



Università Campus Bio-Medico di Roma
Corso di dottorato di ricerca in Scienze della
Neuroplasticità e del Recupero Neurofunzionale
XXIII ciclo anno 2008

**Demenza ed aterosclerosi:
evidenze scientifiche e marcatori di malattia**

Dott.ssa Claudia Altamura

Coordinatore
Prof Paolo Maria Rossini

Tutore
Dott Fabrizio Vernieri

INDICE

I. LA MALATTIA D'ALZHEIMER: neurodegenerazione.....	3
1.1 ANOMALIE PROTEICHE - L'IPOTESI AMILOIDE	3
1.2 ALTERAZIONI DI SINAPSI	6
2.1 DISFUNZIONE MITOCONDRIALE.....	8
2. LA MALATTIA D'ALZHEIMER: danno neurovascolare	14
2.1 FATTORI DI RISCHIO VASCOLARE.....	14
2.2 MARKER DI ATEROSCLEROSI.....	20
2.3 EMODINAMICA CEREBRALE	23
2.4 UNITÀ NEUROVASCOLARE.....	26
3. LA MALATTIA D'ALZHEIMER: neuroimaging	33
3.1 ATROFIA	33
3.2 ALTERAZIONI METABOLICHE E DI FLUSSO	36
3.3 IPERINTENSITÀ DELLA SOSTANZA BIANCA.....	38
3.4 ALTERAZIONI DELLA DIFFUSIBILITÀ DELL'ACQUA	40
4. L'ADC regionale riflette le performance cognitive in pazienti affetti da AD	47
4.1 INTRODUZIONE.....	47
4.2 MATERIALI E METODI.....	48
4.3 RISULTATI.....	55
4.4 DISCUSSIONE.....	58
Bibliografia	61

LA MALATTIA D'ALZHEIMER: neurodegenerazione

Più di 35 milioni di persone al mondo sono affette da Malattia d'Alzheimer (AD), la forma più comune di demenza. Il suo principale fattore di rischio è l'età: l'incidenza di malati raddoppia ogni 5 anni dopo i 65 (anni). Con l'invecchiamento della popolazione generale, la prevalenza della malattia raggiungerà nei soli Stati Uniti fino ai 16 milioni di casi. Il "World Health Report" del 2003 ha dimostrato che questa patologia è una delle cause principali di disabilità prematura e di mortalità, preceduta solamente dalla cardiopatia ischemica, dalla malattia cerebrovascolare e dalla bronco-pneumopatia cronica ostruttiva (Beaglehole R 2003).

Sono state descritte molte lesioni molecolari alla base della fisiopatologia dell'AD, ma nell'insieme le evidenze suggeriscono che sia l'accumulo di proteine mal arrangiate a provocare il danno ossidativo ed infiammatorio, che a sua volta porta alle disfunzioni sinaptiche ed allo scompenso energetico (Querfurth and LaFerla 2010) .

ANOMALIE PROTEICHE

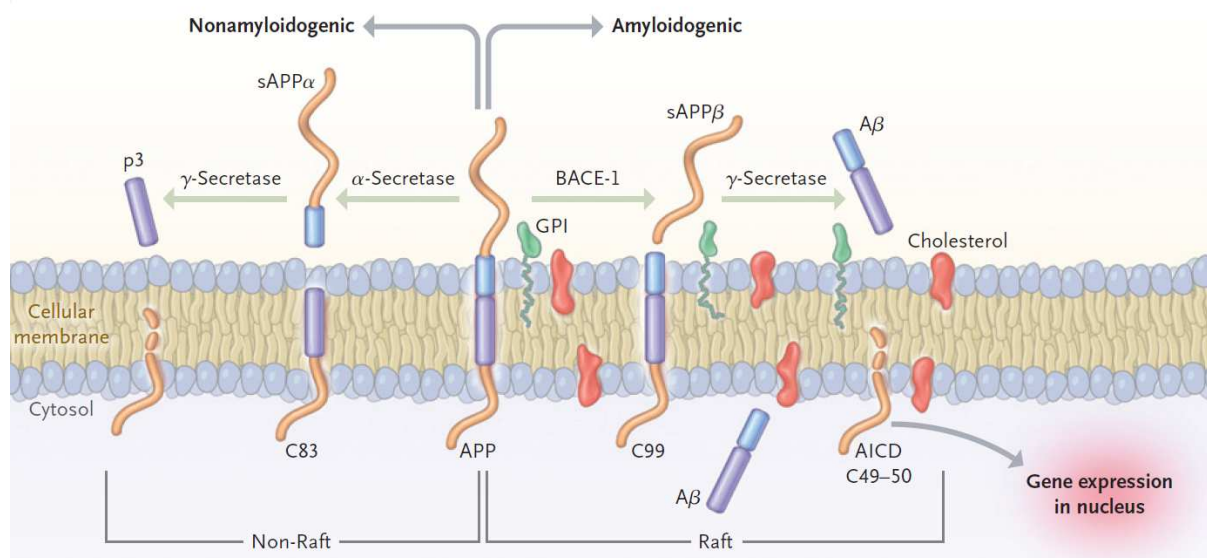
3

β-Amiloide. L'ipotesi amiloide.

Le placche cerebrali di β-amiloide (Aβ), i neuriti distrofici nei campi neocorticali terminali, ed i *tangle* neurofibrillari nelle strutture temporo-mesiali, rappresentano le più importanti caratteristiche anatomo-patologiche dell'AD. Tali reperti si associano a perdita di tessuto neuronale a carico della sostanza bianca e grigia, angiopatia amiloide e segni di infiammazione e di danno ossidativo. I peptidi Aβ sono prodotti naturali del metabolismo e consistono di 36-43 aminoacidi. I monomeri di Aβ-40 sono prevalenti delle specie Aβ-42 che sono maggiormente portate ad aggregarsi e provocare danni. I peptidi Aβ originano dalla proteolisi delle proteine precursori dell'amiloide (APP) dall'azione in sequenza dell'enzima di *clivaggio* delle APP nel sito beta di tipo I (BACE-I), una β-secretasi, e di una γ-secretasi, un complesso proteico che include la presenilina I ed il suo cuore catalitico (figura 1). Uno sbilanciamento tra la produzione, lo smaltimento ed l'aggregazione dei peptidi provoca l'accumulo di Aβ che si ritiene possa essere il fattore che inizia la cascata fisiopatologica dell'AD. Questa teoria denominata "l'ipotesi amiloide" è nata dallo studio delle forme genetiche di AD (ad es. la Sindrome di Down) e corroborata dall'effetto tossico dell'Aβ-42 sulle cellule. L'Aβ può aggregarsi spontaneamente in multiple forme fisiche, e crescere in fibrille che a loro volta si organizzano in fogli β-pieghettati che formano le fibre insolubili

che si ritrovano nelle placche amiloidi avanzate. Gli oligomeri solubili e gli intermedi amiloidei sono le forme più tossiche di A β .

Figura I.



modificato da Querfurth & LaFerla, 2010

4

In preparazioni di tessuto i dimeri e trimeri di A β sono già tossici per le sinapsi. L'attivazione neuronale incrementa rapidamente la secrezione di A β a livello della sinapsi, un processo correlato al normale rilascio di vescicole contenenti neurotrasmettitori. Livelli fisiologici di A β sinaptica possono ridurre la trasmissione eccitatoria e prevenire l'iperattività neuronale. La proteasi neprilina, un enzima degradante l'insulina, regola i livelli basali di A β . La neprilina, una zinco-peptidasi di membrana, degrada i monomeri ed oligomeri di A β ; una sua riduzione determina quindi un accumulo cerebrale di A β . Al contrario una sovraespressione di neprilina o di enzimi degradanti l'insulina previene la formazione delle placche.

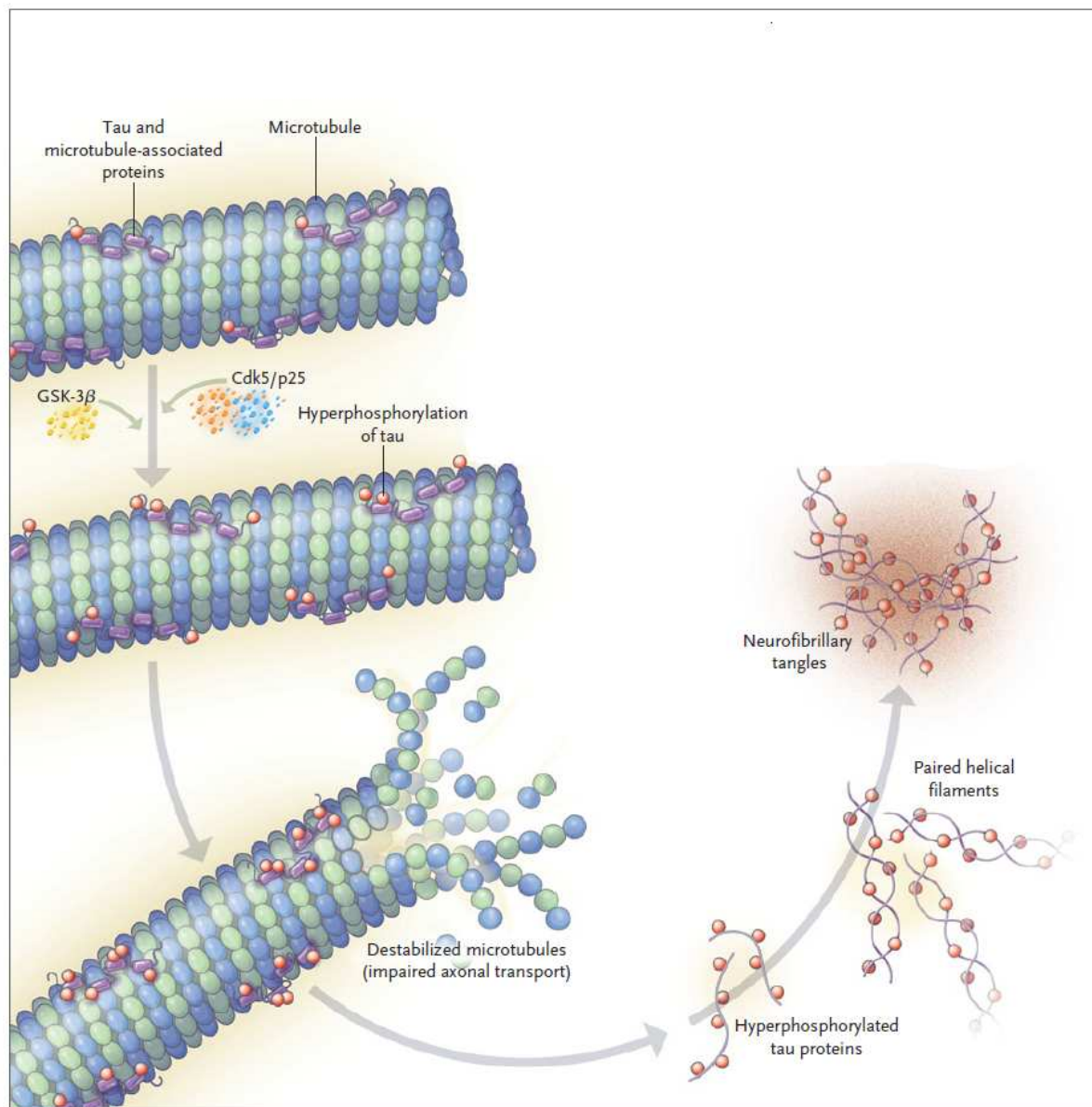
Sono in corso *trial* clinici sull'utilizzo di un inibitore della γ -secretasi, bloccanti dell'aggregazione, e vaccinazione con A β ed anticorpi monoclonali verso vari epitopi dell'A β . Nel trial sul vaccino della fase 2a sono stati descritti dei casi di encefalite e il *follow-up* di pazienti immunizzati non ha mostrato benefici sulla sopravvivenza o sulle *performance* cognitive dei pazienti, nonostante sia stata osservata una riduzione delle placche.

Tau

I *tangle* neurofibrillari, delle inclusioni filamentose che si ritrovano all'interno dei neuroni piramidali si ritrovano nell'AD ed in altre patologie neurodegenerative denominate taupatie. L'entità di *tangle* neurofibrillari è considerato un *marker* anatomico-patologico di severità di malattia. Il maggior

componente dei *tangle* è una forma aggregata di proteina tau abnormemente iperfosforilata. Normalmente la tau è presente in forma solubile negli assoni per promuovere l'assemblaggio e la stabilità dei microtubuli ed il trasporto vescicolare. La sua forma iperfosforilata è invece insolubile e non presenta affinità per i microtubuli, andando ad auto-associarsi così da formare dei filamenti appaiati elicoidali (figura 2).

Figura 2.



5

modificato da Querfurth & LaFerla, 2010

Gli enzimi che aggiungono e quelli che rimuovono i residui fosfato, regolano la fosforilazione della tau. Come gli oligomeri A β , gli aggregati intermedi delle molecole tau anomali sono citotossici ed alterano le funzioni cognitive. I filamenti elicoidali insolubili possono anche essere inerti, considerando

che la riduzione del trasporto assonale e della densità neuronale sembrano essere indipendenti dal carico di *tangle* neurofibrillari. Questi filamenti elicoidali inglobano le specie tau tossiche intermedie, un processo che potrebbe avere degli effetti protettivi. In aggiunta, non sono state descritte mutazioni nei geni della proteina Tau nell'AD e l'entità di perdita neuronale non sembra correlare con il carico di *tangle* neurofibrillari. Tuttavia, un incremento dei livelli di tau fosforilata e della tau totale nel liquor sembra essere legato un peggioramento dei punteggi ottenuti dai pazienti con AD ai test neuropsicologici. Inoltre, la presenza di livelli elevati di aminoacidi fosfo-tau e la tau totale nel liquor costituisce un *marker* biologico in grado di predire con una buona accuratezza la progressione in AD dei pazienti con Mild Cognitive Impairment (MCI). Evidenze sperimentali indicano che l'accumulo di A β precede e promuove l'aggregazione di tau. Inoltre, sia la degenerazione A β -indotta di neuroni in coltura che l'instaurarsi di deficit cognitivi in modelli murini di AD richiedono la produzione di tau endogena. L'incremento di stress ossidativo, l'alterazione del ripiegamento proteico da parte del reticolo endoplasmatico e un insufficiente smaltimento delle proteine danneggiate attraverso l'attività dei proteasomi e l'autofagia, tutti associati all'invecchiamento, accelerano l'accumulo di proteine tau ed amiloide nell'AD.

