maggiore sorgente di proiezioni della regione ippocampale (la quale include il giro dentato, le cellule dell'ippocampo, il subicolo). Circa i due-terzi degli input della corteccia entorinale originano dalle adiacenti cortecce peririnale e paraippocampale, che a loro volta ricevono proiezioni dalle aree unimodali e polimodali nei lobi frontale, parietale e temporale. La corteccia entorinale riceve anche altri input dalla corteccia orbitale frontale, insula e dal giro temporale superiore. Tutte queste proiezioni sono reciproche (Squire LR e Stuart M, 1996)

Si ritiene che il lobo temporale mediale abbia un ruolo fondamentale nella elaborazione della memoria dichiarativa a lungo termine e che moduli il consolidamento delle informazioni nella neocorteccia, collegando insieme differenti regioni corticali e consentendo la memorizzazione di un evento nella sua globalità.

Il lobo temporale mediale sembra particolarmente implicato nella memoria dichiarativa di tipo episodico che codifica materiale di tipo personale ed autobiografico ed eventi. Il dominio della memoria semantica riguarda invece informazioni immagazzinate sugli aspetti e attributi che definiscono concetti, processi che conducono a recuperare efficientemente, agire e produrre informazioni al servizio del pensiero e del linguaggio; può essere definita come conoscenza generale del mondo o conoscenza

Giovanna Sanna

Contributo dei potenziali evento-correlati (ERPs) e della scintigrafia cerebrale di perfusione (SPECT) 99mTc-HMPAO nella diagnosi clinica e neuropsicologica di pazienti con Mild Cognitive Impairment (MCI)

Tesi di dottorato in Neuroscienze - Università Degli Studi di Sassari

concettuale corrisponde alla conoscenza generale degli oggetti, significato delle parole, fatti e persone senza collegamento con un particolare tempo o luogo (Patterson K et al. 2007).

I dati della letteratura derivanti da studi condotti su pazienti con lesione cerebrale e accurate indagini di neuroimaging funzionale, documentano il coinvolgimento di ampie aree cerebrali della corteccia prefrontale sinistra, cortecce parietali e temporali posteriori della parte ventrale e laterale.

Le neuroscienze cognitive hanno consentito di sviluppare notevoli conoscenze nella comprensione dei substrati neurali della memoria semantica. Se tradizionalmente i lobi temporali mediali rivestivano un ruolo nella codifica, immagazzinamento e recupero di informazioni dalle MLT, è oramai evidente il ruolo che le cortecce prefrontali rivestono con i processi di selezione, elaborazione, monitoraggio e inibizione delle informazioni (Martin A e Chao LL, 2001). In particolare, sembrerebbe che la regione prefrontale anteriore ed inferiore (BA47 e BA45) possa essere selettivamente coinvolta nei processi di elaborazione semantica: alcuni autori (Gabrielli JDE et al. 1998, 1999; Wagner AD 1999; Poldrack RA et al. 1999) ritengono che questa regione possa rappresentare un sistema di memoria lavoro semantica (“semantic working memory”) (Fig. 3-4).

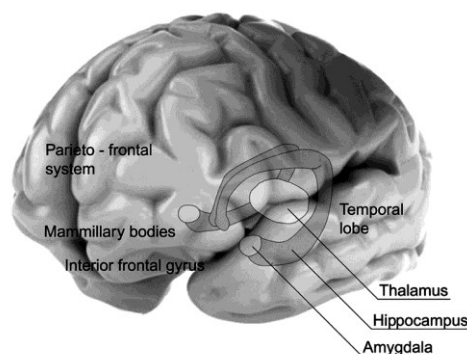


Fig. 3 Localizzazione anatomica degli elementi del sistema di WM (Brodziak et al. 2013)

Da questi studi di neuroimaging funzionale (Gabrielli JDE et al. 1998) emerge il ruolo della corteccia prefrontale inferiore sx (LIPC) la cui attività si incrementa durante prove di natura semantica.

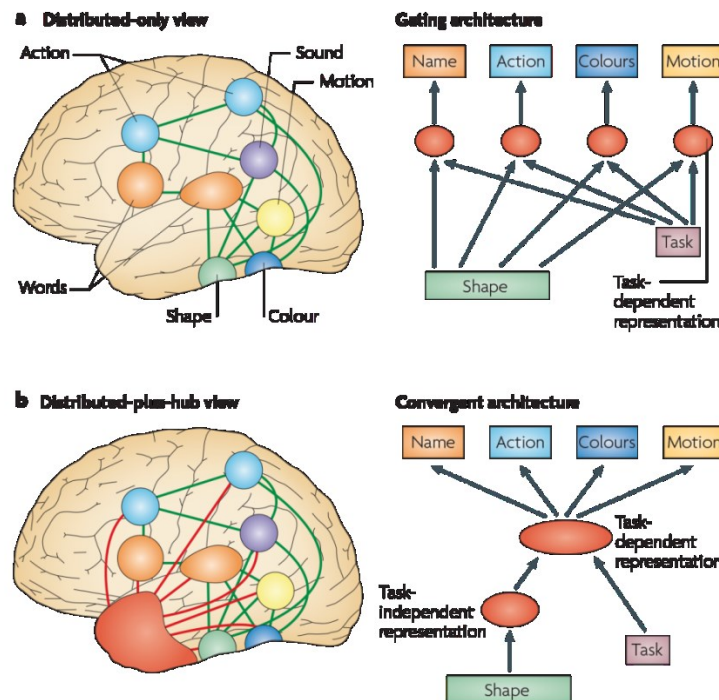


Fig. 4 Due rappresentazioni che riguardano la distribuzione neuroanatomica dei network semantici corticali e modelli schematici basati su queste rappresentazioni. Entrambe le posizioni sostengono che il network è ampiamente distribuito e in parte organizzato per adattarsi alla neuroanatomia dei sistemi sensoriali, motori e linguistici. a) La visione solo-distribuita suggerisce che queste regioni ampiamente distribuite, con le diverse connessioni fra loro (mostrato dalle linee verdi), costituiscono l'intero network semantico. Il flusso di attivazione attraverso questo network può essere "veicolato" da una rappresentazione del compito in corso (modello a destra): per esempio, se il compito è quello di denominare un oggetto familiare, la rappresentazione della forma di un oggetto deriverà dalla attivazione della rappresentazione del nome di quell'oggetto. L'associazione fra diverse coppie di qualità saranno codificate lungo diverse vie anatomiche. b) al contrario, la visione distribuita-più-hub suppone che, in aggiunta a queste regioni e connessioni modalità-specifiche, le varie rappresentazioni di superficie (così come la forma), sono connesse (come mostrato dalle linee rosse), e comunicano attraverso, una forma, un "hub" o "nodo" amodale (come mostrato dall'area rossa) nel lobo temporale anteriore. Alla stazione hub pertanto, l'associazione fra diverse coppie di attributi (come forma e colore, forma e azione, forma e colore) sono tutti processati da un gruppo di neuroni e sinapsi comuni, non dipendenti dal compito. Il modello a destra (chiamato "architettura convergente") illustra il modello equivalente di visione distribuita-più-hub (Patterson K et al. 2007).

Giovanna Sanna

Contributo dei potenziali evento-correlati (ERPs) e della scintigrafia cerebrale di perfusione (SPECT) 99mTc-HMPAO nella diagnosi clinica e neuropsicologica di pazienti con Mild Cognitive Impairment (MCI)

Tesi di dottorato in Neuroscienze - Università Degli Studi di Sassari

Un notevole contributo alla comprensione dei sistemi di memoria è stato dato da Baddeley AD e Hitch GJ che a partire dal 1974 hanno realizzato un'ampia revisione della struttura di questi sistemi e della loro reciproca interazione introducendo il concetto di memoria di lavoro o working memory (WM).

Il modello del 1974 era costituito da tre componenti fondamentali: un sistema di controllo attentivo a capacità limitata chiamato esecutivo centrale (CE) e due sistemi di immagazzinamento a breve termine, il taccuino visuospatiale e il loop fonologico che era basato su linguaggio e suoni (Fig. 5).

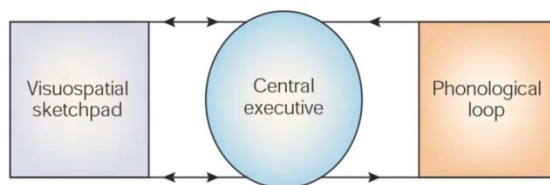


Fig. 5 Le tre componenti del modello della working memory (BaddeleyAD e Hitch GJ, 1974)

Nelle successive revisioni del 2003 e del 2012 il modello viene ampliato includendo nel sistema della WM le componenti della memoria a lungo termine LTM e le interazioni fra i due sistemi, individuando un sistema fluido appartenente alla STM e un sistema cristallizzato appartenente alla LTM e al linguaggio (Fig. 6).

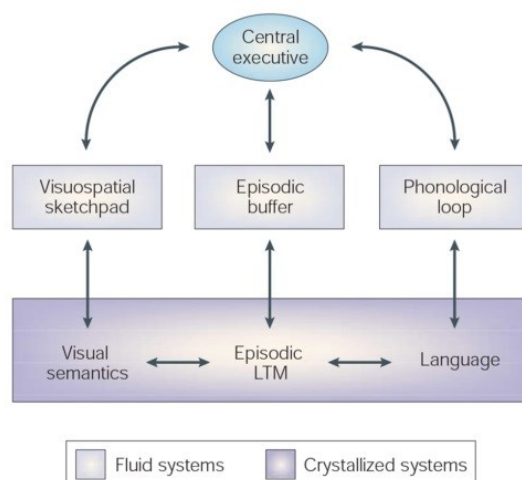


Fig. 6 Revisione del modello a componenti multiple della working memory: le aree più scure rappresentano le conoscenze cristallizzate. Il buffer episodico si interfaccia con i sub-sistemi della working memory e la LTM (Baddeley AD 2000).

Giovanna Sanna

Contributo dei potenziali evento-correlati (ERPs) e della scintigrafia cerebrale di perfusione (SPECT) 99mTc-HMPAO nella diagnosi clinica e neuropsicologica di pazienti con Mild Cognitive Impairment (MCI)

Tesi di dottorato in Neuroscienze - Università Degli Studi di Sassari

A questo punto ci sembra importante riflettere su quelle che sono attualmente le localizzazioni anatomiche della WM proposte da Baddeley sulla base degli studi di pazienti con lesioni cerebrali e studi di neuroimaging funzionale su soggetti normali.

Le tre componenti di base della WM sono localizzate in diverse regioni cerebrali: studi di neuroimaging, hanno mostrato che il loop fonologico è localizzato nella regione temporo-parietale sx (Vallar G et al. 2002, Warrington E et al. 1971, Vallar G et al. 1997) ed in particolare l'area 40 è stata individuata come centro di immagazzinamento del loop, mentre l'area BA6 e 44 sono coinvolte nei processi di ripetizione.

Il loop fonologico è un ipotetico meccanismo per la codifica acustica delle informazioni nella memoria di lavoro; si immagina essere formato da due componenti: un magazzino acustico a breve termine per gli input sonori localizzato nella corteccia parietale inferiore e una componente articolatoria che partecipa alla ripetizione subvocalica degli item da ritenere a breve termine e si affida alle aree cerebrali necessarie alla produzione delle parole, ad esempio l'area di Broca, l'area supplementare motoria e probabilmente anche il cervelletto; esiste più incertezza sul ruolo della corteccia prefrontale.

Il taccuino visuo-spaziale sembrerebbe localizzato in modo analogo nell'emisfero destro e viene compromesso da danni nella regione parieto-occipitale di entrambi gli emisferi anche se i deficit più gravi della memoria a breve termine visuo-spaziale sembrerebbero causati da lesioni dell'emisfero destro.

Il taccuino visuo-spaziale è una rappresentazione a breve termine che consente l'immagazzinamento dell'informazione secondo un codice puramente visivo e visuo-spaziale e sembra

plausibile che possa avere un ruolo nella acquisizione di conoscenze semantiche sull'aspetto degli oggetti e sul loro utilizzo.

Un confronto diretto fra WM visuo-spaziale e fonologica alla RMI funzionale, ha permesso di individuare la sede del taccuino visuo-spaziale nell'emisfero destro (Smith E et al. 1996) in aree ampiamente analoghe a quelle attivate nell'emisfero sinistro dalla WM verbale: la corteccia parietale inferiore destra (BA40), la corteccia premotoria destra (BA6) e la corteccia frontale inferiore destra (BA47); inoltre era attivata anche la corteccia occipitale extrastriatale anteriore (BA19) che Kosslyn SM et al. (1993) avevano proposto essere associate con la visual imagery (Fig. 7) (Smith E et al. 1996, Jonides J et al. 1993).

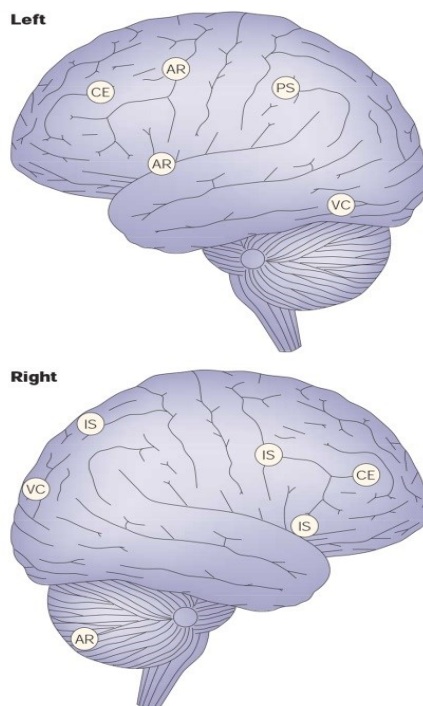


Fig. 7 Un tentativo di mappatura dei componenti della WM. L'esecutivo centrale (CE) è probabilmente impegnato in network funzionalmente fra multiple regioni cerebrali, che includono la corteccia dorso laterale. AR, ripetizione articolatoria. IS, ripetitore spaziale. PS, magazzino fonologico. VC, magazzino visivo (Baddeley AD 2003)

I due sistemi, ovvero il loop fonologico e il taccuino visuospatiale, sono coordinati, secondo il modello di Baddeley AD e Hitch GJ del 1974, dall'esecutivo centrale (CE) cioè un centro che

comanda e controlla le interazioni fra i due sistemi subordinati e ha localizzazione nei lobi frontali.

Nell'ipotesi iniziale, l'esecutivo centrale era un sistema puramente attentivo senza capacità di immagazzinamento (Baddeley AD e Logie RH 1999). Tuttavia questo modello è stato criticato dal lavoro di Daneman M e Carpenter PA (1980) e pertanto è stata aggiunta da Baddeley AD (2000) una quarta componente, il buffer episodico, che consente di spiegare non solo la connessione fra componenti della WM, ma anche il legame della WM alla percezione e al sistema di memoria a lungo termine (Baddeley AD 2012).

In sintesi, si considera la WM come un sistema a capacità limitata che evolve dal concetto di memoria a breve termine (STM): STM si riferisce a un semplice magazzino temporaneo di informazioni; al contrario la WM implica un meccanismo di immagazzinamento e manipolazione dell'informazione rapido e in continuo rimodellamento che supporta l'uomo nei processi che gli consentono di combinare la percezione, la memoria a lungo termine e l'azione (Fig. 8) (Baddeley AD 2012, 1992; Zierman T et al. 2012)

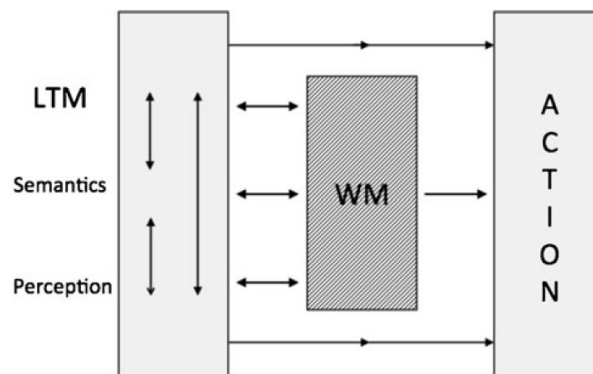


Fig. 8 Ipotesi sui legami multipli e complessi fra WM e LTM

La WM ha la capacità di interagire con l'ambiente, mantenere l'informazione o ricordarla in uno stato attivo per il tempo necessario alla manipolazione mentale dello stesso; è necessaria per attività come la lettura, la scrittura, la pianificazione e il problem solving (Brodziak A et al. 2013, Karlsgodt H et al. 2011).

Un aspetto fondamentale della compromissione della memoria nel MCI è la selettiva vulnerabilità nella capacità di consolidare nuove memorie (Shankar GM e Walsh DM 2009) e molti autori (Selkoe DJ 2002) sono concordi nel proporre l'ipotesi che una disfunzione sinaptica secondaria al danno indotto da forme solubili non fibrillari di A $\beta$  con alterazioni della plasticità neuronale, sottenda il disturbo mnesico evidente nelle prime fasi della malattia.

Shankar GM (2009) suggerisce che la disconnessione della formazione ippocampale dalle strutture neocorticali sia alla base del progressivo disturbo di memoria in MCI e nella demenza conclamata (Fig. 9).

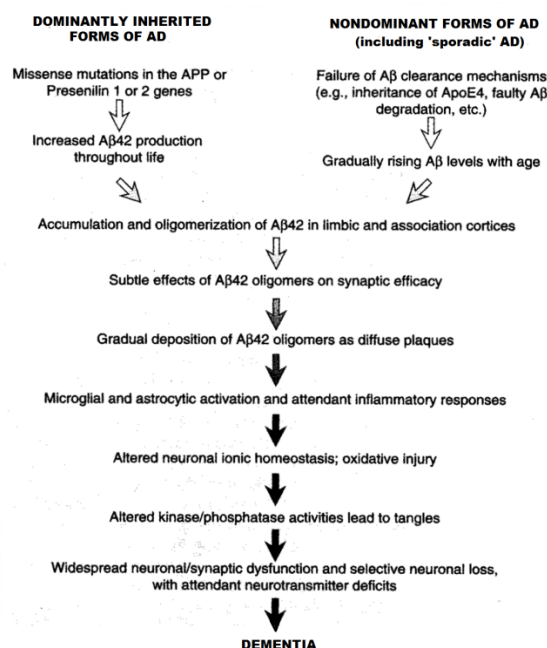


Fig. 9 Sequenza ipotetica delle fasi patogenetiche di AD (Selkoe DJ 2002).

Giovanna Sanna

Contributo dei potenziali evento-correlati (ERPs) e della scintigrafia cerebrale di perfusione (SPECT) 99mTc-HMPAO nella diagnosi clinica e neuropsicologica di pazienti con Mild Cognitive Impairment (MCI)

Tesi di dottorato in Neuroscienze - Università Degli Studi di Sassari



### 3. POTENZIALI EVENTO-CORRELATI (ERPs)

I potenziali evento-correlati (ERPs) sono un gruppo di potenziali evocati di origine corticale che vengono definiti a lunga latenza o tardivi in quanto si manifestano tra i 100 e i 1000 millisecondi dalla presentazione dello stimolo. Vengono anche chiamati potenziali endogeni e sono preceduti da una serie di modulazioni positive e negative definite precoci (entro i 200 ms circa) che sarebbero espressione di un processo di elaborazione automatica del segnale lungo la via sensitiva prima dell'evento cognitivo.

Rappresentano l'approccio elettrofisiologico per esplorare l'attività cerebrale durante un determinato compito mentale e si evocano in risposta ad uno stimolo visivo, uditivo o somestesico al quale viene attribuito un significato cognitivo; si manifestano mediante flussi di cariche elettriche attraverso le membrane neurali, che generando potenziali postsinaptici (i cosiddetti generatori), determinano modificazioni del segnale EEG.

Si tratta una tecnica non invasiva per ottenere informazioni sulle modalità in cui la corteccia cerebrale elabora un segnale. Una singola risposta ERPs è troppo piccola per poter essere valutata nel tracciato EEG ma può essere estratta dall'attività EEG di base mediante la tecnica dell'averaging ovvero sommando le singole risposte allo stimolo di interesse. Il risultato è un'onda con un certo voltaggio (che esprime la grandezza del potenziale) ed una determinata latenza (che esprime il tempo di comparsa dalla somministrazione dello stimolo) in ogni sito registrante.

Possono essere utilizzati per studiare processi psicopatologici quali l'elaborazione cognitiva di uno stimolo semplice, gli aspetti della comprensione del linguaggio, la percezione delle emozioni e la valutazione dello stato di coscienza.

Giovanna Sanna

Contributo dei potenziali evento-correlati (ERPs) e della scintigrafia cerebrale di perfusione (SPECT) 99mTc-HMPAO nella diagnosi clinica e neuropsicologica di pazienti con Mild Cognitive Impairment (MCI)

Tesi di dottorato in Neuroscienze - Università Degli Studi di Sassari

Le tre componenti cognitive maggiormente studiate sono state la Mismatch Negativity (MMN), la P300 e la N400.

Nel nostro studio abbiamo studiato in particolare l'onda P300 e la N400.

