

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI GENOVA

SCUOLA DI SCIENZE MEDICHE E FARMACEUTICHE

CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN MEDICINA E CHIRURGIA

Dipartimento di Scienze della Salute (DISSAL)



**CORRELAZIONI TRA LE DIVERSE
COMPONENTI DELLA RISERVA COGNITIVA E
IL METABOLISMO CEREBRALE NEI PAZIENTI
CON MALATTIA DI ALZHEIMER**

Relatore

Prof.ssa Silvia Daniela Morbelli

Correlatore

Prof. Flavio Mariano Nobili

Candidato

Marta Frazzei

Anno Accademico 2020/2021

1.INTRODUZIONE	3
<i>1.1 Malattia di Alzheimer</i>	3
<i>1.2 La valutazione FDG-PET nella malattia di Alzheimer</i>	7
<i>1.3 Il concetto di riserva cognitiva</i>	12
<i>1.4 La valutazione della riserva cognitiva nel paziente con AD</i>	16
2.METODOLOGIE	19
2.1 <i>FDG-PET</i>	19
2.1.1 Preparazione del paziente	20
2.1.2 Precauzioni e sedazione cosciente	22
2.1.3. Radiofarmaci	22
2.1.4. Posizionamento del paziente	23
2.1.5. Acquisizione delle immagini	23
2.2 <i>AMY-PET</i>	25
2.2.1 Preparazione del paziente	26
2.2.2 Precauzioni e sedazione	27
2.2.3 Radiofarmaci	29
2.2.4 Posizionamento del paziente	29
2.2.5 Acquisizione delle immagini	29
2.3 <i>Statistical Parametric Mapping (SPM)</i>	30
3.STUDIO CLINICO	35
3.1 <i>Scopo dello studio</i>	35
3.2 <i>Soggetti, materiali e metodi</i>	36

3.2.1 Pazienti	36
3.2.2 Questionario CRIq	39
3.2.3 Protocollo FDG-PET e processing delle immagini	43
3.2.4 Analisi statistica	45
<i>3.3 Risultati</i>	<i>46</i>
3.3.1 Cognitive reserve index questionnaire (CRIq): punteggio totale	46
3.3.2 Cognitive Reserve Index Questionnaire (CRIq): Scolarizzazione	48
3.3.3 Cognitive Reserve Index Questionnaire (CRIq): Attività Lavorativa	48
3.3.4 Cognitive Reserve Index Questionnaire (CRIq): Tempo Libero	50
4.DISCUSSIONE	52
5. CONCLUSIONI	62
6.RINGRAZIAMENTI	63
7.BIBLIOGRAFIA	64

1.INTRODUZIONE

1.1 Malattia di Alzheimer

La malattia di Alzheimer (AD) è la più comune causa di demenza neurodegenerativa e colpisce circa il 10% degli individui over 70 e fino al 40% degli over 85. I fattori di rischio principali sono l'età avanzata e una storia familiare positiva per AD, evidenza che suggerisce un contributo genetico alla malattia; va però considerato che solamente nel 2-10% dei casi è riconoscibile un'ereditarietà autosomica dominante che coinvolge i geni APP (21q21.3), PSEN1 (14q24.2) e PSEN2 (1q14.13), chiamati in causa nel metabolismo della proteina amiloide e della presenilina e coinvolti nella patogenesi di quadri ad esordio precoce (da cap. 448, Harrison's Principles of Internal Medicine 19th edition, McGraw Hill Education). Tra i fattori di rischio genetici vanno inoltre considerate le varianti alleliche della lipoproteina APOE $\epsilon 4$ +/+ (ed anche +/-), associate a forme di AD ad esordio tardivo, pur non essendo noti i meccanismi di tale correlazione. Per quanto concerne i fattori ambientali, ancora oggi risulta difficile individuarne di specifici, nonostante i numerosi studi in merito (da cap. 35, Neurologia di Fazio-Loeb V edizione, Società Editrice Universo).

L'eziopatogenesi di AD è da ricercarsi in un difetto dell'amiloidogenesi, con un conseguente aumento di produzione di proteina amiloide $A\beta$, a discapito

della sua clearance. Macroscopicamente la patologia è connotata da una diminuzione del peso e del volume dell'encefalo, secondaria ad una atrofia corticale che si manifesta anche con un appiattimento delle circonvoluzioni ed un ampliamento dei solchi. Microscopicamente è possibile osservare una degenerazione extracellulare, caratterizzata da placche neuritiche diffuse, angiopatia congofila e ammassi neurofibrillari (NFTs); sono presenti anche alterazioni cellulari, come la rarefazione sinaptica e la degenerazione neurofibrillare. Analisi anatomopatologiche post-mortem hanno permesso di descrivere la struttura della placca neuritica, individuando un *core* costituito da precipitati di proteina A β , derivati dal clivaggio proteolitico del precursore APP, acetilcolinesterasi (AChE) e neurofilamenti fosforilati, precipitati sotto forma fibrillare insolubile (da cap. 35, Neurologia di Fazio-Loeb V edizione, Società Editrice Universo). L'ipotesi più accreditata è oggi quella della cascata amiloide: nel soggetto normale la proteina APP (proteina precursore dell'amiloide) viene clivata dalle secretasi α e γ , con la generazione del peptide p3, innocuo. Nei soggetti con AD, per motivi non completamente chiariti, il taglio proteolitico viene invece operato da β e γ secretasi, con la formazione di due peptidi: A β 40 e A β 42, tossici a livello neuronale. Tale effetto è legato sia al deposito extracellulare di questi peptidi, con formazione di placche neuritiche, sia ad una loro neurotossicità intrinseca; si innesca un

processo reattivo mediato da astrociti e microglia, che porta ad un danneggiamento neuronale irreversibile.

In seguito a tali processi, si osserva anche un'iperfosforilazione della proteina τ , in particolare nei neuroni colinergici ippocampali, con la formazione di tangles neurofibrillari (NFTs) e morte neuronale. Questo meccanismo patogenetico si riflette a livello liquorale, dove è possibile osservare una marcata riduzione del rapporto $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ (riferibile alla deposizione di $A\beta_{42}$ nelle placche neuritiche) ed un incremento di p-tau e t-tau, espressione del danno neuronale e fibrillare dovuto ai NFTs.

Dal punto di vista clinico, la malattia di Alzheimer è caratterizzata da un progressivo deterioramento della memoria, dall'instaurarsi di deficit negli altri domini cognitivi e da uno scadimento delle condizioni generali del soggetto, che perde l'autonomia funzionale e la capacità di prendersi cura di sé. Pur essendo una patologia a decorso variabile, i sintomi tendono a svilupparsi sempre secondo un pattern caratteristico, a carattere evolutivo ed ingravescente.

Molto spesso la diagnosi posta primariamente è quella di MCI: mild cognitive impairment. Con questa dicitura si identifica una condizione clinica interposta tra la normale funzione cognitiva e la demenza, definita (Petersen et al., 1999) da: i) un disturbo soggettivo di memoria, preferibilmente corroborato da un osservatore esterno. ii) una normale funzione cognitiva. iii)

una normale capacità di svolgere le attività della vita quotidiana. iv) un deficit di memoria in relazione ad età e scolarità (>1 std). v) assenza di demenza. Si stima che circa il 50% (12% all'anno) delle diagnosi di MCI evolvano ad AD; si può parlare infatti di “early symptomatic AD”, accentuando il fatto che AD sia la malattia alla base dell'entità clinica che è MCI. Ugualmente viene definita “prodromal AD” una condizione in cui, pur in assenza di sintomi e segni clinici, sono presenti biomarkers di malattia (Amy-PET positiva, riduzione di A β 42 ed aumento di tau a livello liquorale) (da cap. 35, Neurologia di Fazio-Loeb V edizione, Società Editrice Universo).

Nelle fasi iniziali di malattia il deficit predominante è quello mnesico e di apprendimento, con coinvolgimento della memoria a breve termine e compromissione del linguaggio, caratterizzata da povertà di lessico e ricorso a parole passe-partout.

Si osserva successivamente un deterioramento di tutte le funzioni cognitive, con disturbi visuo-spaziali, aprassia e agnosia. Il deficit mnesico si aggrava, con alterazioni in tutti gli ambiti della memoria, e il linguaggio si caratterizza per la presenza di parafasie semantiche; è presente un difetto di comprensione ma rimane preservata la ripetizione. Il paziente perde totalmente la propria autonomia funzionale, subentrano il *wandering* e i disturbi del sonno, come la frammentazione, l'inversione del ritmo sonno-veglia e l'ipersonnia.

Nelle fasi terminali tutte le funzioni intellettive sono perse, così come il controllo sfinteriale. Il paziente è costretto a letto e si instaura un quadro di rigidità che evolve ad una tetraplegia in flessione. La morte sopraggiunge spesso per malnutrizione, infezioni secondarie, embolia polmonare o polmonite da aspirazione.

La durata della patologia viene mediamente stimata intorno ai 10 anni, con un range variabile da 1 a 25.

Pur essendo clinicamente codificata, l'espressione clinica di AD risulta influenzata dalla resilienza dell'individuo ai meccanismi molecolari e neuropatologici coinvolti nella patogenesi della malattia. Questi meccanismi sono normalmente descritti con la dicitura di riserva cognitiva (CR) (Stern et al., 2002).

1.2 La valutazione FDG-PET nella malattia di Alzheimer

È ormai dimostrato come la PET con fluorodeossiglucosio (FDG) (un analogo del glucosio marcato con Fluoro-18) sia una metodica di imaging che riflette il consumo di glucosio a livello sinaptico che correla con l'integrità neuronale a livello encefalico. FDG PET viene utilizzata come biomarker precoce di neuro-degenerazione in pazienti con AD (Dubois et al., 2014).

¹⁸F-FDG, così come il glucosio, viene trasportato attraverso il canale GLUT1 e viene fosforilato da parte della proteina esochinasi a formare glucosio-6-

fosfato che, non avendo il gruppo ossidrile in posizione 2, non va incontro ai diversi destini metabolici cellulari del glucosio (glicogenogenesi, glicolisi...) (da cap. 7, Cittadini: Diagnostica per immagini e radioterapia, Edra). Quando il Fluoro-18 decade, si osserva l'emissione di positroni. Questi, collidendo con gli elettroni (fenomeno definito annichilazione), generano due fotoni gamma con energia pari a 511keV, che vengono emessi contemporaneamente con un angolo di 180° e vengono captati da un rilevatore circolare connesso con un computer, che calcolerà il punto di origine di ogni coppia di fotoni (Ormer, 2018), restituendo un'immagine della distribuzione di 18F-FDG a livello cerebrale. Aree metabolicamente più attive avranno un uptake di 18F-FDG maggiore; questo dato si correla direttamente con l'attività sinaptica delle regioni in questione. Nella malattia di Alzheimer, la disfunzione sinaptica e la perdita neuronale inducono un calo del metabolismo glucidico nelle regioni colpite.

Dal punto di vista strutturale la PET è relativamente povera; per avere una correlazione migliore tra l'attività rilevata e le regioni anatomiche, viene spesso combinata con un esame TC (PET-TC) o una MRI (PET-MRI).

Questa metodica ci permette di valutare il consumo di glucosio nelle varie regioni cerebrali in termini assoluti, tuttavia nella pratica clinica si ricorre al SUV (Standardized Uptake Value), una misura semi-quantitativa è definibile come il rapporto tra la concentrazione di tracciante accumulata in una data

area e la quantità che sarebbe presente in una regione di pari volume se il tracciante fosse distribuito in maniera omogenea a tutto il corpo (da cap. 7, Cittadini: Diagnostica per immagini e radioterapia, Edra). Tale parametro risulta più vantaggioso al fine di confrontare le variazioni nel tempo di uno stesso paziente, o tra pazienti differenti. È possibile inoltre comparare aree differenti, tra loro o in relazione all'intero encefalo, nel contesto del medesimo esame; parleremo in tal caso di SUVr (SUV Ratio).