ANOMALIE DI SINAPSI

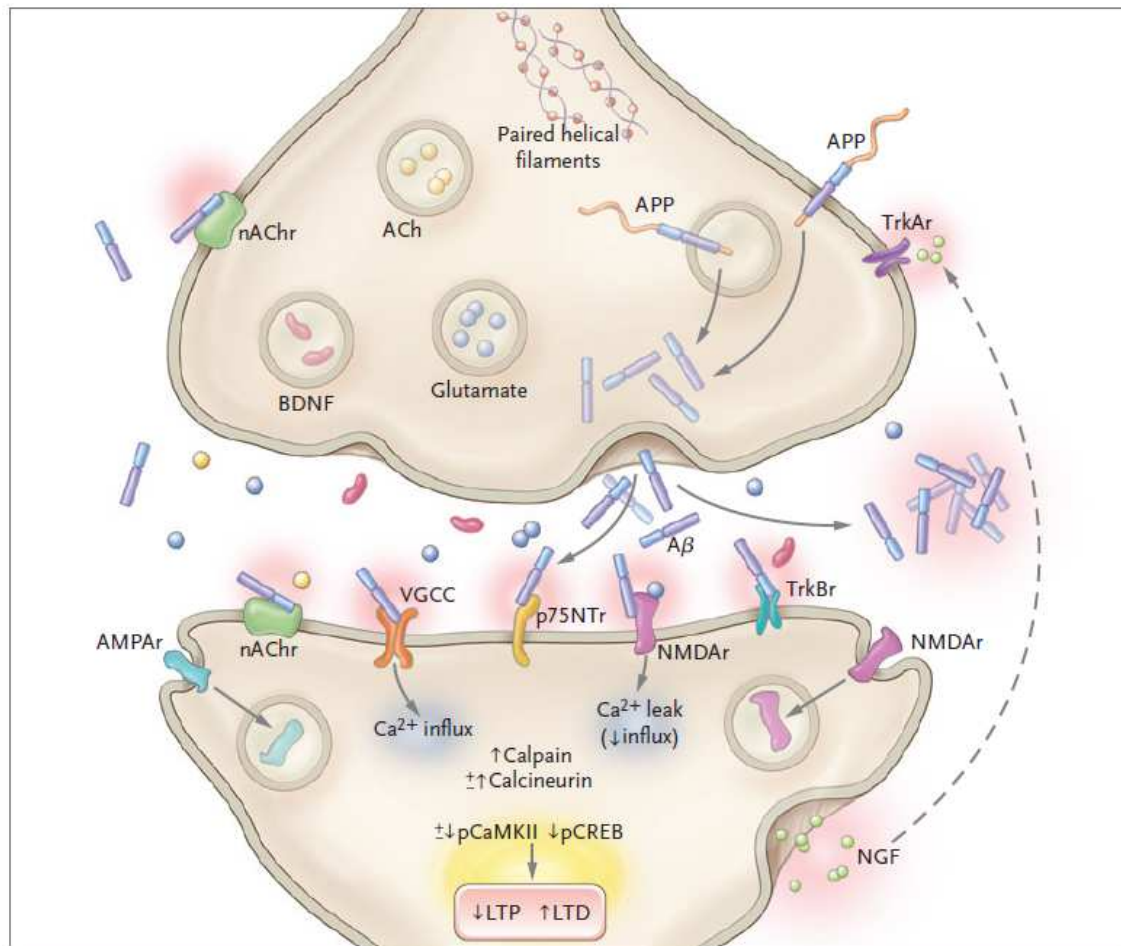
6

Insufficienza sinaptica

L'AD può essere definita come un disturbo primario d'insufficienza sinaptica. Le sinapsi ippocampali iniziano a deteriorarsi già nei pazienti con MCI, nei quali le sinapsi funzionanti rimanenti tendono a compensare il danno. Nell'AD moderato c'è una riduzione di circa il 25% della proteina vescicolare presinaptica sinaptosina. Con l'avanzamento della malattia, le sinapsi si riducono in modo sproporzionale rispetto alla perdita neuronale e questa riduzione è maggiormente correlata al grado di demenza. L'invecchiamento da solo può causare perdita sinaptica, maggiormente nella regione dentata dell'ippocampo. La trasmissione basale di singoli impulsi e la "*long-term potentiation*" (LTP), un indicatore sperimentale della memoria sinaptica, sono alterati nel modello murino di AD portatore di placche e dopo che il peptide A β è stato aggiunto al tessuto cerebrale. In seguito a quest'alterazione, vengono inibite le molecole segnale rilevanti per il processo di memoria. L'alterazione del rilascio di neurotrasmettitori presinaptici e delle correnti ioniche post-sinaptiche legate al recettore per il glutammato vengono in parte determinate dall'endocitosi dei recettori di superficie per il N-metil-D-aspartato (NMDA) e per l'acido propionico α -amino-3-idrossi-5-metil-4-isoxazolo (figura 3). Quest'ultimo indebolisce ulteriormente l'attività sinaptica, inducendo una riduzione duratura delle correnti da treni di stimoli ad alta frequenza. Uno spostamento simile dell'equilibrio tra potenziamento

e depressione delle sinapsi si osserva anche nell'invecchiamento fisiologico. La presenza di A β intraneuronale può favorire questi deficit sinaptici più rapidamente.

Figura 3.



da Querfurth & LaFerla, 2010

7

Deplezione di neurotrofine e neurotrasmettitori

Le neurotrofine promuovono la proliferazione, la differenziazione e la sopravvivenza di neuroni e della glia. Inoltre sono rilevanti per l'apprendimento, la memoria ed il comportamento. I fisiologici livelli elevati di recettori per le neurotrofine nei neuroni colinergici nel prosencefalo basale sono gravemente ridotti negli stadi terminali dell'AD. L'iniezione di fattori di crescita può "salvare" i neuroni basali in modelli animali. Un *trial* in fase I sul trattamento con il gene NGF nell'AD ha mostrato un miglioramento cognitivo e del metabolismo encefalico. Nell'AD e nel deterioramento cognitivo, i livelli di *brain-derived neurotrophic factor* (BDNF), un membro della famiglia delle neurotrofine, sono depressi. Il trattamento con BDNF nei rodenti e nei primati favorisce la sopravvivenza neuronale, la funzione sinaptica e la memoria, suggerendo che il supplemento di BDNF sia un'altra potenziale opzione terapeutica per l'AD. Il deficit delle proiezioni colinergiche nell'AD è stato posto in relazione con il formarsi dell'A β e della

proteina tau. I recettori presinaptici α -7 nicotinici per l'acetilcolina (ACh) sono essenziali per il processamento cognitivo ed i loro livelli aumentano negli stadi iniziali di malattia, probabilmente come meccanismo di compenso, per poi diminuire nelle fase più tardive. Studi sperimentali hanno mostrato che l'A β si lega ai recettori α -7 nicotinici per l'ACh, riducendo il rilascio di ACh ed ostacolando il mantenimento della LTP. Il livello dei recettori muscarinici per l'ACh, o l'accoppiamento recettoriale, è ridotto nei pazienti con AD. La stimolazione farmacologica dei recettori post-sinaptici muscarinici di tipo I per l'ACh attiva la protei-kinasi C, favorendo il processamento dell'APP che non porta all'amiloide. Inoltre, l'attivazione dei recettori nicotinici per l'ACh o dei recettori muscarinici di tipo I limita la fosforilazione della tau. Sebbene gli inibitori della Colinesterasi, il *gold standard* terapeutico attuale dell'AD, migliorino la neurotrasmissione ed i sintomi cognitivi, essi perdono efficacia nel tempo. L'uso di agonisti e modulatori dei recettori α -7 nicotinici per l'ACh è in corso di studio. *Trial* clinici sull'utilizzo di agonisti selettivi dei recettori muscarinici per l'ACh di tipo I hanno dimostrato un miglioramento delle performance cognitive e riducono i livelli di amiloide nel liquor. Tuttavia, questi agenti sono tossici.

DISFUNZIONE MITOCONDRIALE

L'A β è un potente veleno mitocondriale, alterando soprattutto il *pool* sinaptico. Nell'AD, l'esposizione all'A β inibisce gli enzimi-chiave mitocondriali a livello cerebrale. In particolare, viene attaccato il citocromo C. Di conseguenza, il trasporto elettronico, la produzione di ATP ed il consumo d'ossigeno, ed il potenziale di membrana mitocondriale, si alterano. L'incremento della formazione di radicali superossido e la conversione in idrogeni perossido provoca stress ossidativo, il rilascio di citocromo C ed apoptosi. L'alcol deidrogenasi è uno dei *target* di ancoramento dell'A β intraneuronale nell'AD. Sia nell'AD che nell'invecchiamento fisiologico, il DNA mitocondriale (mtDNA) predispone ad alti livelli di danno ossidativo. L'instabilità e l'irreparabilità del materiale genetico mitocondriale permette un accumulo graduale di mutazioni del mtDNA. La frammentazione di mitocondri provocata dall'ossidazione di proteine trasporto simili alla dinamina, può determinare una perdita sinaptica nell'AD. È stato descritto che l'idrocloride antistamina dimebolina, un potenziale stimolatore mitocondriale, può migliorare le funzioni cognitive in pazienti con AD lieve-moderato.

8

Stress Ossidativo

I mitocondri non funzionanti rilasciano radicali liberi ossidanti, provocando nell'AD e nell'invecchiamento fisiologico un importante stress ossidativo. Studi sperimentali mostrano che *marker* di danno ossidativo precedono i cambiamenti anatomico-patologici. L'A β , un potente generatore di specie reattive dell'ossigeno (ROS) e del nitrogeno (RNS), è un primo determinante di questo danno. Il recettore per i prodotti avanzati a terminale glicato (AGE) media l'effetto pro-ossidante dell'A β sulle

cellule neurali, microgliali e cerebrovascolari. Il perossido d'idrogeno mitocondriale diffonde prontamente nel citosol per partecipare alla formazione di radicali idrossilici catalizzati da ioni metallo. La microglia stimolata è una fonte importante di radicali d'ossido nitrico altamente diffusibili. Queste ROS e RNS danneggiano numerose molecole. La perossidazione delle membrane lipidiche porta alla formazione di aldeidi tossiche, che a loro volta alterano gravemente gli enzimi mitocondriali. Altre proteine essenziali vengono ossidate direttamente, producendo derivati nitrati e carbonilici. Di conseguenza, l'aumentata permeabilità di membrana al calcio, altri disequilibri ionici e l'alterato trasporto del glucosio aggravano lo scompenso energetico. Inoltre, elevati livelli di ioni metallici di transizione liberi in forma divalente (ferro, rame, zinco) e l'alluminio prendono parte al danno mediato dalle ROS in diversi modi. Inoltre, questi metalli promuovono l'aggregazione della tau ed il cambiamento della sua conformazione e la sua fosforilazione. Lo zinco, che si riteneva fosse un tipico agente tossico responsabile dell'AD, potrebbe invece avere a basse concentrazioni un effetto protettivo bloccando i canali $A\beta$ o antagonizzando il rame nel suo legame con l' $A\beta$. Sebbene modelli animali e molti studi cross-sezionali in popolazioni anziane mostrano un'associazione tra assunzione di sostanze anti-ossidanti e le funzioni cognitive, *trial* randomizzati non hanno avuto successo.

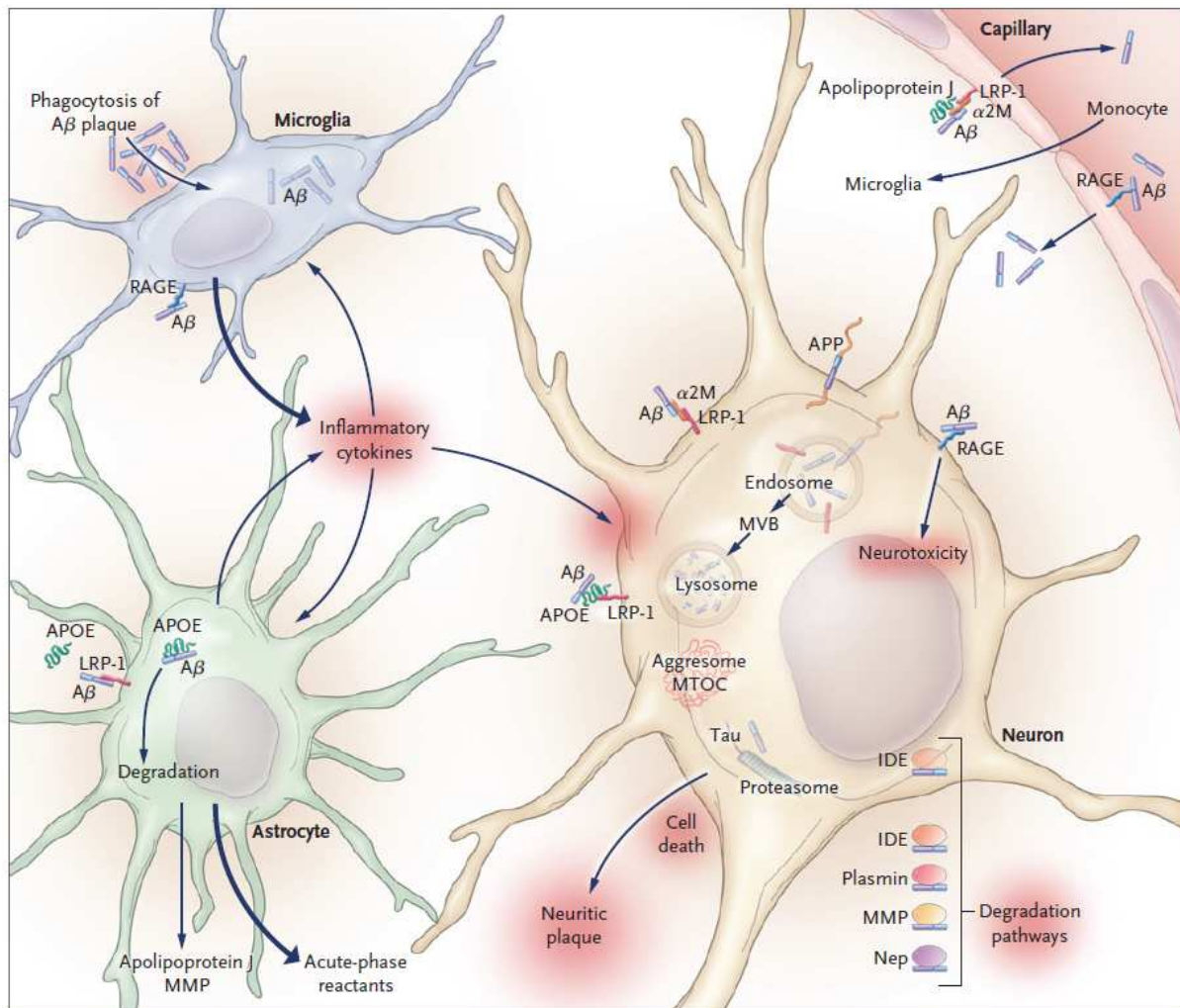
Le vie segnale dell'insulina

Un'altra alterazione metabolica di emergente importanza nell'AD è rappresentata dal segnale cerebrale dell'insulina, legata all'omeostasi sinaptica ed energetica. Un sottogruppo di pazienti con AD in stato avanzato presentano livelli di insulina a digiuno elevati ed una riduzione dei tassi di glucosio disponibile (resistenza periferica). L'intolleranza al glucosio ed il diabete di tipo 2 sono considerati fattori di rischio per la demenza. Alcuni studi inoltre dimostrano che i livelli di recettore per l'insulina, le proteine trasportatrici del glucosio ed altri componenti delle vie dell'insulina sono ridotti nell'AD (resistenza centrale). L'insulina (nella maggior parte ematica) ed il fattore di crescita cerebrale insulinosimile I iniziano i segnali cerebrali attivando la via della protein-kinasi B e la via della protein-kinasi mitogeno-attivata. È tuttavia ancora da chiarire se queste vie di segnale siano sovra-regolate (in modo compensatorio) o sotto-regolate (in modo patologico) nell'AD. Anche l'invecchiamento e l'aspettativa di vita sono influenzati dall'insulina. La resistenza all'insulina rende i neuroni privi di energia, vulnerabili agli insulti metabolici ed ossidanti ed altera la plasticità sinaptica. Inoltre, alti livelli di glucosio, che sono comuni nell'invecchiamento fisiologico, danneggiano direttamente le strutture ipocampali, sovra-regolano le tau-kinasi, le kinasi glicogeno-sintetasi e riducono i livelli degli enzimi degradanti l'insulina nel cervello dei pazienti affetti da AD.

Inflammation

La microglia attivata e gli astrociti reattivi si ritrovano a livello delle placche fibrillari ed i loro *marker* biochimici sono elevati nei cervelli dei pazienti con AD. Inizialmente, la microglia fagocitica ingloba e degrada l'A β . Tuttavia, la microglia attivata cronicamente rilascia chemochine ed una cascata di citochine dannose: l'interleuchina 1, l'interleuchina 6 ed il fattore di necrosi tumorale α (figura 4).

Figura 4



da Querfurth & LaFerla, 2010

In comune con le cellule vascolari, la microglia esprime i recettori per gli AGE, che legano l'A β , amplificando quindi la generazione di citochine, glutammato ed ossido nitrico. In studi sperimentali, le citochine promuovono la migrazione dei monociti dal sangue periferico al tessuto cerebrale contenente placche. L'amiloide fibrillare e l'attivazione della glia stimolano anche la classica via del complemento. I *tangle* e le placche contengono dei prodotti di degradazione del complemento, C1q e C5b-9, indicando che sono in corso l'opsonizzazione e l'attacco autolitico. L'astroglia stimolata rilascia anche reagenti di

fase acuta, alfa 1 anti-chimo-tripsina, alfa 2-macroglobulina e la proteina C reattiva, che possono sia peggiorare che migliorare l'AD. Sebbene gli eventi infiammatori (ed ossidativi) siano implicati nella rottura della barriera emato-encefalica nell'AS, non è certo questo porti all'influsso monocitico o amiloide dal circolo ematico. Il ruolo contraddittorio della microglia, eliminando l'A β e rilasciando molecole pro-infiammatorie, rende difficile il trattamento. È stato riportato che agenti antiinfiammatori non-steroidi possono ridurre il rischio di AD e rallentare la progressione della malattia, ma solo in studi osservazionali. I loro meccanismi d'azione includono la riduzione selettiva di A β 42, l'inibizione della ciclossigenasi 2 o del recettore per le prostaglandine E2, e la stimolazione della fagocitosi della microglia. Recenti *trial* randomizzati di antiinfiammatori non steroidi non hanno dimostrato una riduzione del rischio di AD, né un rallentamento di progressione di malattia.