### **3.1 P300**

La P300 rappresenta l'onda maggiormente studiata negli ultimi cinquanta anni, descritta per la prima volta da Sutton S nel 1965. È un potenziale positivo, bilaterale e pressochè simmetrico che si sviluppa indipendentemente dalla natura fisica dello stimolo usato, sia esso visivo, uditivo, somatosensoriale (Papaliagkas VT et al. 2011; Polich J 1999). Si registra in rapporto a un compito di discriminazione che si realizza utilizzando il paradigma oddball in cui stimoli rari, detti target, sono presentati in maniera random (con una probabilità di comparsa del 20%) in una sequenza di stimoli frequenti (che rappresentano l'80% della totalità degli stimoli) che richiedono l'attiva partecipazione del soggetto. Il compito consiste nel contare mentalmente il numero degli eventi target e fornire una risposta psicometrica del lavoro mentale effettuato premendo il tasto di una pulsantiera. La risposta cognitiva evento correlata (P300) si elicitata solo in corrispondenza degli stimoli target, mentre in corrispondenza degli stimoli frequenti si registrano solo le componenti precoci P1, N1 e P2 suggerendo che nella elaborazione di queste risposte corticali non vi è alcuna modulazione attentiva (Polich J e Herbst KL 2000). È l'evento sorpresa, cioè lo stimolo target, che genera la P300 la cui ampiezza è inversamente proporzionale alla probabilità di comparsa dello stimolo e direttamente proporzionale alla difficoltà del compito attentivo richiesto nel discriminare più di due stimoli.

La P300 uditiva da oddball è di immediata applicazione clinica, presenta una distribuzione topografica centro-parietale; la P300 visiva è rappresentata sulle stesse aree con una maggiore proiezione verso le aree occipitali.

Goodin DS et al. nel 1978, utilizzando un paradigma oddball uditivo, hanno dimostrato che la latenza della P300 cambia in funzione all'età. Questo studio è stato il primo a suggerire che gli ERPs possono essere applicati per studiare le modificazioni della elaborazione cognitiva legata all'invecchiamento e che la latenza della P300 può considerarsi un indice elettrofisiologico sensibile di tali cambiamenti. Inoltre, hanno dimostrato che la latenza della P300 è incrementata in soggetti con demenza rispetto ad un gruppo di controllo paragonabile per età e sesso (Goodin DS et al. 1978).

Le componenti della P300 vengono quindi utilizzate come misura obiettiva della funzione cognitiva e del grado di deficit cognitivo.

Un aspetto importante della P300 è la sua applicazione per differenziare pattern di compromissione cognitiva in AD e MCI. Recentemente, numerosi studi hanno cercato di dimostrare la capacità della P300 nel distinguere le diverse entità cliniche e, soprattutto, i sottotipi di pazienti con MCI che successivamente svilupperanno demenza.

Il significato e la genesi della P300 sono ancora oggi oggetto di discussione. Le risposte evento-correlate sono evocate da circuiti riverberanti in corso di compiti attentivi e mnemonici e l'aggiornamento continuo della working memory rende possibile questa attività. Gli autori ipotizzano che l'aumento della latenza della P300 nei pazienti "converters" da MCI ad AD può riflettere

una alterazione neocorticale che si realizza prima del deficit cognitivo.

### 3.2 N400

Il primo studio sull'utilizzo degli ERPs da stimoli linguistici fu condotto da Kutas M ed Hillyard S nel 1980 che osservarono un aumento dell'ampiezza di una componente negativa a circa 400 ms dalla comparsa dello stimolo in relazione alla lettura della parola finale di una frase somministrata visivamente mediante un monitor. Solo le parole che concludevano le frasi in maniera semanticamente incongruente generavano l' "effetto N400" che consisteva nell'aumento dell'ampiezza dell'onda di circa il 50% rispetto all'onda elicitata dalla lettura delle parole congruenti.

La N400 è preceduta da una serie di componenti esogene (complesso P1-N1-P2) che sono espressione della elaborazione lungo i canali sensoriali degli stimoli percepiti e dell'orientamento e dell'attenzione verso la salienza degli stimoli (Duncan CC 2009).

Per elicitarla la N400 possono essere utilizzati diversi paradigmi di stimolazione:

1. Lettura di frasi con la parola finale incongruente col contesto generale
2. Frasi che generano una violazione semantica soggetto-verbo nella quale la parola critica è all'interno della frase
3. Coppie di parole in cui l'associazione semantica è definita sulla base della categoria di appartenenza; sinonimia/antinomia; ripetizione di parole; uso di pseudoparole.

L'ampiezza della N400:

- è estremamente sensibile al contesto che precede la parola critica o target, sia che si tratti di una singola parola che di una frase: tale contesto genera il priming semantico;
- è modulata dal tipo e dal grado di associazione semantica tra le parole e sembra esprimere la difficoltà con la quale una parola è recuperata dalla memoria semantica: la difficoltà è minima se la parola è attesa e prevedibile, più elevata se inattesa o incongruente;
- è particolarmente sensibile alla facilità di accesso dell'informazione nella memoria a lungo termine.

Essa infatti risente sia delle parole usate al di fuori del contesto che la precedono ma anche dalla frequenza d'uso di quella parola, che ragionevolmente riflette la velocità con cui la percezione della parola raggiunge la memoria lessicale (Van Petten CK et al. 1991).

Le basi neurali della N400 sono oggetto di studio: è stato proposto che la N400 origina da diversi generatori (Maess B et al. 2006, Halgren E et al. 1994, Nobre AC e Mc Charty G 1995, Meyer P et al. 2005). Secondo dati ottenuti da registrazioni intracraniche durante la lettura di parole, le strutture temporali mediali vicino a ippocampo e amigdala sono state considerate la possibile localizzazione del generatore della N400 (Halgren R et al.1994). Le registrazioni intracraniche dalla corteccia rinale e dall'ippocampo suggeriscono che la corteccia rinale è la struttura fondamentale nel lobo temporale che supporta processi integrazione semantica come indicato dalla N400 (Meyer P et al. 2005). Inoltre altri dati ottenuti da registrazioni intracraniche più superficiali, indicano che il solco temporale superiore e aree frontali associative sono interessate nella generazione della N400 (Maess B et al. 2006; Halgren R et al. 1994).

La N400 è stata più recentemente introdotta anche nello studio di pazienti con MCI e AD. Nei controlli, la ripetizione delle parole congruenti produce una riduzione della ampiezza della N400 mentre le parole incongruenti generano una N400 più ampia rispetto alla ripetizione della parola congruente (effetto N400). Nei pazienti con AD, tale modulazione presenta latenza più lenta ed ampiezza ridotta o assente (Olichney JM et al. 2002, 2006). Questi stessi autori hanno seguito longitudinalmente 32 pazienti con aMCI e hanno osservato che la N400 da stimolo ripetuto congruente e incongruente è registrabile, dopo un anno, nel gruppo di pazienti “non-converters” ed è assente o significativamente ridotta nei pazienti “converters” in AD (Olichney JM et al. 2008). Quindi le alterazioni della N400 nel MCI sembrano essere associate a un maggiore rischio di sviluppare AD.

#### 4. SCINTIGRAFIA CEREBRALE

La scintigrafia cerebrale di perfusione o SPECT ha costituito la prima tecnica di ricostruzione tomografica in ambito medico-nucleare, ovvero dopo la somministrazione di radiofarmaco. La tecnica, che si è molto evoluta nel corso degli anni, è concettualmente analoga a quella della TC differendo nella ricostruzione tridimensionale. Le molecole utilizzate sono varie, ma in generale si tratta di traccianti di flusso marcati con tecnezio-99m, come il 99mTc-HMPAO o il 99mTc-ECD. Il loro utilizzo è stato dedicato alla diagnosi precoce e alla predizione di progressione di una condizione di declino cognitivo lieve verso demenza tramite lo studio del flusso sanguigno cerebrale regionale, che è correlato al consumo di glucosio e all'attività neuronale. L'osservazione del pattern di perfusione permette il riconoscimento precoce di anomalie funzionali e l'estensione delle anomalie di perfusione sembra ben correlare con la gravità dei sintomi e con lo stadio della demenza (Torosian N et al. 2012, Farid K et al. 2011, Claus JJ et al. 1994).

Utilizzando i criteri di diagnosi postmortem, nei casi di "AD probabile" le anomalie SPECT aumentavano la probabilità di AD dall' 84% al 92% e per pazienti con "AD possibile" l'accuratezza diagnostica variava dal 67% all' 84% se la SPECT era positiva; al contrario la presenza di AD all'autopsia diminuiva al 52% per quelli con SPECT negativa (Torosian N et al. 2012, Farid K et al. 2011).

Ci sono alcuni studi che indicano la SPECT cerebrale come una tecnica spesso utile nelle fasi precoci di AD (Gungor HA et al. 2005, Nebu A et al. 2001, Okamura N et al. 2002) ma i risultati sulla effettiva utilità in questa fase sono controversi: la Quality Standards Subcommittee ha sostenuto che la SPECT non dovrebbe

essere usata per la diagnosi iniziale di AD (Knopman DS et al. 2001).

L'utilizzo della tecnica SPECT nella diagnosi di AD in fase lieve è quindi molto dibattuto. Van Gool WA et al (1995) hanno trovato valori di alta specificità (89%) ma bassa sensibilità (43%) per distinguere pazienti con AD di grado lieve dai controlli. Anche altri studi hanno mostrato che la SPECT non è una tecnica utile come indagine di supporto in pazienti con AD di grado lieve (Claus JJ et al. 1994, McMurdo ME et al. 1994). Claus JJ et al. nel 1994 hanno scoperto che la capacità discriminativa della SPECT diminuiva con l'aumentare della severità della demenza ed individuavano valori di sensibilità pari a 42%, 56% e 79% in AD lieve, moderato e grave rispettivamente.

Al contrario, la Therapeutics and Technology Assessment Subcommittee of American Academy of Neurology raccomandava l'utilizzo di questa metodica come indagine di supporto nella diagnosi clinica di AD (Gungor HA et al. 2005). Secondo queste indicazioni, il quadro scintigrafico tipico di AD riportava una riduzione della perfusione bilateralmente nella corteccia dei lobi parietali e nelle regioni temporali posteriori.

A tutt'oggi, la SPECT viene utilizzata per studiare il quadro topografico delle funzioni cerebrali e analizzare la connessione funzionale fra aree cerebrali distanti.

Inoltre, i metodi di analisi consentono di studiare specifiche regioni di interesse nell'ambito di particolari funzioni cognitive (Nobili F et al. 2005). Nobili F et al. (2008) in uno studio condotto su pazienti con AD in stadio lieve ha individuato alcune aree maggiormente compromesse da ipoperfusione: a sinistra il giro post-centrale (BA3), il precuneo (BA39), il lobulo parietale inferiore



(BA40) e il giro temporale medio (BA39 e BA21); a destra il giro temporale medio (BA39) e occipitale (BA19).

Il modello corrente per l'interpretazione di dell'ipometabolismo/ipoperfusione riscontrato in AD in fase lieve, si basa sulla teoria della disconnessione funzionale fra le aree associative temporo-parieto-occipitali dalla corteccia temporale, dove sono stati riscontrati cambiamenti patologici precoci (Nobili F et al. 2005, Braak H e Braak E 1995).

Secondo altri autori, anche la regione del precuneo e del cingolato posteriore sembrano essere fra le prime regioni interessate da questa disconnessione sia in AD (Matsuda H et al. 2002, Minoshima S et al. 1997) che in MCI (Chételat G et al. 2003).

Yoon HJ et al. nel 2012, hanno condotto uno studio che valutava le aree di perfusione nei sottotipi di MCI: le regioni maggiormente coinvolte da ipoperfusione in aMCI rispetto ai pazienti normali erano state individuate nel giro occipitale medio di sinistra (BA19) e nel giro temporale superiore sinistro (BA39); nel gruppo mMCI le aree più coinvolte comprendevano il giro sottocallosale (BA34), ippocampo di sinistra, claustrum a sinistra, insula (BA13), giro temporale inferiore sinistro (BA37), giro temporale medio (BA21) e temporale superiore (BA22 e BA39) sinistri.

Alterazioni funzionali in pazienti con demenza, specialmente AD, possono precedere cambiamenti strutturali (Park KW et al. 2012, Small AS 2005).

Confrontando pazienti MCI che hanno convertito ad AD e i "non-converters", Hirao K et al. nel 2005 hanno individuato una riduzione di perfusione significativa nel giro cingolato bilateralmente e nel precuneo di destra. Dall'utilizzo della SPECT

cerebrale per il confronto fra MCI ad AD converters e non, dopo un follow up di 3 anni, gli autori hanno riportato una riduzione del flusso ematico cerebrale nelle aree parietali bilateralmente e nel precuneo nei converters.

## 5. OBIETTIVI DELLO STUDIO

L'obiettivo dello studio è stato quello di valutare l'utilità clinica di due indagini di tipo funzionale, SPECT HMPAO e ERPs, nella diagnosi di pazienti con MCI e nei vari sottotipi di malattia di tipo soggettivo (SCI), amnesico (aMCI) e multidominio (mMCI), attraverso una correlazione con l'assessment neuropsicologico, al fine di valutarne precocemente una eventuale conversione verso demenza.

La nostra esigenza, a partire dall'analisi della letteratura, era documentare l'efficacia di queste due metodiche nonostante i dati discordanti della letteratura.

D'altra parte, oltre a una diagnosi precoce, era nostra intenzione cogliere gli aspetti più precoci dei deficit cognitivi nel MCI. Infatti il MCI è un disturbo cognitivo complesso, non sempre omogeneo, in cui sembrano essere coinvolti diversi aspetti dei sistemi di memoria. La nuova e più ampia revisione di questi sistemi da parte di Baddeley AD (2003, 2012), mostra infatti come memoria di lavoro (WM) e memoria a lungo termine (MLT) siano sistemi costituiti da multiple componenti interagenti fra loro (vedi Fig.6 del capitolo 2).

Recenti studi hanno riportato l'interesse sugli ERPs per indagare dal punto di vista elettrofisiologico i deficit cognitivi, utilizzando la P300 attraverso il riconoscimento e la categorizzazione di stimoli e aspettative della memoria a breve termine (Papaliagkas et al. 2011) e la N400 che è un indice di comprensione semantica e memoria verbale. In particolare, esistono pochissimi studi relativi alla N400.

Anche la SPECT 99mTc-HMPAO è una indagine strumentale funzionale in grado di rilevare cambiamenti del flusso sanguigno

cerebrale regionale. Attraverso software dedicati è inoltre possibile valutare il flusso ematico in aree di Broadmann di interesse specifico.

Entrambe queste metodiche si caratterizzano quindi come strumenti di indagine funzionale dell'attività cerebrale.

In realtà però in letteratura esistono pochi studi che associano le indagini ERPs e SPECT per la valutazione di pazienti con MCI.

L'identificazione precoce di questi soggetti destinati a convertire verso la demenza potrebbero offrire una possibilità di intervento terapeutico già nelle fasi iniziali del processo neuropatologico che porta alla demenza, sostanzialmente aumentando le possibilità di successo terapeutico.

A questo scopo, abbiamo studiato una casistica di soggetti consecutivi giunti presso l'Ambulatorio di Neuropsicologia della Clinica Neurologica di Sassari.

## 6. PAZIENTI E METODI

### 6.1 Pazienti

Sono stati individuati 43 pazienti consecutivi afferiti al Laboratorio di Neuropsicologia Clinica e Ambulatorio per le Demenze dell'U.O. di Neurologia dell'Azienda Ospedaliero-Universitaria di Sassari. I pazienti riferivano un disturbo della memoria e dell'attenzione, spesso associato a deficit di tipo anomico.

Ogni paziente è stato sottoposto ad una accurata raccolta anamnestica, valutazione clinica generale (emocromo, profilo epatico, renale, tiroideo, lipidico, dosaggio vitamina B12 e folati, omocisteina), esame obiettivo neurologico, screening neuropsicologico (somministrazione di MMSE), valutazione della autonomia funzionale (somministrazione delle scale ADL, Activity Daily Living e IADL, Instrumental Activity Daily Living ).

I criteri di inclusione erano i seguenti:

- 1) presentare un deficit di memoria soggettivo riportato dal paziente e/o preferibilmente confermato da un familiare;
- 2) funzioni cognitive preservate;
- 3) ADL integre;
- 4) assenza di storia di malattie significative, condizioni neurologiche o psichiatriche gravi;
- 6) assenza di demenza in accordo con i criteri diagnostici per diagnosi di MCI (Petersen RC et al. 2001, Winblad B et al. 2004).

I criteri di esclusione contemplavano:

- 1) storia di disturbi psichiatrici (diagnosi di depressione maggiore, disturbo bipolare, schizofrenia, uso di sostanze, ritardo mentale);
- 2) altri disturbi neurologici (disturbo cerebrovascolari, idrocefalo, masse intracraniche, traumi cranioencefalici, malattie infettive cerebrali come meningiti, encefaliti, sifilide);
- 3) abuso di farmaci o sostanze stupefacenti;
- 4) malnutrizione e/o deficit vitaminici;
- 5) malattie metaboliche scarsamente controllate (diabete e ipertensione non controllati, disturbi epatici, renali, tiroidei, cardiaci e polmonari gravi).

## 6.2 Valutazione neuropsicologica

I pazienti reclutati sono stati sottoposti ad un'accurata valutazione neuropsicologica per valutare il profilo cognitivo generale ed altri domini cognitivi come indicato in Tabella 1.

Test NP	Funzione cognitiva
Mini Mental State Examination (MMSE)	Stato cognitivo generale
Raccontino di Babcock	Memoria episodica
Parole di Rey	Memoria verbale a breve e lungo termine
Span verbale e spaziale	<i>Working memory</i>
Matrici attentive	Attenzione
Matrici colorate di Raven	Intelligenza visuo-spaziale
Prassia costruttiva	Prassia
Fluenza verbale fonologica e per categoria	Linguaggio
Token test	Comprensione
FAB, <i>Frontal Assessment Battery</i>	Funzioni esecutive

Tab. 1 - Batteria dei test psicometrici e relative funzioni cognitive indagate.

Il **Mini Mental State Examination** - versione di Frisoni et al. (1993), taratura di Measso et al. (1993) viene utilizzato per effettuare un breve screening dello stato mentale. Gli item valutano l'orientamento temporale e spaziale, la memoria (rievocazione immediata delle parole "pane, casa e gatto" e rievocazione differita), attenzione e calcolo (conteggio all'indietro di 7 in 7 partendo da 100 oppure spelling della parola "mondo"), linguaggio (denominazione di due oggetti: matita e orologio); ripetizione della frase "tigre contro tigre"; esecuzione del comando "chiuda gli occhi" letto su un foglio; esecuzione di un comando a tre stadi: "prenda il foglio con la mano destra, lo pieghi a metà e lo butti per terra"; scrittura di una frase di senso compiuto, prassia (copia di un disegno geometrico semplice: due pentagoni intrecciati a formare un rombo di intersezione) per un totale di 30 item. Tempo di somministrazione circa 10 minuti.

Il **Raccontino di Babcock** - versione Spinnler e Tognoni (1987) valuta la memoria a lungo termine verbale. L'esaminatore legge un breve racconto ("Sei dicembre. La scorsa settimana...") e il soggetto deve rievocarlo immediatamente al termine della presentazione. Dopo la rievocazione immediata, l'esaminatore rilegge la storia e il soggetto dovrà rievocarla, in modalità differita, dopo un intervallo di tempo di dieci minuti occupato da attività diverse, non interferenti. Il raccontino è costituito da 4 elementi principali e 5 elementi secondari. Il punteggio finale è dato dalla somma dei punteggi della rievocazione immediata e differita. L'attribuzione dei punteggi è gerarchica per eventi, cioè vi sono alcuni eventi del racconto la cui rievocazione permette di attribuire altri punti se vengono rievocati dettagli secondari (range del punteggio 0-16).

Le **15 parole di Rey** - versione Caltagirone et al. (1995) è utilizzato per l'esame della memoria verbale a lungo termine. L'esaminatore legge una lista di 15 parole al ritmo di una parola al secondo per 5 volte. Dopo ogni presentazione si richiede la

rievocazione delle parole in ordine libero; la somma delle parole rievocate nelle 5 prove costituisce il punteggio della rievocazione immediata (range 0-75). Dopo un intervallo di 15 minuti, durante il quale si svolgono attività non verbali, si richiede una rievocazione differita delle parole (range 0-15). Tempo di somministrazione: 10 minuti + 15 minuti di intervallo impiegato per prove non verbali.

**Copia di disegni** - versione De Renzi et al. (1964), taratura di Spinnler e Tognoni (1987) valuta la prassia costruttiva. È composta da 7 tavole che recano nella metà superiore 1, 2 o 3 figure geometriche; la metà inferiore è libera e serve al soggetto per la copia. Il punteggio viene dato in funzione della buona o cattiva qualità del disegno prodotto (2 punti per ogni copia “perfetta”, 1 punto se la copia è parzialmente difettosa ma identificabile negli elementi fondamentali, 0 punti se il modello è irriconoscibile o è presente il fenomeno del closing-in); (range 0-14); tempo di somministrazione circa 5-10 minuti.