Nel soggetto sano, il metabolismo glucidico cerebrale è omogeneo e simmetrico, sia a livello corticale che sottocorticale, ed è più elevato nella sostanza grigia (da cap.13. Neurologia di Fazio-Loeb V edizione, Società Editrice Universo), con delle differenze minime tra i due emisferi, riconducibili alla stimolazione audio-visiva in corso di esame.

Nei soggetti con malattia di Alzheimer è stato dimostrato un deficit metabolico rispetto ad un controllo normale (Rapoport, 1999), non correlato, almeno inizialmente, all'atrofia corticale, bensì alla gravità del deficit cognitivo. Anche se il metabolismo cerebrale diminuisce con l'invecchiamento (Khul et al., 1982), non tutte le regioni hanno lo stesso decadimento. Le zone tipicamente coinvolte in AD mostrano alterazioni che sono meno correlate con l'età del paziente e maggiormente imputabili alla patologia (Kalpuzos et al., 2009), rendendo la FDG-PET un esame

relativamente indipendente da questa variabile (Ortner, 2018) e fondamentale nella diagnosi differenziale della demenza (AD, DLB, FTLD).

Nei pazienti con MCI è possibile osservare deficit metabolici meno marcati rispetto a quelli presenti nel paziente con AD e localizzati preferenzialmente a livello della corteccia temporo-mesiale (da cap.13. Neurologia di Fazio-Loeb V edizione, Società Editrice Universo), pur essendo riscontrabile una variabilità maggiore rispetto a quella che intercorre tra i pazienti che hanno già una diagnosi di AD.

Nelle fasi precoci di malattia, la depressione metabolica è visibile in particolare a livello delle aree parieto-temporali bilateralmente (aree associative) (da cap.13. Neurologia di Fazio-Loeb V edizione, Società Editrice Universo). Con il progredire della malattia, si osserva anche un coinvolgimento del cingolato posteriore e dei lobi frontali, compatibilmente con il peggioramento clinico dei sintomi (Mosconi, 2005).

La FDG-PET permette quindi di valutare il danno funzionale, in termini di alterazione del metabolismo cellulare, nei pazienti con AD, ed è oggi una metodica irrinunciabile per lo studio e la comprensione dei meccanismi che correlano il danno neuronale al fenotipo clinico nel singolo soggetto. Accanto a questa metodica, oggi abbiamo anche nuovi traccianti (Florbetapir e Florbetaben) che quantificano in vivo la deposizione di proteina amiloide a livello cerebrale (Amy-PET), responsabile diretta della perdita cellulare e

sinaptica in questa patologia e, pertanto, correlata direttamente alle alterazioni anatomiche che caratterizzano i pazienti AD. L'interfaccia di queste metodiche è sicuramente un processo fondamentale per la comprensione delle ragioni sottostanti alla variabilità fenotipica tra soggetti con una Amy-PET simile (e quindi un danno anatomico sovrapponibile) e un outcome clinico estremamente differente. Questa indagine non può prescindere dalla comprensione dei meccanismi alla base del fenomeno della riserva cognitiva.

1.3 Il concetto di riserva cognitiva

La riserva cognitiva può essere definita come la differenza tra la performance attesa in un dato individuo e la prestazione effettivamente documentata; in altri termini è la capacità di un encefalo adulto di far fronte al danno cerebrale al fine di minimizzare la sintomatologia imputabile a tale danno (Stern, 2002) e fa da intermediario tra la patologia e il suo fenotipo clinico. Molti studi si sono concentrati sui meccanismi che sottendono la discrepanza tra il grado di danno cerebrale AD correlato (inteso come quantitativo di amiloide depositata e perdita neuronale) e l'espressione clinica di malattia.

Il primo modello interpretativo proposto per tale fenomeno è stato il “modello passivo”; in questo caso la RC veniva definita come il danno massimo sopportabile prima di raggiungere la soglia per l'espressione clinica (Katzman et al., 1988). In tale modello erano stati utilizzati parametri come il volume dell'encefalo, la circonferenza cranica o la conta sinaptica, nel tentativo di trovare misure efficaci per stimare la RC (Pernecky et al., 2010). Si è però reso evidente che tutte queste misure anatomiche sono influenzate da fattori demografici come lo stato socioeconomico, il livello di educazione e la complessità della mansione svolta; tra tutti questi il fattore più rilevante è sicuramente risultato essere quello educativo (Stern et al., 1994). Questo primo modello, pur essendo concettualmente corretto, non è in grado di

individuare un'area deputata a integrare le funzioni relative alla RC e pertanto porta evidenze indirette di quanto avviene nei networks funzionali coinvolti. Per ovviare a tale problema, molti gruppi di ricercatori sono passati ad un approccio che vede come fulcro il neuroimaging, in grado di definire, anche in vivo, le strutture coinvolte.

Con l'introduzione delle tecniche di imaging funzionali (fMRI, FDG-PET, Amy-PET) si è arrivati a ipotizzare un nuovo modello: "l'active model" (Bauckneht et al., 2015). Si è infatti evidenziato un adattamento dinamico al danno cerebrale. Tali esami, eseguiti chiedendo ai pazienti di svolgere task specifici (di memoria, di linguaggio...) hanno dimostrato che nei pazienti più anziani il livello di educazione era correlato positivamente con l'attività della corteccia prefrontale (Springer et al., 2015), che veniva ingaggiata come network alternativo per supportare la funzione cognitiva, in particolare nei pazienti con un alto livello di educazione. È oggi un dato provato che, in pazienti testati con una batteria estesa di test neuropsicologici, a parità di performance (e quindi di fenotipo clinico), i pazienti con una scolarizzazione più alta mostrano un danno più pronunciato a livello posteriore, negli esami di neuroimaging. Questo era osservato tanto nei pazienti MCI quanto in quelli con AD conclamato. La RC potrebbe quindi avere ripercussioni significative sul timing della diagnosi clinica di AD in soggetti con un elevato livello di

educazione; tali pazienti possono dissimulare la patologia per un periodo di tempo prolungato e ritardare la diagnosi (Bauckneht et al., 2015).

La relazione che intercorre tra la severità della patologia a livello cerebrale e il deficit riscontrabile nei test volti a valutare la performance non è sempre diretta. È stato dimostrato che persone con una RC maggiore sostengono in maniera migliore i cambiamenti fisiopatologici legati all'invecchiamento, usando networks compensatori preesistenti o ingaggiati in seguito ai deficit determinati dalla malattia (Nucci et al., 2012). Il problema di una quantificazione clinica efficace del livello di riserva cognitiva ha assunto un ruolo sempre più rilevante nella valutazione del paziente AD; molti sono stati i proxies utilizzati in numerosi lavori, in primis l'educazione, intesa prevalentemente come anni di scolarizzazione. Già nel 1988 Mortimer aveva pubblicato un lavoro in cui sosteneva che l'educazione avesse un ruolo protettivo contro l'insorgenza di demenza e che svariati fattori psicosociali avessero un'importanza primaria nel ridurre gli effetti diretti della patologia sull'outcome clinico del paziente (Mortimer et al., 1988). Oggi è noto come l'educazione abbia un ruolo nel declino cognitivo parafisiologico e riferibile all'invecchiamento, così come nel declino patologico degenerativo (Nucci et al., 2012). Risulta più difficile individuare in modo lineare come l'educazione influenzi lo stile di vita nell'età adulta e, conseguentemente, gli altri fattori protettivi, come la professione, le attività svolte nel tempo libero e la qualità

dell'ambiente sociale frequentato. Numerosi studi hanno evidenziato come la mansione, in particolare l'ultima ricoperta, possa rappresentare una fonte indipendente di riserva cognitiva (Garibotto et al., 2008).

La comprensione dei meccanismi associativi che intercorrono tra la patologia, intesa come danno neuronale, e il deficit cognitivo è storicamente riconosciuta come fondamentale per la messa in campo di strategie preventive efficaci e mirate e per la comprensione dei meccanismi che sottendono l'instaurarsi di tali deficit nel paziente anziano.

I nuovi traccianti PET sono sicuramente un grande aiuto in tal senso; è stato dimostrato che una percentuale variabile tra il 10% e il 40% di persone anziane apparentemente sane e cognitivamente normali ha in realtà una Amy-PET positiva (Rowe et al., 2011). Questo dato concorda con quelli ottenuti dagli studi neuropatologici post mortem in soggetti anziani, per cui oltre il 20% di coloro che erano cognitivamente normali mostravano in realtà un quadro anatomopatologico di AD (Katzmann et al., 1988).

1.4 La valutazione della riserva cognitiva nel paziente con AD

Quantificare la riserva cognitiva di un dato paziente potrebbe avere un grande impatto sia dal punto di vista prognostico che preventivo, permettendo l'individuazione di fattori modificabili che influenzino precocemente l'età d'esordio, il decorso e il fenotipo clinico della patologia. L'integrazione di una valutazione clinica efficace della RC con tecniche di neuroimaging che ci verifichino in vivo l'impatto che questa ha sulla malattia e sulla sua evoluzione, sembrerebbe essere una strategia efficace in quest'ottica.

La valutazione tramite FDG-PET è oggi codificata e ci permette di comparare il metabolismo cerebrale in gruppi di pazienti scelti in base agli indici clinici classicamente associati alla RC, il principale dei quali è sicuramente la scolarizzazione, intesa come anni di formazione. Appare evidente che questo parametro, pesato per sesso ed età dei pazienti, sia estremamente riduttivo nella valutazione di un substrato neurologico che viene acquisito durante il corso della vita e che viene ingaggiato per sopperire ai deficit che si instaurano conseguentemente alla patologia.

Tramite analisi comparative condotte con FDG-PET è stato possibile dimostrare che questi networks compensatori sono qualitativamente presenti sia in pazienti AD altamente scolarizzati che nel gruppo di controllo (pazienti sani, con scolarità sovrapponibile), ma è altresì possibile verificare che nei primi fossero quantitativamente più pronunciati. In questo studio si è

dimostrato che la RC nel paziente AD è il risultato sia della riserva neuronale (networks preesistenti più efficaci o meno suscettibili al danno), sia del compenso neurale (nuovi networks attivati in seguito al danneggiamento di quelli normalmente utilizzati) (Morbelli et al., 2014). Capire come scolarità, mansione lavorativa e attività svolte nel tempo libero influenzino la creazione e la capacità di reclutamento di tali networks, impone un'analisi sistematica delle stesse. Grazie alla FDG-PET, è possibile indagare in vivo e direttamente quali pathways neurologici vengono attivati durante un determinato compito, ma ad oggi risulta ancora difficile la valutazione integrale di tutti i fattori che possono influenzare la RC, con l'intento di determinare quali siano i più influenti e meritevoli di attenzione nell'ottica di attuare misure preventive per la malattia di Alzheimer.

Al fine di indagare questi aspetti, la metodica preferenziale è quella di sottoporre al paziente un questionario che tocchi vari ambiti; non essendocene uno validato internazionalmente a tale scopo, per questo studio si è scelto di ricorrere al CRIq. Questo questionario si è dimostrato essere un valido strumento per ottenere una misura standardizzata della RC accumulata dai soggetti testati nel corso della loro vita ed utilizzabile sia a fini sperimentali che a fini clinici (Nucci et al., 2012). Il modello attivo di RC assume che una persona che abbia avuto una vita piena, in termini di intelletto, abilità e praticità, sarà maggiormente capace di far fronte a situazioni e compiti

cognitivi difficili, così come alle modificazioni patologiche legate ad AD. Il CRIq è lo strumento adatto a quantificare questo capitale socio-cognitivo, culturale ed umano (Nucci et al., 2012).

2.METODOLOGIE

2.1 FDG-PET

La FDG-PET è la metodica più accurata per l'indagine del metabolismo cerebrale in vivo ed è oggi largamente utilizzata a scopo diagnostico e di ricerca. In base al tipo di macchinario in uso ed al quesito diagnostico, un imaging con 18-FDG includerà un'immagine tomografica statica (alla fine del uptake cerebrale del tracciante) ed una dinamica (sequenze multiple fatte in modo da acquisire l'encefalo per intero, utili quando serve una quantificazione assoluta dei livelli di glucosio di una data regione). Normalmente le immagini vengono acquisite tridimensionalmente sottoforma di PET/TC, aumentando di molto la sensibilità e la precisione dell'esame. La qualità dell'immagine viene ulteriormente migliorata tramite la correzione per l'attenuazione fotonica, necessaria per ottenere dati quantitativi attendibili; a tale scopo esistono varie metodiche che implicano delle differenze sistematiche nelle immagini risultanti. Ne consegue che le immagini ottenute con tecniche diverse non potranno essere direttamente comparate.