Endocannabinoidi

Negli ultimi anni numerosi studi sia in vivo che in vitro hanno mostrato il ruolo neuroprotettivo dei cannabinoidi esogeni ed endogeni sui meccanismi alla base della demenza (Koppel and Davies 2008). Sono pochi ad oggi, tuttavia, gli studi condotti nell'uomo. Sebbene il meccanismo non sia ancora chiaro, è noto che l'attivazione del recettore CB1 riduce il rilascio di glutammato, la produzione di molecole pro-infiammatorie e la stimolazione della trasmissione GABAergica, mentre la via del recettore CB2 ha principalmente proprietà antinfiammatorie. Una delle prime evidenze in vitro sul coinvolgimento del sistema endocannabinoide nell'Alzheimer è stata indagata da Milton. Sono stati testati due endocannabinoidi, contro la neurotossicità indotta dalla β -amiloide in una linea cellulare umana differenziata di teratocarcinoma. Gli endocannabinoidi anandamide e il noladin etere sono in grado di inibire la tossicità indotta dall'A β tramite un meccanismo CB1. Viceversa, utilizzando un antagonista del recettore CB1, la loro azione neuroprotettiva veniva annullata (Milton 2002). L'espressione di CB1 e la sua distribuzione nel cervello correlano con gli effetti dei cannabinoidi sull'apprendimento, la memoria e β i processi cognitivi. Il coinvolgimento dei recettori dei cannabinoidi sull'amnesia indotta dall'A β è stato studiato sui topi. La β amiloide, quando iniettata a livello intracerebrale, riduceva la ritenzione mnemonica di evitamento passivo. L'antagonista del recettore CB1, il Rimonabant, che da solo non causa cambiamenti significativi nella capacità del topo di ritenere in memoria una risposta di evitamento passivo, era capace di annullare gli effetti amnesici indotti dai peptidi A β sebbene solo nella seconda ritenzione e solo quando somministrati 30 minuti prima del test di ritenzione. La somministrazione di Rimonabant 30 minuti prima del test dell'apprendimento, 8 giorni dopo l'iniezione di peptidi di amiloide, non colpiva la ritenzione di memoria. Gli studi sopradescritti hanno fatto ritenere che la neurotossicità indotta dall'A β potrebbe essere associata ad elevati livelli di endocannabinoidi in aree del cervello, come l'ippocampo, che partecipano alla ritenzione della memoria. Pochi studi sono stati effettuati sull'uomo circa il coinvolgimento del sistema endocannabinoide nei pazienti con Alzheimer. Le analisi immunostochimiche su cervelli autoptici di pazienti con AD hanno mostrato una sovraregolazione dei recettori CB2 nelle

cellule gliali associate alle placche senili. I primi erano espressi solo nelle cellule microgliali attivate, mentre il secondo era limitato agli astrociti. La densità dei recettori CBI, invece, era stata trovata immutata in prossimità delle placche dendritiche. La Sindrome di Down è a volte correlata con un modello umano di aggregazione $A\beta$ simile a quello riscontrato nell'AD. Infatti, sin dall'età di 40 anni tutti questi pazienti hanno una quantità sufficiente di placche $A\beta$ per poter porre diagnosi di Malattia di Alzheimer. Recentemente è stata riscontrata un'associazione tra la presenza di $A\beta$ e l'espressione di CB2 studiando cervelli autoptici di pazienti con Sindrome di Down (Núñez et al. 2008). In particolare, gli autori riportavano che la presenza delle placche $A\beta$ aumentava con l'età insieme alla sovra-espressione di CB2 nell'astroglia e microglia. L'espressione di CBI invece rimaneva pressoché imm modificata.

Le evidenze disponibili nell'insieme indicano che il sistema endocannabinoide possa giocare un ruolo nell'AD simile a quello suggerito per le altre patologie degenerative, ad esempio quello di rappresentare una risposta adattiva che ha lo scopo di contrastare, tramite i recettori CBI e CB2, le conseguenze neurochimiche e infiammatorie finali dell'iperattività della proteina tau indotte dalla β -amiloide. Comunque, oltre a queste similitudini, potrebbero esistere anche delle differenze tra il ruolo giocato nell'AD e quello delle altre patologie neurodegenerative (Bisogno and Di Marzo 2008).

Calcio

La perdita di regolazione del calcio è comune a molte patologie neurodegenerative. Nell'AD un incremento delle concentrazioni di calcio citosolico stimola l'aggregazione di $A\beta$ e l'amiloidogenesi. Le preseniline modulano l'omeostasi del calcio. Mutazioni delle preseniline determinano circa la metà dei pochi casi familiari ad esordio precoce di AD. Queste mutazioni possono alterare l'omeostasi del calcio nel reticolo endoplasmatico. Tuttavia, il maggiore effetto delle mutazioni è incrementare i livelli di $A\beta_{42}$ che a loro volta incrementano i depositi di calcio nel reticolo endoplasmatico ed il rilascio di calcio nel citoplasma. L'importanza di questi meccanismi nella patogenesi della forma sporadica di AD è ancora poco chiara. Uno stato di attivazione cronica dei recettori per gli aminoacidi eccitatori (glutammato) si pensa possa aggravare il danno neuronale nelle fasi avanzate di malattia. Il glutammato incrementa il calcio citosolico, che a sua volta stimola i canali di rilascio di calcio nel reticolo endoplasmatico. Tuttavia, l'evidenza di un meccanismo di eccesso di aminoacidi eccitatori nella fisiopatologia dell'AD è scarsa. L' $A\beta$ forma canali cationici voltaggio-indipendenti nelle membrane lipidiche, portando all'ingresso di calcio e degenerazione di neuriti. Indirettamente, il glutammato attiva i canali del calcio voltaggio-dipendenti.

Deficit di trasporto assonale

Un'altra alterazione che rappresenta probabilmente un effetto piuttosto che una causa di AD è la riduzione del trasporto di proteine cargo. I motori molecolari della famiglia delle chinesine portano le

vescicole ed i mitocondri destinati al terminale sinaptico lungo i microtubuli assionali. La superfamiglia delle chinesine a catena pesante e a catena leggera facilitano il trasporto anterogrado veloce. La tau forma dei ponti che mantengono una distanza critica tra i microtubuli.

Uno degli obiettivi nella ricerca nel campo dell'AD è quello di scoprire la funzione fisiologica dell'APP. C'era stato gran fermento quando venne riportato che l'APP, la BACE-1, e la presenilina 1 vanno incontro ad un rapido trasporto anterogrado nei campi terminali dove l'A β ed altri derivati proteolitici vengono rilasciati. L'alterazione del trasporto determina un accumulo di APP, vescicole e chinesine nei rigonfiamenti assionali, deposito di A β e neurodegenerazione. Tuttavia se l'APP sia il recettore cargo critico per il complesso proteico motorio non è ancora chiaro. Inoltre il ruolo essenziale dell'APP non si evince neanche dagli studi effettuati su topi deficitari della proteina, che presentano solo lievi deficit sinaptici e d'apprendimento. La distribuzione anatomica delle caratteristiche patologiche dell'AD suggerisce che i microtubuli sono disfunzionali, poiché la tau è primariamente alterata a livello della fonte delle proiezioni corticali. In aggiunta, i difetti della sostanza bianca sono osservati nei pazienti con AD in tutte le fasi di malattia e nei modelli animali.

L'alterazione farmacologica dei microtubuli e l'inibizione delle fosfatasi delle tau causano un rigonfiamento assonale ed un scompenso sinaptico simili.

Rientro aberrante nel ciclo cellulare

In linea con una de-regolazione secondaria del calcio e del trasporto assonale, è stata ipotizzata un'alterazione della normale soppressione del ciclo cellulare nell'AD. Sono stati individuati *marker* di rientro aberrante nel ciclo cellulare in tutti gli stadi di AD e nei pazienti con MCI, con una predominanza nel passaggio dalla fase G1-S. Ciò potrebbe portare ad una replicazione del DNA, provocando neuroni tetraploidi ed un'attivazione delle cicline mitotiche, ma in assenza di mitosi. Anche gli inibitori delle chinasi ciclino-dipendenti, che mantengono l'uscita dal ciclo cellulare, sono alterati nell'AD. Lo stress ossidativo e gli agenti che danneggiano il DNA, includendo l'A β , danno inizio alla replicazione e morte del DNA in neuroni in coltura. L'evento che stimola il rientro nel ciclo cellulare è sconosciuto. Inoltre non è chiaro se ciò abbia effettivamente un ruolo patogenetico o semplicemente riflette una risposta di compenso per riparare il DNA danneggiato.

LA MALATTIA D'ALZHEIMER: danno neurovascolare

Numerosi studi hanno dimostrato l'aumentato rischio di sviluppare AD in pazienti con età avanzata, familiarità per demenze, sindrome di Down, ridotto livello di scolarità, iper-omocisteinemia, trauma cranico grave, depressione ad esordio tardivo, sesso femminile, allele Apo E4, mutazione del gene dell' α 2-macroglobulina, ipotiroidismo. Negli ultimi anni un numero sempre maggiore di studi ha sottolineato l'importante contributo dei fattori di rischio vascolari nell'etiopatogenesi dell'AD. Nello studio di Rotterdam, uno dei primi grandi studi che ha posto l'attenzione su quest'aspetto, la demenza è stata associata con la presenza di aterosclerosi e quest'associazione è stata dimostrata sia nei soggetti con una diagnosi clinica di demenza di tipo vascolare, sia in quelli con diagnosi clinica di AD (van Oijen et al. 2007).

FATTORI DI RISCHIO VASCOLARE

Il diabete, l'ipercolesterolemia, il fumo di tabacco e altri fattori vascolari sono stati associati con un maggior rischio di sviluppare AD così come la fibrillazione atriale, l'ipertensione e l'angina (tabella I) (Mielke et al. 2007).

Tabella I. Fattori di rischio per AD sporadica

14

Classici	Nuovi cardiovascolari
• Età avanzata	• Diabete
• Sesso femminile	• Ipercolesterolemia
• Familiarità per demenze	• Fumo di tabacco
• Sindrome di Down	• Fibrillazione atriale
• Ridotto livello di scolarità	• Ipertensione
• Iperomocisteinemia	• Angina
• Trauma cranico grave	• Bypass coronarico
• Depressione ad esordio tardivo	• Ispessimento medio intimale/placche ateromasiche carotidee
• Allele Apo E4	• Iperintensità della sostanza bianca in RM
• Mutazione α 2-macroglobulina	
• Ipotiroidismo	

Il meccanismo con il quale i fattori vascolari inducono o accelerano il deterioramento cognitivo tra i pazienti con AD non è stato ancora chiarito. Il diabete e l'ipertensione non incrementano in modo elevato il rischio di sviluppare AD. Tuttavia, l'ipertensione ed il diabete sono condizioni molto comuni nella popolazione generale per cui anche un minimo incremento del rischio relativo per un singolo soggetto si traduce in un rischio sostanziale a livello di popolazione. Per esempio, l'Honolulu-Asia Aging Study (Launer et al. 2000) ha stimato che il rischio di demenza attribuibile all'ipertensione non trattata è fino al 40%, persino più alto del rischio di popolazione stimato (intorno al 20%) per il polimorfismo $\epsilon 4$ per l'Apolipoproteina E (Apo E), che aumenta il rischio di 2-3 volte in condizione di eterozigosi, fino a 12 volte in omozigosi. In altre parole, l'impatto di un fattore di rischio può essere considerato in una popolazione se quel fattore è comune, anche se l'incremento del rischio individuale è relativamente basso. L'importanza dei fattori di rischio vascolari non dovrebbe essere considerata solo nel contesto di demenze che sono fortemente associate con essi (per es. la demenza post-stroke) ma per tutto lo spettro delle demenze, incluso l'AD. Sono stati infatti stimati 106 milioni di casi di AD nel 2050; di questi circa 23 milioni potrebbero essere evitati se fosse possibile per lo meno ritardare l'inizio della malattia di due anni a partire dal 2010.

Diabete Mellito

Il diabete mellito (DM) è un disturbo metabolico molto comune ed associato con variazioni cognitive e della flessibilità mentale (per review, (Dickstein et al. 2010). I pazienti con DM di tipo I presentano una ridotta velocità di processamento mentale, mentre studi longitudinali hanno evidenziato che i pazienti con DM di tipo II presentano un più rapido deterioramento cognitivo. Inoltre, studi longitudinali di popolazione che hanno investigato la presenza del diabete e della demenza negli anziani hanno mostrato che l'incidenza di demenza può essere incrementata del 50-100% nei pazienti con diabete. Tre meccanismi fisiopatologici sono stati proposti per spiegare quest'associazione. Per iniziare, i soggetti diabetici hanno un maggior rischio di sviluppare la demenza dovuta alla presenza di ischemie cerebrali. I diabetici di tipo II, che sono nella maggior parte anziani, possono presentare un insieme di fattori di rischio come la resistenza all'insulina, l'obesità, l'ipertensione, che costituiscono la sindrome metabolica. Questa combinazione di fattori di rischio è un predittore di malattia cerebrovascolare e demenza. Come secondo fattore è stato proposto che l'iperglicemia abbia un effetto tossico sui neuroni, che può a sua volta provocare deficit cellulari attraverso lo stress ossidativo e l'accumulo di AGE. Gli AGE sono prodotti normalmente dal corpo; tuttavia la loro formazione è molto aumentata nei diabetici per la loro maggiore disponibilità di glucosio. Questi prodotti possono derivare da un'auto-ossidazione intracellulare, che produce carbonili reattivi. In questo modo gli AGE possono modificare le proteine intracellulari, in particolare, le proteine che svolgono un ruolo nell'endocitosi di macromolecole. La loro formazione, inoltre, provoca una modificazione dell'interazione tra le proteine della matrice

extracellulare con le altre proteine di matrice e le integrine, provocando una riduzione dell'elasticità vascolare nei ratti, anche quando è abolito il tono vascolare. Le proteine plasmatiche modificate dai precursori degli AGE producono ligandi che legano i recettori per gli AGE sulle cellule endoteliali. Questo legame produce l'attivazione di un fattore di trascrizione conosciuto come il fattore nucleare kappa B, che induce cambiamenti patologici nell'espressione di diversi geni, come l'espressione di molecole pro-infiammatorie sulle cellule endoteliali. Inoltre, i recettori endoteliali per gli AGE raggiunti dai ligandi in parte determinano un'iperpermeabilità della parete capillare, che è causata dal diabete. Infine la resistenza all'insulina è associata ad iperinsulinemia, che è un fattore di rischio per la demenza. Poiché l'insulina ha effetti vasoattivi, quest'associazione è almeno in parte legata da una malattia vascolare. Inoltre, l'insulina può avere un effetto diretto sul cervello. L'insulina è trasportata attivamente attraverso la barriera emato-encefalica ma può essere anche prodotta localmente al livello cerebrale. I recettori per l'insulina sono diffusamente presenti in molte regioni cerebrali, incluso l'ippocampo. L'insulina, a livello cerebrale, si comporta anche come un modulatore dell'omeostasi energetica e dell'introito alimentare. Infatti, i pazienti con AD possono presentare un'alterazione dell'attivazione dei recettori cerebrali per l'insulina; questo fa pensare all'AD come una condizione di resistenza all'insulina cerebrale. Sembra che il metabolismo e lo smaltimento dell'A β siano colpiti direttamente dall'insulina. La demolizione dell'A β da parte dell'enzima degradante l'insulina è inibita dall'insulina stessa. L'insulina inoltre stimola il traffico intracellulare di A β in colture neuronali, per cui incrementa direttamente la secrezione di A β e diminuisce i livelli intracellulari di peptide di A β . Studi su topi hanno mostrato che l'insulino-resistenza indotta dalla dieta può incrementare l'amiloidosi tipo-AD a livello cerebrale, attraverso un'alterazione dei recettori dell'insulina che provoca un incremento dell'attività della γ -secretasi. Questi meccanismi possono giustificare l'apparente associazione tra il diabete e l'AD; in particolare suggeriscono che le malattie vascolari, le alterazioni della concentrazione di glucosio ed il metabolismo dell'amiloide siano fattori importanti che spiegano come il diabete danneggi le funzioni cerebrali, in particolare nei pazienti affetti da AD.