Le **Matrici progressive colorate** di Raven (CPM47) - versione di Caltagirone et al. (1995) si utilizzano per valutare il ragionamento visuo-spaziale e intelligenza logico-deduttiva. Il test è composto da 36 tavole a colori, divise in tre serie (A, AB, B); ogni tavola si compone di una parte superiore che contiene la figura stimolo che manca di un frammento, ed un parte inferiore che contiene 6 alternative di risposta. Al paziente viene richiesto di indicare, tra le sei alternative, quella che a suo parere completa, nel modo migliore, la figura stimolo. Il test è somministrato senza limiti di tempo. Si assegna un punto ad ogni risposta corretta (range 0-36). Tempo di somministrazione: 15-20 minuti.

Le **Matrici attentive** - versione di Spinnler e Tognoni (1987) valutano l'attenzione selettiva. Il test è composto da tre differenti matrici di numeri; il soggetto deve barrare i numeri bersaglio che sono uno per la prima matrice, due per la seconda e tre per la terza. Gli stimoli bersaglio sono 10 nella prima matrice, 20 nella



seconda, 30 nella terza, sparsi fra i numeri distrattori. Eventuali errori non vanno corretti. La prima riga di ogni matrice funge da esempio ed è compilata dall'esaminatore; la seconda funge da run-in ed è compilata dal soggetto. Viene registrato il tempo di esecuzione con il cronometro: si conteggiano stimoli barrati entro i 45 secondi di tempo per ogni matrice. Tempo di somministrazione: circa 5 minuti.

Lo **Span verbale** - versione di Orsini et al. (1987) misura la memoria verbale a breve termine. L'esaminatore presenta oralmente una sequenza di cifre. Il soggetto deve ripeterla correttamente (le stesse cifre nello stesso ordine) immediatamente dopo la presentazione. In caso di riproduzione corretta si passa ad una sequenza di lunghezza superiore (una cifra in più): si prosegue fino a quando il soggetto fallisce consecutivamente due sequenze della stessa lunghezza fino ad una serie di lunghezza massima di 9 cifre ripetuta correttamente. Lo span è dato dalla lunghezza dell'ultima stringa di parole ripetuta correttamente. Tempo di somministrazione: circa 3-4 minuti.

Lo **Span spaziale** o test di Corsi - versione di Orsini et al. (1987) studia la memoria visuo-spaziale a breve termine. Si presenta esaminando una tavoletta sulla quale sono incollati 9 cubetti. Solo dalla parte dell'esaminatore i cubetti riportano numeri di riferimento. L'esaminatore tocca i cubi secondo una sequenza stabilita di una determinata lunghezza. Tra un cubetto e l'altro l'esaminatore riporta la mano al punto di partenza sul tavolo. Il compito del soggetto consiste nel riprodurre la sequenza nello stesso ordine. Si inizia con una sequenza di due cubetti e si aumenta di uno se il soggetto produce esattamente la stessa sequenza. Lo span corrisponde alla lunghezza di cui sono state riprodotte correttamente tre serie su cinque. Tempo di somministrazione: 4 minuti.

La **Fluidità verbale fonologica** (FVF) - versione di Caltagirone (1995) valuta la capacità di accesso al lessico verbale per via fonologica. L'esaminatore chiede al soggetto di dire il maggior numero di parole che cominciano con una certa lettera dell'alfabeto. Si testano di solito 3 lettere (F-A-S) con un minuto di tempo a disposizione per ogni lettera; si contano le parole prodotte dal soggetto. Tempo di somministrazione: 4-5 minuti.

La **Fluidità verbale per categorie** (FVC) - versione Spinnler e Tognoni (1987) esplora l'accesso al lessico per via semantica. L'esaminatore chiede al soggetto di dire il maggior numero di parole che appartengono ad una certa categoria. Sono state testate 4 categorie (colori - animali - frutti - città) in due minuti di tempo a disposizione per ognuna; si contano le parole prodotte dal soggetto e fatta la media delle parole prodotte. Tempo di somministrazione 4-10 minuti.

Il **Token test** o test di comprensione linguistica o test dei gettoni - versione De Renzi et al. (1975) valuta i disturbi della comprensione. Si utilizzano 20 gettoni che si differenziano per forma (cerchi e quadrati), dimensione (piccoli e grandi) e colore (bianco, nero, giallo, rosso e verde). Il soggetto deve eseguire ordini che richiedono l'uso dei gettoni, gli ordini vanno dai più semplici (es. toccare un cerchio) ai più complessi (es. toccare due gettoni, un cerchio e un quadrato, di diverso colore e dimensione). Si assegna un punto per ogni ordine eseguito correttamente, 0,5 punti per una esecuzione corretta al secondo tentativo, altrimenti 0 punti. (Range 0-36). Tempo di somministrazione: circa 15 minuti.

Il test "**Frontal Assessment Battery (FAB)**" - versione di Apollonio et al. (2005) è utilizzato nella valutazione di screening della funzionalità esecutiva globale mediante una serie di prove cognitive e comportamentali. È una breve batteria composta da 6 subtest: concettualizzazione di similitudini, fluency lessicale in modalità fonologica, programmazione motoria (serie di Luria),

risposta a ordini conflittuali go-no go task, comportamento di prensione. Al soggetto viene richiesto di eseguire le 6 prove; ogni prova ha un punteggio variabile da 0 a 3. (Range punteggio totale 0-18). Tempo di somministrazione 10 minuti circa.

La presenza o meno di depressione lieve è stata valutata mediante la somministrazione del questionario **Beck Inventory Depression Scale** (Beck AT 1967).

Ogni test è stato poi corretto per età e scolarità rispetto a soggetti normali secondo i valori normativi italiani; successivamente è stato calcolato il punteggio equivalente secondo le tarature in uso, sopra descritte, che assegnano punteggi da 0 a 4, dove 0 rappresenta un punteggio patologico, 1 un punteggio lievemente patologico, 2-3-4 un punteggio nella norma.

La batteria dei test NP utilizzati è stata somministrata in due sedute della durata complessiva di 120 minuti.

I pazienti sono inoltre stati classificati in sottogruppi:

- Gruppo soggettivo (SCI): nessuna alterazione riportata ai test psicometrici
- Gruppo amnestico (aMCI): compromissione esclusiva delle funzioni mnesiche ai test
- Gruppo multidominio (mMCI): compromissione di più domini cognitivi (memoria, funzioni esecutive, visuospatiale, prassia costruttiva, ragionamento logico-deduttivo, attenzione visiva selettiva)

### 6.3 Studio elettrofisiologico

#### Paradigmi di stimolazione

La P300 è stata elicitata utilizzando un classico paradigma oddball attivo mediante somministrazione di stimoli visivi ed acustici.

La modalità visiva si basava sulla presentazione binoculare su monitor di due numeri, il numero “1” come stimolo frequente o standard e lo zero “0” come stimolo raro o target in corrispondenza del quale si evoca la P300.

La modalità acustica era caratterizzata dalla somministrazione binaurale di toni puri a 1000 Hz ed a 2000 Hz come stimoli rari o target come stimoli frequenti entrambi con un'intensità di 80 dB.

Gli stimoli venivano presentati in maniera casuale (random) con un intervallo interstimolo di  $1300 \pm 250$  ms, durata di 150 ms (rise-fall time 30 ms) e probabilità di presentazione frequente/target del 20%. Dopo una rapida spiegazione del compito da eseguire, venivano effettuati due passaggi di 180-220 stimoli per entrambe le modalità di stimolazione. Tutti i soggetti erano invitati a premere un pulsante il più rapidamente possibile alla presentazione dello stimolo target, contarli mentalmente e riferire, quindi, il loro numero totale alla fine di ogni test.

La durata di ogni registrazione era di circa 4 minuti per un totale di circa 15 minuti.

La N400 è stata elicitata mediante la lettura di 50 coppie di parole legate da una associazione di antinomia. Le parole selezionate per tale paradigma erano aggettivi o avverbi ad alta e media frequenza d'uso in accordo con il dizionario della lingua italiana De Mauro T (2000) e standardizzate in un gruppo di controlli di pari età e scolarità rispetto al gruppo dei pazienti. Le parole avevano una lunghezza da quattro a dieci lettere e le coppie

Giovanna Sanna

Contributo dei potenziali evento-correlati (ERPs) e della scintigrafia cerebrale di perfusione (SPECT)  $^{99m}\text{Tc}$ -HMPAO nella diagnosi clinica e neuropsicologica di pazienti con Mild Cognitive Impairment (MCI)

Tesi di dottorato in Neuroscienze - Università Degli Studi di Sassari

erano formate da parole di lunghezza analoga. La prima parola generava il “contesto semantico” (priming) ed era seguita da una parola di significato contrario per il 50% degli stimoli (stimoli congruenti, es.: alto/basso) e da una parola casuale, senza alcuna relazione di antinomia con la precedente, nel 50% degli stimoli (stimoli target o incongruenti o aberranti, es: cotto/rotondo). I soggetti venivano istruiti a leggere mentalmente le parole presentate sul monitor ed a segnalare l'incongruenza semantica della seconda parola rispetto alla prima per ogni coppia premendo un tasto di una pulsantiera.

Ogni parola veniva presentata sul monitor con una durata di 1500 ms ed un SOA, stimulus onset asynchrony (Van Petten CK 1995) - il tempo tra la presentazione dei due stimoli - più breve possibile (as soon as possibile) per accertarsi che il meccanismo di riconoscimento avvenisse mediante diffusione automatica. Infatti, tempi di SOA maggiore ai 500-700 ms favorirebbero il decadimento dell'attivazione automatica a favore di operazioni strategiche e controllate (Neely JH 1977). Le coppie di parole erano interrotte da una schermata nera (senza alcuno stimolo) di  $2000 \pm 250$  ms. La comparsa delle coppie incongruenti nell'ambito di ogni protocollo era casuale (random). Sono state effettuate quattro ripetizioni dell'esame utilizzando quattro protocolli formati da coppie di parole diverse. La durata di ogni registrazione era di circa 5 minuti per un totale di circa 20 minuti.

Ogni sessione di registrazione della P300 ed N400, complessivamente, ha una durata media di circa 80 minuti.

### Registrazioni e misurazioni degli ERPs

La registrazione degli ERPs è stata effettuata mediante 30 elettrodi registranti applicati sullo scalpo secondo il sistema internazionale 10-20 di Jasper modificato. La derivazione scelta per le registrazioni era di tipo referenza comune, con gli elettrodi

posizionati ai lobi auricolari, uniti e bilanciati ed elettrodo di terra posizionato in Fpz. La banda passante della registrazione EEG era di 1.0-70 Hz. La registrazione dei movimenti oculari verticali (blink) e saccadici è stata eseguita mediante il posizionamento di due elettrodi rispettivamente ad un centimetro sopra e sotto l'asse mediano dell'occhio di sinistra ed ai canti esterni degli occhi.

Le registrazioni EEG sono state effettuate in un ambiente acusticamente isolato, in condizioni di luminosità costante e con i soggetti comodamente sdraiati su una poltrona. E' stata utilizzata la strumentazione Neuroscan Inc. con i moduli di acquisizione Acquire Vers. 4.2, di stimolazione STIM Vers. 3.1 e STIM audio System P/N 1105, amplificatori SynAmps e 32 canali di registrazione.

Dopo l'acquisizione del segnale EEG, è stata effettuata l'analisi off line dei tracciati. I movimenti oculari sono stati rimossi utilizzando l'analisi di regressione con l'algoritmo di riduzione dei movimenti oculari secondo Semlitsch HV et al (1986).

Sono state create le epoche EEG di 1000 ms con 200 ms di prestimolo per la correzione della linea di base. I tracciati sono stati quindi filtrati (10-30 Hz), corretti per la linea di base e per gli artefatti di ampiezza superiore ai  $\pm 50 \mu\text{V}$ .

Le singole componenti degli ERPs sono state poi estrapolate dal tracciato EEG mediante l'averaging delle risposte sia allo stimolo significativo (P300, stimolo a 2000 Hz, numero 0; N400 stimolo incongruente) che allo stimolo frequente. Le risposte cognitive, P300 ed N400, per essere considerate valide dovevano risultare dall'averaging di almeno 20 risposte significative. Infine, è stato eseguito il grand average delle ripetizioni dei singoli test (al fine di migliorare la risposta cerebrale e ridurre il rumore di fondo) e su tale tracciato sono state elaborate le mappe cerebrali,

utilizzando il classico metodo dell'interpolazione dei 4 elettrodi più vicini (4 nearest-neighbor electrodes, 4-NN) per studiare la rappresentazione topografica bidimensionale delle ampiezze degli ERPs secondo una scala policromatica di voltaggio assegnando il valore di massimo voltaggio in rosso ed il valore di minimo voltaggio in blu.

Le componenti degli ERPs sono state identificate in base alla loro polarità, latenza, ampiezza e distribuzione topografica. Per quanto riguarda la P300, i potenziali precoci uditivi, N1 e P2 sono stati individuati rispettivamente come il picco più negativo tra i 75 ed i 140 ms ed il picco più positivo tra i 140-220. La P300 uditiva è stata definita come la massima positività dopo i 270 ms. L'ampiezza delle singole componenti degli ERPs è stata calcolata mediante misurazioni picco-picco (Picton TW et al 2000). Le componenti precoci P1, N1 e P2 della stimolazione visiva sono state identificate nei picchi di massima positività e negatività evocati rispettivamente alle latenze medie di 160 ms, 200 ms e 250 ms. La P300 visiva corrispondeva al picco positivo più ampio dopo i 350 ms. In entrambe le modalità di stimolazione, la P300 è stata sempre preceduta da un'ampia negatività, la N200.

L'onda N400 è stata registrata in risposta alla lettura della prima parola (priming semantico), della parola congruente e dello stimolo incongruente.

È stata identificata un'onda negativa N400 dopo i 350 ms circa in risposta alla lettura delle parole, preceduta da un complesso P1-N1-P2 rispettivamente dopo i 100 ms, 180 ms e 250 ms circa. L'ampiezza del potenziale linguistico è stata calcolata mediante misurazioni picco-picco delle onde P2-N400 elicitate dalla lettura della prima parola, della parola congruente e dalla lettura dello stimolo incongruente.

I valori di latenza ed ampiezza della P300 (visiva ed uditiva) e della N400 sono stati confrontati con quelli ottenuti in un gruppo di controllo di 30 soggetti di pari età, scolarità e sesso per i quali sono stati calcolati i coefficienti di correlazione delle variabili età-latenza ed età-ampiezza delle onde misurate al fine di ottenere i valori stimati per età  $\pm 1.98$  DS.

La differenza dell'ampiezza della N400 in risposta agli stimoli incongruenti (effetto N400) rispetto a quella dell'N400 in risposta agli stimoli congruenti è stata standardizzata in funzione dell'ampiezza media più ampia (espressa in percentuale) ottenuta nel gruppo di controllo.

#### **6.4 Studio Scintigrafico**

Ogni paziente è stato sottoposto a Scintigrafia cerebrale di perfusione SPECT dopo somministrazione di  $^{99m}\text{Tc}$ -HMPAO.

##### Procedura di preparazione del paziente

Nel nostro studio, ogni paziente, 30 minuti prima della somministrazione endovenosa del radiofarmaco, è stato preventivamente trattato con 1 mg di perclorato di potassio per minimizzare l'assorbimento del tecnezio libero radioattivo da parte della tiroide. La somministrazione del radiofarmaco è inoltre stata preceduta da una fase di preparazione nella quale il paziente, con una cannula posizionata in una vena antecubitale del braccio, rimaneva per 20-30 minuti in decubito supino in ambiente tranquillo privo di stimoli visivi e uditivi. Ogni paziente veniva istruito a tenere gli occhi chiusi, non parlare né muoversi, in particolare 5 minuti prima e dopo l'iniezione per evitare qualsiasi interazione.



### Preparazione del radiofarmaco e controllo di qualità

Per garantire la purezza radiochimica del radiofarmaco, è stato utilizzato del pertecnetato eluito da una colonna già utilizzata nelle ultime 24 ore (per ridurre la presenza di impurezze) ed un eluato fresco di due ore (per avere una concentrazione ottimale).

Dopo la sua ricostruzione, è stato eseguito per ciascun flacone uno specifico controllo di qualità che confermasse una purezza radiochimica >80%.

L'iniezione di radiofarmaco (dose 740 MBq), dopo il controllo di qualità, è stata eseguita non oltre 30 minuti dalla sua ricomposizione.

### Protocollo di acquisizione

La SPECT cerebrale perfusionale, ai fini di garantire una migliore qualità dell'immagine (migliore rapporto segnale/rumore), è stata acquisita circa 20 minuti dopo la somministrazione del radiofarmaco, utilizzando una gamma camera a doppia testata (Helix; GE) equipaggiata con collimatori Fan-Beam, calibrata sul picco energetico di 140 KeV, con una finestra energetica del  $\pm 10\%$ .

Le immagini SPECT sono state acquisite con il paziente in posizione supina con la testa fissata su un apposito supporto per consentire l'orientamento secondo la linea orbito-meatale; il protocollo di acquisizione era il seguente:

- Rotazione: 180° per ciascuna testata
- Frame size: 128x128
- Zoom: 1
- Frame time: 30"
- Step angolare: 3°

## Protocollo di elaborazione dell'esame SPECT

### - Dati qualitativi

I dati SPECT normalizzati sono stati quindi elaborati attraverso un software di elaborazione dedicato, utilizzando il metodo del Back Projection Filter e applicando un filtro Butterworth (cut off: 0,5 cicli/cm; ordine 10). Come risultato si ottiene la creazione di tomogrammi transassiali, coronali e sagittali (spessore delle sezioni: 2,18 mm) nei quali la captazione corticale del  $^{99m}\text{Tc}$  HM-PAO viene normalizzata ed espressa come percentuale della massima captazione osservata nel cervelletto. La scala di colori utilizzata definisce in colore bianco/argento i valori al di sopra della norma, in colore rosso i valori normali espressione di un valore corrispondente fino al 72% della massima captazione del cervelletto, in giallo le aree che hanno una captazione fino al 60% rispetto a quella cerebellare, in verde quelle che hanno una captazione del 50% e in blu quelle in cui la captazione è del 40%. In una fase post-processing inoltre si ricava una ricostruzione tridimensionale delle immagini secondo il metodo del Multi Threshold Volume (MTV) (soglia valutata: 67%).

### - Dati quantitativi

Infine per ciascun paziente è stata eseguita la comparazione con una popolazione normale di controllo di pari caratteristiche che esprime, in termini di deviazione standard (DS), le variazioni del singolo paziente rispetto ai normali. Quest'ultima valutazione viene eseguita utilizzando un software dedicato (NEUROGAM, SEGAMI Corporation USA) che applica le coordinate stereotassiche dell'atlante di Talairach e Tournoux (Talairach J and Tournoux P, 1988) che rappresentano a tutt'oggi il più diffuso sistema di riferimento nell'ambito del posizionamento e identificazione di siti encefalici.

Giovanna Sanna

Contributo dei potenziali evento-correlati (ERPs) e della scintigrafia cerebrale di perfusione (SPECT)  $^{99m}\text{Tc}$ -HMPAO nella diagnosi clinica e neuropsicologica di pazienti con Mild Cognitive Impairment (MCI)

Tesi di dottorato in Neuroscienze - Università Degli Studi di Sassari

L'immagine cerebrale ottenuta anche volumetricamente viene considerata inserita all'interno di un volume normalizzato permettendo una comparazione "voxel by voxel" della captazione corticale del radiofarmaco con un database di normali. In questa immagine tridimensionale la comparazione con i valori normali, viene definita attraverso una nuova scala di colori che esprime l'entità della perfusione in termini di deviazione standard (minima, massima e media) rispetto ai normali: valori al di sopra della norma con il colore bianco/argento e rosso, valori al di sotto con il colore verde e blu.

### Interpretazione dei dati

L'analisi dei dati ottenuti è stata fatta seguendo degli step successivi:

- Valutazione qualitativa: si esegue una prima analisi qualitativa sia delle sezioni anatomiche assiale, coronale e sagittale che del MTV. Vengono così individuate aree di ipoperfusione a livello della corteccia cerebrale, quelle con valori di captazione inferiori al 60% della captazione cerebellare massima e con assente visualizzazione della soglia del 67% del MTV.
- Valutazione quantitativa: come riportato in letteratura, assumendo il valore medio della deviazione standard (DS) come parametro valido, sono stati comparati con la popolazione normale i dati relativi ai lobi ma anche alle specifiche aree temporali (BA20-21-22-37-38), parietali (BA5-7-39-40), limbiche (BA36), frontali (BA 6-8-9-10-11-44-45-46-47) ed occipitali (BA 17-18-19) di entrambi gli emisferi e sono state considerate valide le riduzioni di perfusione superiori a -1,5 DS rispetto alla popolazione normale.