La FDG-PET trova indicazione nella diagnosi precoce e nella diagnosi differenziale delle varie forme di demenza (Herholz et al., 2002 e 2007); nel campo della neurooncologia viene applicata nella caratterizzazione delle

lesioni occupanti spazio e nel follow up post-chirurgico delle neoplasie maligne (Kaschten et al., 1998). Negli ultimi anni è stata anche impiegata nello studio preoperatorio di pazienti con epilessia focale refrattaria alla farmacoterapia, per individuare la zona d'interesse (Henry et al., 2004). Un'ultima indicazione è quella riferita ai disordini del movimento, in particolare per quanto riguarda la distinzione tra Morbo di Parkinson e parkinsonismi atipici (Eckert et al., 2005).

Le controindicazioni all'esame con 18-FDG sono: gravidanza ed allattamento (da interrompere per 24h se c'è indicazione allo svolgimento dell'esame), mancanza di collaborazione del paziente o incapacità di tollerare la procedura.

Le linee guida EANM (Bartenstein et al., 2002) codificano in maniera dettagliata l'iter procedurale da seguire per la gestione del paziente e per l'acquisizione delle immagini.

2.1.1 Preparazione del paziente

Il paziente deve stare a digiuno almeno per le 4 h che precedono la scansione, così che l'uptake del fluorodeossiglucosio sia ottimale e non venga influenzato da aumentati livelli sierici di glucosio. La glicemia deve essere misurata prima della somministrazione di FDG; un valore superiore a 160 mg/dL implica una aumentata competizione tra il tracciante ed il glucosio

plasmatico a livello di GLUT1 e dell'enzima esochinasi 6 e si associa ad un minor uptake cerebrale, inficiando la qualità delle immagini e la accuratezza diagnostica. La correzione della glicemia con una somministrazione di insulina rapida non è risolutiva, in quanto questa agisce sui livelli plasmatici di glucosio e non su quelli intracellulari, responsabili della competizione sull'esochinasi 6, ed inficia il raggiungimento dello steady state glicemico necessario allo svolgimento dell'esame (Hasselbalch et al., 1999); il paziente, anche quello diabetico, deve pertanto trovarsi in uno stato di euglicemia. Prima e dopo la scansione il paziente deve svuotare la vescica, per un maggior comfort durante la procedura e per minimizzare l'esposizione alle radiazioni. Circa 20 minuti prima della somministrazione di FDG e durante la stessa, il paziente deve essere posto in una stanza confortevole e scarsamente illuminata e gli deve essere spiegato di non parlare, leggere o svolgere qualsivoglia tipo di attività. L'accesso venoso deve essere posizionato 10 minuti prima dell'iniezione del tracciante.

Le informazioni da raccogliere prima della procedura sono le seguenti: *i)* anamnesi fisiologica e patologica, con particolare attenzione a disordini neurologici e psichiatrici, interventi neurochirurgici, traumi. *ii)* Storia di diabete mellito, digiuno prolungato, uso di corticosteroidi. *iii)* Informazioni su indagini morfologiche (TC, MRI) dell'encefalo e test neuropsicologici recenti. *iv)* Anamnesi farmacologica approfondita, con particolare attenzione

ai farmaci psicotropi, che possono influenzare l'uptake del FDG in determinate regioni; se possibile, i farmaci ad azione centrale devono essere sospesi il giorno dell'esame.

2.1.2 Precauzioni e sedazione cosciente

Il paziente dovrà stare sdraiato ed immobile all'interno del tomografo, in alcuni casi, ove questo non sia possibile, come nel paziente con demenza o epilessia, può essere necessaria la sedazione, che deve essere posticipata il più a lungo possibile e somministrata almeno 20 minuti dopo FDG. I farmaci di scelta a tale scopo sono le benzodiazepine a breve emivita (es. Midazolam per via intravenosa); va monitorata la funzionalità cardiorespiratoria del paziente e i presidi di emergenza devono sempre essere disponibili, così come il flumazenil. La supervisione continua è mandatoria per tutta la durata dell'esame.

2.1.3. Radiofarmaci

Il fluoro-18 viene utilizzato per marcare il deossiglucosio, un analogo del glucosio, ottenendo così il 18-fluoro-2-deossiglucosio. L'attività raccomandata nell'adulto è di 300-600 mBq (solitamente 370 mBq) per le acquisizioni in 2D e 125-250 mBq (tipicamente 150 mBq) per quelle in 3D. La somministrazione del radiofarmaco deve avvenire il più possibile a ridosso dell'esame.

2.1.4. Posizionamento del paziente

Ai fini di una buona riuscita, il posizionamento della testa del paziente è fondamentale; la linea orbito-mentoniera viene presa come riferimento per standardizzare la posizione. Per evitare che ci siano artefatti dovuti ai movimenti, il paziente deve essere adeguatamente informato di mantenere la testa nella posizione di partenza per tutta la durata della scansione; in alcuni casi il capo può essere posizionato ed immobilizzato.

2.1.5. Acquisizione delle immagini

I tomografi moderni dispongono di più rilevatori ad anello (per aumentare il campo di vista dello strumento), posti intorno al lettino su cui viene posizionato il paziente, in modo da registrare su tutti i piani i fotoni emessi dalle annichilazioni tra i positroni, che si generano conseguentemente al decadimento del radiofarmaco, e gli elettroni. I rilevatori erano tradizionalmente costituiti da cristalli scintillatori che convertivano l'energia emessa dei fotoni in luce visibile; con l'avvento della PET digitale si è passati a nuovi rilevatori a semiconduttore, che trasformano l'energia dei fotoni direttamente in segnale elettrico.

I tomografi dedicati esclusivamente all'acquisizione di immagini PET, con un FOV (field of view) superiore a 16cm, normalmente acquisiscono immagini di trasmissione in cui sono rilevati più di 100 milioni di eventi in

un intervallo di 10-20 min. Per i sistemi che integrano PET e TC, la scansione TC può essere effettuata dopo l'iniezione di tracciante, riducendo significativamente il tempo di acquisizione (<10 sec); è importante controllare che la posizione della testa del paziente rimanga invariata tra la scansione PET e la TC.

L'acquisizione delle immagini non deve iniziare prima di 30 minuti dalla somministrazione del radiofarmaco, in modo da aumentare il contrasto tra sostanza bianca e sostanza grigia, o tra una lesione occupante spazio ed il parenchima circostante; il protocollo seguito deve essere standardizzato per tutti i pazienti, in modo da poter confrontare le immagini ottenute da pazienti differenti o dallo stesso paziente a distanza di tempo.

La durata dell'esame è relazionata all'accuratezza richiesta, intesa come numero di eventi che si vogliono rilevare; un esame standard dura 15-30 minuti, ma in casi particolari, come pazienti poco complianti alla procedura, si può scendere fino a 10 minuti.

Le immagini vengono corrette e ricostruite, grazie a degli algoritmi automatizzati, sui piani trans assiali con una definizione minima di 128x128 pixel; la misura standard di un pixel è di 2-4 mm (Varrone et al., 2009).

2.2 AMY-PET

La deposizione extracellulare di amiloide è uno dei marcatori patologici di AD (Villemagne et al., 2009) e, con la degenerazione neurofibrillare, rappresenta la noxa patogenetica del danno neuronale. Oggi, con il recente sviluppo di traccianti specifici per la proteina A β , è possibile studiare questi processi anche in vivo, con un significativo impatto sul management dei pazienti con declino cognitivo e sulla loro caratterizzazione. La conferma della presenza di amiloide in soggetti con MCI è fondamentale per la definizione della prognosi di tali pazienti, per la corretta interpretazione del decadimento cognitivo e per introdurre strategie terapeutiche efficaci, come i nuovi anticorpi monoclonali amiloide-specifici.

A partire dal 2015, FDA e EMA hanno approvato 3 traccianti atti a tale scopo: 18F-Florbetapir (Amyvid; Eli Lilly), 18F-Flutemetamol (Vizamyl; GE Healthcare) e 18F-Florbetaben (NeuraCeq; Primal Pharma).

Le indicazioni allo svolgimento di questa indagine sono state pubblicate da una task force costituita da SNMMI e dalla Alzheimer's Association nel 2013 (Johnson et al., 2013) ed enfatizzano l'effettiva utilità della PET Amiloide in pazienti che hanno un deficit cognitivo oggettivabile (in cui vengano soddisfatti i criteri centrali per la diagnosi di AD possibile, ma la presentazione clinica rimanga incerta), la cui causa non sia nota anche dopo una valutazione estensiva in un centro di riferimento per la diagnosi e terapia

delle demenze. Lo studio con AMY-PET è raccomandato anche quando AD viene posto in diagnosi differenziale con altre forme di demenza, quando la positività o meno dell'esame ha un impatto prognostico e terapeutico sulla gestione del paziente e nelle demenze ad esordio precoce (prima dei 65 anni). La procedura si considera inappropriata quando: *i)* Il paziente soddisfa i criteri centrali per la diagnosi di AD probabile e ha un'età tipicamente associata all'esordio di demenza. *ii)* Si ha necessità di determinare la gravità della demenza. *iii)* Il paziente è asintomatico ed ha una storia familiare di AD o è risultato essere portatore dell'allele $\epsilon 4$ di ApoE. *iv)* Il paziente ha un decadimento cognitivo soggettivo ma non oggettivato con test neuropsicologici. *v)* Il paziente è asintomatico e l'esame viene richiesto per ragioni non strettamente mediche (es. legali, assicurative, lavorative). I criteri descritti non sono validati per la valutazione dell'outcome del paziente o per studiare l'uso di terapie con anticorpi monoclonali.

Le linee guida SNMMI/EANM (Minoshima et al., 2016) codificano in maniera dettagliata l'iter procedurale da seguire per la gestione del paziente e dell'acquisizione delle immagini.

2.2.1 Preparazione del paziente

Il paziente, prima di sottoporsi alla procedura, deve essere adeguatamente informato e rassicurato, va evidenziata l'importanza della sua collaborazione

per una corretta riuscita dell'esame; può essere utile che un familiare o una figura rassicurante siano presenti ed abbiano un ruolo attivo nella rassicurazione del paziente.

Si raccomanda che il paziente svuoti la vescica prima e dopo la scansione, sia per un maggior comfort durante l'esame, sia per ridurre il tempo di esposizione alle radiazioni emesse dal farmaco.

Il radiotracciante si somministra con un singolo bolo intravenoso con un volume totale massimo di 10 mL; il catetere può essere lavato con 5-15 mL di soluzione fisiologica, per far sì che la dose somministrata arrivi interamente in circolo.

2.2.2 Precauzioni e sedazione

Nei pazienti non collaboranti e in quelli che non tollerano la procedura, può essere utile la sedazione prima della PET; la modalità di sedazione verrà scelta in rapporto alle caratteristiche cliniche del paziente e della sua anamnesi, con particolare attenzione a quella farmacologica.

Pur essendo la demenza una patologia scarsamente prevalente in questa fascia di popolazione, qualora una donna in età fertile debba sottoporsi all'esame, è buona prassi escludere uno stato di gravidanza prima di somministrare il tracciante, pur non essendo noti gli effetti fetali dei marcatori di amiloide attualmente in uso; si raccomanda di eseguire l'esame nelle gestanti solo

quando ne derivi un chiaro beneficio clinico. Analogamente, in caso di allattamento, questo va sospeso per 24h dopo l'iniezione del tracciante.

Ad oggi non sono note farmaco-interazioni con i radio-traccianti per amiloide e, pertanto, non si raccomanda la sospensione di nessun farmaco.

Nei pazienti in cui è richiesta la sedazione, questa deve essere eseguita dopo l'iniezione del tracciante, per minimizzare l'effetto dei farmaci sedativi sul flusso ematico cerebrale e sulla distribuzione del radiofarmaco.