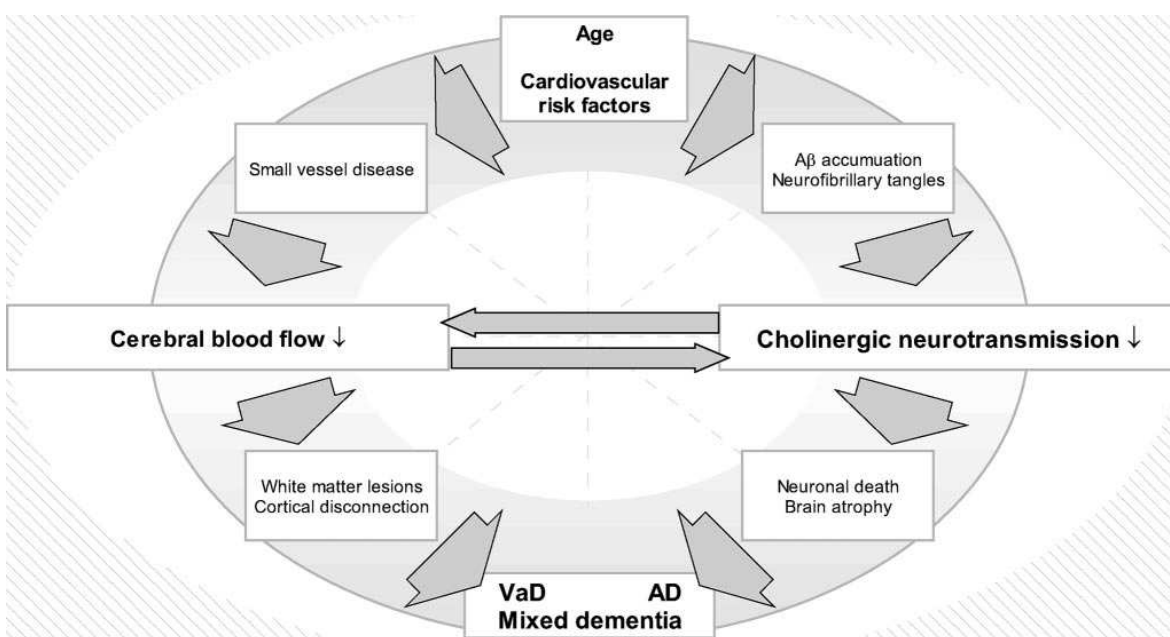
16

Ipertensione

L'ipertensione arteriosa rappresenta il fattore di rischio vascolare più frequente. Alcuni studi cross-sezionali hanno osservato associazioni positive ed indipendenti tra la pressione arteriosa ed il decadimento cognitivo. Tuttavia questi dati non venivano confermati da altri studi (Staessen, Richart and Birkenhäger 2007). Nel 1996, uno dei primi studi longitudinali (Skoog et al. 1996) sull'incidenza della demenza in relazione alla pressione arteriosa, ha mostrato come i pazienti che svilupparono demenza avevano valori di pressione sistolica e diastolica più elevate. In particolare, chi sviluppava AD presentava un incremento dei valori diastolici più precocemente rispetto a chi sviluppava una demenza vascolare. Una metanalisi degli studi longitudinali condotti dal 2000 al 2006 (Staessen et al. 2007) ha permesso di

confermare che i soggetti con ipertensione presentano un declino cognitivo o un più rapido peggioramento delle funzioni cognitive. Il Baltimore Longitudinal Survey of Aging (Waldstein et al. 2005) ha mostrato che l'effetto della pressione arteriosa sulle funzioni cognitive può differire in base all'età. I deficit già presenti a 60 anni diventavano più significativi intorno agli 80. In adulti anziani e molto anziani, l'associazione tra deficit cognitivi ed ipertensione risulta più complessa da dimostrare, forse poiché in studi di popolazione prospettici si osserva che la pressione diastolica decremента con l'età dopo i 50 anni o poiché nelle persone molto anziane la pressione si riduce. Infine uno studio autoptico e tre studi d'immagine cerebrale hanno osservato un'associazione indipendente tra la presenza di lesioni cerebrali e gli indici pressori. Viceversa, un altro aspetto già notato da Skoog e colleghi nel 1996 è che con l'avanzare dell'età tutti i soggetti possono presentare una caduta dei valori pressori, che tuttavia risultava più significativa nei pazienti affetti da demenza. Una progressiva riduzione dell'attività fisica può essere una delle motivazioni alla base della riduzione della pressione arteriosa. Inoltre, la perdita neuronale e la disfunzione delle proiezioni colinergiche può alterare i centri autonomici cerebrali portando probabilmente ad una disregolazione pressoria. L'ipotensione post-prandiale o ortostatica, così come gli episodi d'ipoperfusione cerebrale, possono allora contribuire ad un ulteriore danno cerebrale (figura 5).

Figura 5



da Staessen , 2007

Metabolismo del colesterolo

Un difetto del metabolismo del colesterolo è un'ipotesi affascinante poiché metterebbe insieme il rischio legato all'Apo E, la produzione e l'aggregazione di amiloide e la vasculopatia osservata nell'AD. Tuttavia non esistono abbastanza prove per supportare questa ipotesi. Il colesterolo è un componente di membrana essenziale e si concentra in isole sfingolipidiche chiamate "lipid raft (zattere)". Le raft sono delle piattaforme utili all'assemblaggio delle β -secretasi e delle γ -secretasi ed al processamento dell'APP in A β . Quando una sovrabbondanza di colesterolo esterificato riduce il ricambio lipidico di membrana, vengono promosse la generazione e l'aggregazione dell'A β . L'APO E derivata dalla glia rappresenta il principale trasportatore di colesterolo cerebrale. L'APO E4 non è soltanto un trasportatore patologico, che promuove la deposizione di A β e la fosforilazione della tau, ma è anche la lipoproteina meno efficiente delle tre nel promuovere un ricambio lipidico fisiologico delle membrane. Alti livelli di colesterolo nella seconda età incrementano il rischio di AD. In studi osservazionali, l'utilizzo di statine sembra ridurre questo rischio, diminuendo il *pool* di colesterolo libero di membrana (Vega et al. 2003). Altre azioni delle statine indipendenti dal colesterolo includono la riduzione dell'infiammazione ed una sovraregolazione dell' α -secretasi e della funzione vascolare (Pedrini et al. 2005). Uno studio prospettico ha persino osservato un miglioramento cognitivo in pazienti con AD lieve in terapia con statine (Sparks et al. 2005) che tuttavia non è stato confermato da un *trial* multicentrico successivo (Jones et al. 2008). Il beneficio delle statine rimane quindi controverso.

18

Omocisteina

L'omocisteina può essere considerata un *marker* periferico direttamente collegato allo stress ossidativo che riflette una correlazione nefanda tra l'AD, la neuropatia e le disfunzioni vascolari (Marlatt et al. 2008). Evidenze epidemiologiche che legano l'omocisteina e l'AD dimostrano che l'omocisteina è un fattore di rischio indipendente per sviluppare AD e demenza. Concentrazioni plasmatiche di omocisteina sopra i 14 μ M incrementano il rischio di sviluppare AD di due volte. È importante notare che fino al 30% della popolazione anziana presenta un'iperomocisteinemia. Il ruolo fisiopatologico dell'omocisteina tuttavia rimane ancora sconosciuto. Aumentati livelli di omocisteina sono stati posti anche in relazione con la presenza di lesioni della sostanza bianca iperintense all'esame RM (*white matter hyperintensities-WMH*). Se la generazione di radicali liberi dall'ossidazione dell'omocisteina può essere considerata dannosa, non è certo che sia questo il suo meccanismo patogenetico. Tuttavia questo effetto pro-ossidante si pensa possa spiegare l'aumento della perossidazione lipidica associata con l'iperomocisteinemia. Inoltre alcuni studi hanno mostrato che l'omocisteina ha un effetto tossico sul microcircolo e può alterare la barriera ematoencefalica in modelli transgenici di iperomocisteinemia (Kamath et al. 2006). L'omocisteina diminuisce la sintesi e la disponibilità di NO nell'endotelio. L'ossido

nitrico sembra giocare un ruolo importante nella detossificazione dell'omocisteina attraverso la formazione di s-nitrohomocisteina, che agisce da vasodilatatore ed inibisce l'aggregazione piastrinica. A conferma di ciò primati con iperomocisteinemia moderata presentano una disfunzione endoteliale. Un numero di studi dimostra che il sistema nervoso centrale è particolarmente sensibile all'omocisteina. Questa è un agonista per i recettori N-metil-D-aspartato, stimola l'influsso di calcio e promuove l'eccitotossicità dal glutammato. Esperimenti in vivo hanno mostrato che l'omocisteina determina danni al DNA, l'attivazione della poli(ADP-ribosio)polimerasi e l'induzione di p53. L'attenuazione di questi effetti neurotossici da parte della superossido-dismutasi, la catalasi e l'N-acetil-L-cisteina è consistente con la possibilità di un danno mediato da i ROS. Il rapporto tra S-adenosil metionina/omocisteina deve essere preso particolarmente in considerazione poichè regola una specifica metil-trasferasi; l'ipometilazione dell'enzima PP2 sembra sia coinvolto con la fisiopatologia dell'APP in condizioni di iperomocisteinemia. In una nostra osservazione (Gorgone et al. 2009), abbiamo inoltre dimostrato che i livelli di omocisteina plasmatica hanno una diretta correlazione con le *performance* cognitive in pazienti affetti da AD. Questa correlazione sembra dipendere da un effetto tossico diretto dell'omocisteina, ma anche indirettamente attraverso un effetto vascolare, mediato dall'incremento dello spessore medio intimale (Figura 6).

Figura 6

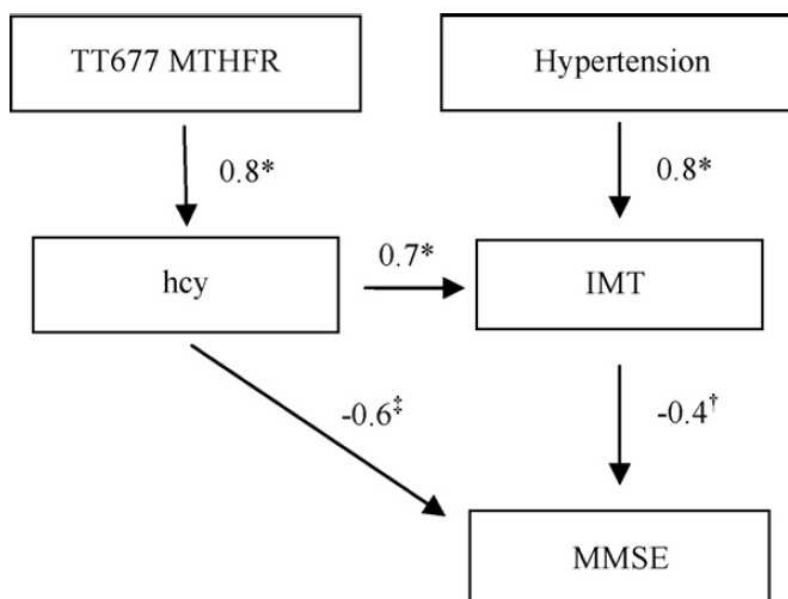


Diagramma che schematizza la relazione tra ipertensione, genotipo MTHFR TT677 genotype, omocisteina plasmatica, spessore mediointimale (IMT) e mini mental state examination *p < 0.0001, ‡p = 0.01, †p = 0.03.

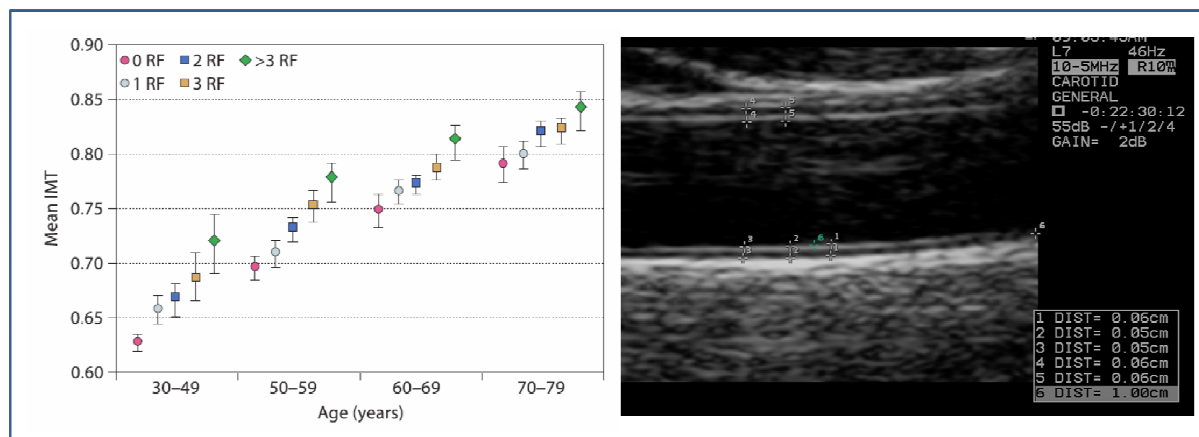
MARKER DI ATEROSCLEROSI

Nel 1997 il *Rotterdam study* ha evidenziato per la prima volta l'importanza dell'aterosclerosi come fattore di rischio sia nello sviluppo dell'AD e che della demenza vascolare (VaD). Questo studio dimostrava che la frequenza della demenza aumentava in relazione alla severità dello spessore della parete dell'asse carotideo (Hofman et al. 1997).

Lo spessore medio intimale (*intima-media thickness* – IMT) è un marker d'aterosclerosi, fortemente associato con il rischio di infarto e di *ictus* (O'Leary et al. 1999). Alterazioni silenziose di parete possono precedere per anni gli eventi clinici vascolari, che invece riflettono un grado di aterosclerosi più avanzata. Queste anomalie morfologiche di parete possono essere visualizzate attraverso l'ultrasonografia B-mode. Questa tecnica non invasiva ad alta risoluzione è uno dei migliori metodi per rilevare una malattia aterosclerotica ai livelli iniziali, poiché può essere applicata rapidamente, è prontamente disponibile e mostra le pareti del vaso con accuratezza maggiore rispetto ad altre tecniche più costose (ad esempio la risonanza magnetica, RM). Un numero crescente di evidenze ha confermato che questo indice riflette accuratamente la severità dell'aterosclerosi sistemica, il miglioramento dei valori di IMT viene attualmente utilizzato anche come obiettivo surrogato per verificare l'efficacia di interventi mirati a ridurre i fattori di rischio per aterosclerosi e l'incidenza delle patologie ad essa associate (Touboul et al. 2007). Inoltre l'IMT non riflette solamente l'aterosclerosi precoce ma anche i cambiamenti compensatori caratterizzati da ipertrofia della media come risultato dell'iperplasia delle cellule del muscolo liscio e di una ipertrofia fibrocellulare. Questa differenza è importante perché studi epidemiologici hanno mostrato che l'ispessimento di parete si distingue dalle placche carotidee rispetto alla localizzazione, alla storia naturale, ai fattori di rischio ed al valore predittivo di eventi vascolari (Ebrahim et al. 1999). L'aumento dello spessore medio intimale è funzione dell'età e del numero di fattori di rischio vascolari (figura 7).