## 6.5 Analisi statistica

Ai fini dell'analisi statistica, i punteggi dei test NP e i valori dei dati neurofisiologici e della SPECT di perfusione sono stati categorizzati secondo una scala ordinale 0, 1 e 2 in cui le categorie esprimevano le seguenti condizioni:

- categoria 0= normalità
- categoria 1= alterazione lieve
- categoria 2= alterazione grave

Nello specifico, per quanto riguarda i dati psicometrici, i punteggi equivalenti da 4 a 2 corrispondevano alla normalità (categoria 0); il punteggio equivalente 1 corrispondeva alla categoria 1 (alterazione lieve) ed il punteggio 0 corrispondeva all'alterazione grave, ovvero alla categoria 2.

Per i dati ERPs, la categoria 1 comprendeva l'aumento e/o la riduzione dell'ampiezza della P300 e/o assenza dell'effetto N400; la categoria 2 indicava il massimo grado di alterazione ovvero l'assenza del potenziale.

Infine, i dati SPECT sono stati categorizzati in funzione dei seguenti cut off di DS di perfusione rispetto ai valori normali: categoria 0 = perfusione normale  $\leq 1,5$  DS; categoria 1= lieve alterazione perfusionale compresa tra valori di 1,5 e 2,5 DS; categoria 2 = grave alterazione perfusionale  $>2,5$  DS.

I sottotipi di malattia sono stati ugualmente categorizzati in: categoria 0 = pazienti con SCI; categoria 1= pazienti con aMCI; categoria 2=pazienti con mMCI.

Sono state studiate le correlazioni tra età, scolarità, durata del disturbo e presenza/assenza di depressione nei tre gruppi e nel gruppo complessivo di pazienti.

La differenze della distribuzioni dei risultati dei test NP, degli ERPs e della SPECT nei tre gruppi e nel gruppo complessivo dei pazienti sono state analizzate mediante il test di Fisher esatto.

Il livello di significatività doveva essere  $<0.05$  per tutti i test applicati.

## 7. RISULTATI

### 7.1 Dati clinico-anamnestici

Dei 43 pazienti esaminati con diagnosi di MCI, l'età media di insorgenza dei sintomi era  $66.4 \pm 7.6$  (range 49-87 anni) e durata di malattia  $3.9 \pm 3.6$  (range 1-15 anni). La scolarità è compresa fra  $10.7 \pm 4.1$  (range 0-3.5); il MMSE  $27.1 \pm 2.2$  (range 20.3-30); 20 pazienti su 23 presentavano deflessione del tono dell'umore di grado lieve e verosimilmente reattivo alla comparsa dei deficit (Tab. 1).

DATI CLINICO-ANAMNESTICI			
Età	$66,4 \pm 7,6$ (49 - 87)		
Sesso	31 ♀, 12 ♂		
Durata di malattia	$3,9 \pm 3,6$ (1 - 15)		
Scolarità	$10,7 \pm 4,1$ (0 - 3,5)		
MMSE	$27,1 \pm 2,2$ (30 - 20,3)		
Depressione (SI/NO)	20/23		
Sottotipi MCI	SCI	8 (♀)	$64,5 \pm 8,9$
	aMCI	17 (10 ♀, 8 ♂)	$67,9 \pm 6,8$ (54-87)
	mMCI	18 (14 ♀, 4 ♂)	$66,7 \pm 7,8$ (54-77)

Tab. 1 Dati clinico anamnestici del gruppo MCI (n=43) e dei sottotipi di malattia

Complessivamente, il gruppo di pazienti con MCI era costituito per il 72.1% da donne. Una percentuale di distribuzione di genere sovrapponibile si è osservata in mMCI (77.8%); il gruppo SCI era costituito da sole donne (100%) e il gruppo aMCI presentava una distribuzione di genere omogenea (52.9%).

La presenza di depressione lieve è emersa nel 46.5% del gruppo MCI. Nel sottotipo SCI la distribuzione era 50%, in aMCI era 47.1% e in mMCI era 61.1%.

## 7.2 Valutazione neuropsicologica

Dalla valutazione psicometrica è emerso che otto pazienti hanno riportato ai test punteggi nella norma e sono quindi stati inquadrati come SCI.

Nei restanti pazienti almeno un test è risultato alterato; in base al numero di domini cognitivi compromessi, i pazienti sono stati classificati come aMCI (n=17) o mMCI (n=18). Il grafico 1 mostra la distribuzione delle percentuali dei test alterati nel gruppo complessivo di pazienti MCI e nei sottotipi aMCI e mMCI.

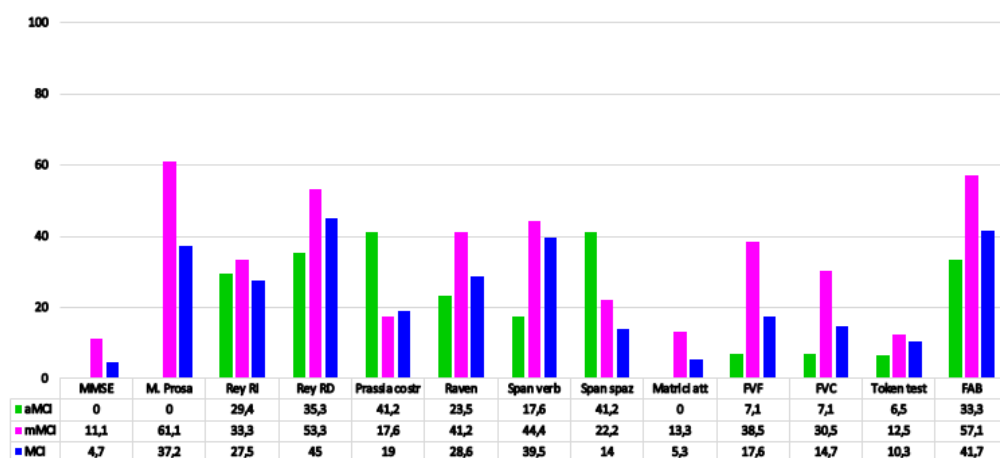


Grafico 1. Percentuali di alterazione dei singoli test NP nel gruppo di pazienti MCI e nei sottotipi aMCI e mMCI.

Nel gruppo MCI i test maggiormente compromessi risultavano la memoria di prosa (37.2%), la rievocazione differita delle parole di Rey (45%), lo span verbale (39.5%), FAB (41.7%).

Analizzando i singoli sottotipi i test maggiormente alterati sono risultati:

- gruppo aMCI: il test delle parole di Rey sia nella rievocazione immediata (29.4%) che in quella differita (35.3%), la prassia costruttiva (41.2%), lo span spaziale (41.2%) e FAB (33.3%);
- gruppo mMCI: la memoria di prosa (61.1%), la rievocazione immediata e differita delle parole di Rey (rispettivamente 33.3% e 53.3%), le matrici di Raven (41.2%), lo span verbale (44.4%), FVF (38.5%), FVC (30.5%) e FAB (57.1%).

Complessivamente, la distribuzione delle alterazioni nei test psicometrici si presentava più elevata per le prove di memoria verbale a breve e a lungo termine e per le funzioni esecutive nell'intero gruppo MCI; il quadro appariva ancora più compromesso nel gruppo mMCI dove, oltre le alterazioni delle funzioni mnestiche ed esecutive, oltre il 35% dei pazienti mostravano compromissione anche delle capacità logico-deduttive e della fluenza verbale. Nel gruppo aMCI la distribuzione era più elevata (circa il 40%) nei test di prassia costruttiva e nello span verbale ovvero nelle funzioni visuo-costruttive e nelle prove di memoria verbale a breve termine.



### 7.3 ERPs

Tutti i pazienti sottoposti alla registrazione degli ERPs sono stati in grado di eseguire i compiti richiesti con una quota di errori contenuta entro il 5% (cut-off di errore fisiologico) sia nel riconoscimento degli stimoli target del paradigma oddball che nella identificazione delle parole incongruenti del paradigma linguistico.

Nel gruppo di controllo, le componenti precoci e tardive degli ERPs (P300 ed N400) erano evocabili in tutti i soggetti. Per ognuna delle componenti tardive, si è confermata la già nota correlazione diretta della variabile latenza con l'età espressa dai seguenti valori:

- per la P300 visiva: slope=2,9 ms/anno, intercetta 198,19 ms,  $r=0,85$ ,  $p<0.01$ ;
- per la P300 uditiva: slope=1,9 ms/anno, intercetta 237,15 ms,  $r=0,7$ ,  $p<0.02$ ;
- per la N400 alla lettura degli stimoli congruenti: slope=5,3 ms/anno, intercetta 78,1  $r=0.8$ ,  $p<0,02$ ;
- per la N400 alla lettura degli stimoli incongruenti: slope=3.9 ms/anno, intercetta 200  $r=0.7$ ,  $p<0,03$

Non è emersa, invece, alcuna correlazione inversa tra l'ampiezza dei potenziali studiati e l'età.

L'incremento della latenza e la riduzione dell'ampiezza della P300 nei pazienti sono stati considerati patologici se il valore superava 1.98 DS del valore stimato per età mediante l'analisi della regressione lineare.

L'effetto N400 è stato standardizzato nel gruppo di controllo considerando come cut-off di normalità l'aumento di ampiezza della N400 da stimolo incongruente superiore al 40% rispetto all'ampiezza della N400 da stimolo congruente.

Analogamente ai controlli, nel gruppo dei pazienti MCI le componenti precoci degli ERPs erano di latenza ed ampiezza normali.

Le alterazioni della P300 e della N400 sono state definite in relazione a:

- ritardo di latenza o riduzione di ampiezza di ogni onda (alterazione lieve);
- assenza del potenziale (alterazione grave).

La Tabella 2 mostra i valori di latenza ed ampiezza della P300 (visiva ed uditiva) e della N400 registrate nei gruppi di pazienti e nel gruppo di controllo.

**Tabella 2.**

Valori medi (DS) delle latenze ed ampiezze della P300 e della N400 misurate nei gruppi di pazienti (numero di soggetti) e nel gruppo di controllo

	<b>P300 visiva</b>			<b>P300 uditiva</b>			<b>N400</b>			
	Lat (ms)	Amp (mV)		Lat (ms)	Amp (mV)		Lat (ms)	Amp (mV)		
MCI (43)	397,2 (57,7)	7,7 (4,2)		361,5 (52,3)	9,3 (4,5)		465,8 (72,4)	5,6 (2,4)	458,7 (68,3)	6,9 (3,4)
SCI (8)	374,0 (16,4)	7,9 (3,0)		327,4 (16,9)	12,1 (6,8)		448,5 (65,0)	6,8 (3,1)	434,0 (78,0)	9,0 (1,8)
aMCI (17)	389,5 (28,3)	7,1 (3,9)		356,5 (38,0)	8,7 (4,0)		467,0 (76,4)	5,5 (2,0)	463,8 (69,9)	7,4 (3,7)
mMCI (18)	<b>425,7 (95,1)</b>	8,6 (5,6)		<b>390,7 (71,1)</b>	8,5 (3,3)		477,6 (75,7)	5,0 (2,4)	462,4 (68,0)	5,3 (3,1)
<b>gruppo di controllo (30)</b>	386,2 (43,0)	7,0 (2,9)		363,6 (34,6)	6,6 (3,9)		489,3 (39,5)	<b>5,2 (1,8) *</b>	466,6 (66,6)	<b>7,7 (2,4) *</b>

*in grassetto: aumento del 40% dell'effetto N400 (risposta allo stimolo incongruente vs stimolo congruente) nei controlli*

*in rosso: p<0.05*

*in blu: ridotto effetto N400*

Differenze significative dei valori medi di latenza della P300 visiva ed uditiva sono emerse nel gruppo mMCI rispetto ai controlli. Nel gruppo totale MCI, tale differenza si avvicinava alla significatività ( $p=0.061$ ).

L'effetto N400 era significativamente ridotto in tutti i gruppi di MCI (maggiormente nel gruppo mMCI  $p=0.003$ ) e nel gruppo in generale.

I pattern di alterazione, ritardo o assenza, della P300 visiva ed uditiva cumulate sono riportati nel grafico 2.

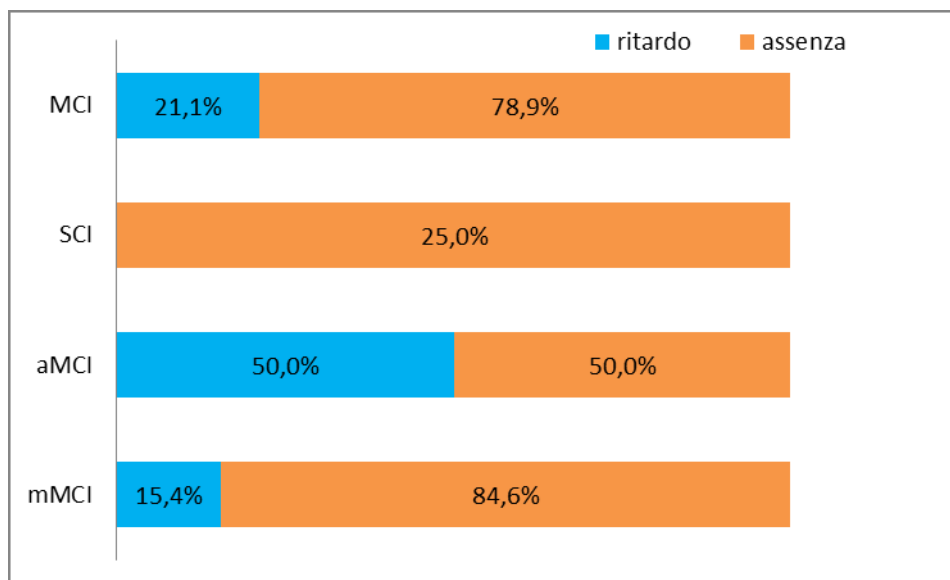


Grafico 2. Pattern di alterazioni cumulate della P300 visiva ed uditiva

È emerso un pattern prevalente di assenza del potenziale rispetto al ritardo sia nel gruppo generale che nei sottotipi di MCI.

Per quanto riguarda l'N400, il grafico 3 mostra i pattern di alterazione relativi all'ampiezza del potenziale in risposta allo stimolo incongruente: sono riportati la riduzione di voltaggio

(ridotto effetto N400) e l'assenza dello stesso (onda non identificabile).

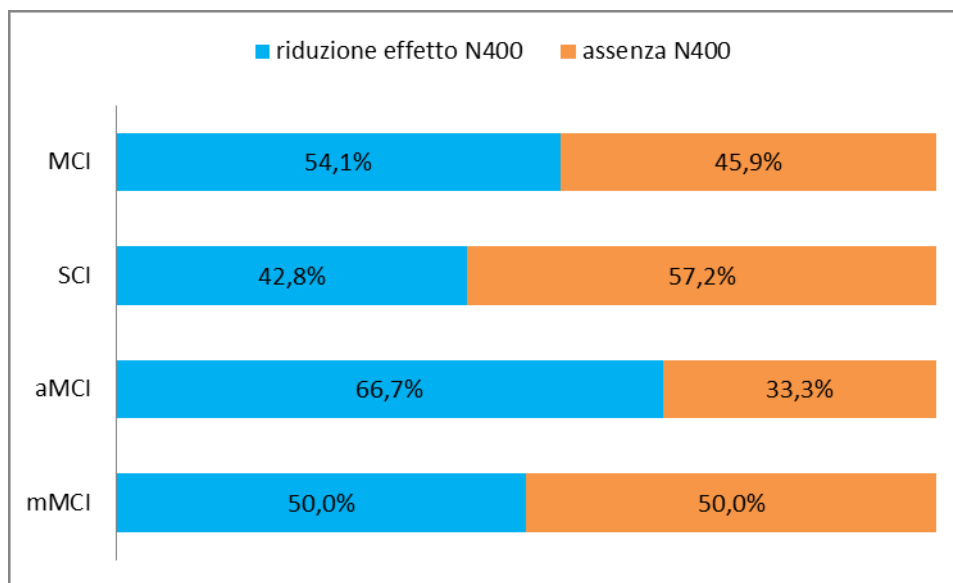


Grafico 3. Pattern di alterazioni della N400

Anche per le alterazioni della N400, si configura un prevalente pattern di assenza della risposta rispetto alla riduzione dell'effetto N400.

Si sottolinea che, la N400 in risposta alla lettura della prima parola (priming semantico) era assente in 8 pazienti (18,6%) nel gruppo generale ed essi appartenevano tutti al sottotipo mMCI. Di conseguenza, in tali soggetti non era evocabile l'N400 da stimolo congruente ed anche la risposta allo stimolo incongruente.

Nel complesso, la P300 è risultata alterata in una minore proporzione di pazienti rispetto alla N400 sia nel gruppo totale che nei sottotipi. In particolare tali alterazioni erano maggiormente rappresentate nei pazienti del gruppo mMCI (l'N400 raggiungeva il 100% della popolazione di pazienti) mentre la loro distribuzione nei gruppi SCI e aMCI era pressochè sovrapponibile (Grafico 4).

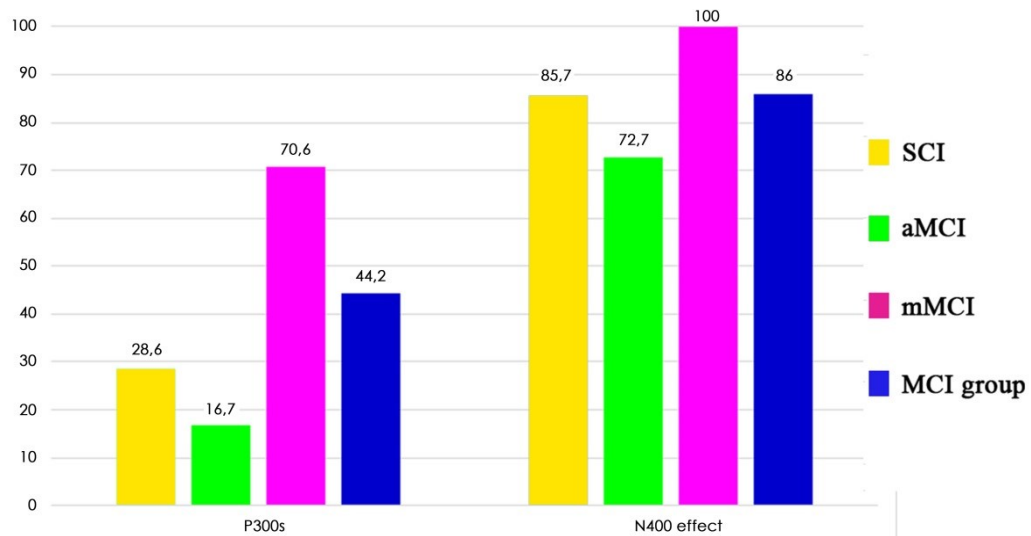


Grafico 4. Percentuali di alterazione dei singoli test NP della P300 e dell'effetto N400 nei sottotipi di MCI e nel gruppo totale di MCI

La Figure 1 mostra i tracciati della P300 visiva ed uditiva ottenute in un soggetto di controllo ed in un paziente con aumento della latenza.

La Figura 2 mostra il normale effetto N400 in un soggetto di controllo e l'effetto N400 alterato (riduzione dell'ampiezza) in un paziente con MCI.

In Figura 3 sono mostrate le mappe di voltaggio della N400 ottenute in un soggetto di controllo ed in un paziente con riduzione dell'effetto N400.