La somministrazione dei radio-traccianti deve avvenire in modo asettico, previa ispezione del sito di inoculo, e il paziente deve essere schermato dalle radiazioni con i normali presidi di protezione.

La dose di farmaco da utilizzare viene definita in uno specifico calibratore, prima della somministrazione. In questa fase devono essere presi alcuni accorgimenti specifici per l'esame in questione: la soluzione contenente il farmaco deve essere ispezionata prima dell'iniezione e deve essere sostituita qualora contenga materiale particolato o si presenti con una colorazione attenuata. Si consiglia l'uso di un catetere intravenoso corto (4.5 cm o meno) per minimizzare il rischio che parte del farmaco venga assorbito a livello del catetere.

2.2.3 Radiofarmaci

I traccianti ad oggi utilizzati sono tutti composti marcati con Fluoro-18 e hanno sostituito l'¹¹C-Pittsburgh compound B, un analogo della tioflavina, sintetizzato nel 2002 nei laboratori dell'università di Pittsburgh. Tra il 2014 e il 2015 ¹⁸F-Florbetapir (Amyvid), ¹⁸F-Flutemetamol (Vizamyl) e ¹⁸F-Florbetaben (NeuraCeq) sono stati approvati sia da FDA ed EMA; pur essendo sovrapponibili dal punto di vista dell'uso clinico, in termine di resa di immagine, hanno una cinetica differente (Rowe et al., 2011); questo influenza la scelta della dose da somministrare, il timing e la durata della scansione.

2.2.4 Posizionamento del paziente

Il paziente viene posto in posizione supina e il capo deve essere adeguatamente supportato e bloccato con appositi mezzi di contenimento, per ridurre gli artefatti attribuibili ai movimenti; si deve evitare di iper-estendere o iper-flettere il capo.

2.2.5 Acquisizione delle immagini

Le immagini vengono acquisite in modalità 3D e sono ricostruite e corrette per l'attenuazione fotonica, con pixel di 2x3 mm e uno spessore delle fette di 2-4 mm. Le scansioni per PET Amiloide possono essere effettuate su macchinari PET, PET/TC o PET/MR; gli scanner di nuova generazione

offrono immagini qualitativamente migliori, soprattutto dal punto di vista della distinzione tra sostanza bianca e grigia. Le immagini devono avere almeno 16 bit per pixel, in modo da assicurare un range di valori adeguato all'interpretazione; il formato viene ottimizzato per aumentare il contrasto tra sostanza grigia e sostanza bianca.

Le immagini ottenute dovrebbero essere interpretate indipendentemente dalla storia clinica del soggetto in esame, che può risultare utile in fase di refertazione per suggerire una diagnosi ed impostare la gestione del paziente.

2.3 Statistical Parametric Mapping (SPM)

Il concetto di mappatura statistica dell'encefalo e le relative tecniche di esecuzione, si sono affermate alla fine degli anni '80, quando, con il diffondersi dei tomografi ad emissione di positroni, si rese necessario un sistema di analisi comune. Prima dell'introduzione di SPM, le differenze interregionali tra le varie scansioni cerebrali venivano disegnate a mano, individuando regioni di interesse (ROI) e riducendo centinaia di migliaia di voxel ad una manciata di misurazioni anatomicamente imprecise. L'idea di creare delle inferenze statistiche voxel-specifiche, grazie all'uso della mappatura statistica parametrica, nacque davanti alla necessità di ottenere inferenze valide a riguardo della risposta dell'encefalo, pur non sapendo dove tali risposte sarebbero state espresse. I fondamenti di questa metodologia

vennero descritti in due lavori di Friston e colleghi; il primo, del 1990 (Friston et al., 1990) presentava le basi formali di SPM, utilizzando sia il T-test che il F-test. Capire come relazionarsi con l'attività globale fu uno dei principali problemi durante lo sviluppo del software e si decise di inserire tale attività come variabile confondente in un'analisi di covarianza, impregnando quindi i cambiamenti rilevati con una specificità regionale che non poteva essere spiegata dai cambiamenti dell'attività globale; la soluzione proposta a tale problema fu lungamente dibattuta. La seconda pubblicazione, del 1991, (Friston et al., 1991) aveva l'obiettivo di rendere conto dell'enorme numero di test statistici utilizzati da SPM nell'analisi univariata di massa. Eseguire un test statistico su ogni singolo voxel, usando soglie convenzionali e non modificate per valutare la significatività degli eventi rilevati, generava un elevato tasso di falsi positivi. Questo problema fu ulteriormente complicato dal fatto che i dati non fossero spazialmente indipendenti e, pertanto, il problema dei confronti multipli non poteva essere risolto con una semplice correzione di Bonferroni. Si rese necessario un modo di predire il comportamento probabilistico di SPM, sotto l'ipotesi nulla di non attivazione o di non correlazione, che spiegasse la smoothness o la correlazione spaziale tra voxel contigui. L'approssimazione delle distribuzioni d'origine fu derivata dalla teoria dei processi stocastici e dalle stime della smoothness.

Fu subito evidente che i primi procedimenti euristici descritti da Friston et al. nel 1991 erano strettamente correlati a risultati quasi identici ottenuti nella teoria dei campi Gaussiani casuali, processi stocastici che erano conformi alla realizzazione di scansioni cerebrali in situazioni normali. In breve tempo, il procedimento per calcolare corretti valori di probabilità (p value) fu incorporato nella teoria dei campi Gaussiani casuali (Worsley et al., 1992).

Il nome SPM (Mappatura Statistica Parametrica), fu scelto per svariate ragioni; in primo luogo riprendeva l'acronimo utilizzato per la mappatura della probabilità di significatività (*significance probability mapping*), nel campo dell'EEG, che prevedeva la creazione di pseudomappe di p-values, con lo scopo di riportare l'organizzazione spaziotemporale dei potenziali evocati più evidenti all'ispezione. La seconda ragione per cui fu scelto questo nome è in qualche modo più storica; inizialmente, molte immagini PET derivavano da dati grezzi che riflettevano una serie di parametri (es. il metabolismo e l'indice di estrazione dell'ossigeno, il flusso ematico regionale, etc.). Queste immagini venivano definite mappe parametriche. Questi parametri fisiologici erano funzioni non lineari dei dati di partenza; similmente, una mappa statistica parametrica è una funzione non lineare di questi stessi dati che, in SPM, e questo ne è il carattere distintivo, hanno una distribuzione nota sotto l'ipotesi nulla, derivante dal fatto che sono ottenuti da un modello statistico di dati che hanno un termine di errore esplicito.

Ad oggi SPM è usato per identificare regioni cerebrali funzionalmente specializzate ed è l'approccio principale per caratterizzarne l'anatomia funzionale e le modificazioni patologia-correlate.

Prima di eseguire le analisi statistiche, le immagini devono essere processate secondo tre step fondamentali: riallineamento, normalizzazione e smoothing.

Riallineamento e Normalizzazione: I dati devono essere conformi ad uno spazio anatomico noto, al fine di assegnare un evento ad una struttura cerebrale o ad un'area corticale specifica. L'analisi delle neuroimmagini generalmente inizia con una serie di trasformazioni spaziali, che riducono componenti fittizie della varianza nelle serie temporali di voxel che sono generate dai movimenti del paziente. La morfometria basata sui voxel parte dal presupposto che i dati di un singolo voxel derivano tutti dalla stessa porzione di encefalo; non rispettare questa assunzione introdurrebbe degli artefatti nei valori dei voxel, che potrebbero mascherare cambiamenti o differenze d'interesse.

Il primo step è quello di riallineare i dati in modo da annullare gli effetti dei movimenti del soggetto durante la scansione; i dati vengono poi trasformati in uno spazio anatomico standard, usando deformazioni lineari o non lineari (Talairach et al., 1988). Subito dopo il riallineamento dei dati, una immagine media della serie viene utilizzata per stimare i parametri di deformazione su cui mappare un template già uniformato ad uno spazio anatomico noto;

normalmente viene utilizzata una trasformazione affine a 12 parametri. Il template di default, contenuto nel pacchetto SPM usato per la normalizzazione delle immagini SPECT, include scansioni ottenute da un gruppo di soggetti sani studiati con [(99m)Tc]HMPAO.

Smoothing: ci sono svariati motivi per cui i dati devono essere smoothati: i) *By the matched filter theorem, the optimum smoothing kernel corresponds to the size of the effect that one anticipates.* ii) per il teorema del limite centrale, lo smoothing dei dati normalizza gli errori nella loro distribuzione e garantisce la validità delle inferenze basate su test parametrici. iii) quando si eseguono inferenze sugli eventi regionali, usando la teoria dei campi Gaussiani casuali, una delle assunzioni è che i termini di errore siano la rappresentazione reticolare di un campo Gaussiano sottostante.

3.STUDIO CLINICO

3.1 Scopo dello studio

L'obiettivo del nostro studio è quello di indagare la correlazione tra i diversi score facenti parte del CRIq ed il metabolismo cerebrale di pazienti con AD lieve o prodromico.

In seguito alla diagnosi sono stati presi in considerazione, tramite la somministrazione telefonica del questionario CRIq, diversi parametri che possono essere raggruppati in tre macroaree: i) scolarizzazione. ii) attività lavorativa. iii) attività svolte nel tempo libero.

Lo scopo è quello di individuare la relazione che intercorre tra quanto svolto dal soggetto precedentemente allo sviluppo della patologia, il fenotipo clinico, valutato con score validati a tale scopo, ed il grado di danno neuronale, determinato con FDG-PET.

3.2 Soggetti, materiali e metodi

3.2.1 Pazienti

Per questo studio sono stati arruolati 59 pazienti con diagnosi di AD lieve o prodromico confermata in tutti con Amy-PET, seguiti ambulatorialmente presso la U.O. Clinica Neurologica, Dipartimento di Neuroscienze (DINOEMI) dell'Università di Genova, Policlinico San Martino IST, Genova; l'età media dei pazienti è 78,5 (+/- 5,57) anni, sono 29 maschi e 30 femmine; 54 destrorsi e i restanti 5 mancini.

Durante la valutazione anamnestica i pazienti hanno riportato una scolarizzazione media di 11 anni (SD= 4.52).

La diagnosi clinica di malattia di Alzheimer è stata fatta secondo i criteri NINCDS-ADRDA (adattati da McKhann et al., 2011), che differenziano la malattia in: i) probabile, ii) possibile, iii) probabile o possibile con evidenza del processo fisiopatologico caratteristico di AD (vedi appendice).

Durante le visite ambulatoriali, ogni paziente è stato sottoposto ad una valutazione neuropsicologica, al fine di caratterizzare i vari aspetti clinici della demenza AD correlata. Il Mini Mental State Examination (MMSE. Folstein et al., 1975) è stato utilizzato per la valutazione globale della situazione cognitiva del paziente. La gravità della demenza nel singolo paziente è stata stratificata con il Clinical Dementia Rating (CDR. Morris et

al., 1997). L'impatto della malattia sulle funzioni della vita quotidiana è stato quantificato con i questionari relativi all'autonomia del soggetto nelle attività di base (ADL: Activities of Daily Living. Katz et al., 1963) e strumentali (IADL: Instrumental Activities Daily Living. Lawton e Brody, 1969). I sintomi depressivi, comuni nei pazienti affetti da demenza lievi, sono stati indagati tramite la Geriatric Depression Scale (GDS. Sheiki et al., 1986). I disturbi psico-comportamentali associati a deterioramento cognitivo sono stati valutati con il Neuropsychiatric Inventory (NPI. Cummings et al., 1994). Per quanto riguarda il dominio mnesico, un'ulteriore indagine sulla memoria a breve e lungo termine e sull'apprendimento è stata condotta con l'ausilio del Rey Auditory Verbal Learning Test (RAVLT. Rey et al., 1964).

I test neuropsicologici hanno inoltre caratterizzato le funzioni esecutive (Stroop Color World, Trail Making Test A, Trail Making Test B-A) e visuospatiali (Clock Drawing Test, CDT), il linguaggio (Categorical fluency language), l'attenzione e la memoria di lavoro (Trail making Test A, Stroop Color, Symbol digit).