20

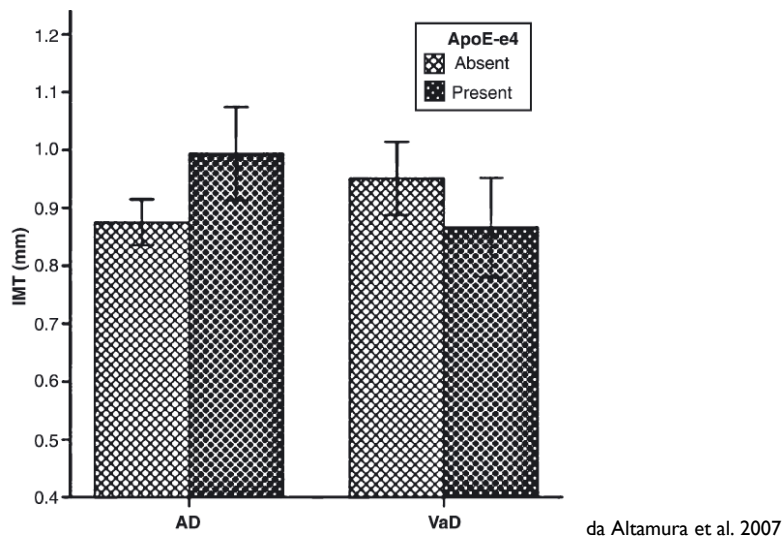
Figura 7



modificata da Touboul et al. 2007

In seguito ai primi dati riportati dal *Rotterdam Study* altri autori hanno investigato il possibile ruolo patogenetico dell'aterosclerosi nell'AD, riportando che l'allele Apo E $\epsilon 4$, gene di suscettibilità per AD, era collegato all'aterosclerosi carotidea e coronarica (Kosunen et al. 1995, Elosua et al. 2004). Questo dato è stato anche confermato dal nostro gruppo (Altamura et al. 2007), in uno studio in cui veniva mostrato come la relazione tra il genotipo dell'Apo E e l'IMT era identificabile nei pazienti affetti da AD ma non nei pazienti con VaD (figura 8).

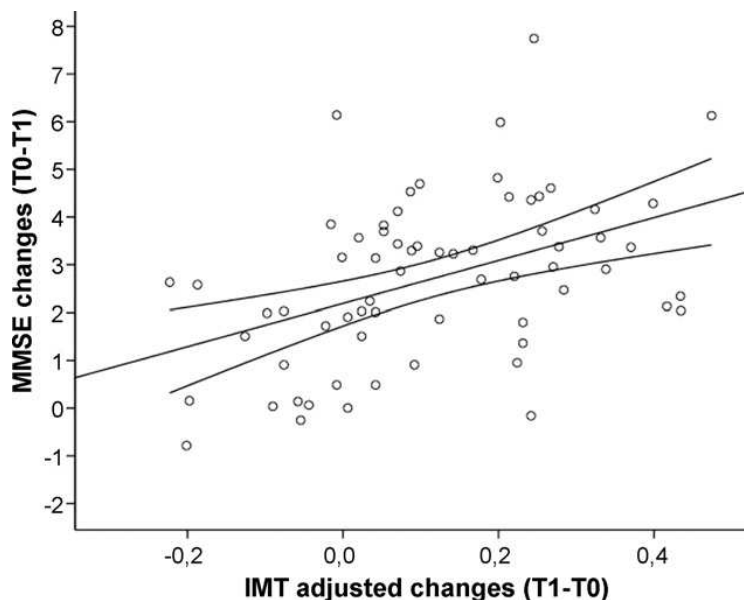
Figura 8



Sebbene alcuni studi mettano in discussione che sia l'IMT la via patogenetica attraverso la quale il genotipo Apo E $\epsilon 4$ induca la suscettibilità a sviluppare l'AD (Slooter et al. 1999), metanalisi più recenti (Paternoster et al. 2010) confermano che il polimorfismo APO E sia l'unico a presentare una relazione significativa con l'IMT. Il possibile ruolo patogenetico dell'IMT sembra essere stato definitivamente confermato da una recente analisi dei dati longitudinali del *Rotterdam study* (van Oijen et al. 2007) in cui veniva dimostrato che tra i vari *marker* di aterosclerosi, solo un aumento dello spessore mediointimale della carotide comune è associato con un aumentato rischio di demenza. Soggetti nel quinto quintile avevano un rischio aumentato del 50% di sviluppare demenza rispetto ai pazienti nel primo quintile. Quest'aumentato rischio era ristretto alla sola malattia di Alzheimer. Questo dato veniva confermato dal *Baltimore Longitudinal Study* (Wendell et al. 2009) che mostrava come in pazienti senza una nota patologia cardiovascolare, cerebrovascolare e neurologica, l'IMT carotideo era in grado di predire il risultato di alcuni test neuropsicologici specifici per il dominio della memoria ad un follow-up di 11 anni. Ulteriori studi supportano questo dato (Sander et al. 2010). L'effetto dell'IMT sulle performance cognitive sembra estendersi all'impatto sul decorso della malattia oltre al rischio di svilupparla. Il nostro gruppo (Silvestrini et al. 2009) ha mostrato in uno studio longitudinale su 66 pazienti con AD, sottoposti a una valutazione

cognitiva ed ultrasonografica dopo un periodo di *follow up* di 12 mesi, che la progressione dell'aterosclerosi subclinica era correlata con il peggioramento delle *performance* cognitive (figura 9).

Figura 9 Relazione tra il declino del MMSE score e l'aumento dell'IMT a un anno



da Silvestrini et al., 2009

Riassumendo, un crescente numero di evidenze supporta la relazione tra l'ispessimento mediointimale ed il rischio di sviluppare demenza. Questa relazione si rafforza, considerando che nella popolazione di pazienti affetti da AD l'IMT è correlato anche al genotipo APO E ed all'ipertensione (Silvestrini et al. 2009, Gorgone et al. 2009, Altamura et al. 2007) che a loro volta sono stati posti in relazione in diversi studi con il rischio di demenza (de la Torre 2008). Nonostante alcuni studi abbiano escluso che il genotipo $\epsilon 4$ per l'APO E influenzi la suscettibilità a sviluppare l'AD attraverso l'aterosclerosi (Slooter et al. 1999), è possibile che questa relazione dal punto di vista statistico possa essere oscurata poiché, come evidenziato in precedenza, questa lipoproteina svolge un importante ruolo a livello del metabolismo delle membrane lipidiche. L'inter-relazione tra ipertensione, IMT e demenza sembra essere invece meno complessa. È importante notare come lo spessore mediointimale e non altri marker d'aterosclerosi sia legato in modo così rilevante all'instaurarsi di demenza, in particolare dell'AD. Una possibile spiegazione è che lo spessore mediointimale, come marker di aterosclerosi sistemica, possa riflettere lo stato del microcircolo cerebrale e quindi l'ipoperfusione, che si ritiene possa essere uno dei fattori patogenetici che iniziano, sostengono e peggiorano la cascata neurodegenerativa (de la Torre 2010, Altamura et al. 2007). È stato infatti dimostrato come l'IMT sia correlato ai pattern di flusso ematico cerebrale (*cerebral blood flow- CBF*) regionale in pazienti anziani senza manifestazioni cliniche di patologia cerebrovascolare (Sojkova et al. 2010). Al contrario, l'aterosclerosi dei grandi vasi potrebbe

essere maggiormente legata alla demenza post-stroke ed alla demenza puramente vascolare. Tuttavia alcuni report suggeriscono che in pazienti senza patologia cerebrovascolare clinicamente evidente il declino cognitivo è associato a stenosi carotidea di grado severo. Questa associazione era evidente anche se i dati venivano corretti per la presenza di fattori di rischio vascolari o la presenza di aterosclerosi in generale (Johnston et al. 2004).

EMODINAMICA CEREBRALE

Le anomalie emodinamiche, in particolare l'ipoperfusione e l'alterazione della reattività vasomotoria (VMR) sono presenti in una serie di condizioni cerebrovascolari (Marshall and Lazar 2011).

Iperperfusione emisferica

L'associazione tra la patologia occlusiva carotidea e la demenza è stata descritta per la prima volta nel 1951 da Fisher (FISHER 1951) in un paziente con occlusione carotidea bilaterale e demenza progressiva. L'ipotesi che l'ipoperfusione rappresenti una causa indipendente di deterioramento cognitivo è rafforzata da studi che descrivono un declino cognitivo in pazienti con stenosi carotidea in assenza di ischemie cerebrali (Johnston et al. 2004). Tatemichi e colleghi hanno misurato il CBF in un paziente di 55 anni con occlusione carotidea bilaterale, manifestatasi con alterazioni cognitive e comportamentali severi insorti in modo subacuto (Tatemichi et al. 1995). Gli studi di CBF quantitativo e di tomografia ad emissione di positroni (PET) hanno mostrato una riduzione fino al 50% del flusso ematico e del metabolismo. A seguito del bypass extra-intracranico il paziente presentava un miglioramento neuropsicologico con un significativo incremento del CBF e del metabolismo. In una popolazione più ampia, 25 pazienti con occlusione carotidea monolaterale e deficit cognitivi venivano sottoposti a bypass extra-intracranico. In questi soggetti, un miglioramento delle *performance* cognitive si associava ad un aumento del CBF, della VMR ed ad una riduzione della frazione di estrazione dell'ossigeno (Sasoh et al. 2003). È in corso un trial, il *Randomized Evaluation of Carotid Occlusion and Neurocognition*, che valuta la possibilità che il bypass extra-intracranico possa migliorare le funzioni cognitive in pazienti con occlusione carotidea (Marshall 2004–2012).

23

Disfunzione emodinamica cerebrale globale da patologia cardiaca

Lo scompenso cardiaco rappresenta un modello per gli effetti dell'ipoperfusione cerebrale globale sulle funzioni cognitive. Sebbene sia l'embolismo cardiaco e che la riduzione del CBF possano contribuire al deterioramento cognitivo, con il peggioramento dello scompenso cardiaco, la riduzione del CBF

correla con l'insorgenza dei deficit cognitivi (Pullicino and Hart 2001). A differenza degli stroke embolici che producono deficit focali, una riduzione del CBF ha un impatto più complesso sui compiti cognitivi come la memoria, l'attenzione e le funzioni cognitive. Tuttavia non tutte le funzioni cognitive sono suscettibili allo stesso modo alla compromissione emodinamica globale. È stato infatti osservato che pazienti con scompenso cardiaco a stadio NYHA II e III presentavano un deficit soprattutto delle abilità procedurali, mentre aree cognitive specifiche come il linguaggio non sembravano essere intaccate (Vogels et al. 2008). Il miglioramento delle funzioni contrattili cardiache attraverso terapia medica e chirurgica, ha permesso di confermare la relazione tra l'emodinamica cerebrale e le funzioni cognitive. In uno studio italiano, l'utilizzo di ACE-inibitori, una classe di farmaco che ha un effetto positivo anche sul CBF, in pazienti con scompenso cardiaco aumentava la probabilità di un miglioramento cognitivo in pazienti ospedalizzati (Zuccalà et al. 2005). Altri studi mostrano invece un beneficio cognitivo dopo trapianto in pazienti con scompenso cardiaco (Bornstein et al. 1995, Roman et al. 1997). Questo miglioramento sembra essere dovuto soprattutto ad un incremento del CBF, come dimostrato da studi doppler (Gruhn et al. 2001, Massaro et al. 2006). Sebbene l'ipoperfusione cerebrale sembra mediare i disturbi cognitivi, può risultare rischioso normalizzare il flusso ematico cerebrale troppo velocemente come succede per i danni da riperfusione provocati dalla rivascolarizzazione carotidea (Moulakakis et al. 2009). Questo rischio sembra essere imputabile soprattutto alla formazione di edema cerebrale.

24

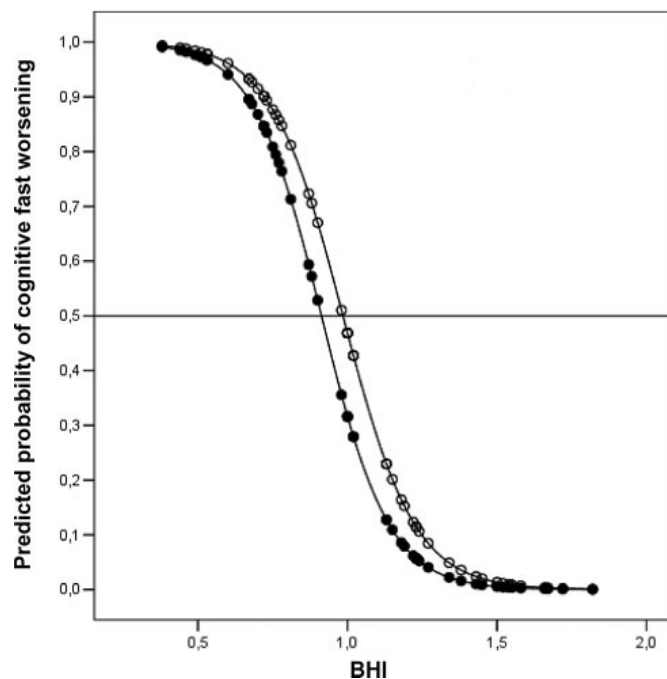
Deficit cognitivi da disfunzione vascolare nell'ischemia microvascolare

In assenza di un'ipoperfusione cronica emisferica, determinata da una patologia delle grandi arterie o dallo scompenso cardiaco, il microcircolo cerebrale può alterare la funzione emodinamica in pazienti con fattori di rischio cerebrovascolari. L'ipertensione, il diabete e fattori con effetti diretti sull'endotelio sono stati associati a variazioni del CBF e della VMR (Marshall and Lazar 2011). È importante tuttavia dimostrare un legame fisiopatologico tra queste variazioni emodinamiche ed il deterioramento cognitivo, in parte a causa della coesistenza di infarti dei piccoli vasi. Quest'associazione deve essere presa in considerazione poiché, come i disturbi emodinamici ed emisferici, i deficit cognitivi potrebbero potenzialmente essere migliorati risolvendo le alterazioni emodinamiche microvascolari. In uno studio, la velocità d'onda carotido-femorale, un indice di rigidità vasale, correlava con punteggi inferiori al Mini-Mental State Examination (MMSE), in pazienti ipertesi mai trattati (Triantafyllidi et al. 2009). Uno studio simile ha mostrato un'associazione tra la velocità d'onda pulsatile, le funzioni esecutive e lo spessore mediointimale (Muller et al. 2007).

Oltre all'ipertensione, anche l'ipotensione può giocare un ruolo emodinamico nello sviluppo del deterioramento cognitivo. Questa ipotesi è affascinante poiché è noto che il CBF è ridotto nei pazienti dementi (Ruitenberg et al. 2005), anche se questa riduzione potrebbe essere l'effetto di un ridotto

metabolismo cerebrale. Una delle evidenze più chiare a supporto di un ruolo dell'emodinamica cerebrale nei pazienti affetti da AD viene un da un nostro studio (Silvestrini et al. 2006) in cui abbiamo dimostrato una relazione diretta tra la VMR, misurata attraverso il test di *Breath-holding* e le *performance* cognitive (figura 10).

Figura 10 Probabilità di un rapido deterioramento cognitivo (● MMSE ○ ADAS-Cog) in funzione del *breath-holding index*.



modificata da Silvestrini et al.2006

In particolare, la VMR (*breath-holding index*) era correlata alla variazione dei punteggi di due test neuropsicologici (MMSE, ed ADAS-Cog) ad un follow-up di un anno (Silvestrini et al. 2006). L'effetto di un'alterata VMR era più rilevante dell'età e di fattori di rischio vascolare come il diabete.

UNITÀ NEUROVASCOLARE

I neuroni, la glia e le cellule vascolari sono strettamente collegate e lavorano in concerto per mantenere il micro-ambiente cerebrale (Iadecola 2010). L'unità neurovascolare controlla il flusso ematico, gli scambi attraverso la barriera emato-encefalica (blood-brain barrier BBB), contribuisce all'immuno-sorveglianza cerebrale e apporta il supporto trofico alle cellule cerebrali. L'integrità

funzionale e strutturale del cervello dipende da un apporto ematico continuo e ben regolato. Di conseguenza, il cervello è equipaggiato di meccanismi di controllo che permettono che l'apporto ematico cerebrale sia coordinato con i bisogni energetici. L'attività neurale induce quindi un potente incremento del CBF che si ritiene apporti i substrati energetici e rimuova i prodotti tossici derivati dall'attività cerebrale. Gli astrociti, che avvolgono la parete esterna del microcircolo cerebrale, agiscono come link tra l'attività sinaptica e le cellule cerebrovascolari, mediando l'incremento di CBF (Iadecola 2004). L'autoregolazione cerebrovascolare permette un CBF relativamente costante nonostante le variazioni della pressione di perfusione e protegge la perfusione cerebrale da fluttuazioni potenzialmente dannose della pressione arteriosa. Recettori specializzati sulla membrana endoteliale iniziano la cascata di segnale intracellulare in risposta agli stimoli meccanici (*shear stress*), chimici (neurotrasmettitori e neuromodulatori) e cellulari, e rilasciano molecole di segnale come l'ossido nitrico, l'endotelina ed i prostanoidei. Questi mediatori endoteliali contribuiscono alla distribuzione del flusso locale e ad altre funzioni dell'unità neurovascolare. A causa delle *tight junction* tra le cellule endoteliali, trasportatori di membrana endoteliale altamente specializzati regolano il traffico di macromolecole, ioni, aminoacidi, peptidi, neurotrasmettitori ed altre molecole di segnale tra il sangue ed il cervello. I trasportatori che si trovano sul lato esterno del lume regolano la rimozione dei prodotti metabolici formati dal cervello. In particolare la BBB gioca un ruolo critico nel trasporto dell'A β al e dal cervello. Così l'A β circolante è trasportata all'encefalo attraverso i recettori per gli AGE sulle cellule endoteliali. L'A β encefalica normalmente prodotta dall'attività sinaptica, è smaltita dal cervello attraverso meccanismi vascolari che coinvolgono la proteina recettoriale lipoproteica e la glicoproteina-P, un processo controllato dai fattori di risposta sierico e la miocardina.