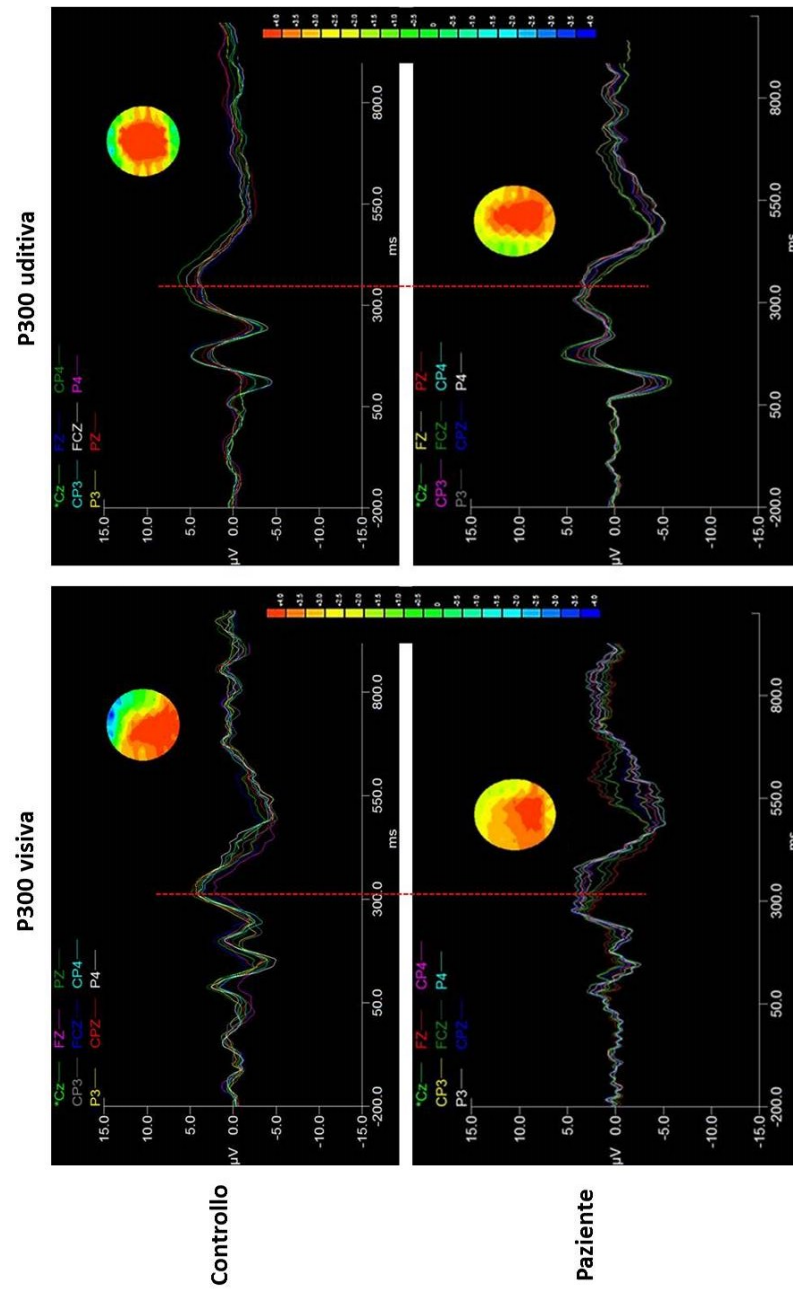


Fig .1 Confronto dei tracciati della P300 visiva ed acustica in un soggetto di controllo ed in un paziente con MCI (modesto aumento di latenza e riduzione di ampiezza)

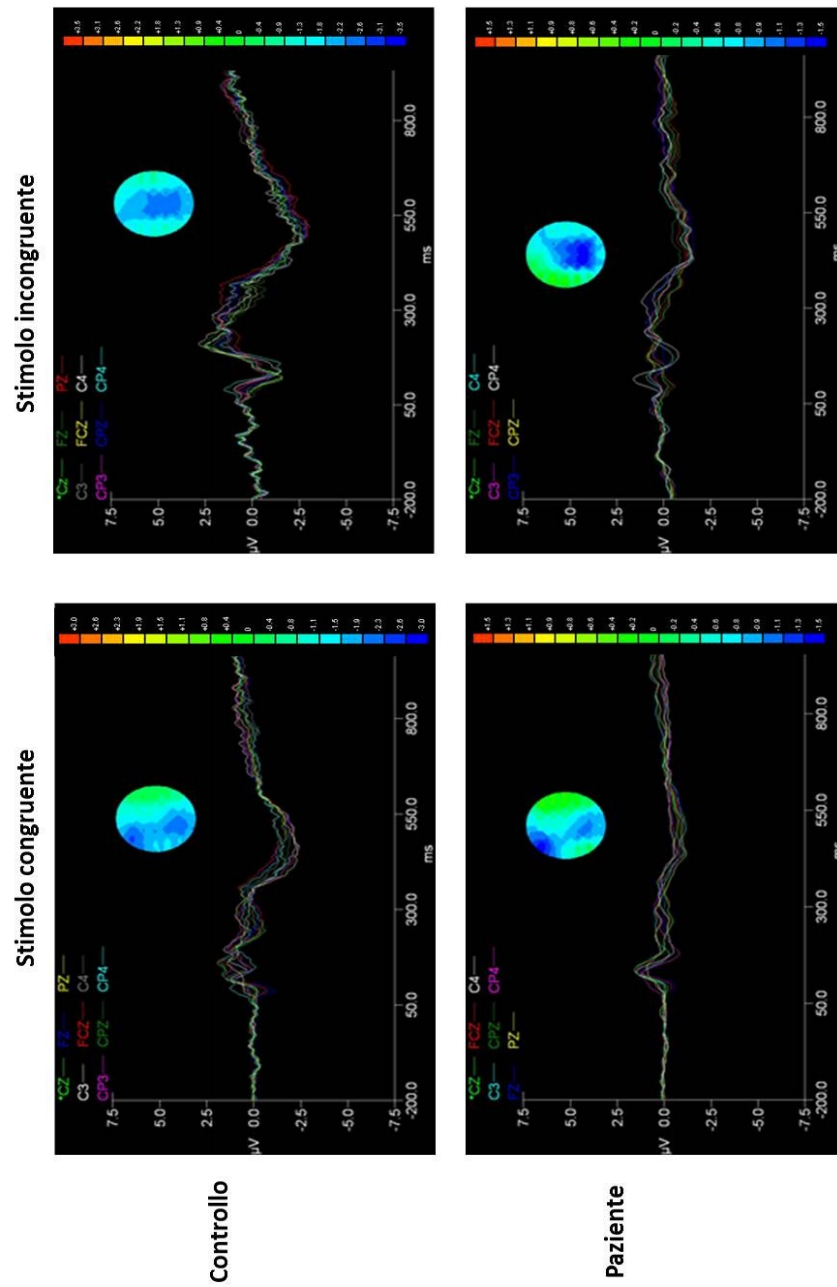


Fig. 2 Confronto dei tracciati della N400 in un soggetto di controllo ed in un paziente con MCI. Si sottolinea la significativa riduzione di ampiezza della N400 da stimolo incongruente rispetto all'ampiezza dell'N400 da stimolo congruente nel paziente



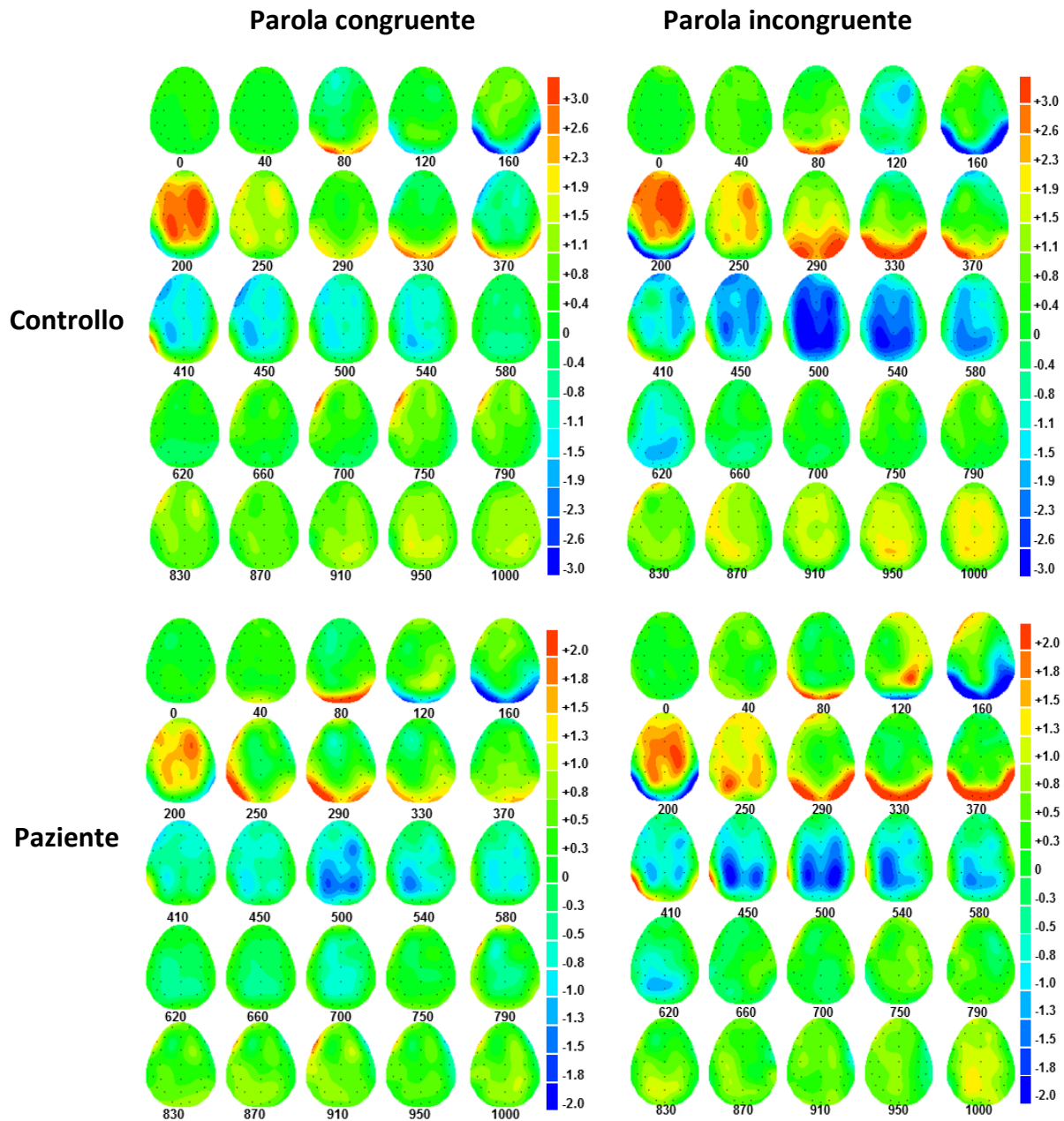


Fig. 3 Cartooning delle mappe di voltaggio della N400 alla lettura dello stimolo congruente e dello stimolo incongruente (effetto N400) in un controllo ed in un paziente. Nel paziente con MCI si osserva una significativa riduzione del voltaggio del potenziale linguistico e una più povera rappresentazione topografica.

Giovanna Sanna

Contributo dei potenziali evento-correlati (ERPs) e della scintigrafia cerebrale di perfusione (SPECT) 99mTc-HMPAO nella diagnosi clinica e neuropsicologica di pazienti con Mild Cognitive Impairment (MCI)

Tesi di dottorato in Neuroscienze - Università Degli Studi di Sassari

## 7.4 SPECT

Tutti i pazienti sottoposti a SPECT mostravano almeno un'area di ipoperfusione ed una maggiore compromissione dell'emisfero sinistro rispetto al controlaterale, sia valutando i singoli lobi che le specifiche aree di Broadmann.

Abbiamo considerato patologiche quelle aree che mostravano valori di perfusione  $<1,5$  DS rispetto alla popolazione normale di controllo di pari caratteristiche contenuta nel software dedicato NEUROGAM.

Nel grafico 5 sono indicati i dati relativi alla perfusione dei lobi cerebrali destro e sinistro nel gruppo MCI.

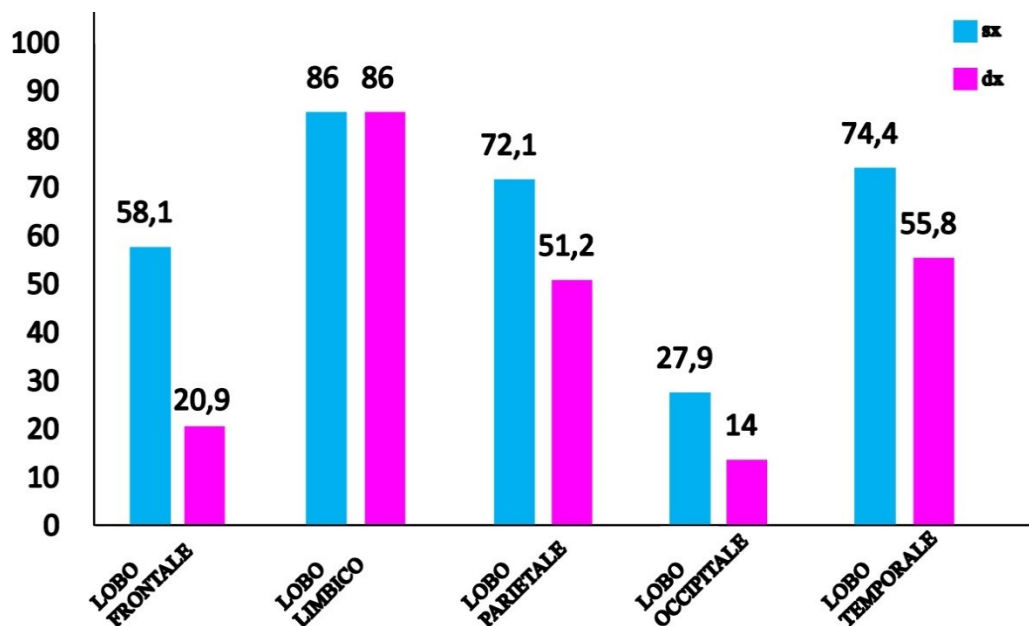


Grafico 5. Dati relativi ai valori di ipoperfusione nei lobi cerebrali sx e dx nel gruppo MCI.

## Lobo frontale

Il gruppo MCI mostra valori di perfusione patologici nel 58.1% dei pazienti a sinistra vs 20.9% a destra e in particolare nelle aree BA6, BA8, BA9 e BA44 (vedi Grafico 6).

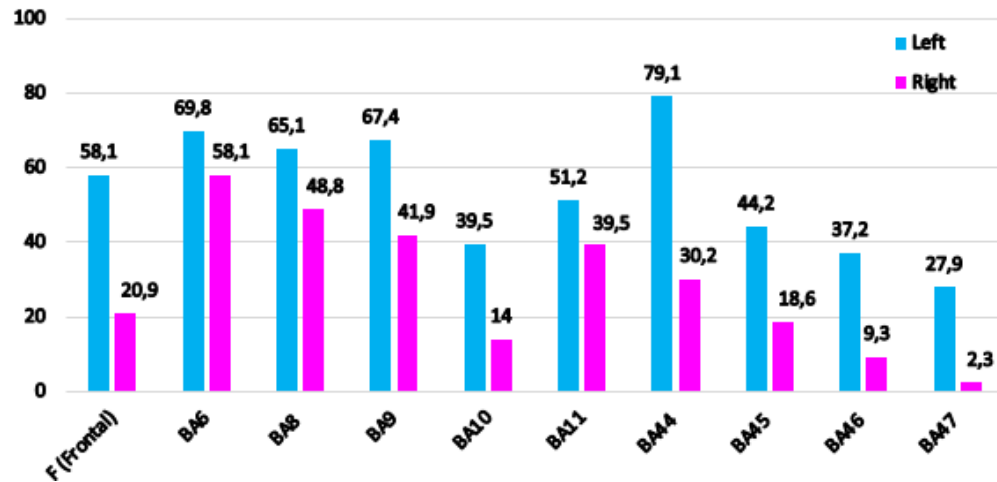


Grafico 6. Dati relativi alla perfusione nel lobo frontale sx e dx nel gruppo MCI.

Il dato si riconferma anche nella analisi dei singoli sottogruppi con interessamento delle stesse aree nei pazienti SCI e aMCI. Il gruppo mMCI mostra invece una compromissione più estesa anche alle aree BA10, BA45 e BA46.

Si sottolinea inoltre la differenza di perfusione dell'area BA44 a sinistra (79.1%) vs destra (30.2%), pattern che si ripete anche nei singoli sottotipi (vedi Grafico 7 e 8).

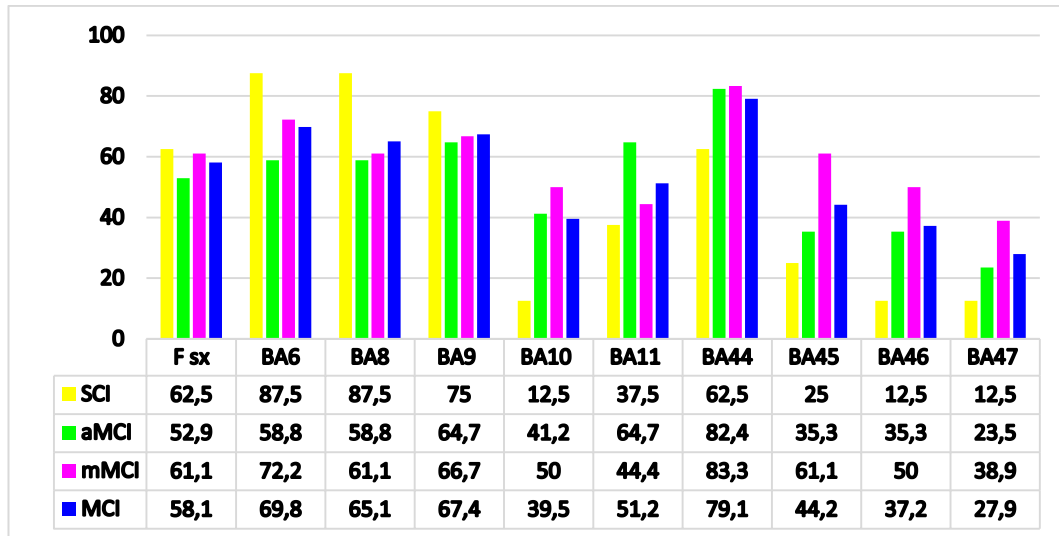


Grafico 7. Dati relativi alla perfusione nel lobo frontale sinistro e nelle singole aree di Broadmann per sottotipo di malattia

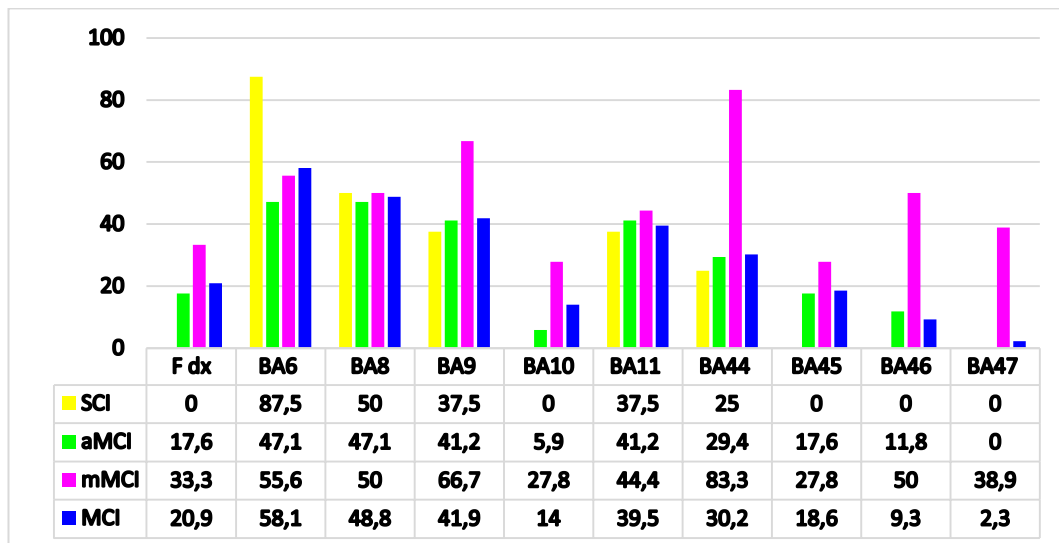


Grafico 8. Dati relativi alla perfusione nel lobo frontale destro e nelle singole aree di Broadmann per sottotipo di malattia

Giovanna Sanna

Contributo dei potenziali evento-correlati (ERPs) e della scintigrafia cerebrale di perfusione (SPECT) 99mTc-HMPAO nella diagnosi clinica e neuropsicologica di pazienti con Mild Cognitive Impairment (MCI)

Tesi di dottorato in Neuroscienze - Università Degli Studi di Sassari

## Lobo limbico

Il lobo limbico mostra valori di perfusione alterati bilateralmente nell'86% del gruppo di pazienti MCI; l'area BA36 è compromessa nel 100% dei pazienti a sinistra e nel 90.7% a destra (vedi Grafico 9), ma questo dato non risulta significativo dal punto di vista statistico (vedi Grafico 10 a e b).

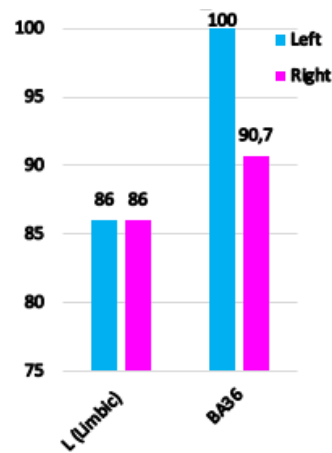


Grafico 9. Dati relativi alla perfusione delle aree limbiche a sinistra e destra nel gruppo MCI.