TABELLA 1: PAZIENTI E DATI INERENTI AI TEST PIÙ SIGNIFICATIVI. *I DATI SONO STATI CALCOLATI SU 58 PZ; **I DATI SONO STATI CALCOLATI SU 54 PZ; *** I DATI SONO STATI CALCOLATI SU 56 PZ.

Età	78,5 aa	5,6	65-89
Anni di scolarizzazione	10,9 aa	4,52	2-22
MMSE	26,6	2,44	13-30 pt*
ADL	5,8	0,8	0-6 pt
GDS-15	3,4**	4	0-15 pt
Watson's Clock Test	1,2	1,7	0-7 pt***

Tutti i pazienti hanno inoltre eseguito presso i nostri ambulatori un esame elettroencefalografico standard in veglia quieta. 13 soggetti si sono sottoposti ad un prelievo di liquido cerebrospinale per il dosaggio dei markers bio-umorali (ttau, ptau, amy). La caratterizzazione genotipica del gene di APOE ε4 è stata effettuata in 31 dei pazienti in esame: 4 4/4, 14 3/4, 11 3/3, 2 2/3. Ogni paziente è stato contestualmente valutato con RMN, FDG-PET e Amy-PET; quest'ultima è risultata positiva in tutti i pazienti, confermando la presenza di AD alla base del decadimento cognitivo evidenziato nei pazienti. Al termine di tale percorso diagnostico, i pazienti erano così determinati: 1 SCI, 15 probAD, 43 MCIAD.

3.2.2 Questionario CRIq

Al fine di indagare in maniera sistematica la RC dei pazienti oggetto di questo studio, abbiamo deciso di utilizzare il Cognitive Reserve Index Questionnaire: CRIq (Nucci et al., 2012).

Il questionario è stato sottoposto ai familiari dei pazienti coinvolti e, in alcuni casi, anche ai pazienti stessi, quando la loro situazione cognitiva lo ha permesso. Tutte le interviste sono state svolte telefonicamente tra Luglio e Settembre 2020 ed il tempo medio stimato per rispondere a tutte le domande è stato di circa 10 minuti. Il CRIq (vedi appendice per testo completo) include i dati demografici del soggetto (data e luogo di nascita, sesso, luogo di residenza, nazionalità, situazione coniugale) e 20 items raggruppati in tre sezioni: educazione, attività lavorativa e tempo libero, ognuna delle quali ha un sotto punteggio specifico.

CRI-Educazione: comprende gli anni di scolarizzazione, più i corsi svolti (purchè abbiano avuto una durata superiore a sei mesi). Il punteggio grezzo di questa sezione viene calcolato come la somma di questi due valori.

CRI-attività lavorativa: indaga le mansioni svolte nell'età adulta. Le professioni sono state divise in cinque differenti livelli, sulla base del coinvolgimento intellettuale richiesto per l'esecuzione delle stesse e delle responsabilità derivanti da tali occupazioni: *i)* lavoro manuale non specialistico (es. contadino, autista, centralinista); *ii)* lavoro manuale

specialistico (es. artigiano, impiegato, parrucchiere); *iii*) lavoro non manuale specialistico o tecnico (es. commerciante, maestra d'asilo, agente immobiliare); *iv*) attività professionale (es. avvocato, psicologo, ricercatore); *v*) attività professionale altamente intellettuale (es. professore universitario, giudice, top manager). Il punteggio relativo a questo sottogruppo viene calcolato come la risultante degli anni di lavoro moltiplicati per il livello cognitivo della mansione (i gruppi, come descritti sopra, hanno un punteggio da 1 a 5)

CRI-tempo libero: in questa sezione vengono prese in considerazione le attività cognitivamente stimolanti svolte al di fuori del tempo dedicato al lavoro ed alla educazione. 16 items sono stati correlate a svariate attività intellettuali (lettura di periodici o libri, composizione di musica o capacità di suonare uno strumento musicale), sociali (volontariato, viaggi, partecipazione a eventi culturali) e sportive (sport, ballo, guida dell'auto). Per ognuna di queste categorie il questionario indaga la frequenza di svolgimento (mai/di rado o spesso/sempr) e gli anni dedicati; il punteggio grezzo viene calcolato come la somma degli anni di tutte le attività svolte con una frequenza pari a "*spesso/sempr*".

Il questionario termina con uno score relativo alla cura di figli ed animali domestici.

Calcolo del punteggio finale

Per ottenere il punteggio finale abbiamo utilizzato il file Excel per il calcolo automatico dei punteggi disponibile al seguente link: <http://cri.psy.unipd.it>.

I punteggi grezzi delle tre sezioni sono stati correlati con l'età, in base al numero di anni occupati da una singola attività (correlazione $r = -0.56$ per l'educazione, $r = 0.48$ per l'attività lavorativa, $r = 0.66$ per il tempo libero); al fine di eliminare l'influenza dell'età sul punteggio finale, sono state utilizzati tre modelli lineari: i tre sotto-punteggi grezzi sono stati impostati come variabili dipendenti, e l'età come variabile indipendente; questo rende possibile la comparazione tra gruppi di pazienti di età diverse.

Il punteggio finale (CRI) è dato dalla media delle tre sezioni, standardizzata e trasposta ad una scala con $M = 100$ e $SD = 15$. Il valore ottenuto è una stima diretta della RC del soggetto in esame ed il CRI può essere stratificato in 5 fasce; *i*) Basso (<70pt); *ii*) Medio-basso (70-84pt); *iii*) Medio (85-114); *iv*) Medio-alto (115-130); *v*) Alto (>130pt) (Nucci et al., 2012).

Tra i soggetti testati 1 ha riportato un punteggio basso (<70), 13 medio-basso (70-84), 29 medio (85-114), 9 medio-alto (115-130), 7 alto (>130); il punteggio medio è stato di 102 con una SD di 20,7335 (vedi Tab.2 per i dati relativi ai sotto punteggi).

Si riportano i punteggi dettagliatamente in tabella 2.

TABELLA 2: MEDIA DEI PUNTEGGI RIPORTATI NELLE VARIE SEZIONI DEL CRIQ

	Media	DS	Range
CRI	102,05	20,73	64-145
CRI scuola	108,73	15,48	81-144
CRI lavoro	103,71	22,02	67-155
CRI tempo libero	92,27	17,32	60-135

3.2.3 Protocollo FDG-PET e processing delle immagini

Le scansioni tomografiche sono state acquisite in seguito alla valutazione neuropsicologica, come indicato nelle linee guida EANM (Varrone et al, 2009). La glicemia dei pazienti, misurata dopo almeno 6 ore di digiuno è risultata inferiore a 7.8 mmol/L, come richiesto da procedura. I soggetti hanno ricevuto l'iniezione di radio-tracciante tramite cannula venosa periferica, dopo aver trascorso 10 minuti a riposo, in una stanza scarsamente illuminata e ad occhi chiusi; la dose di 18F-FDG somministrata è stata pari a 185-250 MBq.

Le scansioni sono state eseguite circa 45 minuti dopo l'iniezione e hanno richiesto approssimativamente 15 minuti a paziente; i movimenti della testa sono stati limitati con un apposito supporto in policarbonato. Il macchinario utilizzato è un tomografo Siemens Biograph 16 PET/CT HiRez, con una matrice di 256x256 in modalità tridimensionale, un campo assiale di 16,2 cm e una risoluzione spaziale di 5.8mm *full wide half-maximum (FWHM)*. Per ottenere immagini con voxel di 1.33x1.33x3.0 mm le acquisizioni sono state ricostruite con algoritmo OSEM (*Ordered Subset Expectation Maximization*), con 16 subset e 6 iterazioni, secondo i protocolli standard usati a scopo clinico ed incorporati nella postazione di lavoro delle attrezzature; le immagini sono state corrette per attenuazione, basandosi sullo scan TC.

Il pre-processing delle immagini è stato fatto con i software MATLAB e SPM (SPM12; Wellcome Trust Center for Neuroimaging, London, UK); queste sono state poi normalizzate in un template specifico per FDG-PET nello spazio stereotassico del MNI (*Montreal Neurological Institute*) (Della Rosa et al., 2014) e ricampionate in voxel di $2 \times 2 \times 2$ mm³. Lo smoothing dei dati spaziali è stato ottenuto con un filtro Gaussiano isotropico di 10mm.

3.2.4 Analisi statistica

In tutte le analisi, è stato usato il mascheramento standard di 0.8 gray per la materia grigia e il valore di default di 50 per la normalizzazione sulla media globale. Abbiamo considerato significativo un p non corretto <0.001 a livello di picco ed FWE-corretto < 0.05 a livello di cluster.

In tutte le analisi abbiamo incluso solamente cluster significativi, contenenti almeno 50 voxel; secondo la t-map di SPM, che mostra i cluster statisticamente significativi, abbiamo considerato come tali, quelli con un valore di p adattato a volumi di ricerca che fossero significativi per $p < 0,05$, corretto per comparazioni multiple a livello di un singolo cluster, con la tecnica *family wise*.

Le coordinate dei cluster sono state riportate sullo spazio stereotassico del MNI, per identificare le corrispondenti aree cerebrali, secondo la classificazione di Broca, utilizzando il software Automated Anatomical Labeling (Tzourio-Mazoyer et al., 2002), implementato su SPM.

3.3 Risultati

3.3.1 Cognitive reserve index questionnaire (CRIq): punteggio totale

In tabella 4 si riportano i risultati ottenuti in seguito alle analisi statistiche condotte sui punteggi totali ottenuti nel CRIq dai vari pazienti.

TABELLA 4: CORRELAZIONE INVERSA TRA IL METABOLISMO CEREBRALE E IL PUNTEGGIO TOTALE DEL CRIQ IN SPM12

	Cluster Level		Peak Level					
Cluster Extent	Corrected P value	Cortical region	Maximum Z score		Talairach Coordinates		Cortical Region	BA
282	0.004	L-Parietal	4.02	-44	-65	49	Inferior Parietal Lobule	7
		L-Parietal	3.9	-42	-70	42	Precuneus	19
		L-Limbic	3.7	-18	-58	16	Posterior Cingulate Gyrus	30
		L-Occipital	3.6	-30	-92	25	Superior Occipital Gyrus	19

Sono state acetate come statisticamente significative un valore di $p < 0.001$ non corretto a livello di picco e un FWE (Family Wise Error) corretto a livello di cluster. Nella sezione inerente al livello di picco, sulla destra, sono riportati lo Z score, le coordinate di picco, le corrispondenti regioni corticali e le relative aree di Brodmann (L, left; R, right). L'età dei pazienti (Tab.2) è stata inclusa come variabile confondente.

Si è ottenuta una relazione di proporzionalità inversa tra il punteggio totale ottenuto nel CRIq e le seguenti aree cerebrali: Lobo Parietale sx (Lobulo

Parietale inferiore; Precuneo); Lobo Limbico sx (Giro Cingolato posteriore);
Lobo Occipitale sx (Giro Occipitale superiore).

Nella figura 4 è possibile osservare la rappresentazione tridimensionale delle
aree di interesse e il grado di correlazione ottenuto.