26

Le cellule endoteliali sono in grado di captare segnali immunologici ematici e quindi esprimere molecole di adesione (P- e E-selectine, molecole d'adesione intracellulari, molecole d'adesione vascolari ect) che riconoscono le molecole complementari sulle cellule immunologiche circolanti che portano all'attacco ed alla transmigrazione di queste cellule nel cervello. Le citochine prodotte dai macrofagi perivascolari, dall'endotelio e dalla glia regolano l'espressione delle molecole d'adesione, citochine e chemochine, e promuovono il traffico di leucociti attraverso la BBB. Questo processo è vitale sia per l'immuno-sorveglianza nel cervello sano che nella risposta nervosa al danno cerebrale.

Le cellule dell'unità neurovascolare giocano un ruolo fondamentale anche per l'equilibrio emostatico. Se gli effetti pro-trombotici del collagene e del fattore tissutale sulla parete vascolare proteggono il tessuto nervoso dalle emorragie, i fattori antitrombotici e profibrinolitici dell'endotelio (ossido nitrico, prostaglandine, CD39, attivatori del plasminogeno, ect.) prevengono le occlusioni vascolari. Inoltre l'endotelio cerebrovascolare è coinvolto nella rimozione di aggregati intravascolari, un processo che può ristabilire il flusso dopo un embolismo microvascolare.

Le cellule endoteliali hanno inoltre una funzione trofica essenziale per il benessere dei neuroni e della glia. A loro volta, questi producono fattori di crescita che permettono il supporto trofico alle cellule vascolari. Questa interazione trofica reciproca è fondamentale durante lo sviluppo quando sia gli assoni migranti che i vasi devono essere guidati. Inoltre, dopo un danno cerebrale, i fattori di crescita sono rilasciati dalle cellule endoteliali (brain derived neurotrophic factor (BDNF), vascular endothelial derived growth factor (VEGF), stromal-derived factor 1, and angiopoietin-1) e orchestrano la migrazione e la differenziazione dei neuroblasti.

L'unità neurovascolare nella VaD e nell'AD

La struttura e la funzione dell'unità neurovascolare sono profondamente alterate nella VaD e nell'AD. Queste alterazioni interrompono l'omeostasi del microambiente cerebrale e promuovono le disfunzioni neuronali che sottostanno al decadimento cognitivo. Sia la VaD che l'AD sono associate ad una alterazione della struttura cerebrovascolare. Si possono ritrovare placche aterosclerotiche nelle grandi arterie intracraniche sia nei pazienti con VaD che in pazienti con AD (Honig, Kukull and Mayeux 2005). A livello del microcircolo, le arteriole ed i capillari sono ridotti di numero, tortuose e presentano delle membrane basali ispessite (Wu et al. 2005). Le pareti arteriolari hanno delle variazioni degenerative e nei casi in cui è presente ipertensione, vanno incontro a degenerazione ialina (lipoialinosi), determinando micro-emorragie. A livello della sostanza bianca periventricolare, una regione suscettibile al danno, gli astrociti reattivi e l'attivazione microgliale sono associati con l'espressione di geni inducibili dall'ipossia, suggerendo un deficit energetico locale (Simpson et al. 2007). Nell'AD o nell'angiopatia cerebrale amiloide, l'accumulo di A β nella tonaca media delle arteriole corticali conduce ad un invecchiamento della parete vasale e ad un aumentato rischio di emorragie.

27

Disregolazione cerebrovascolare

Studi su animali e su uomo mostrano come i fattori di rischio per VaD e AD, come l'ipertensione, l'età, la dislipidemia ed il diabete, hanno profondi effetti sulla regolazione cerebrovascolare, alterano la vasodilatazione endotelio-dipendente, l'iperemia funzionale e l'autoregolazione. Allo stesso modo, l'A β è un potente vasocostrittore (Thomas et al. 1996) ed altera meccanismi fondamentali che regolano la circolazione cerebrale (Niwa et al. 2002, Iadecola et al. 1999). Il CBF è ridotto, e l'iperemia funzionale è attenuata in pazienti con AD (Yoshiura et al. 2009). Inoltre, le risposte endoteliali sono alterate anche a livello sistemico nei pazienti con AD (Dede et al. 2007). Le cellule del muscolo liscio cerebrale hanno un fenotipo ipercontrattile (Chow et al. 2007), che incrementa il tono costrittivo delle arterie cerebrali e riduce il CBF a riposo e la sua reattività. Lo stress ossidativo vascolare e l'infiammazione sembrano

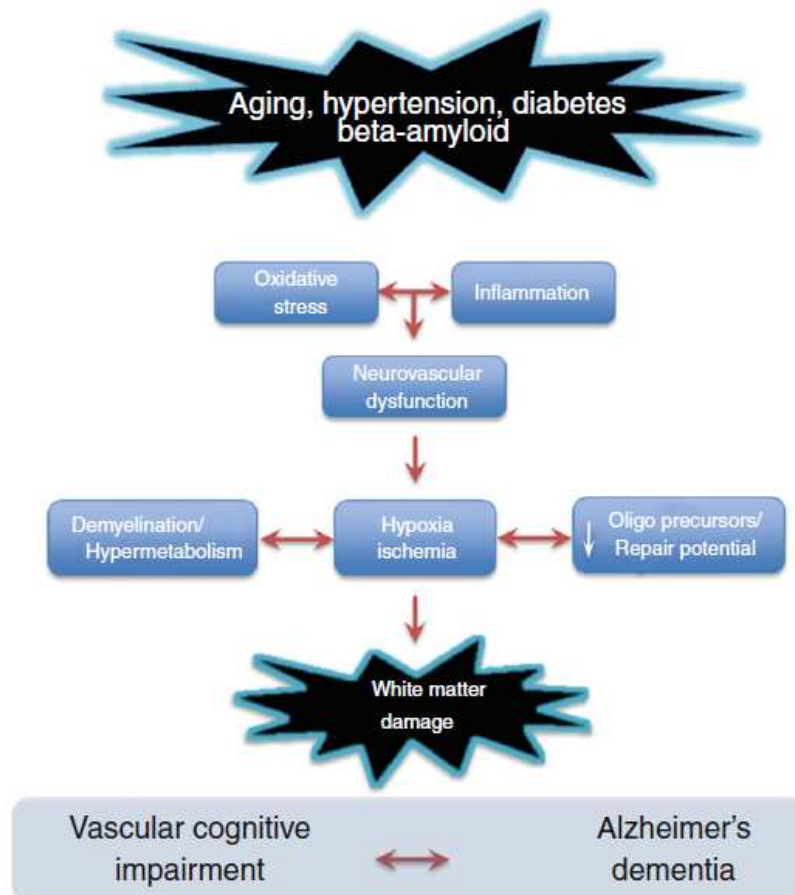
essere dei fattori patogenetici chiave per la disfunzione vascolare (Faraci 2006). In particolare, studi sperimentali suggeriscono che i radicali liberi prodotti dall'enzima NADPH ossidasi sono responsabili delle alterazioni cerebrovascolari indotte dai fattori di rischio vascolari e dall'A β . I radicali liberi possono innescare l'infiammazione attivando fattori di trascrizione sensibili alle reazioni redox. In aggiunta, la disfunzione endoteliale indotta dallo stress ossidativo può portare al rilascio di VEGF e prostanoidei che promuovono l'extra-vasazione di proteine, perdite di fluidi ed infiammazione. L'infiammazione a sua volta peggiora lo stress ossidativo, sovraregolando l'espressione di enzimi produttori radicali liberi e sotto-regolando le difese antiossidanti. L'infiammazione e lo stress ossidativo non solo alterano la regolazione del CBF, ma hanno un profondo impatto su altre funzioni dell'unità neurovascolare.

Disfunzione della barriera emato-encefalica

L'alterazione della BB si osserva precocemente a livello delle lesioni della sostanza bianca associate con la VaD e l'AD (Zlokovic 2008). L'extra-vasazione di proteine plasmatiche da il via ad una infiammazione vascolare, allo stress ossidativo e alla demielinizzazione plasmatica. La demielinizzazione rallenta la trasmissione degli impulsi nervosi e contribuisce alla disfunzione neurale che sottosta al deterioramento cognitivo. Inoltre, la demielinizzazione aumenta la richiesta di ossigeno da parte degli assoni, peggiorando il deficit energetico e l'ipossia. Le alterazioni dei processi di trasporto della BBB potrebbero anche avere un impatto sull'accumulo di A β in pazienti con AD (Kalaria 1992). La sottoregolazione dei recettori della BBB, LRP-1 e glicoproteina P, promuove la deposizione vascolare di A β e può peggiorare la disfunzione vascolare. Inoltre, elevati livelli circolanti di A β in pazienti con VaD e AD può anche promuovere insufficienza cerebrovascolare, infiammazione e stress ossidativo, giocando un ruolo nelle lesioni della sostanza bianca che si osservano in entrambe le condizioni (Gurol et al. 2006). Lo stress ossidativo vascolare, l'invecchiamento e l'infiammazione alterano la funzione trofica neurovascolare. Le citochine pro-infiammatorie disregolano i segnali dei fattori di crescita, inducendo uno stato di "resistenza alle neurotrofine". Inoltre, lo stress ossidativo attenua il supporto dei fattori di crescita da parte delle cellule endoteliali ai precursori oligodendrocitari. La perdita del supporto trofico può impedire la proliferazione, migrazione e differenziazione delle cellule progenitrici degli oligodendrociti e compromette la riparazione del danno della sostanza bianca nell'AD e nella VaD. Nell'AD inoltre, altri fattori contribuiscono a alterare il supporto trofico a livello microvascolare. Ad esempio, il gene homeobox MEIS1, critico per la differenziazione vascolare è soppresso nei pazienti con AD e può mediare la rarefazione microvascolare cerebrale osservata in questa malattia. L'A β induce autofagia delle cellule endoteliali ed inibisce la vasculogenesi, effetti mediati dall'inibizione del segnale legato al VEGF signaling [82]. Nei pazienti con AD anche l'accumulo perivascolare di endostatina, un fattore angiogenico di origine neurale, può contribuire al danno vascolare. Sebbene i livelli di VEGF sono aumentati nel liquor dei pazienti con AD, a livello cerebrale esso è sequestrato al livello delle placche

amiloidi, riducendone la bioattività. Inoltre i livelli di BDNF sono bassi nel cervello dell'AD. Nell'insieme queste alterazioni nell'espressione dei fattori di crescita e nelle vie di segnale non solo hanno verosimilmente un impatto importante nelle lesioni vascolari, ma anche a livello dell'atrofia cerebrale associata con queste condizioni (Staekenborg et al. 2009). La figura di seguito (11) riassume le disfunzioni dell'unità neurovascolare alla base del danno della sostanza bianca nell'AD e nella VaD.

Figura 11



da Iadecola, 2010

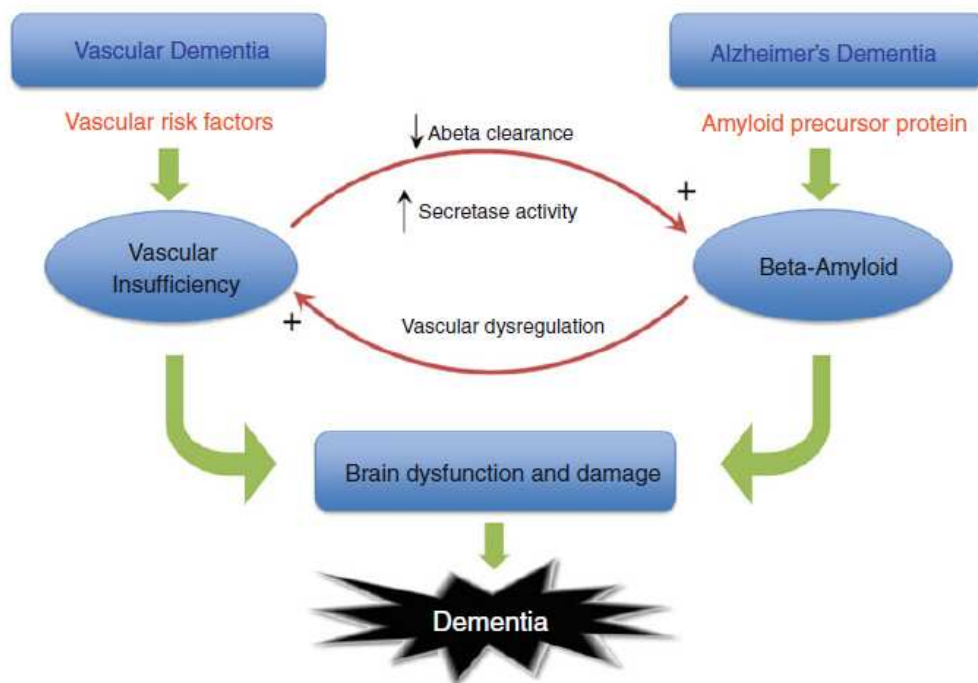
Interazione tra ischemia e neurodegenerazione

Il profondo effetto dei fattori di rischio cerebrovascolare e dell'A β sull'unità neurovascolare suggerisce un legame patogenetico tra ischemia e neurodegenerazione (de la Torre 2004). I reperti anatomico-patologici tipici dell'AD, le placche amiloidi ed i *tangle* neurofibrillari, sono osservati unitamente ad una patologia vascolare in più del 40% dei pazienti dementi (Jellinger 2008). L'ischemia può promuovere l'accumulo di A β , attraverso una riduzione del suo smaltimento. Inoltre, l'ipossia e/o l'ischemia promuovono la rimozione dell'A β dall'APP, sovra-regolando l'espressione e l'attività delle β -secretasi (Li et al. 2009). Questi dati sperimentali indicano che un aumento della produzione ed un ridotto smaltimento possono incrementare la deposizione di A β nell'encefalo e favorire la produzione di

placche. Infatti, i livelli cerebrali di $A\beta$ e le placche amiloidee sono aumentati nei pazienti con insufficienza cerebrovascolare e VaD. D'altra parte, la disfunzione cerebrovascolare indotta dall' $A\beta$ può rappresentare una minaccia per la perfusione cerebrale, riduce la riserva vascolare ed aumenta la propensione al danno ischemico. In linea con questa ipotesi, l'ischemia focale produce infarti più estesi in topi che sovra-esprimono APP (Zhang et al. 1997), un effetto associato con una disregolazione vascolare indotta da $A\beta$ ed una riduzione del flusso collaterale. In modo paradossale, alcuni fattori di rischio cardiovascolari possono incrementare il rischio di AD senza aggravarne la patologia neurodegenerativa. Ad esempio il diabete raddoppia il rischio di sviluppare AD senza che ciò corrisponda ad un incremento di placche e *tangle*. L'interazione tra le lesioni vascolari ed i *tangle* è meno chiara. L'ischemia cerebrale focale promuove la fosforilazione tau in modelli animali, suggerendo un legame tra l'iperfosforilazione tau ed i fattori vascolari. Le lesioni ischemiche aggravano la demenza dei pazienti con AD. La maggior parte degli studi mostra che una patologia moderata tipica di AD ha un impatto cognitivo molto maggiore in pazienti che hanno già lacune a carico dei gangli della base, lesioni ischemiche della sostanza bianca o infarti silenti. L'effetto delle lesioni vascolari è più pronunciato in pazienti nelle fase iniziali di AD. Inoltre le lesioni ischemiche ed i fattori di rischio vascolari accelerano l'insorgenza della demenza. La coesistenza di malattia cerebrovascolare può abbreviare lo stadio preclinico di AD ed accelerare la progressione di malattia (figura 12).