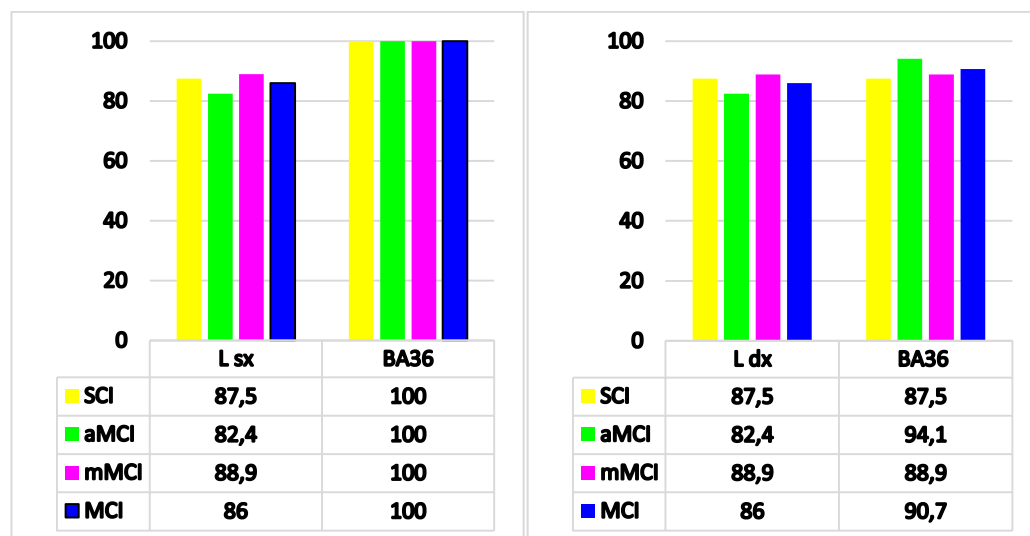


Grafico 10 a e b. Ipoperfusione lobo limbico e area 36 a sinistra e a destra per sottotipo di malattia

Giovanna Sanna

Contributo dei potenziali evento-correlati (ERPs) e della scintigrafia cerebrale di perfusione (SPECT) 99mTc-HMPAO nella diagnosi clinica e neuropsicologica di pazienti con Mild Cognitive Impairment (MCI)

Tesi di dottorato in Neuroscienze - Università Degli Studi di Sassari

## Lobo occipitale

Il lobo occipitale presenta valori di ipoperfusione nel 27.9% dei pazienti a sinistra e nel 14% a destra (vedi Grafico 11).

L'analisi dei singoli sottotipi fa emergere una maggiore compromissione di BA19 nel gruppo SCI (62.5% a sx vs 25% a dx), che si conferma anche per gli altri sottotipi (Grafico 12 a e b).

Tuttavia la distribuzione del campione per sottotipi di MCI nella BA19sx è risultata statisticamente significativa ( $p=0.002$ )

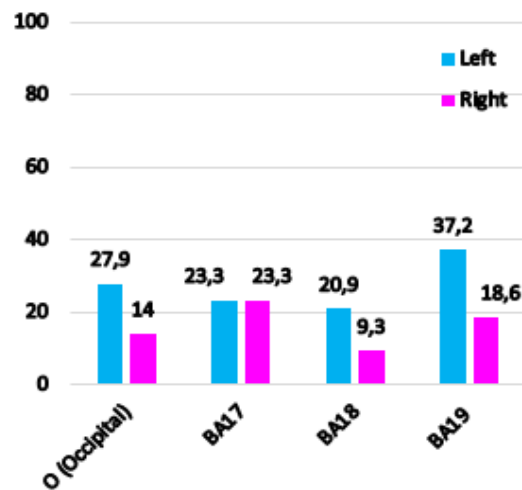


Grafico 11. Dati relativi alla perfusione del lobo occipitale sinistro e destro nel gruppo MCI

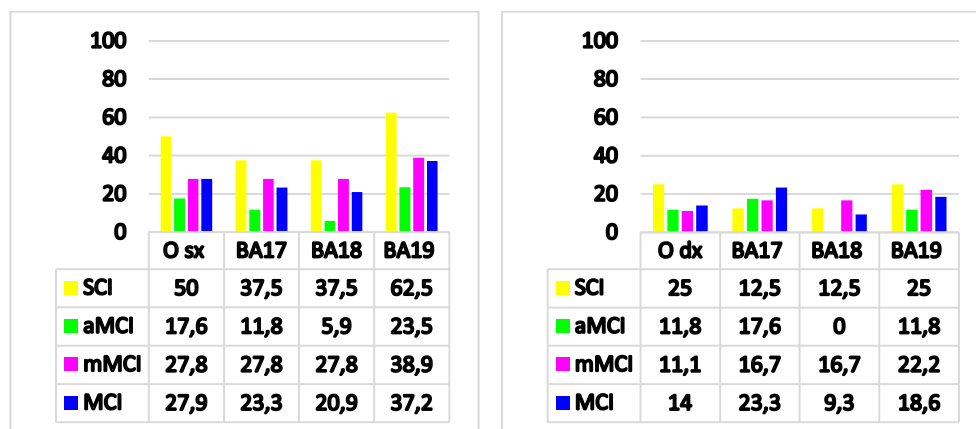


Grafico 12 a e b . Dati relativi alla perfusione del lobo occipitale sinistro e destro e nelle singole aree di Broadmann

Giovanna Sanna

Contributo dei potenziali evento-correlati (ERPs) e della scintigrafia cerebrale di perfusione (SPECT) 99mTc-HMPAO nella diagnosi clinica e neuropsicologica di pazienti con Mild Cognitive Impairment (MCI)

Tesi di dottorato in Neuroscienze - Università Degli Studi di Sassari

### Lobo parietale

Nel gruppo MCI il lobo parietale mostra valori di perfusione patologici nel 72.1% a sinistra e nel 51.2% a destra (vedi Grafico 13); le aree particolarmente compromesse sono risultate BA5 bilateralmente e BA39 (60.5% a sx vs 23.3% a dx). In particolare, questo dato si conferma anche nei diversi sottotipi, soprattutto mMCI (66.7% a sx vs 27.8 a dx). L'analisi statistica non ha mostrato dati significativi (vedi Grafico 14 a e b).

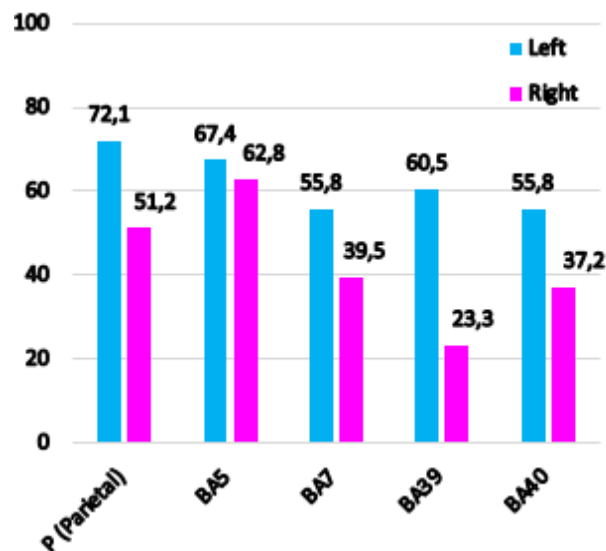


Grafico 13. Dati relativi alla perfusione dei lobi parietali a sinistra e destra nel gruppo MCI

Inoltre, nei singoli sottogruppi, emerge che il gruppo SCI mostra valori di ipoperfusione patologici di BA5 bilateralmente, BA7 (75% a sx vs 37.5%) e BA40 (50% a sx vs 12.5% a dx).

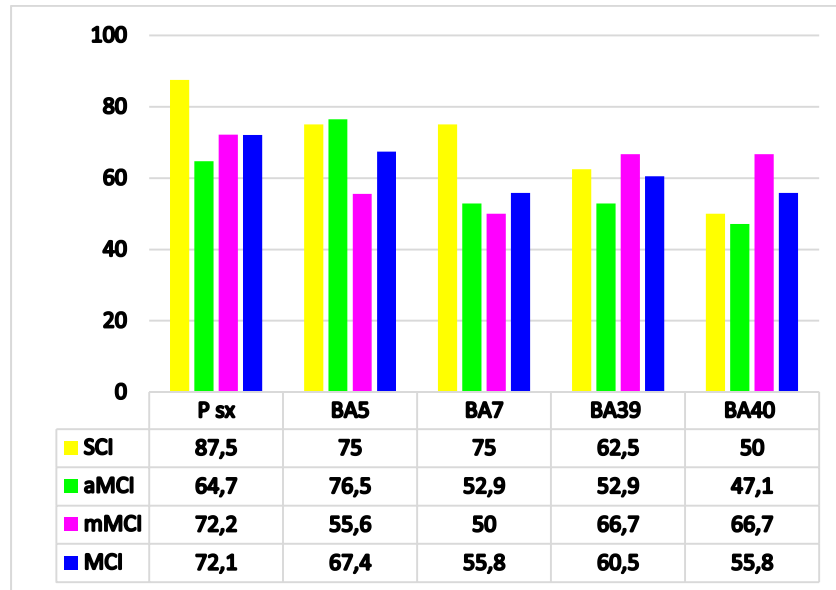


Grafico 14 a. Dati relativi alla perfusione del lobo parietale sinistro e per singole aree di Broadmann

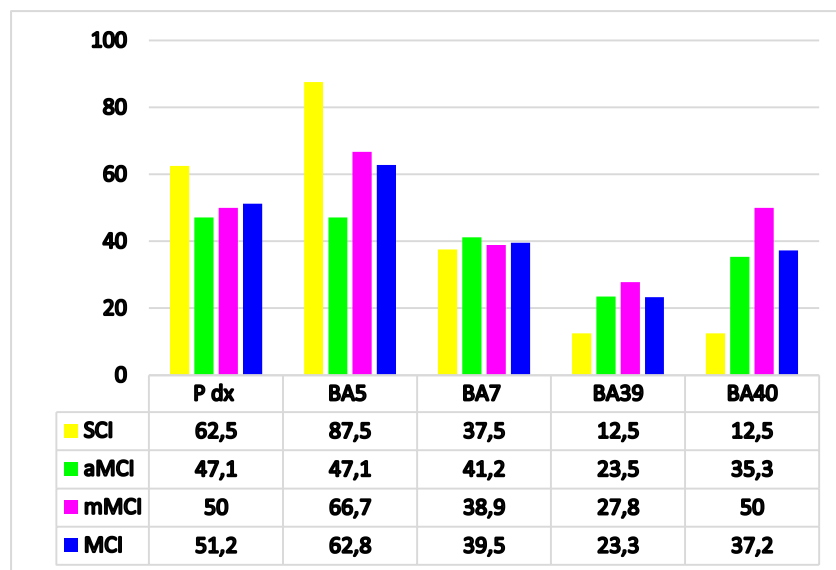


Grafico 14 b. Dati relativi alla perfusione del lobo parietale destro e nelle singole aree di Broadmann e per sottotipo di malattia

Giovanna Sanna

Contributo dei potenziali evento-correlati (ERPs) e della scintigrafia cerebrale di perfusione (SPECT) 99mTc-HMPAO nella diagnosi clinica e neuropsicologica di pazienti con Mild Cognitive Impairment (MCI)

Tesi di dottorato in Neuroscienze - Università Degli Studi di Sassari



## Lobo temporale

Il lobo temporale ha presentato valori di ipoperfusione nel 74.4% dei pazienti a sinistra e nel 55.8% dei pazienti a destra in modo statisticamente significativo ( $p=0.015$ ); analizzando le singole aree cerebrali, risultavano significativamente alterate le aree BA20 ( $p=0.022$ ), BA22 ( $p=0.023$ ), BA37 ( $p=0.015$ ) (Grafico 15).



Grafico 15. Dati relativi alla perfusione nei lobi temporali sinistre e destre del gruppo MCI

Le aree maggiormente ipoperfuse a livello temporale sono apparse essere l'area 20, 22 e 38 bilateralmente e l'area 37 a dx (vedi Grafico 16 a e b).

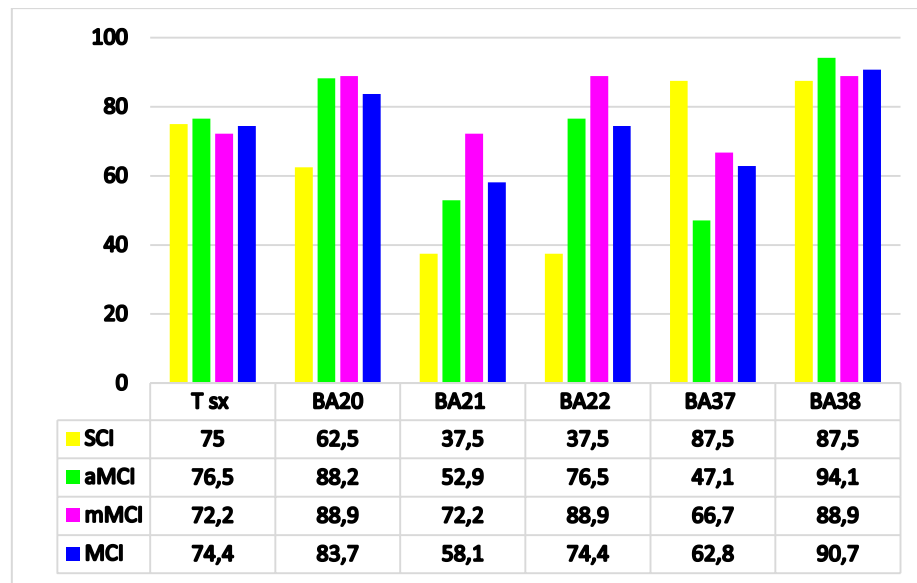


Grafico 16 a. Dati relativi alla perfusione del lobo temporale sinistro e per singole aree di Broadmann nei sottotipi di malattia

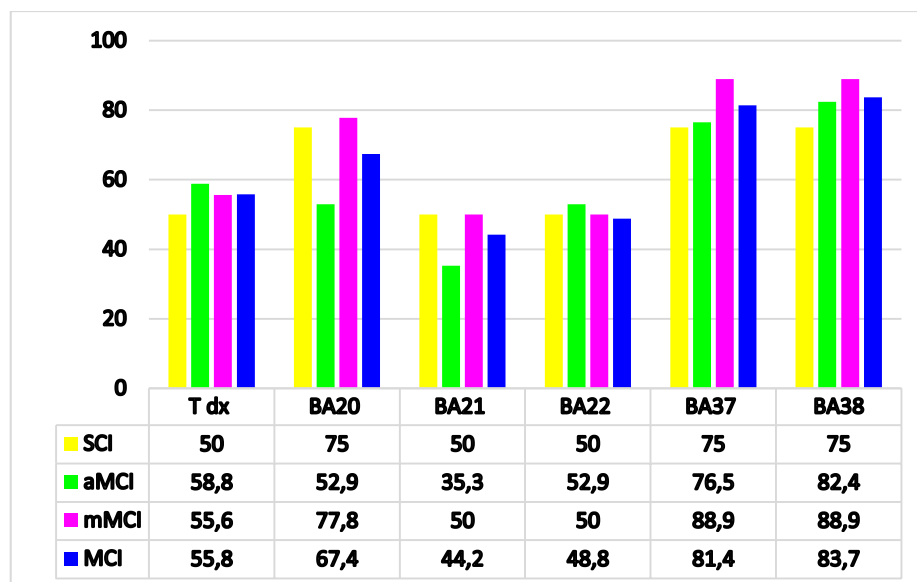


Grafico 16 b. Dati relativi alla perfusione del lobo temporale destro e per singole aree di Broadmann nei sottotipi di malattia

Giovanna Sanna

Contributo dei potenziali evento-correlati (ERPs) e della scintigrafia cerebrale di perfusione (SPECT) 99mTc-HMPAO nella diagnosi clinica e neuropsicologica di pazienti con Mild Cognitive Impairment (MCI)

Tesi di dottorato in Neuroscienze - Università Degli Studi di Sassari

## 7.5 Analisi statistica

I dati clinico-anamnestici, i risultati dei test psicometrici, degli ERPs (P300 visiva ed uditiva, ed N400) e della SPECT, sono stati analizzati statisticamente al fine di studiare la distribuzione delle loro alterazioni nel gruppo MCI complessivo e nei sottotipi SCI, aMCI e mMCI. Vengono riportate solo le correlazioni statisticamente significative ( $p < 0.05$ ).

La distribuzione di genere, femmine e maschi, nei tre sottotipi di MCI era significativa nel gruppo con mMCI ( $p = 0,039$ ).

La presenza di depressione si distribuiva in maniera significativa solo nel gruppo mMCI ( $p = 0,011$ ).

Durata di malattia e scolarità non hanno mostrato significatività di distribuzione nei tre gruppi.

Le alterazioni dei punteggi nel test della memoria episodica erano significativamente più gravi nel sottotipo di malattia più severo mMCI ( $p = 0,028$ ).

Le alterazioni dei punteggi nel test delle parole di Rey avevano una distribuzione che si avvicinava alla significatività ( $p = 0,070$ ). Confrontando SCI e aMCI, la distribuzione risultava statisticamente significativa ( $p = 0.045$ ), così come SCI e mMCI ( $p = 0.030$ ) ad indicare un peggioramento nelle performances al test di rievocazione differita con il progredire della malattia.

Analogamente, le alterazioni di latenza ed ampiezza della P300 visiva ed uditiva erano significativamente più gravi nel sottotipo di malattia mMCI (rispettivamente  $p = 0,028$  e  $p = 0.041$ ;  $p = 0.019$  e  $p = 0.029$ ). Anche per l'N400, le alterazioni della latenza ed ampiezza della N400 da stimolo congruente erano più gravi nel gruppo mMCI (rispettivamente  $p = 0,002$  e  $p = 0.001$ ).

Si sottolinea che nessuna differenza significativa è emersa nella distribuzione delle alterazioni dell'effetto N400 tra i sottotipi di malattia.

Le alterazioni statisticamente significative nelle indagini scintigrafiche interessavano:

- le aree frontali dove il lobo sinistro è compromesso nel 58.1% dei pazienti appartenenti al gruppo MCI vs il 20.9% a destra ( $p=0.00022$ ) e in particolare nelle aree BA8 ( $p=0.0336$ ), BA9 ( $p=0.007$ ), BA10 ( $p=0.004$ ), BA45 ( $p=0.006$ ), BA46 ( $p=0.049$ ), BA47 ( $p=0.0097$ );

- il lobo occipitale in cui la distribuzione del campione per sottotipi di MCI nella BA19sx è risultata statisticamente significativa ( $p=0.002$ );

- il lobo temporale è risultato ipoperfuso nel 74.4% dei pazienti a sinistra e nel 55.8% dei pazienti a destra in modo statisticamente significativo ( $p=0.015$ ); alterazioni significative sono state riportate carico delle aree BA20 ( $p=0.022$ ), BA22 ( $p=0.023$ ), BA37 ( $p=0.015$ ).

Si sottolinea inoltre che l'emisfero sinistro è sempre più compromesso rispetto a quello controlaterale nelle aree frontali (BA44) ed in modo particolare quelle prefrontali (BA6, BA8, BA9) soprattutto nel gruppo SCI. L'area BA44 è risultata compromessa in tutti i gruppi di malattia con risultati pressochè sovrapponibili, ad eccezione che nel gruppo mMCI dove è risultata maggiormente compromessa a dx.

A livello temporale, le aree maggiormente ipoperfuse a sx sono BA20, 21 e 38 bilateralmente e BA37 a dx (soprattutto nel sottotipo SCI).

## 8. DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

L'obiettivo iniziale del nostro studio è stato quello di valutare se il contributo combinato delle due metodiche ERPs e SPECT potesse essere uno strumento utile per una diagnosi più precoce e raffinata di MCI, al fine di individuare da un lato gli aspetti neuropsicologici selettivamente coinvolti all'esordio di malattia, dall'altro correlarli con specifici network neuronali la cui disfunzione potesse giustificare il deficit cognitivo.

L'MCI è infatti un disturbo complesso ed eterogeneo.

La casistica da noi studiata sotto i diversi profili neuropsicologico, neurofisiologico e di neuroimaging funzionale si caratterizzava per una compromissione delle funzioni mnestiche rilevabile in tutti i sottotipi e che caratterizzava l'esordio del quadro clinico (vedi capitolo MCI e sistemi di memoria).

La complessità della organizzazione dei sistemi di memoria, ci ha indotto a formulare delle riflessioni sulla natura del deficit funzionale alla base della compromissione cognitiva dei nostri pazienti.

Ci è sembrato utile pertanto rivedere l'organizzazione dei diversi sistemi di memoria alla luce delle nuove conoscenze derivanti dagli studi di neuroimaging funzionale e dei dati neurofisiologici della letteratura corrente, in particolare la revisione che Baddeley AD recentemente ha formulato sulle complesse interazioni fra WM e MLT (Baddeley AD 2003, 2012).

Alla luce dei risultati neuropsicologici, neurofisiologici e scintigrafici ottenuti e delle nuove correlazioni fra sistemi di MLT e MBT, sembrerebbe semplicistico interpretare il deficit cognitivo in corso di MCI come risultato di un coinvolgimento di una singola area funzionale, ma piuttosto di diversi network che interessano

tutto il sistema di memoria a breve e lungo termine e in particolare la working memory.

Iniziamo adesso ad analizzare i dati neurofisiologici che documentano nella nostra casistica marcate alterazioni degli ERPs, sia della P300 che della N400 (vedi risultati).

In sintesi, le alterazioni riportate dai pazienti nei test NP, sia come gruppo complessivo che nei sottotipi, erano presenti nel 50-60% di essi. Nell'analisi dei sottogruppi, è emerso che il gruppo mMCI presentava quantitativamente e qualitativamente un pattern di alterazioni più grave rispetto ai pazienti con aMCI in accordo ai dati di letteratura (Perri R et al 2007; Alexopoulos P et al., 2006).