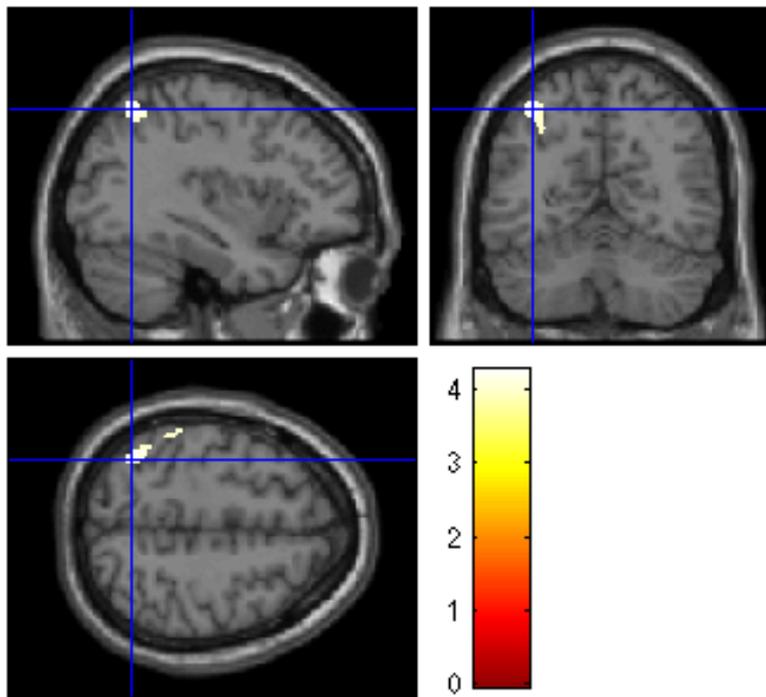


FIGURA 4: AREE DI IPOMETABOLISMO CEREBRALE, INVERSAMENTE CORRELATE AL PUNTEGGIO TOTALE OTTENUTO NEL CRIQ

3.3.2 Cognitive Reserve Index Questionnaire (CRIq): Scolarizzazione

Le analisi statistiche condotte con SPM12 sui dati inerenti agli anni di scolarizzazione, contrariamente all'atteso, non hanno evidenziato nessuna correlazione statisticamente significativa.

3.3.3 Cognitive Reserve Index Questionnaire (CRIq): Attività Lavorativa

In tabella 5 si riportano i risultati ottenuti in seguito alle analisi statistiche condotte sui punteggi ottenuti nella sezione inerente all'attività lavorativa del CRIq dai vari pazienti.

Sono stati accettati come statisticamente significativi un valore di $p < 0.003$ non corretto a livello di picco, e un FWE (*Family Wise Error*) a livello di cluster. Nella sezione inerente al livello di picco, sulla destra, sono riportati lo Z score, le coordinate di picco, le regioni corticali corrispondenti e le relative aree di Brodmann (L, left; R, right). L'età è stata inclusa come variabile confondente.

TABELLA 5: CORRELAZIONE INVERSA TRA IL METABOLISMO CEREBRALE E IL PUNTEGGIO DEL CRIQ- ATTIVITÀ LAVORATIVA IN SPM12

Cluster Extent	Cluster Level		Peak Level		Talairach Coordinates	Cortical Region	BA	
	Corrected P value	Cortical region	Maximum Z score					
365	0.05	L-Parietal	3.82	-44	-68	49	Inferior Parietal Lobule	7
		L-Parietal	3.79	-50	-47	28	Inferior Parietal Lobule	40

Si è ottenuta una relazione di proporzionalità inversa tra il punteggio totale nell'area inerente all'attività lavorativa nel CRIQ e le seguenti aree cerebrali: Lobo Parietale sx (Lobulo Parietale inferiore, aree di Brodmann 7 e 40). Nella figura 5 è possibile osservare la rappresentazione tridimensionale delle aree di interesse e il grado di correlazione ottenuto.

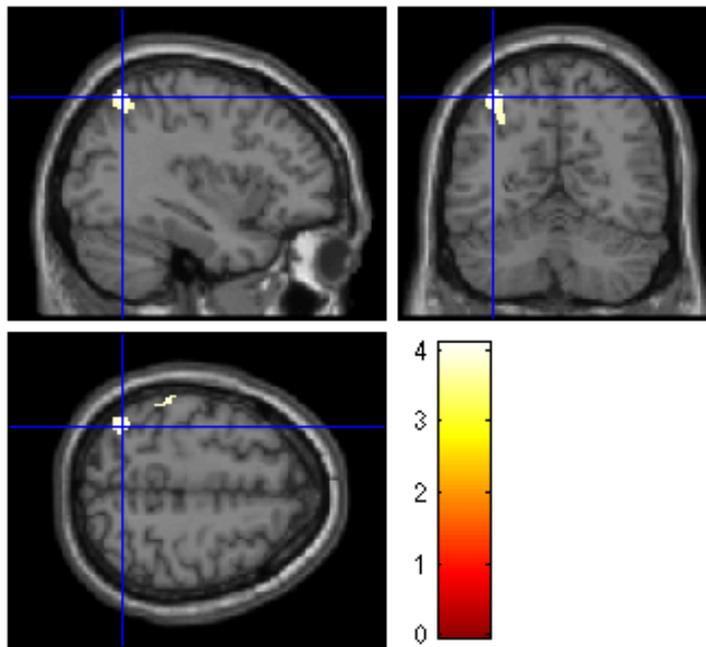


FIGURA 5: AREE DI IPOMETABOLISMO CEREBRALE, INVERSAMENTE CORRELATE AL PUNTEGGIO OTTENUTO NEL CRIQ-ATTIVITA' LAVORATIVA

3.3.4 Cognitive Reserve Index Questionnaire (CRIq): Tempo Libero

In tabella 6 si riportano i risultati ottenuti in seguito alle analisi statistiche condotte sui punteggi ottenuti nella sezione inerente al tempo libero del CRIq. Sono stati accettati come statisticamente significativi un valore di $p < 0.001$ non corretto a livello di picco, e un FWE (*Family Wise Error*) a livello di cluster. Nella sezione inerente al livello di picco, sulla destra, sono riportati lo Z score, le coordinate di picco, le regioni corticali corrispondenti e le relative aree di Brodmann (L, left; R, right). L'età è stata inclusa come variabile confondente.

TABELLA 6: CORRELAZIONE INVERSA TRA IL METABOLISMO CEREBRALE E IL PUNTEGGIO DEL CRIQ-TEMPO LIBERO IN SPM12

	Cluster Level		Peak Level					
Cluster Extent	Corrected P value	Cortical region	Maximum Z score		Talairach Coordinates		Cortical Region	BA
44	0.05	L-Parietal	4.98	-44	-68	49	Inferior Parietal Lobule	7

Si è ottenuta una relazione di proporzionalità inversa tra il punteggio totale nell'area inerente all'attività lavorativa nel CRIq e le seguenti aree cerebrali: Lobo Parietale sx (Lobulo Parietale inferiore, aree di Brodmann 7 e 40).

Nella figura 6 è possibile osservare la rappresentazione tridimensionale delle aree di interesse e il grado di correlazione ottenuto.

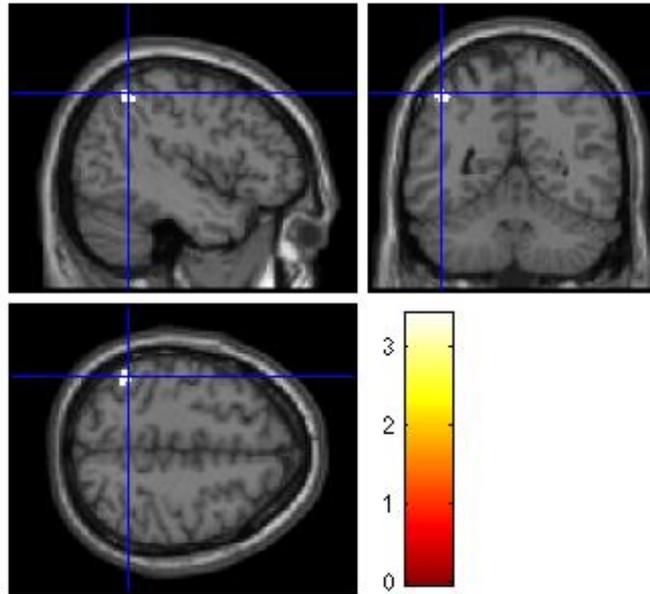


FIGURA 6: AREE DI IPOMETABOLISMO CEREBRALE INVERSAMENTE CORRELATE AL PUNTEGGIO OTTENUTO NEL CRIQ-TEMPO LIBERO

4.DISCUSSIONE

L'intento di questo studio era quello di caratterizzare i proxies che influenzano il fenomeno della riserva cognitiva, utilizzando un metodo di indagine efficace e riproducibile, e di stabilire quali tra questi fossero i maggiormente significativi.

Numerosi lavori avevano già chiarito il ruolo della stimolazione ambientale nella formazione di networks neuronali alternativi ingaggiati per far fronte al danno secondario alla patologia; Nithianantharajah e colleghi, nel 2006, hanno dimostrato con un modello murino di AD come l'arricchimento ambientale (inteso come aumento della complessità dell'habitat e degli stimoli ricevuti da roditori e altri animali) avesse effetti significativi sulla plasticità sinaptica esperienza-dipendente e sulla neurogenesi nell'adulto (Nithianantharajah et al., 2006). Nonostante molte persone sperimentino quotidianamente questa complessità nel corso della propria vita, la stimolazione mentale e l'attività fisica risultano molto variabili tra un individuo e l'altro. È fondamentale quindi caratterizzare in maniera più dettagliata quali dei fattori riconosciuti nel modello animale siano effettivamente rilevanti nell'uomo.

Il CRIq (Nucci et al., 2012) indaga in modo approfondito e sistematico numerosi aspetti che potrebbero avere un ruolo in tal senso e li riassume in un singolo indice, utile per comparare tra loro pazienti e studi differenti. Tra

questi fattori influenzanti, quello che ha un maggior peso dal punto di vista storico, è sicuramente l'educazione (Katzman et al., 1993), intesa come anni di scolarizzazione. L'educazione è implicata sia nel declino cognitivo parafisiologico connesso con l'invecchiamento, sia in quello connesso alle patologie neurodegenerative; per questa ragione è uno dei proxies storicamente utilizzati nel tentativo di quantificare la RC (Stern et al., 1992; McDowel et al., 2007; Ngandu et al., 2007; Pernecky et al., 2006). Considerando la scolarità come proxy, non si può ignorare come essa influenzi lo stile di vita in età adulta, incidendo sulla attività lavorativa e pertanto sulla possibilità di svago, né si può prescindere dal fatto che il livello di educazione sia strettamente connesso allo status socioeconomico. Gli studi che hanno utilizzato come fattore influenzante per la RC l'impegno cognitivo richiesto dalla professione svolta, il salario percepito e il prestigio derivato dalla carica ricoperta, hanno dimostrato che il lavoro può essere una fonte di RC indipendente rispetto alla scolarizzazione (Garibotto et al., 2008; Staff et al., 2004; Stern et al., 1995).

Oltre al livello di educazione ed alla professione, numerose evidenze epidemiologiche hanno messo in luce che le attività intellettuali, sociali e fisiche svolte nel tempo libero potrebbero concorrere in maniera indipendente o sinergica allo sviluppo della RC (Scarmeas et al., 2003; Crowe et al., 2003).

Tutti questi aspetti, indagati con il CRIq, sono stati tenuti in considerazione in questo studio, nel tentativo di ottenere una valutazione clinica della RC ottimale e completa. I pazienti selezionati avevano tutti una AMY-PET positiva; questo è un valore aggiunto rispetto ad altri studi in cui la definizione della malattia di Alzheimer è stata fatta con criteri clinici, infatti ci permette di stabilire con certezza che il decadimento cognitivo riscontrato ai test neuropsicologici è imputabile alla deposizione cerebrale di proteina amiloide e di classificare i pazienti come affetti da AD.

I risultati ottenuti hanno dimostrato come, concordemente a quanto atteso, il punteggio totale ottenuto, ovvero l'indice di riserva cognitiva (CRI), fosse inversamente correlato con il metabolismo cerebrale nelle aree classicamente associate alla RC a livello del lobo parieto-occipitale. Questo dato, in accordo con i numerosi studi già citati, conferma che i soggetti che nel corso della loro vita acquisiscono un maggior livello di RC sono maggiormente in grado di sopperire al deficit neurologico legato alla patologia, ingaggiando strategie di *coping* e network neuronali alternativi. In termini di imaging si osserva un ipometabolismo cerebrale più marcato nei pazienti con un CRI maggiore; questo si traduce, a livello clinico, nella capacità di mascherare il danno neuronale, e implica una maggior difficoltà nella caratterizzazione della patologia e un possibile ritardo diagnostico (Bauckneht et al., 2015).