Figura 12

30



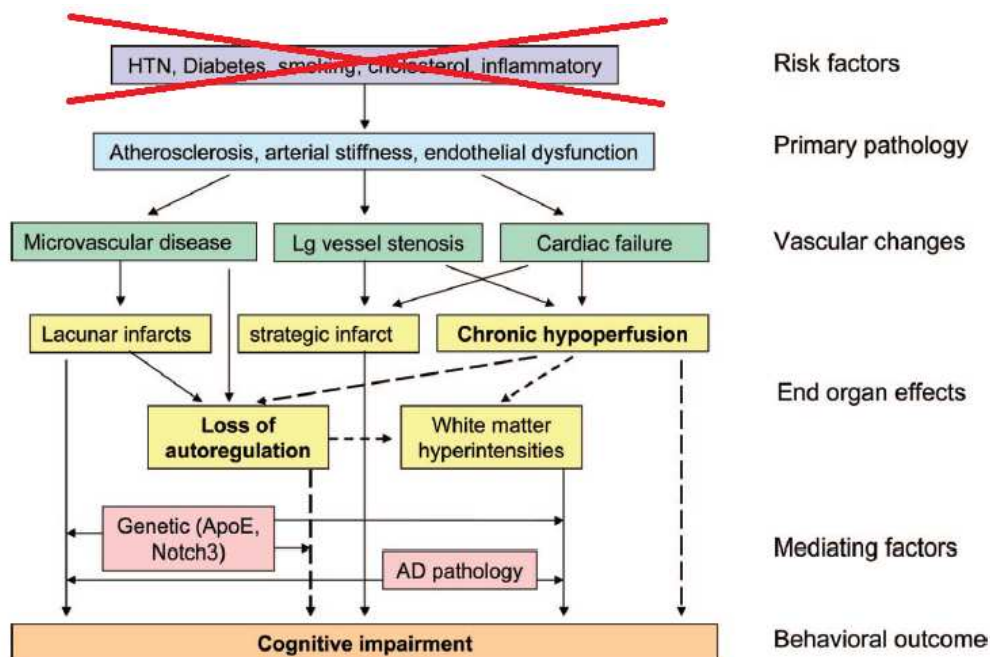
da Iadecola, 2010

Nella demenza mista, la patologia vascolare può peggiorare gli effetti cognitivi della neurodegenerazione attraverso diversi meccanismi. La neurodegenerazione e le lesioni ischemiche

possono contribuire in modo indipendente alla demenza, con un effetto cumulativo sul deterioramento cognitivo come somma degli effetti cognitivi negativi dati da ciascuna patologia (effetto additivo). In alternativa, la patologia vascolare potrebbe interagire in modo sinergico con i cambiamenti neurodegenerativi portando ad un declino cognitivo maggiore di quanto prodotto da ciascuna patologia (effetto sinergico). Inoltre, potrebbe esserci una sinergia patogenetica tra i due processi, tale che il danno tissutale prodotto dal danno vascolare può incrementare il danno prodotto dalla neurodegenerazione e viceversa. Per quanto descritto in precedenza, un'interazione patogenetica tra le patologie vascolari e neurodegenerative è biologicamente plausibile poiché in modelli animali l'ischemia promuove l'accumulo di A β , e a sua volta l'A β aggrava il danno ischemico. L'osservazione che i pazienti con AD hanno lesioni cerebrovascolari più severe all'autopsia, supporta questa possibilità (Jellinger and Attems 2010). Inoltre, l'insufficienza cerebrovascolare sembra promuovere la formazione di placche amiloidee (Jendroska et al. 1995).

Un'ulteriore prova di un effetto sinergico è suggerita dal fatto che una minima patologia vascolare sembra peggiorare l'impatto cognitivo di una modesta patologia degenerativa (Esiri et al. 1999). Tuttavia, in pazienti con lesioni vascolari e degenerative più severe gli effetti cognitivi sembrano essere additivi. È quindi verosimile che possono essere osservati effetti sia sinergici che additivi a seconda della gravità della patologia vascolare o neuro-degenerativa. In conclusione le lesioni vascolari sono peggiorative sulle funzioni cognitive sia agendo direttamente sulle vie neurali coinvolte nelle funzioni integrative superiori che peggiorando l'impatto della patologia vascolare.

Figura 13



Considerando che i fattori di rischio vascolari sono controllabili, gli approcci per il trattamento della demenza dovrebbero basarsi su strategie per preservare la salute cerebrovascolare. A supportare queste ipotesi, il trattamento dei fattori di rischio vascolare nei pazienti con AD rallenta il declino cognitivo (Deschaintre et al. 2009). Una dieta salutare e l'esercizio fisico può minuire l'effetto deleterio dei fattori di rischio cardiovascolare ed ha un effetto positivo sulle funzioni cognitive. In assenza di interventi specifici che agiscano sui meccanismi vascolari o neurodegenerativi della demenza, modifiche sullo stile di vita e sul controllo dei fattori di rischio potrebbero essere uno passo iniziale importante per mitigare il declino cognitivo associato sia con l'AD che con la VaD (figura 13).

LA MALATTIA D'ALZHEIMER: neuroimaging

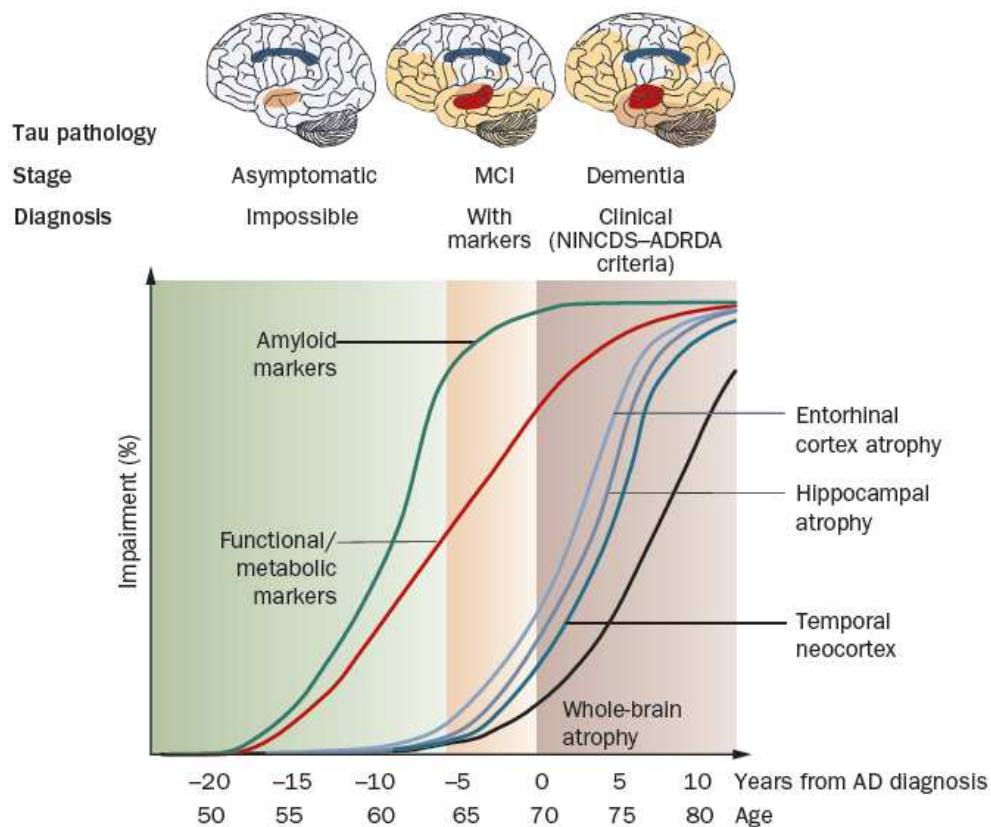
ATROFIA

Risonanza magnetica strutturale

In linea con la teoria fisiopatologica neurodegenerativa dell'AD, la misurazione dell'atrofia cerebrale basata sulla risonanza magnetica (RM) è considerata un marker valido di stato di malattia e della sua progressione. L'atrofia sembra essere infatti un epifenomeno inevitabile, inesorabilmente progressivo della neurodegenerazione. La topografia della perdita di tessuto cerebrale correla bene con i deficit cognitivi, sia in studi trasversali che longitudinali (Frisoni et al. 2010). I siti più precoci di deposito della proteina tau ed i cambiamenti atrofici visibili con la RM tipicamente si localizzano lungo le vie ippocampali (corteccia entorinale, ippocampo e corteccia cingolata posteriore), concordando con i deficit della memoria. Nelle fasi più avanzate di malattia, l'atrofia nelle neocortecce temporali, frontali e parietali è associata con perdita neuronale e con le alterazioni del linguaggio, prassiche, visuo-spaziali e comportamentali. I tassi di cambiamento in diverse misurazioni strutturali, inclusi la corteccia entorinale, l'ippocampo e i volumi del lobo temporale, così come l'allargamento ventricolare, correlano strettamente con i cambiamenti nella *performance* cognitiva, supportando la loro validità come marker di progressione di malattia. Il ruolo chiave dell'*imaging* nella diagnosi di AD è sottolineato dall'inclusione dei *marker* di *imaging* nei nuovi criteri proposti per la diagnosi precoce di AD (Dubois et al. 2010). Questi criteri, costruiti su quelli tradizionali del *National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke–Alzheimer's Disease and Related Disorders Association* (NINCDS–ADRDA), mantengono il requisito dei deficit della memoria ma non richiedono il requisito della disabilità (demenza). Vengono invece inclusi come criteri maggiori: atrofia temporale mediale, ipometabolismo temporo-parietale e marker del liquor (tau e A β). Di questi, è necessario che ne sia presente almeno uno. Questi criteri implicano che l'*imaging* strutturale e gli altri *marker* possono teoricamente permettere di fare diagnosi di AD, prima che compaia la disabilità legata alla demenza, cioè quando clinicamente il paziente si trova ancora in uno stadio di MCI. Dal MCI agli stadi moderati di malattia, i marker strutturali sono più sensibili al cambiamento degli altri marker di deposito di A β (valutati tramite *imaging* o analisi del liquido cerebrospinale). Nel periodo che coinvolge gli stadi asintomatici fino all'insorgenza di MCI, evidenze indirette indicano invece che i marker di amiloide mostrano maggiori anomalie di quanto facciano i marker strutturali (figura 14). Alcuni marker sono sensibili allo stato di malattia e utili per la diagnosi; altri sono più sensibili alla progressione della malattia e utili come marker surrogati in trials clinici. I marker dell'amiloide (amiloide β 42 nel fluido cerebrospinale e la PET basata sulla captazione

dell'amiloide) rappresentano i cambiamenti determinabili più precoci nel corso della malattia di Alzheimer, ma raggiungono un plateau già allo stato di MCI. I marker funzionali e metabolici ottenuti dall'attivazione task-dipendente nella RM funzionale o nella PET con fluorodeossiglucosio sono anormali già allo stadio di MCI e continuano a cambiare nello stadio di demenza. Cambiamenti strutturali avvengono più tardi, seguendo il deposito della tau nel lobo temporale (figura 14).

Figura 14 Progressione naturale dei marker cognitivi e biologici della malattia di Alzheimer: un modello teorico.



da Frisoni et al. 2010

Di tutti i marker RM di AD, l'atrofia dell'ippocampo valutata con sequenze di RM ad alta risoluzione T1 pesate è quella maggiormente validata. Il modo più semplice per determinare l'atrofia dei lobi temporali mediali è tramite l'osservazione di immagini coronali. Questa misurazione, per altro, può essere effettuata sia con esame di RM che con esame di tomografia assiale computerizzata (TC) (Figura 15). Diverse scale per quantificare il grado di atrofia sono state sviluppate e sono ampiamente impiegate (Frisoni et al. 2002a). Tali scale visive forniscono una sensibilità e una specificità dell'80-85% nel distinguere pazienti con AD da quelli senza disfunzioni cognitive. Questo metodo ha valori di sensibilità e specificità solo leggermente più bassi nel diagnosticare l'MCI amnestico. Queste scale hanno anche un buon valore predittivo per anticipare il declino nell'MCI (Frisoni, Rossi and Beltramello 2002b).

Nonostante la sua struttura convoluta, i confini dell'ippocampo sono più semplici da riconoscere per gli operatori e gli algoritmi automatizzati rispetto all'amigdala, alla corteccia entorinale o al giro paraippocampale. Questo è dovuto al fatto che i confini anatomici dell'ippocampo sono distinti nelle immagini in TI intorno alla maggior parte della superficie di questa struttura. Il volume ippocampale misurato in vivo tramite la RM correla con la conta neuronale. Agli stadi lievi di AD, il volume dell'ippocampo è anche ridotto del 15- 30% rispetto ai controlli e nella variante amnestica di MCI il volume è ridotto del 10-15%.

Figura 15 Misura radiale del corno temporale ad immagini TC



35

modificata da Frisoni et al. 2002

Alle immagini TC il valore *cut-off* che differenziava i pazienti con AD dai controlli era di >5.3 mm in una popolazione di soggetti tra 50 e 90 anni. Nelle misurazioni effettuate con RM i valori *cut-off* variavano con l'età dei soggetti considerati (3.6–6.7 mm, 50–90 aa). Nonostante le evidenze sopra riportate, l'atrofia mediale temporale da sola non è una misura sufficientemente accurata per costituire un criterio diagnostico assoluto per la diagnosi di AD nello stadio di MCI. in quanto manca di specificità per escludere con certezza le altre demenze. Per aumentare l'accuratezza dei marker strutturali, altre misure possono essere aggiunte all'algoritmo diagnostico di AD. Studi che hanno incluso la conferma patologica della diagnosi hanno mostrato che l'atrofia parietale combinata con l'atrofia del lobo temporale mediale in RM porta un valore predittivo positivo per la diagnosi di AD. Altri marker di atrofia sono stati suggeriti per la diagnosi precoce di AD ma la loro validità e valore aggiuntivo nel predire il declino devono ancora essere confermati. Negli stadi avanzati della patologia sono coinvolte anche le neocortecce temporali, frontali e parietali e, si sviluppa una marcata atrofia cerebrale globale, con un ampliamento dei solchi e un assottigliamento delle circonvoluzioni; all'aumentare dell'atrofia si ha un progressivo peggioramento dello stato cognitivo.

RM morfo-volumetrica (morfometria voxel-based, spessore corticale)

L'imaging volumetrico è ora riconosciuto come un importante strumento per la diagnosi preclinica e il monitoraggio dell'AD (Teipel et al. 2010). Gran parte delle ricerche per l'applicazione dell'imaging di RM per lo studio dell'AD sono avvenute grazie alla volumetria ovvero la misura di volumi di alcune aree cerebrali per determinarne l'atrofia. L'atrofia cerebrale e il volume della corteccia entorinale, dell'ippocampo e dell'amigdala sono stati studiati tramite diverse tecniche, che richiedono immagini morfologiche convenzionali ad alta risoluzione (sequenze 3DT1 gradiente echo). La segmentazione manuale è attualmente il *gold standard* per la valutazione del volume delle strutture temporo-mesiali, che è ridotto in AD. Si stanno studiando delle procedure di segmentazione semiautomatiche e automatiche per aumentare la riproducibilità. Un'atrofia significativa dell'ippocampo può essere dimostrata tramite RM anche negli stadi preclinici dell'AD e predice la successiva conversione in AD con un'accuratezza dell'80%. Diversi studi hanno studiato il pattern temporale dell'atrofia ippocampale nei pazienti con AD: sono stati dimostrati tassi di atrofia annua del 3-7%, mentre i controlli hanno un tasso di atrofia massimo dello 0.9%. C'è una correlazione molto forte tra i volumi dell'ippocampo misurati tramite RM ed il numero dei neuroni all'istologia, mostrando che delle misure volumetriche accurate dell'ippocampo possono essere ottenute usando una RM (Ramani, Jensen and Helpert 2006). La morfometria basata sui voxel (VBM), effettuata su immagini T1, stima, usando un approccio statistico, le aree in cui la perdita neuronale è prominente confrontando pazienti con controlli. In aggiunta, i pazienti possono essere monitorizzati nel tempo per valutare il tasso di progressione dell'atrofia. Questo metodo dimostra un tasso di atrofia di riduzione di circa il 2.5% di tutto il tessuto cerebrale nel corso di un anno, confrontato con solo lo 0.4-0.9% dei controlli sani.