La P300 trova i suoi correlati neurobiologici nell'attivazione di generatori delle aree frontali, che sono attivi nel mantenimento delle risorse attentive durante la discriminazione tra stimoli target e stimoli frequenti, e generatori delle regioni temporo-parietali durante il processo di memorizzazione degli stimoli (Polich J 2007). Queste aree cerebrali, in particolare le aree temporali, è riportato in letteratura essere precocemente colpite dal processo degenerativo alla base del MCI e AD (Olichney J et al 2011).

Per quanto riguarda la N400, si è registrata una assenza della risposta alla lettura della prima parola (priming semantico) in circa il 20% del gruppo MCI totale e questi pazienti appartenevano tutti al sottotipo mMCI. In questi soggetti, conseguentemente, non è risultato evocabile il potenziale linguistico da stimolo incongruente (effetto N400). Ciò esprime una marcata disfunzione dei meccanismi di riconoscimento di una parola, quali l'accesso ed il recupero del suo significato dal magazzino semantico, espressione verosimilmente di un danno focale delle aree temporali infero-anteriori (giro fusiforme anteriore e giro paraippocampale) in accordo ai dati di letteratura (McCarthy G et al 1995; Nobre AC et al 1995).

Ciò può indurre ad ipotizzare che il marker “effetto N400” possa essere identificato come un indicatore sensibile dell’integrità dei circuiti neuronali responsabili dei processi di elaborazione semantica, in relazione all’accesso ed al recupero delle singole parole.

Sebbene ci sia molto da approfondire circa l’esatta natura dei processi neurali e computazionali che sottendono la N400, sembra chiaro che essi derivino da un’ampia rete corticale coinvolgente aree cerebrali spazialmente distribuite ma temporalmente connesse in entrambi gli emisferi (ognuno dei quali fornisce un contributo distinto) la cui funzione è di elaborare l’informazione sensoriale modalità-specifica ed integrarla con la rappresentazione a livello concettuale (Kutas M e Federmeier KD 2000).

La riduzione dell’effetto N400 nel MCI e nella AD, soprattutto nell’osservazione longitudinale, può essere la manifestazione della degenerazione dei suoi generatori che si suppone siano distribuiti nel giro fusiforme anteriore, nel giro paraippocampale, nel solco temporale superiore e nelle cortecce parietali posteriori e prefrontale (McCarthy G et al 1995; Nobre AC et al 1994; Halgren E et al 1994).

Analizziamo adesso i dati SPECT.

Come evidenziato dai risultati emersi dallo studio SPECT si documenta un maggior coinvolgimento dell’emisfero sinistro rispetto al controlaterale.

In particolare, le alterazioni scintigrafiche dei lobi cerebrali e delle singole aree erano significativamente più gravi nelle aree frontali dove il lobo sinistro è compromesso nel 58.1% dei pazienti appartenenti al gruppo MCI vs il 20.9% a destra e l’ipoperfusione risulta statisticamente significativa nelle aree BA8, BA9, BA10, BA45, BA46, BA47; il lobo limbico è ipoperfuso nell’86% dei pazienti bilateralmente; il lobo occipitale è ipoperfuso nel 27.9% dei

pazienti a sinistra e nel 14% a destra; non sono emersi dati statisticamente significativi nelle varie aree; tuttavia la distribuzione del campione per sottotipi di MCI e BA19sx è risultata statisticamente significativa; il lobo temporale è risultato ipoperfuso nel 74.4% dei pazienti a sinistra e nel 55.8% dei pazienti a destra in modo statisticamente significativo; analizzando le singole aree cerebrali, risultavano significativamente alterate le aree BA20, BA22, BA37.

Si sottolinea il fatto che l'emisfero sinistro appariva sempre più compromesso rispetto a quello controlaterale nelle aree frontali (BA44) e prefrontali (BA6,8,9) soprattutto nel gruppo SCI.

L'area BA44 è risultata compromessa in tutti i gruppi di malattia con risultati pressochè sovrapponibili, ad eccezione che nel gruppo mMCI dove è risultata maggiormente compromessa a dx.

A livello temporale, le aree maggiormente ipoperfuse a sx sono risultate la BA20 e BA22, la BA38 bilateralmente e BA37 a dx (soprattutto nel sottotipo SCI).

La valutazione globale del neuroimaging con SPECT permette di focalizzare l'attenzione su quelle aree corticali cerebrali che, presentando una riduzione della perfusione, esprimono in modo indiretto un danno funzionale.

Pur nella variabilità individuale, sono state identificate alcune aree cerebrali di ipoperfusione verosimilmente correlate fra loro da un punto di vista funzionale.

Tali aree, progressivamente maggiormente ipoperfuse nell'ambito dei vari gruppi clinici, sono evidenti nelle immagini illustrate di seguito.



- 1) SCI: aree di ipoperfusione in sede fronto-parietale, temporo-mesiale e parieto-occipitale prevalentemente dell'emisfero cerebrale sinistro (Fig. 1).
- 2) aMCI: ipoperfusione estesa in sede fronto-parietale, temporo-mesiale e parieto-occipitale prevalentemente dell'emisfero cerebrale sinistro (Fig. 2).
- 3) mMCI: ampie aree confluenti di ipoperfusione in sede fronto-parietale, temporo-mesiale e parieto-occipitale prevalentemente dell'emisfero cerebrale sinistro (Figg. 3 e 4)

Subjective cognitive impairment: SPECT cerebrale di perfusione con 99mTc HM-PAO

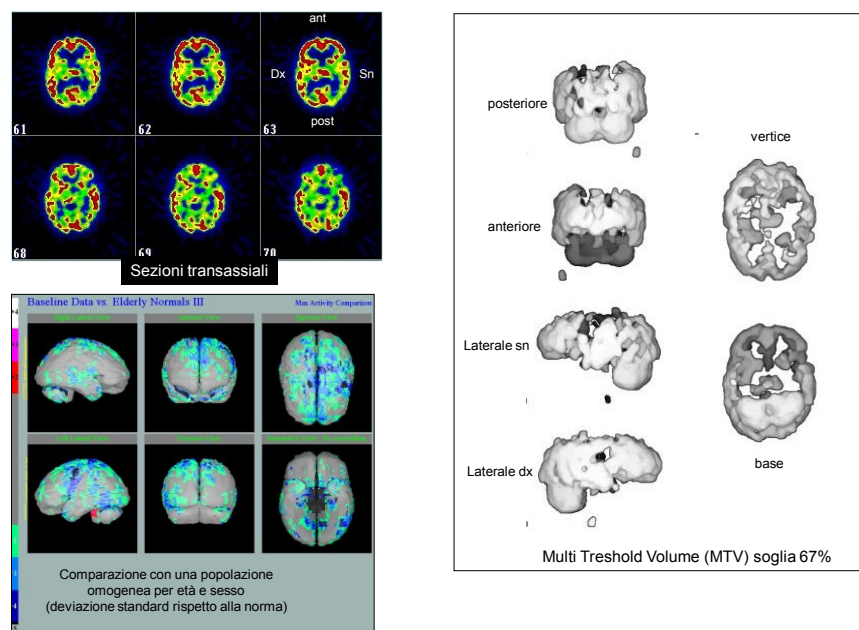


Fig. 1 Pattern di ipoperfusione nel sottotipo SCI

Giovanna Sanna

Contributo dei potenziali evento-correlati (ERPs) e della scintigrafia cerebrale di perfusione (SPECT) 99mTc-HMPAO nella diagnosi clinica e neuropsicologica di pazienti con Mild Cognitive Impairment (MCI)

Tesi di dottorato in Neuroscienze - Università Degli Studi di Sassari

a Mild Cognitive Impairment: SPECT cerebrale di perfusione con 99mTc-HM-PAO

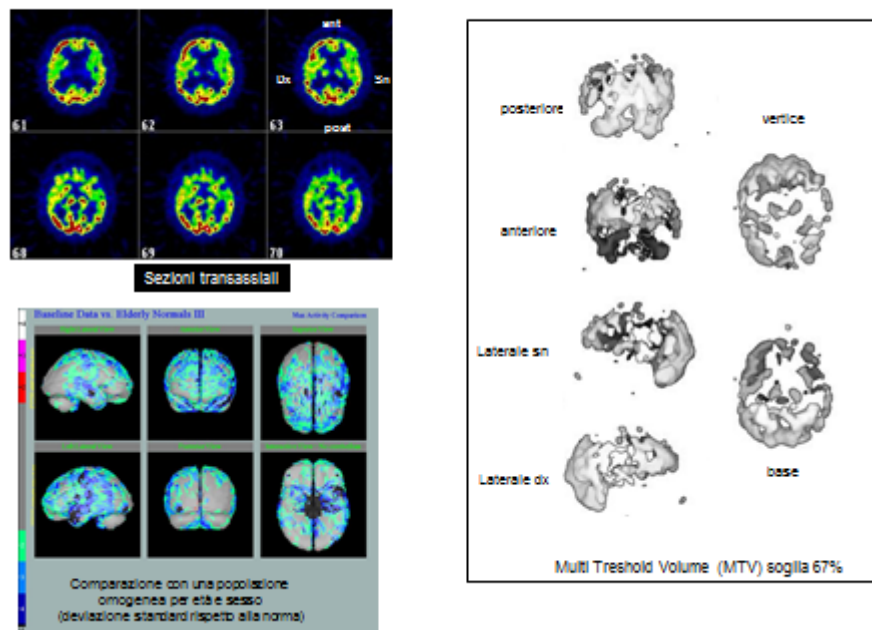


Fig. 2 Pattern di ipoperfusione nel sottotipo aMCI

m Mild Cognitive Impairment: SPECT cerebrale di perfusione con 99mTc-HM-PAO

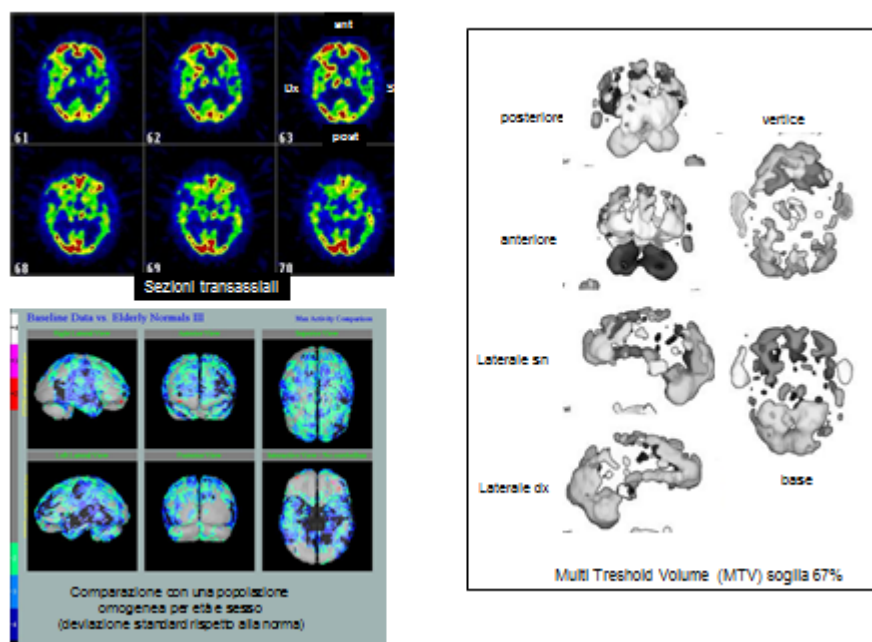


Fig. 3 Pattern di ipoperfusione nel sottotipo mMCI

Giovanna Sanna

Contributo dei potenziali evento-correlati (ERPs) e della scintigrafia cerebrale di perfusione (SPECT) 99mTc-HMPAO nella diagnosi clinica e neuropsicologica di pazienti con Mild Cognitive Impairment (MCI)

Tesi di dottorato in Neuroscienze - Università Degli Studi di Sassari

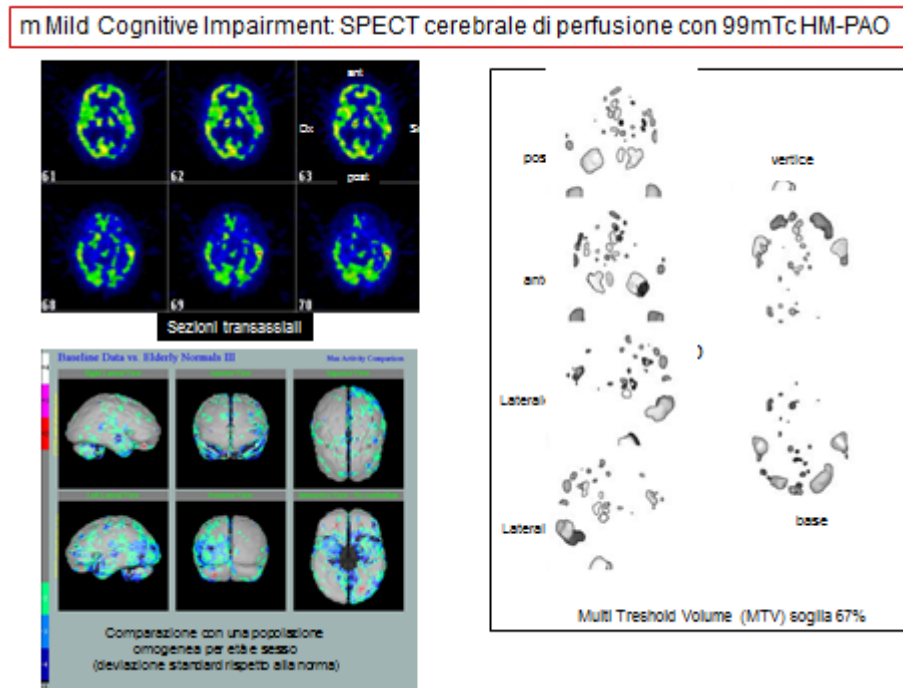


Fig. 4 Pattern di ipoperfusione in mMCI a rapida evoluzione

Dall'attenta analisi degli studi neurofisiologici e neuroradiologici emerge una convergenza di informazioni che riguardano l'individuazione dei network funzionali precocemente coinvolti nella casistica dei nostri pazienti MCI.

Possiamo affermare che entrambe le indagini documentano un coinvolgimento di circuiti diffusamente distribuiti a livello fronto-temporo-parieto-occipitale la cui gravità va progressivamente aumentando nelle diverse fasi di malattia, pur nella differente variabilità individuale. Sembra di individuare in tali circuiti i sistemi che supportano la WM secondo il modello rivisto da Baddeley AC et al. (2012) che vede coinvolti i substrati neuroanatomici della STM e LTM.

La nostra ipotesi iniziale di una più selettiva e "focale" disfunzione delle aree temporo-mesiali, è stata rivista alla luce di

questi dati che evidenziano il ruolo fondamentale svolto nella elaborazione delle informazioni mnesiche da parte delle cortecce prefrontali dorso-laterali.

Nell'interpretare la compromissione cognitiva dei nostri soggetti nell'ambito del modello di WM (vedi modello a componenti multiple della WM), è suggestivo ipotizzare, nelle fasi più precoci di malattia, una disfunzione dei sistemi fluidi della WM e in particolare del sistema di buffer episodico che costituisce l'interfaccia fra i subsistemi della WM e LTM. Se, in accordo con i dati della letteratura, i disturbi cognitivi degli MCI all'esordio sono conseguenza di una disfunzione sinaptica con disintegrazione della plasticità neurale causata dalle forme solubili non fibrillari di A $\beta$ , pur in assenza di morte neuronale (Shankar GM e Walsh DM 2009, Selkoe DJ 2002, Oddo S et al. 2003), non è da escludere una maggiore sensibilità di tali sistemi al danno sinaptico che comporta una progressiva perdita di plasticità in circuiti che strutturalmente e funzionalmente devono essere integri per adempiere al loro ruolo dinamico.

Il precoce coinvolgimento di questi sistemi fluidi potrebbe indurre, a nostro avviso, da un lato una disfunzione delle reti semantiche della LTM nei sistemi cristallizzati che giustificano clinicamente i deficit linguistici di tipo anomico e l'assenza dell'effetto N400 agli ERPs, dall'altro potrebbero essere espressione della sindrome disesecutiva che talora sembra precedere, in alcuni soggetti, il deficit mnesico.

All'inizio della nostra discussione avevamo sottolineato la complessità dei sintomi neuropsicologici in corso di MCI e l'interpretazione e la comprensione della natura della loro disfunzione cognitiva si è modificata nel corso della nostra indagine.

L'apparente paucisintomaticità del quadro cognitivo non deve essere sottovalutata dal momento che già nel gruppo SCI questi sistemi di memoria appaiono essere funzionalmente deficitari, nonostante le corrette performances nei test neuropsicologici. È verosimile che questi sistemi fluidi, proprio per la loro versatilità e dinamicità, abbiano capacità, almeno nelle fasi iniziali, di rispondere adeguatamente alle performances richieste dai singoli test psicometrici, ma non alle strategie di problem solving che la novità e complessità della realtà quotidiana continuamente impongono.

È evidente che, con l'evoluzione della neurodegenerazione, anche i sistemi cristallizzati della LTM verranno successivamente coinvolti determinando, non più difficoltà di accesso, manipolazione e recupero delle informazioni, ma anche, per disintegrazione delle reti associative semantiche, perdita definitiva di specifiche conoscenze e rappresentazioni mentali.

Quindi MCI non sembra essere quella sindrome "focale" che inizialmente avevamo imparato a conoscere, ma, a nostro avviso, dovrebbe essere interpretata come una sindrome in cui ampi network neurali vanno incontro a disfunzione con fenomeni di diaschisi, generando quadri neuropsicologici che è indispensabile indagare con accuratezza sotto il profilo anamnestico e psicometrico.

Le indagini funzionali si sono rivelate per noi uno strumento prezioso per la comprensione di questa entità clinica, consentendoci di migliorare l'approccio sotto il profilo della prevenzione e della gestione del paziente.

Fino a quando non verranno individuati markers umorali precoci in grado di formulare una diagnosi di demenza in fase preclinica, sembra doveroso applicare alle indagini strumentali di

tipo morfologico, lo studio funzionale che, nella nostra esperienza, è stato in grado di documentare precocemente una disfunzione di network non evidenziabile dalla sola indagine neuropsicologica.

È inoltre indispensabile l'osservazione longitudinale dei pazienti fino all'eventuale manifestarsi del quadro di demenza conclamata affinché, con una indagine retrospettiva, possa essere ricostruito non solo il percorso clinico, ma anche l'andamento della evoluzione dei deficit funzionali documentati da ERPs e SPECT.

## 9. BIBLIOGRAFIA

Albert MS et al. 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. *Alzheimers Dement* 2011; 7:270-279

Alexopoulos P et al. Progression to Dementia in Clinical Subtypes of Mild Cognitive Impairment. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2006; 22(1):27-34

Amariglio RE et al. Specific subjective memory complaints in older persons may indicate poor cognitive function. *J Am Geriatr Soc* 2011; 59:1612-1617

American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual, 4<sup>th</sup> edn 1994.

Amieva H et al. Annual rate and predictors of conversion to dementia in subjects presenting mild cognitive impairment criteria defined according to a population-based study. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2004; 18(1): 87-93

Appollonio I et al. The Frontal Assessment Battery (FAB): normative values in an Italian population sample. *Neurol Sci* 2005; 26:108-16.

Arnaiz E et al. mild cognitive impairment: a crossnational comparison. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2004; 75(9): 1275-1280

Babcock H. An experiment in the measurement of mental deterioration. *Archive of Psychology* 1930; 117:105-109

Baddeley A. Working memory and executive control 1996; 351:1397-1403

Baddeley A et al. Is the word length effect in STM entirely attributable to output delay? Evidence from serial recognition 2002; 55°, 353-369

Baddeley AD and Hitch GJ. Recent Advances in learning and motivation 1974; 47-89

Baddeley AD and Logie RH. Working memory: the multiple component model 1999. In models of working memory mechanism of active maintenance and executive control. Ed. A Miyake, P Shah, Pp. 28-61. Cambridge, UK: Cambridge Univ. press

Baddeley AD. The episodic buffer: a new component of working memory? *Trends Cogn Sci* 2000; 4:417-423

Baddeley AD. Working memory, theories, models and controversies. *Annu Rev Psychol* 2012; 63:1-29

Baddeley AD. Working memory. *Science* 1992; 225:556-559

Baddeley AD. Working memory: looking back and looking forward 2003; 4:829-839

Beck AT. Beck Depression Inventory Scale 1967.

Braak H and Braak E. Staging of Alzheimer's disease-related neurofibrillary changes. *Neurobiol Aging* 1995; 16:271-278

Brodziak A et al. Clinical significance of knowledge about the structure, function, and impairments of working memory. *Medical Science Monitor* 2013; 19:327-338

Caltagirone C et al. Batteria per la valutazione del deterioramento mentale (Parte I): descrizione di uno strumento di diagnosi neuropsicologica. *Archivio di Psicologia, neurologia e psichiatria* 1995; 56(4):461-470

Caltagirone C et al. Batteria per la valutazione del deterioramento mentale (Parte II): standardizzazione e affidabilità diagnostica nell'identificazione dei pazienti affetti da sindrome demenziale. *Archivio di Psicologia, neurologia e psichiatria* 1995; 56(4):471-488

Caltagirone C et al. Batteria per la valutazione del deterioramento mentale (Parte III): analisi dei profili qualitativi di compromissione cognitiva. *Archivio di Psicologia, neurologia e psichiatria* 1995; 56(4):489-502

Capitani E (1987) Normative data and neuropsychological assessment. *Common problems in clinical practice and research. Neuropsychol Rehab* 7:295-309.