Il CRIq offre la possibilità di visualizzare, nel foglio di calcolo dello score totale, i sotto-punteggi relativi alle tre macroaree indagate nel questionario. Per questo studio, al fine di capire se educazione, lavoro e tempo libero fossero correlati in maniera differente con la RC, nell'analisi statistica dei dati si è deciso di scomporre il Cognitive Reserve Index nei suoi tre sottopunteggi e di verificare la correlazione di ognuno di essi con il metabolismo cerebrale. Garibotto e colleghi, nel 2008, avevano già dimostrato, nel loro lavoro "Education and occupation as proxies for reserve in aMCI converters and AD: FDG-PET evidence", l'esistenza di una associazione significativa di proporzionalità inversa tra l'educazione e l'occupazione, e una minore attività metabolica regionale nel lobo temporo-parietale posteriore e nel precuneo di pazienti aMCI converters o con AD prodromico. Tale associazione non veniva confermata in pazienti aMCI non converters e nel controllo sano. Questo studio suggeriva come educazione ed occupazione potessero essere usati come proxies della RC, riducendo la severità e posticipando l'espressione clinica della malattia; i risultati ottenuti nei pazienti aMCI converters potrebbero evidenziare come la RC venga utilizzata dal paziente già nella fase silente che precede la demenza (Garibotto et al., 2008). Conclusioni analoghe erano state ottenute dall'equipe di Stern nel 1994, in "Influence of education and occupation on the incidence of Alzheimer's

disease”, e da Kramer et al. nel 2002 in un lavoro intitolato “Cognitive decline is related to education and occupation in a Spanish elderly cohort”.

Risultati sovrapponibili sono stati ottenuti anche utilizzando come proxy le attività svolte nel tempo libero; Scarmeas e colleghi, nel 2003, in “Association of life activities with cerebral blood flow in Alzheimer’s disease”, avevano già messo in luce l’esistenza di una correlazione del lifestyle con il fenomeno della RC, evidenziando come soggetti maggiormente coinvolti in queste attività avessero un grado di danno cerebrale più elevato, supportando l’idea che la RC possa essere modulata direttamente o indirettamente da quanto svolto nel tempo libero (Scarmeas et al., 2003). Nello stesso anno Crowe et al., nel loro lavoro “Does participation in leisure activities lead to reduced risk of Alzheimer’s disease? A prospective study of swedish twins”, confermano ulteriormente queste evidenze, in uno studio condotto su coppie di gemelli dello stesso sesso. Nei loro risultati viene ribadito come un maggior coinvolgimento in attività ricreative stimolanti durante la giovinezza e l’età adulta possa avere un ruolo protettivo contro lo sviluppo di AD e demenza in generale. Nonostante le grandi similarità nelle coppie di gemelli, le diverse attività svolte si correlavano ad un diverso rischio di demenza; tale differenza non poteva essere spiegata con il livello di educazione e non tutte le attività considerate avevano un uguale potenziale protettivo.

I dati ottenuti dalle nostre analisi hanno sicuramente confermato i risultati già visti in letteratura per quanto riguarda il lavoro e il tempo libero. Le indagini statistiche fatte con i punteggi del CRIq-lavoro hanno mostrato una correlazione inversa statisticamente significativa ($p < 0.003$) con il metabolismo cerebrale nell'area dellobulo parietale inferiore. Similmente, gli score del CRIq-tempo libero si correlavano inversamente ($p < 0.001$) con il metabolismo cerebrale della medesima area (Brodmann 7 e 40).

È sicuramente interessante notare che sono le attività svolte nel tempo libero ad avere la correlazione statisticamente più significativa, e quindi un maggior impatto sulla genesi della RC; il dato veramente sorprendente è però l'assenza di una correlazione statisticamente significativa tra l'ipo-metabolismo cerebrale nelle aree storicamente connesse alla RC e i punteggi del CRIq-educazione.

Questo dato, apparentemente contrastante con la maggior parte della letteratura sulla RC, che considera gli anni di scolarizzazione come uno dei fattori influenzanti principali (Stern et al., 1995), può essere interpretato alla luce del fatto che l'educazione si correla in modo diretto e importante con la posizione lavorativa occupata, l'accesso ad attività ricreative e culturali e un diverso grado di attenzione verso uno stile di vita sano e stimolante. Tutti i lavori fin ora citati potrebbero aver evidenziato una correlazione indiretta tra educazione e riserva cognitiva, secondaria alla relazione diretta tra attività

lavorativa/ricreativa e lo sviluppo di networks neuronali alternativi per far fronte al danno neurologico (RC). Questa ipotesi è sicuramente meritevole di approfondimento, che potrebbe essere attuato utilizzando il CRIq su un campione di pazienti più ampio di quello del nostro studio, che era di 59 soggetti e non ci permette di trarre conclusioni assolute e contrastanti con quelle ottenute da studi svolti su campioni significativamente maggiori. Fermo restando che riscontrare una correlazione non implica necessariamente un nesso di causalità, in quanto non è possibile dedurre una relazione causa-effetto tra due variabili esclusivamente sulla base di un'associazione osservata tra esse, rimane aperta la domanda su quali siano i veri determinanti della RC.

Non si può prescindere dal fatto che, a loro volta, l'attività lavorativa e il tempo libero, e indirettamente l'educazione, siano influenzati da altri fattori (per citarne alcuni lo stato sociale ed economico del soggetto, le capacità innate come l'intelligenza o determinate abilità tecniche e le influenze culturali) e quindi non siano proxies effettivi di RC, ma mascherino l'effetto diretto di queste altre variabili sulla RC (Bauckneht et al., 2015). Uno stato socio-economico inferiore si associa ad un aumentato rischio di esposizioni tossiche o ambientali dannose, deficit nutrizionali o insulti perinatali; alcuni studi hanno evidenziato come l'educazione possa semplicemente essere un proxy per altri fattori o esposizioni che mediano l'effettiva formazione di un

sistema di coping efficace (Fratiglioni et al., 1991). Di contro, analisi recenti mostrano come l'associazione tra anni di educazione e rischio di demenza persista anche dopo aver corretto i dati per indicatori socio-economici, problemi di salute, intelligenza e fattori connessi al lifestyle (Ngandu et al., 2007; McDowell et al., 2007).

Un altro punto rilevante è comprendere come la deposizione di proteina amiloide si correli con questi dati, soprattutto nell'ottica di verificare l'impatto che i proxies utilizzati in questo studio hanno sulla patogenesi del danno, oltre che sulla sua espressione clinica. Oggi la diffusione della AMY-PET come metodica diagnostica e di ricerca rende possibile un'indagine di questo tipo. Già nel 2013, Barskie e colleghi hanno pubblicato uno studio intitolato "Understanding cognitive deficits in Alzheimer's disease based on neuroimaging findings", in cui suggerivano che una stimolazione cognitiva adeguata potesse modificare anche la deposizione di amiloide, oltre che compensare il danno da essa causato. Nei controlli più anziani, quelli più attivi dal punto di vista cognitivo prima dello sviluppo della malattia avevano livelli di amiloide cerebrale simile ai controlli più giovani, ma quelli meno attivi avevano un profilo del segnale amiloide alla PET che ricordava quello dei pazienti con AD, come peraltro avevano già dimostrato Landau et al. nel 2012 (Landau et al., 2012). Analogamente, il declino longitudinale del metabolismo cerebrale quantificato con FDG-PET era più lento nei pazienti

AD con una riserva cognitiva maggiore. La proteina amiloide deposta a livello cerebrale potrebbe quindi influenzare indirettamente la cognitiv , tramite processi neuro-degenerativi. Altri indici della salute dell'encefalo, come la situazione vascolare, differenze strutturali individuali e i networks sviluppati nel corso della vita, potrebbero influenzare il grado di espressione del danno nel fenotipo clinico del paziente (Barskie et al., 2013).

I risultati ottenuti potrebbero aprire nuovi scenari connessi con gli effetti della riserva cognitiva dei pazienti con malattia di Alzheimer, suggerendo la possibilit  di strategie preventive messe in campo sia dal singolo che a livello sociale, per offrire attivit  che in misura sempre maggiore favoriscano lo sviluppo di una riserva cognitiva efficace contro la neuro-degenerazione, e la contrastino. Non   possibile prescindere dall'importanza dell'educazione, necessaria allo sviluppo cognitivo del soggetto, tuttavia l'evidenza del coinvolgimento delle attivit  svolte nella giovinezza e nell'et  adulta offre una possibilit  alternativa e non secondaria a tutti coloro che, per un motivo o per l'altro, non hanno accesso a un'adeguata istruzione e a tutto ci  che ne consegue, come determinate posizioni lavorative.

Il limite principale del presente studio   il numero dei soggetti coinvolti, che non permette la generalizzazione delle correlazioni ottenute; un'analisi pi  ampia e multicentrica potrebbe confermarli ulteriormente e aumentare la nostra conoscenza delle determinanti che influenzano il fenomeno della

riserva cognitiva. Il CRIq proposto da Nucci e colleghi è uno strumento adeguato ad un'indagine accurata e approfondita di questi fattori, che possono essere ulteriormente sviscerati con questionari mirati ai vari aspetti di interesse. Il suo uso come strumento internazionale validato ci permetterebbe di ampliare la casistica e di ottenere score correlabili, nell'ottica di rafforzare quanto evidenziato in questo lavoro.

5. CONCLUSIONI

Nel presente studio abbiamo mostrato che i fattori maggiormente correlati allo sviluppo della riserva cognitiva, nel paziente affetto da malattia di Alzheimer documentata da una AMY-PET positiva, sono le attività lavorative e ricreative svolte dal soggetto nel corso della sua vita. La scolarizzazione dei pazienti non ha presentato una correlazione statisticamente significativa col metabolismo cerebrale, pur essendo il proxy storicamente più utilizzato nella valutazione della RC. Se confermato in ulteriori studi, con una casistica più ampia e multicentrici, tale risultato permetterebbe la progettazione di strategie preventive per mitigare l'espressione clinica della patologia o per prevenire la neuro-degenerazione secondaria alla deposizione di proteina amiloide nei pazienti affetti da malattia di Alzheimer.

6.RINGRAZIAMENTI

Al termine di questo percorso desidero ringraziare in primo luogo la Professoressa Morbelli per avermi permesso di svolgere con lei questo lavoro, accompagnandomi con grande competenza e umanità per tutta la durata dello studio e della stesura della tesi. Ringrazio il Professor Nobili, per la sua disponibilità e per l'aiuto che mi ha offerto in questi mesi, ed Erica che ha condiviso con me buona parte di questo percorso.

Vorrei ringraziare poi la mia famiglia, in particolare i miei genitori, che mi sono stati accanto per questi sei anni, senza mai farmi mancare il loro sostegno incondizionato e il loro affetto.

La mia gratitudine va sicuramente a Elisa, Lorenzo, Lorenzo, Matteo, Nicolò e Vittorio per la gioia, la forza e la leggerezza che mi hanno regalato, condividendo con me questo percorso e la loro amicizia.

Un grazie a tutti quegli amici che ci sono sempre stati e a quelli conosciuti a Genova; ho avuto la fortuna di non sentirmi mai sola.

Infine, un piccolo grazie va anche a me stessa, con l'augurio di ritrovare la bellezza di questi anni anche nel mio cammino futuro, senza perdere la curiosità che mi contraddistingue.

7.BIBLIOGRAFIA

Bartenstein P, Asenbaum S, Catafau A, et al. European Association of Nuclear Medicine procedure guidelines for brain imaging using [(18)F] FDG. Eur J Nucl Med Mol Imaging 2002; 29: BP43–8.

Bauckneht M, Picco A, Nobili F, Morbelli S. Amyloid positron emission tomography and cognitive reserve. World J Radiol 2015 475-483

Cittadini G, Cittadini G, Sardanelli F. Diagnostica per immagini e radioterapia, 2015. Edra.

Crowe M, Andel R, Pedersen NL, Johansson B, Gatz M. Does participation in leisure activities lead to reduced risk of Alzheimer's disease? A prospective study of Swedish twins. J Gerontol B Psychol Sci Soc Sci 2003; 58: 249-55.

Cummings JL, Mega M, Gray K, Rosenberg-Thompson S, Carusi DA, Gornbein J. The Neuropsychiatric Inventory: comprehensive assessment of psychopathology in dementia. Neurology. 1994 Dec;44(12):2308-14.