Carlesimo A et al 1995. Batteria per la valutazione del deterioramento mentale. Parte 2. Standardizzazione ed affidabilità diagnostica nell'identificazione dei pazienti affetti da sindrome demenziale. *Archivio di Psicologia, Neurologia e Psichiatria*. 56:471-488 (a).

Carlesimo A et al 1995. Batteria per la valutazione del deterioramento mentale. Parte 3. Analisi dei profili qualitativi di compromissione cognitiva. *Archivio di Psicologia, Neurologia e Psichiatria*. 56: 489-502 (b).



Chen P et al. Cognitive tests that best discriminate between presymptomatic AD and those who remain nondemented. *Neurology* 2000; 62:1199-1201

Chételat G et al. Mild cognitive impairment. Can FDG-PET predict who is to rapidly convert to Alzheimer's disease? *Neurology* 2003; 60:1374-1377

Claus JJ et al. The diagnostic value of SPECT with Tc-99m HMPAO in Alzheimer's disease: population-based study. *Neurology* 1994; 44:441-454

Corder EH et al. Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in the late onset families. *Science* 1993; 261(5123):921-923

Daneman M and Carpenter PA. Individual differences in working memory and reading. *J. Verbal Learn. Verbal Behav* 1980; 19:450-466

De Carli C. Mild cognitive impairment: prevalence, prognosis, aetiology, and treatment. *Lancet Neuro* 2003; 2(1):15-21

De Jager CA and Budge MM. Stability and predictability of the classification of mild cognitive impairment as assessed by episodic memory test performance over time. *Neurocase* 2005; 11(1):72-79

De Mauro T. *Il Dizionario della lingua italiana*. Paravia 2000

De Renzi E et al. Constructional apraxia and hemispheric locus of lesion. *Cortex* 1964; 1:170-197

De Renzi E et al. L'esame dei disturbi afasici di comprensione orale mediante una versione abbreviata del test dei gettoni. *Rivista Patologie Nervose e Mentali* 1975; 66:252-269

Diagnostic and statistical manual of mental disorders (DSM-5) 2012

Dubois B et al. Revising the definition of Alzheimer's disease a new lexicon. *Lancet Neurol* 2010; 9:1118-1127

Duncan CC et al. Event-Related Potentials in clinical research: Guidelines for eliciting, recording and quantifying mismatch negativity, P300 and N400. *Clin Neurophysiol* 2009 120:1883-1908

Farid K et al. Is brain SPECT useful in degenerative dementia diagnosis? *J Comput Assist Tomogr* 2011; 35:1-3

Flicker C et al. Mild cognitive impairment in the elderly: predictors of dementia. *Neurology* 1991; 41:1006-1009

Forlenza OV et al. Mild cognitive impairment (part 1): clinical characteristics and predictors of dementia. *Revista Brasileira de Psiquiatria* 2013; 35:178-185

Frisoni GB et al. Principal lifetime occupation and MMSE score in elderly persons. *Journal of gerontology* 1993; 6:S310-314

Gabrielli JDE et al. Functional magnetic resonance imaging of semantic memory processes in the frontal lobe. *Psychol sci* 1996; 7:278-283

Gabrielli JDE et al. The role of left prefrontal cortex in language e memory. *Proc Natl Accade Sci* 1998; 95:906-913

Gagnon M et al. Self-reported memory complaints and memory performance in elderly French community residents: results of the PAQUID Research Program. *Neuroepidemiology* 1994; 13:145-54.

Ganguli M et al. Mild cognitive impairment, amnesic type: an epidemiologic study. *Neurology* 2004; 63:115-121

Garcia-Ptacek S et al. Quejas cognitivas subjetivas: hacia una identificación precoz de la enfermedad de Alzheimer. *Neurologia* 2013; 1-10

Gauthier S et al. Mild cognitive impairment. *Lancet* 2006; 367:1262-1270

Gazzaniga MS, Ivry RB, Mangun G. *Neuroscienze cognitive*. Zanichelli 2005.

Geerlings MI et al. Cognitive reserve and mortality in dementia: the role of cognition, functional ability and depression. *Psychol Med* 1999 ; 29:1219-26.

Goodin DS et al. Long latency event related components of the auditory evoked potential in dementia. *Brain* 1978; 101:635-648

Grober E et al memory impairment, executive dysfunction, and intellectual decline in preclinical Alzheimer's disease. *J Int Neuropsychol Soc* 2008; 14:266-278

Guarch J et al. Mild cognitive impairment: a risk indicator of later dementia, or a preclinical phase of the disease? *Int J Geriatr Psychiatry* 2008; 23:257-265

Gungor HA et al. Tc-99m HMPAO brain SPECT findings in mild and moderate Alzheimer's disease: correlation with event related potentials. *Journal of the Neurological Sciences* 2005; 234:47-53

Halgren E et al. Spatio-temporal stages in face and word processing: I. Depth-recorded potentials in the human occipital, temporal and parietal lobes. *J. Physiol* 1994a; 88:1-50

Halgren E et al. Spatio-temporal stages in face and word processing: II. Depth-recorded potentials in the human frontal and rolandic cortices. *J. Physiol* 1994b; 88:51-80

Hansson O et al. Association between CSF biomarkers and incipient Alzheimer's disease in patients with mild cognitive impairment: a follow-up study. *Lancet Neurol* 2006; 5(3):228-234

Hebb DO. *The organization of behavior* (Wiley, New York 1949)

Hirao K et al. The prediction of rapid conversion to Alzheimer's disease in mild cognitive impairment using regional cerebral blood flow SPECT. *NeuroImage* 2005; 28:1014-1021

Jagust WJ et al. Relationships between biomarkers in aging and dementia. *Neurology* 2009; 73(15):1193-1199

Jonides J et al. Spatial working memory in humans as revealed by PET. *Nature* 1993; 363:623-625

Jonker C et al. Are memory complaints predictive for dementia? A review of clinical and population-based studies. *Int J Geriatr Psychiatry* 2000; 15:983-91.

Jorm AF et al. Memory complaints as a precursor of memory impairment in older people: A longitudinal analysis over 7-8 years. *Psychol Med* 2001; 31:441-449

Karakaya T et al. Pharmacological Treatment of Mild Cognitive Impairment as a Prodromal Syndrome of Alzheimer's Disease. *Current Neuropharmacology* 2013; 11:102-108

Karlsgodt KH et al. Genetic influence on the working memory circuitry: behavior, structure, function and extensions to illness. *Behav Brain Res* 2011; 225:610-622

Klunk WE et al. Imaging brain amyloid in Alzheimer's disease with Pittsburgh Compound-B. *Ann Neurol* 2004; 55(3):306-319

Knopman DS et al. Practice parameter: diagnosis of dementia (an evidence-based review). Report of the quality standards

sucommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology* 2001; 56:1143-1153

Kosslyn SM et al. Visual mental imagery activates topographically organised cortex: PET investigations. *J Cogn Neurosci* 1993; 5:263-287

Kumar R et al. Prevalence of mild cognitive impairment in 60- to 64- year-old community-dwelling individuals: The personality and Total Health through Life 60+ Study. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2005; 19:67-74

Kutas M and Hillyard S. Reading senseless sentences: brain potentials reflect semantic incongruity. *Science* 1980; 207:203-205

Kutas M e Federmeier KD. Electrophysiology reveals semantic memory use in language comprehension. *Trends in Cognitive Sciences* 2000 4:12:463-470.

Lenahan ME et al. Absence of a relationship between subjective memory complaint and objective memory impairment in mild cognitive impairment (MCI): is it time abandon subjective memory complaint as an MCI diagnostic criterion? *International Psychogeriatrics* 2012; 24:1505-1514

Luck T et al. Mild cognitive impairment in general practice: age-specific prevalence and correlate results from the Germa study on ageing, cognition and dementia in primary care patients (AgeCoDe). *Dement Geriatr Cogn Disord* 2007; 24:307-316

Maess B et al. Localizing the distributed language network responsible for the N400 measure by MEG during auditory sentence processing. *Brain research* 2006; 1096:163-172

Martin A and Chao LL. Semantic memory and the brain: structure and processes. *Current opinion in Neurobiology* 2001; 11:194-201

Matsuda H et al. Longitudinal evaluation of both morphologic and functional changes in the same individuals with Alzheimer's disease. *J Nucl Med* 2002; 43:304-311

McCarthy G et al. Language-related field potentials in the anterior-medial temporal lobe: I. Intracranial distribution and neural generators. *J Neurosci.* 1995 ;15:1080-9

McKhann G et al. Clinical diagnosis of Alzheimer's Disease: report of the NINCDS-ADRDA Work Group under the auspices of

Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease. *Neurology* 1984; 34:939-944

McMurdo ME et al. the value of HMPAO SPECT scanning in the diagnosis of early Alzheimer's disease in patients attending a memory clinic. *Nucl Med Commun* 1994; 15:405-409

Measso et al. The Mini-Mental State Examination: normative study of an Italian random sample. *Developmental neuropsychology* 1993; 9(2):77-95

Meyer P et al. Language processing within the human medial temporal lobe. *Hippocampus* 2005; 15(4):451-459

Minoshima S et al. Metabolic reduction in the posterior cingulate cortex in very early Alzheimer's disease. *Annals of Neurology* 1997; 42:85-94

Nebu A et al. Relationship between blood flow kinetics and severity of Alzheimer's disease: assessment of severity using a questionnaire-type examination, Alzheimer's disease assessment scale, cognitive sub-scale (ADAS(cog)). *Dement Geriatr Cogn Disord* 2001; 12(5):318-325

Neely JH. Semantic priming and retrieval from lexical memory: roles of inhibitionless spreading activation and limited capacity attention. *J Exp Psychol* 1977;106:226-254.

Nobili F et al. Brain SPECT in subtypes of mild cognitive impairment. Findings from the DESCRIPA multicenter study. *J Neurol* 2007; 255:1344-1353

Nobili F et al. Brain SPECT in subtypes of mild cognitive impairment. Findings from the DESCRIPA multicenter study. *J Neurol* 2008; 255:1344-1353

Nobili F et al. Resting SPECT-neuropsychology correlation in very mild Alzheimer's disease. *Clinical Neurophysiology* 2005; 116:364-375

Nobre AC and McCarthy G. Language-Related field potentials in the anterior-medial temporal lobe: II. Effects of word type and semantic priming. *J Neurosci* 1995; 15(2):1090-1099

O'Connor DW et al. Memory complaints and impairment in normal, depressed, and demented elderly persons identified in a community survey. *Arch Gen Psychiatry* 1990; 47:224-227

Oddo S et al. Triple-Transgenic Model of Alzheimer's disease with Plaques and Tangles: Intracellular A $\beta$  and Synaptic Dysfunction. *Neuron* 2003; 39:409-421

Okamura N et al. Combined analysis of CSF Tau levels and (123)I iodoamphetamine SPECT in mild cognitive impairment: implications for a novel predictor of Alzheimer's disease. *Am J Psychiatry* 2002; 159(3):474-476

Olichney JM et al. Abnormal verbal event related potentials in mild cognitive impairment and incipient Alzheimer's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2002;73:377-84

Olichney JM et al. Absent event related potentials (ERP) word repetition effects in mild Alzheimer's disease. *Clin Neurophysiol* 2006;117:1319-1330

Olichney JM et al. Cognitive event-related potentials: Biomarkers of synaptic dysfunction across the stages of Alzheimer's disease. *J Alzheimer Dis* 2011; 26(suppl 3):215-228

Olichney JM et al. Patients with MCI and N400 or P600 abnormalities at very risk for conversion to dementia. *Neurology* 2008 70:1763-1770.

Olichney JM et al. Test-retest reliability and stability of N400 effect: Implications for the study of neuropsychiatric and cognitive disorders. *Clin neurophysiol* 2013 124:634-635.

Orsini A et al. Verbal and spatial immediate memory span: normative data from 1355 adults and 1112 children. *Ital J Neurol Sci.* 1987;8:539-48.

Orsini A et al. Verbal and spatial immediate memory span: Normative data from 1355 adults and 1112 children. *The Italian Journal of Neurological Sciences* 1987; 8:539-548

Papaliagkas VT et al. Cognitive event-related potentials: Longitudinal changes in mild cognitive impairment. *Clinical Neurophysiology* 2011; 122:1322-1326

Papaliagkas VT et al. Usefulness of event-related potentials in the assessment of Mild Cognitive Impairment . *BMC neuroscience* 2008 9:1-10.

Paradise MB et al. Subjective memory complaints, vascular risk factors and psychological distress in the middle-aged: A cross-sectional study. *BMC psychiatry* 2011; 11:108

Park KW et al. Regional cerebral blood flow differences in patients with mild cognitive impairment between those who did and did not develop Alzheimer's disease. *Psychiatry Research: Neuroimaging* 2012; 201-206

Patterson K et al. Where do you know what you know? The presentation of semantic knowledge in the human brain. *Nature* 2007; 8:976-988

Perri R et al. Amnestic mild cognitive impairment: difference of memory profile in subjects who converted or did not convert to Alzheimer's disease. *Neuropsychology* 2007; 21:549-558

Perri R et al. Mild cognitive terdisciplinary Network on Alzheimer disease. Mild cognitive impairment: studio multicentrico Italiano. *Rivista di Neurologia* 2001; 11(3):65-72

Petersen RC et al. Aging, memory, and mild cognitive impairment. *Int Psychogeriatr* 1997; 9 Suppl 1:65-69

Petersen RC et al. Apolipoprotein E status as a predictor of the development of Alzheimer's disease in memory-impaired individuals. *JAMA* 1995; 273:1274-1278

Petersen RC et al. Current concepts in mild cognitive impairment. *Arch neurol* 2001; 58:1985-1992

Petersen RC et al. Mild cognitive impairment: clinica characterization and outcome. *Arch Neurol* 1999; 56:303-308

Petersen RC et al. Mild Cognitive Impairment: Ten years later. *Arch Neurol* 2009; 66:1447-1455

Petersen RC et al. Mild cognitive impairment: transition between aging and Alzheimer's disease. *Neurologia* 2000; 15:93-101

Petersen RC et al. Predictive value of APOE genotyping in incipient Alzheimer's disease. *Ann NY Acad Sci* 1996;802:58-69.

Petersen RC. Mild cognitive impairment as a diagnostic entity. *J Intern Med* 2004; 256:183-194

Petersen RC. Mild cognitive impairment clinical trials. *Nat Rev Drug Discov* 2003; 2:646-653

Picton TW et al. Guidelines for using human event-related potentials to study cognition: recording standards and publication criteria. *Psychophysiology* 2000; 37 (2):127-152

Picton TW et al. The P300 wave of the human event related potential. *J Clin Neurophysiol* 1992; 9:456-479

Pokryszko-Dragan A et al. Modality-specific changes in P300 parameters in patients with dementia of the Alzheimer type. *Med Sci Monit* 2003;9:130-134.

Pokryszko-Dragan A et al. Modality-specific changes in P300 parameters in patients with dementia of Alzheimer type. *Med Sci Monit* 2003; 9:182-186

Poldrack RA et al. Functional specialization for semantic and phonological processing in the left inferior frontal cortex. *Neuroimage* 1999; 10:15-35

Polich J e Herbst KL. P300 as a clinical assay: rationale, evaluation, and findings. *Int J Psychophysiol* 2000; 38:3-19.

Polich J. P300 in clinical applications. In: Niedermayer E et al. *electroencephalography: basic principles, clinical applications and related fields* 1999; 1073-1091

Portet F et al. Mild cognitive impairment (MCI) in medical practice: a critical review of the concept and new diagnostic procedure. Report of the MCI Working Group of the European Consortium on Alzheimer's Disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2006; 77:714-718

Ravaglia G et al. Mild cognitive impairment: epidemiology and dementia risk in an elderly Italian population. *J Am Geriatr Soc* 2008; 56:51-58

Raven JC. *Progressive Matrices*. London: H K Levis and Co. Ltd. Edizione Italiana a cura di Giunti Organizzazioni Speciali, Firenze 1947.

Reisberg B and Gauthier S. current evidence for subjective cognitive impairment (SCI) as the pre-mild cognitive impairment (MCI) stage of subsequently manifest Alzheimer's disease. *Int Psychogeriatr* 2008; 20:1-16

Ritchie K and Touchon J. Mild cognitive impairment: conceptual basis and current nosological status. *Lancet* 2000; 355(9199):225-228

Ritchie K et al. Classification criteria for mild cognitive impairment: a population-based validation study. *Neurology* 2001; 56:37-42

Roberts JL et al. Subjective Memory Complaints and Awareness of memory Functioning in Mild. Cognitive Impairment: A systematic Review- *dement Geriatr Cogn Disord* 2009; 28:95-109

Selkoe DJ. Alzheimer's disease is a synaptic failure. *Science* 2002; 298: 789-792



- Semlitsch HV et al. A solution for reliable and valid reduction of ocular artifacts applied to the P300 ERP. *Psychophysiology* 1986;23:695-703.
- Serra L and Caltagirone C. Mild cognitive impairment ovvero la fase preclinica della demenza. *La neurologia italiana* 2008; 2:9-15
- Shallice T. in principles of Frontal Lobe Function 2002; 261-277
- Shankar GM and Walsh DM. Alzheimer's disease: synaptic dysfunction and A $\beta$ . *Molecular Neurodegeneration* 2009; 4-48
- Small AS. Alzheimer's disease in living color. *Nature neuroscience* 2005; 8:404-405
- Smith E et al. Dissociating verbal and spatial working memory using PET. *Cereb Cortex* 1996; 6:11-20
- Smith E et al. Spatial versus object working memory. PET investigations. *J Cogn Neurosci* 1995; 7:337-358
- Spinnler H e Tognoni G. Standardizzazione e Taratura Italiana di Test Neuropsicologici. *The italian Journal of Neurological Sciences* 1987; 6(8):97-99
- Spinnler H e Tognoni G. Standardizzazione e Taratura Italiana di Test Neuropsicologici. *The italian Journal of Neurological Sciences* 1987; 6(8):47-50
- Spinnler H e Tognoni G. Standardizzazione e Taratura Italiana di Test Neuropsicologici. *The italian Journal of Neurological Sciences* 1987; 6(8):78-80
- Spinnler H. , Tognoni G. Standardizzazione e Taratura Italiana di Test Neuropsicologici. *Italian journal of Neurological Sciences* 1987; 6(8):44-46
- Squire LR and Zola M. Structure and function of declarative and nondeclarative memory systems. *Proc Natl Accad Sci* 1996; 93:13515-13522
- Sutton S et al. Evoked-potential correlates of stimulus uncertainty. *Science* 1965; 26:150:1187-8.
- Talairach J and Tournoux P. Co-planar stereotaxic atlas of the human brain. Thieme medical 1988
- Tierney MC et al. A prospective study of the clinical utility of ApoE genotype in the prediction of out-come in patients with memory impairment. *Neurology* 1996; 46(1):149-154

Tobiansky R et al. The Gospel Oak Study stage IV: the clinical relevance of subjective memory impairment in older people. *Psychol Med* 1995; 25:779-86.

Torosyan N et al. Neuronuclear Imaging in the Evaluation of Dementia and Mild Decline in Cognition. *Semin Nucl Med* 2012; 42:415-422

Tulving E et al. Episodic and declarative memory: role of the hippocampus- *Hippocampus* 1998; 8:198-204

Tulving E. Episodic and semantic memory. In *Organization and memory* 1972.

Vallar G et al. *Handbook of Memory Disorders* 2002; 249-270

Vallar G et al. The phonological short-term store-rehearsal system: patterns of impairment and neural correlates. *Neuropsychologia* 1997; 35:795-812

Van Gool WA et al. Diagnosing Alzheimer's disease in elderly, mildly demented patients: the impact of routine single photon emission computed tomography- *J Neurol* 1995; 242:401-405

Van Petten CK et al. Fractionating the word repetition effect with event-related potentials. *J Cognitive Neurosci* 1991; 3:131-150.

Van Petten CK et al. Word and sentences: event-related brain potentials measures. *Psychophysiology* 1995; 32:511-525.

Wagner AD. Working memory contributions to human learning and remembering. *Neuron* 1999; 22:19-22

Warrington E et al. The anatomical localisation of selective impairment of auditory verbal shortterm memory. *Neuropsychologia* 1971; 9:377-387

Winblad B et al. Mild cognitive impairment-beyond controversies, towards a consensus: report of the International Working Group on Mild Cognitive Impairment. *J Intern Med* 2004; 256:240-246

Yoon HJ et al. Significant correlation between cerebral hypoperfusion and neuropsychological assessment scores of patients with mild cognitive impairment: *Nuclear Medicine Communications* 2012; 33:848-858

Ziermans T et al. Working memory brain activity and capacity link MAOA polymorphism to aggressive behavior during development. *Transl Psychiatry* 2012; 2:e85