Della Rosa P.A, Cerami C, Gallivanone F, Prestia A, Caroli A, Castiglioni I, Gilardi M.C, Frisoni G, Friston K, Ashburner, J, Perani D, 2014. A standardized [18F]-FDG-PET template for spatial normalization in statistical parametric mapping of dementia. *Neuroinformatics* 12, 575e593.

Dubois B, Feldman HH, Jacova C, Hampel H, Molinuevo JL, Blennow K. Advancing research diagnostic criteria for Alzheimer's disease: the IWG-2 criteria. *Lancet Neurol.* 2014;13:614–29.

Eckert T, Barnes A, Dhawan V, Frucht S, Gordon MF, Feigin AS, et al. FDG PET in the differential diagnosis of parkinsonian disorders. *Neuroimage* 2005; 26:912–21.

Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. "Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res.* 1975 Nov;12(3):189-98. doi: 10.1016/0022-3956(75)90026-6. PMID: 1202204.

Fratiglioni L, Grut M, Forsell Y, et al. Prevalence of Alzheimer's disease and other dementias in an elderly urban population: relationship with age, sex, and education. *Neurology* 1991;41:1886–1892.

Friston KJ, Frith CD, Liddle PF, Dolan RJ, Lammertsma AA, Frackowiak RS. The relationship between global and local changes in PET scans. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1990 Jul;10(4):458-66.

Friston KJ, Frith CD, Liddle PF, Frackowiak RS. Comparing functional (PET) images: the assessment of significant change. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1991 Jul;11(4):690-9.

Garba AE, Grossberg GT, Enard KR, Jano FJ, Roberts EN, Marx CA, Buchanan PM. Testing the Cognitive Reserve Index Questionnaire in an Alzheimer's Disease Population. *J Alzheimers Dis Rep.* 2020 Dec 14;4(1):513-524

Garibotto V, Borroni B, Kalbe E et al. Education and occupation as proxies for reserve in aMCI converters and AD: FDG-PET evidence. *Neurology* 2008; 71: 1342-9.

Hasselbalch SG, Knudsen GM, Videbaek C, et al. No effect of insulin on glucose blood-brain barrier transport and cerebral metabolism in humans. *Diabetes* 1999; 48:1915–21.

Henry TR, Votaw JR. The role of positron emission tomography with [18F] fluorodeoxyglucose in the evaluation of the epilepsies. *Neuroimaging Clin N Am* 2004; 14:517–35.

Herholz K, Salmon E, Perani D, et al. Discrimination between Alzheimer dementia and controls by automated analysis of multicenter FDG PET. *Neuroimage* 2002; 17:302–16.

Johnson KA, Minoshima S, Bohnen NI, et al. Appropriate use criteria for amyloid PET: a report of the Amyloid Imaging Task Force, the Society of Nuclear Medicine and Molecular Imaging, and the Alzheimer's Association. *J Nucl Med*. 2013; 54:476–490.

Kalpouzos G, Chetelat G, Baron JC et al. Voxel-based mapping of brain gray matter volume and glucose metabolism profiles in normal aging. *Neurobiol Aging*; 2009; 30(1):112-124

Kaschten B, Stevenaert A, Sadzot B, et al. Preoperative evaluation of 54 gliomas by PET with fluorine-18-fluorodeoxyglucose and/or carbon-11-methionine. *J Nucl Med* 1998; 39:778–85.

Kasper DL, Fauci AS, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, Loscalzo J. Harrison's Principles of Internal Medicine 19th edition, 2017. McGraw Hill Education.

Katz S, Ford Ab, Moskowitz Rw, Jackson Ba, Jaffe Mw. Studies of illness in the aged. The Index Of Adl: A standardized measure of biological and psychosocial function. *Jama*. 1963 Sep 21;185:914-9

Katzman R, Terry R, DeTeresa R, Brown T, Davies P, Fuld P, Renbing X, Peck A. Clinical, pathological, and neurochemical changes in dementia: a subgroup with preserved mental status and numerous neocortical plaques. *Ann Neurol* 1988; 23: 138-44.

Katzman R. Education and the prevalence of dementia and Alzheimer's disease. *Neurology*. 1993 Jan;43(1):13-20. doi: 10.1212/wnl.43.1_part_1.13

Keller JN. Age-related neuropathology, cognitive decline, and Alzheimer's disease. *Ageing Res Rev* 2006; 5: 1-13.

Kramer AF, Bherer L, Colcombe SJ, Dong W, Greenough, WT. Cognitive decline is related to education and occupation in a Spanish elderly cohort. *Aging Clin Exp Res* 2002; 14: 132-42.

Kuhl DE, Metter EJ, Riege WH et al. Effects of human aging on patterns of local cerebral glucose utilization determined by the [18F] fluorodeoxyglucose method. *J Cereb Blood Flow Metab* 1982; 2(2):163-171

Landau, S.M. et al. (2012) Association of lifetime cognitive engagement and low beta-amyloid deposition. *Arch. Neurol.* 69, 623–629

Lawton MP, Brody EM. Assessment of older people: self-maintaining and instrumental activities of daily living. *Gerontologist.* 1969 Autumn;9(3):179-86

McDowell I, Xi G, Lindsay J, Tierney M. Mapping the connections between education and dementia. *J Clin Exp Neuropsychol* 2007; 29: 127-41.

McKhann GM, Knopman DS, Chertkow H, Hyman BT, Jack CR Jr, Kawas CH, Klunk WE, Koroshetz WJ, Manly JJ, Mayeux R, Mohs RC, Morris JC, Rossor MN, Scheltens P, Carrillo MC, Thies B, Weintraub S, Phelps CH. The

diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*. 2011 May;7(3):263-9.

Minoshima S, Drzezga AE, Barthel H, Bohnen N, Djekidel M, Lewis DH, Mathis CA, McConathy J, Nordberg A, Sabri O, Seibyl JP, Stokes MK, Van Laere K. SNMMI Procedure Standard/EANM Practice Guideline for Amyloid PET Imaging of the Brain 1.0. *J Nucl Med*. 2016 Aug; 57(8): 1316-22.

Morbelli S, Nobili F. Cognitive Reserve and clinical expression of Alzheimer's disease: evidence and implications for brain PET imaging. *Am J Nucl Med Mol Imaging* 2014; 4(3): 239-247

Morris JC. Clinical dementia rating: a reliable and valid diagnostic and staging measure for dementia of the Alzheimer type. *Int Psychogeriatr*. 1997;9 Suppl 1:173-6

Mortimer JA. Do psychosocial risk factors contribute to Alzheimer's disease?
In: Etiology of dementia of Alzheimer's type. New York: John Wiley and
Sons, 1988:39-52

Mosconi L. Brain glucose metabolism in the early and specific diagnosis of
Alzheimer's disease: FDG-PET studies in MCI and AD. Eur J Nucl Med
Imaging. 2005; 32: 486-510

Neurologia di Fazio-Loeb a cura di Andrea Seitun, V edizione. Società
Editrice Universo, 2019. Capitolo 35

Ngandu T, Von Strauss E, Helkala EL et al. Education and dementia: what
lies behind the association? Neurology 2007; 69: 1442-50.

Nithianantharajah J, Hannan AJ. Enriched environments, experience-
dependent plasticity and disorders of the nervous system. Nat Rev Neurosci
2006; 7: 697-709

Nucci M, Mapelli D, Mondini S. Cognitive reserve index questionnaire
(CRIq): a new instrument for measuring cognitive reserve. Aging Clin Exp
Res. 2012; 24(3): 218-26

Ortner MM. The Use of F-FDG PET in the Diagnostic Workup of Alzheimer's Dementia. *Methods Mol Biol.* 2018; 1750:213-219

Pernecky R, Drzezga A, Diehl-Schmid J et al. Schooling mediates brain reserve in Alzheimer's disease: findings of fluoro-deoxyglucose- positron emission tomography. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2006; 77: 1060-3

Pernecky R, Wagenpfeil S, Lunetta KL, Cupples LA, Green RC, Decarli C, Farrer LA, Kurz A; MIRAGE Study Group. Head circumference, atrophy, and cognition: implications for brain reserve in Alzheimer disease. *Neurology* 2010; 75: 137-42

Rapoport SI. Functional brain imaging in the resting state and during activation in Alzheimer's disease. Implications for disease mechanism involving oxidative phosphorylation. *Ann N Y Acad Sci.* 1999; 893:138-53

Rey, A. (1964). *L'examen clinique en psychologie.* Paris: Presses Universitaires de France.

Rice L, Bisdas S. The diagnostic value of FDG and amyloid PET in Alzheimer's disease-A systematic review. *Eur J Radiol.* 2017; 94:16-24

Rowe CC, Villemagne VL. Brain amyloid imaging. *J Nucl Med* 2011; 52: 1733-40.

Scarmeas N, Zarahn E, Anderson KE et al. Association of life activities with cerebral blood flow in Alzheimer Disease. Implications for the cognitive reserve hypothesis. *Arch Neurol* 2003; 60:359-65.

Sheikh JI, Yesavage JA. Geriatric Depression Scale; recent evidence and development of a shorter version. *Clin Gerontol.* 1986;5:165-172

Springer MV, McIntosh AR, Winocur G, Grady CL. The relation between brain activity during memory tasks and years of education in young and older adults. *Neuropsychology* 2005; 19: 181-92

Staff RT, Murray AD, Deary IJ, Whalley LJ. What provides cerebral reserve? *Brain* 2004; 127: 1191-9.

Stern Y, Alexander GE, Prohovnik I et al. Relationship between lifetime occupation and parietal flow: implications for a reserve against Alzheimer's disease pathology. *Neurology* 1995; 45:55-60.

Stern Y, Alexander GE, Prohovnik I, Mayeux R. Inverse relationship between education and parietotemporal perfusion deficit in Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 1992; 32: 371-5.

Stern Y, Gurland B, Tatemichi TK, Tang MX, Wilder D, Mayeux R. Influence of education and occupation on the incidence of Alzheimer's disease. *JAMA* 1994; 271: 1004-10

Stern Y. Cognitive reserve and Alzheimer disease. *Alzheimer Dis Assoc Disord* 2006; 20: 69-74.

Stern Y. Cognitive reserve. *Neuropsychologia* 2009; 47: 2015-28.

Stern Y. What is cognitive reserve? Theory and research application of the reserve concept. *J Int Neuropsychol Soc* 2002; 8: 448-460.

Talairach J, Tournoux P. Co-planar stereotaxic atlas of the human brain. New York: Thieme Medical; 1988.

Tzourio-Mazoyer N, Landeau B, Papathanassiou D, Crivello F, Etard O, Delcroix N, Mazoyer B, Joliot M, 2002. Automated anatomical labeling of

activations in SPM using a macroscopic anatomical parcellation of the MNI MRI single-subject brain. *Neuroimage* 15, 273e289.

Valenzuela MJ, Sachdev P. Brain reserve and dementia: a systematic review. *Psychol Med* 2005; 35: 1-14.

Varrone A, Asenbaum S, Vander Borgh T, Booij J, Nobili F, Någren K, Darcourt J, Kapucu OL, Tatsch K, Bartenstein P, Van Laere K. EANM procedure guidelines for PET brain imaging using [18F]FDG, version 2. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2009; 36:2103–2110.

Villemagne VL, Ataka S, Mizuno T, Brooks WS, Wada Y, Kondo M, Jones G, Watanabe Y, Mulligan R, Nakagawa M, Miki T, Shimada H, O'Keefe GJ, Masters CL, Mori H, Rowe CC. High striatal amyloid beta-peptide deposition across different autosomal Alzheimer disease mutation types. *Arch Neurol*. 2009 Dec; 66(12):1537-44

Whalley LJ, Deary IJ, Appleton CL, Starr JM. Cognitive reserve and the neurobiology of cognitive aging. *Ageing Res Rev* 2004; 3: 369-82.

Worsley KJ, Evans AC, Marrett S, Neelin P. A three-dimensional statistical analysis for CBF activation studies in human brain. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1992Nov;12(6):900-18. PMID: 1400644.