36

ALTERAZIONI METABOLICHE E DI FLUSSO

RM pesata in perfusione

Una significativa riduzione del flusso cerebrale è stata osservata nei pazienti con AD rispetto ai controlli sani. La RM perfusionale si è visto avere una sensibilità dell'85-95% e una specificità dell'88-95% nei pazienti con AD lieve o moderato. In un recente studio i pazienti con MCI che hanno sviluppato AD, in confronto con i controlli, hanno mostrato un'ipoperfusione nel giro paraippocampale e nel giro inferiore temporale, mentre quelli che non hanno sviluppato AD hanno mostrato una ipoperfusione nella corteccia retrosplenica, nel precuneo e nel giro occipitale.

Spettroscopia RM (HMRS)

L'*imaging* molecolare e metabolico con la spettroscopia RM quantifica diversi marker biochimici. In individui con AD e MCI, le misure di MRS, associate con un diminuito metabolismo cerebrale, sono diverse dalle persone della stessa età e correlate alla performance nella memoria. La spettroscopia RM mostra una riduzione dell'N acetil aspartato (NAA) in tutte le regioni tipicamente colpite dalla patologia neurofibrillare precocemente nella malattia (lobo temporale-mesiale, corteccia parietale e cingolo posteriore) prima che avvenga una riduzione volumetrica. Livelli di mio- inositolo tendono a essere aumentati nell'AD e nell'MCI. I risultati suggeriscono che questi marker sono predittori del deficit cognitivo e che il mioinositolo possa aumentare prima della diminuzione del NAA e la colina. Alcuni autori hanno dimostrato una correlazione positiva tra il grado di riduzione dell'NAA e la severità della malattia. Diversi studi longitudinali hanno esaminato i cambiamenti in MRS con la progressione dell'AD. Nel corso di un anno, il NAA totale della sostanza grigia è diminuito maggiormente nei pazienti (12.36%) rispetto ai controlli (0.94%) e questa riduzione ha correlato con il globale declino clinico ed è risultata più sensibile del cambiamento nel volume totale della sostanza grigia. Nei pazienti con AD il declino dell'NAA nel lobo temporale mediale correlava con il declino dell'MMSE. MRS può essere un predittore eccellente della conversione dell'MCI in AD.

RM funzionale

Differenze nell'estensione e nell'intensità del segnale dell'attivazione della corteccia nella RM funzionale sono state osservate tra i pazienti con MCI, AD e controlli. Negli studi di RM funzionale sul task della memoria nei pazienti con AD diagnosticata l'attivazione dell'ippocampo e del paraippocampo è consistentemente diminuita rispetto ai controlli. Uno studio recente con la RM funzionale ha mostrato che pazienti con MCI che hanno sviluppato AD reclutavano una parte maggiore del giro paraippocampale effettuando il task della memoria. Il reclutamento delle regioni cerebrali aggiuntive durante il task dai pazienti con malattia neurodegenerativa o neurologica in generale potrebbe indicare la presenza di processi che si attivano per compensare i networks danneggiati. La RM funzionale potrebbe fornire informazioni sostanziali per valutare la progressione della malattia e per predire l'effetto dei farmaci. Comunque, i risultati delle analisi di gruppo possono difficilmente essere trasferiti ai singoli individui per la routine clinica. Gli studi di neuroimaging funzionale tipicamente valutano l'aumento task-dipendente dell'attività cerebrale sottraendo uno stato di riferimento da uno stato attivato. C'è un interesse crescente nella diminuzione dell'attivazione cerebrale che si verifica durante un task, chiamata "de- attivazione". Tale de- attivazione si verifica in un gran numero di task nella corteccia frontale mediale, parietale mediale e cingolata posteriore. Queste regioni hanno un elevato metabolismo a riposo e sono parte del cosiddetto "network default mode". Studi sul metabolismo a riposo che utilizzano la PET e la SPECT in pazienti con AD suggeriscono che le anomalie nella corteccia cingolata posteriore e

nel precuneo possano essere un marker precoce di AD. Data la possibile relazione tra il metabolismo a riposo e la de-attivazione funzionale alla RM, le de-attivazioni potrebbero essere considerate un marker alternativo precoce nell'AD. Il "default mode network" mostra una diminuita attività nell'AD. Rombouts et al (Rombouts et al. 2009) hanno recentemente dimostrato che i pazienti con MCI hanno mostrato una minore de-attivazione dei controlli, tuttavia maggiore dell'AD. Il default mode network nella corteccia frontale anteriore ha distinto in modo significativo l'MCI sia dai controlli sani sia dai pazienti AD. Queste scoperte suggeriscono che un'alterata attività nel network default mode potrebbe rappresentare un marker precoce per la diagnosi di AD (Dickerson and Sperling 2009).

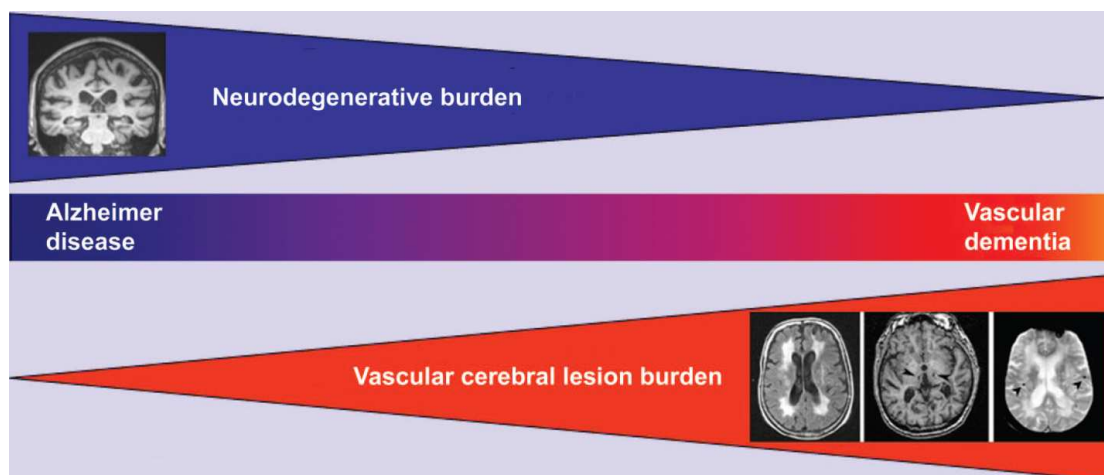
IPERINTENSITÀ DELLA SOSTANZA BIANCA

L'assenza di lesioni vascolari in RM esclude essenzialmente la diagnosi di VaD. Tuttavia, un'elevata proporzione di pazienti con deterioramento cognitivo progressivo presenta vari livelli di patologia dei piccoli vasi, che può essere rilevata nelle immagini di RM T2 pesate come iperintensità della sostanza bianca o una o più lacune. La maggior parte dei pazienti con deterioramento cognitivo progressivo presenta un'etiopatologia mista di AD ed alterazioni cerebrovascolari. Stimare la proporzione di deterioramento cognitivo attribuibile alla componente neurodegenerativa rispetto alla cerebrovascolare è difficile ma importante (Frisoni et al. 2007, Frisoni et al. 2010). Maggiore è il contributo della patologia cerebrovascolare, maggiore è l'enfasi da dare al trattamento dei fattori di rischio vascolare. Studi clinici ed epidemiologici mostrano che nonostante l'elevata prevalenza e la tendenza ad aumentare (de Groot et al. 2000, van Dijk et al. 2008, Schmidt et al. 2007), le WMH sembrano essere responsabili solo di una piccola porzione del severo deterioramento cognitivo nei pazienti con demenza progressiva (Frisoni et al. 2007) e che la neurodegenerazione è più determinante delle WMH (Schmidt et al. 2005). Una stima cruda, ma significativa, suggerisce che il contributo cross-sezionale della WMH severe in persone con deterioramento cognitivo è equivalente di 0.5 punti di MMSE, e che il loro contributo alla progressione del deterioramento è circa 12 volte minore del contributo delle alterazioni neurodegenerative. Le lacune ed altri infarti silenti possono più che raddoppiare il rischio di sviluppare demenza a 5 anni (Vermeer et al. 2003) e possono ridurre la riserva cognitiva in pazienti che stanno accumulando le placche ed i *tangle* (Snowdon et al. 1997). Inoltre, è possibile che esistano alcuni sottogruppi di pazienti in cui le WMH abbiano un valore più importante dal punto di vista patogenetico. Ad esempio nei pazienti omozigoti per allele ε4 il tasso d'incremento di WMH nel tempo è più rapido (Godin et al. 2009). Inoltre, anche la conversione da MCI ad AD sembra essere influenzata dal carico lesionale di WMH (Staekenborg et al. 2009). In particolare, è stato evidenziato come a parità d'età, volume

cerebrale ed genotipo dell'APOE, i soggetti il cui la progressione di WMH è maggiore vanno incontro a declino cognitivo (Silbert et al. 2009). La maggior parte dei fattori vascolari si è vista essere associata a lesioni cerebrali visibili con RM encefalica: iperintensità di segnale a livello della sostanza bianca (WMI), infarti lacunari o microemorragie cerebrali (van Dijk et al. 2008). Tuttavia, il danno vascolare sembra predire lo sviluppo di demenza anche indipendentemente dai fattori di rischio (DeBette et al. 2010). In uno studio (Delano-Wood et al. 2008) è stato osservato che le DWMH (*deep white matter hyperintensities*) ma non le PVH (*peri ventricular hyperintensities*) predicono la performance nei test sulle funzioni esecutive, velocità di processazione ed abilità visuospatiali/costruttive. Le DWMH, invece, non hanno predetto la performance nei test per la memoria verbale o il linguaggio. Prins et al. (Prins et al. 2005), tuttavia, hanno descritto che le DWMH predicono la performance mnemonica. In contrasto con tali risultati, altri studi hanno trovato che le PVH e non le DWMH sono legate al declino cognitivo ed in particolare alla velocità di processazione. Un piccolo carico di lesioni ischemiche determinate dai fattori vascolari potrebbe slantentizzare l'espressione di placche e *tangle* associate con AD in pazienti con una demenza in stato pre-clinico. In altre parole, le lesioni vascolari potrebbero coadiuvare in modo additivo o persino sinergico la patologia degenerativa sottostante per produrre una disfunzione cognitiva più grave. Questa interpretazione è supportata da numerosi dati clinico-patologici che indicano che i soggetti con patologia sia degenerativa che vascolare presentano un deterioramento cognitivo più grave dei pazienti con un profilo puramente degenerativo o necessitano un carico di placche e *tangle* meno rilevante a parità di stato clinico. La maggior parte delle lesioni descritte in questi studi sono infarti lacunari o microinfarti piuttosto che grandi lesioni emisferiche. Evidenze dimostrano che le WMH siano il risultato di un'ipoperfusione cronica (Pantoni and Garcia 1997), e che siano associate ad una difettosa VMR (Bakker et al. 1999) anche in pazienti che non presentano una storia di malattia cerebrovascolare, né patologia carotidea significativa (Fu et al. 2006).

39

Figura 16



Riassumendo, il quesito importante non è se i fattori vascolari contribuiscano alla demenza, ma qual è il loro peso relativo e come si esplica delle diverse tipologie di demenza. Esistono evidenze abbastanza forti per suggerire che esista un unico spettro (figura 16): ad un'estremità una demenza puramente vascolare e dall'altra una esclusivamente degenerativa, e nel mezzo, la maggior parte dei casi, che presentano un profilo fisiopatologico misto (Viswanathan, Rocca and Tzourio 2009).

ALTERAZIONI DELLA DIFFUSIBILITÀ DELL'ACQUA

L'applicazione clinica dello studio della diffusione protonica con RM è iniziato negli anni '90 con studi sull'encefalo normale. Prima di allora, il fenomeno della diffusione dell'acqua era considerato un inconveniente dal momento che produceva degli artefatti. Oggi questo fenomeno è considerato un meccanismo di contrasto fondamentale per lo studio delle patologie del parenchima cerebrale. La tabella 2 riassume le tappe fondamentali di questa evoluzione (Roberts and Rowley 2003).

Tabella 2

1950	La diffusione costituisce un problema per le immagini pesate in T2
1986	Le Bihan introduce l'intravoxel incoherent motion (IVIM)
1990	Moseley et al mostrano i cambiamenti acuti in DWI conseguenti all'occlusione di una arteria
1991	Si discute sull'anisotropia della diffusione
1992	Van Bruggen discute le differenze in DWI e T2 nell'ischemia cerebrale acuta
1993- 1996	Viene studiato il mismatch diffusione perfusione
1995	Wimberger suggerisce che l'anisotropia della WM precede la mielinizzazione
1996	Warack mostra il DWI in pazienti con stroke
1999	L'anisotropia nella diffusione è impiegata per tracciare le fibre della sostanza bianca
2000	DWI diviene di routine nel management dello stroke.
Oggi	La diffusione è anche impiegata per escludere i vasi e studiare altre patologie (es tumori)

40

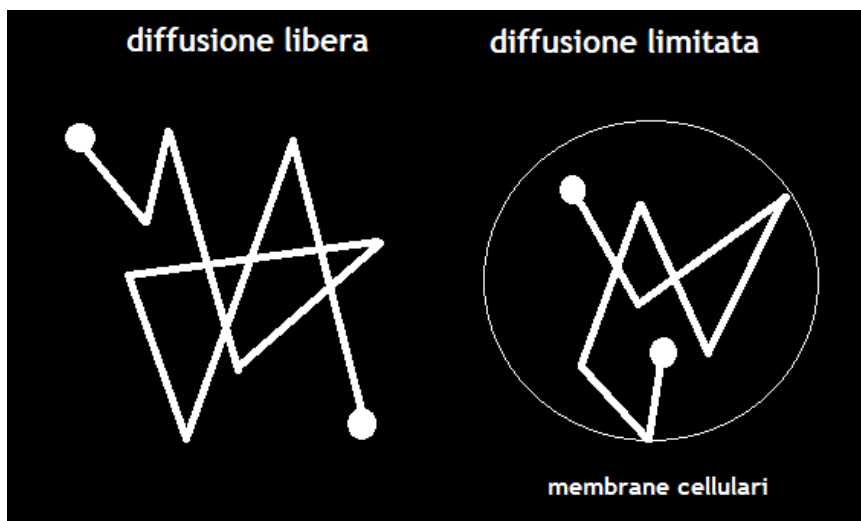
Basi fisiche

A temperature al di sopra dello zero, le molecole possiedono un'energia cinetica e, allo stato liquido o gassoso, si muovono secondo un movimento Browniano o diffusione, come discusso da Einstein, che

predisse lo spostamento traslazionale delle molecole in termini di “coefficiente di diffusione delle molecole”. Infatti, quest’ultimo dipende dalla temperatura assoluta e dal peso molecolare. Poichè la temperatura del corpo umano si mantiene relativamente costante, lo studio di questo fenomeno ha trovato numerose applicazioni in ambito clinico. In particolare due sono i tipi principali di elaborazione e valutazione delle immagini ottenibili con l’applicazione di gradienti sensibilizzanti al fenomeno della diffusione:

1. ricostruzione di immagini in cui è eliminato l’effetto dell’anisotropia - cosiddette immagini isotrope o pesate in diffusione, che sono generalmente valutate soggettivamente. La diffusione isotropica è espressione dei movimenti caotici che avvengono in un fluido omogeneo. La diffusione anisotropica è condizionata dalla struttura del tessuto e tiene conto di ostacoli biologici (figura 17).

Figura 17 Rappresentazione schematica della diffusione isotropica (a sinistra) e di quella anisotropia (a destra).



2. ricostruzione di mappe del cosiddetto coefficiente apparente di diffusione (ADC) in cui è eliminato l’effetto della pesatura in T2 delle sequenze pesate in diffusione.

Le misurazioni del movimento delle molecole di acqua furono per la prima volta effettuate da Stejskal e Tanner (*Stejskal and Tanner 1965*). Il diverso livello di pesatura in diffusione si ottiene modificando il valore di b value:

$$b = \gamma^2 G^2 \delta^2 (\Delta - \delta/3)$$

γ : 42 Mhz / Tesla (cost g.magn)

G: gradiente di diffusione

δ : durata di applicazione G

Δ : tempo tra due impulsi G

Poiché la maggior parte degli esperimenti in DWI si basano sulla sommazione di gradienti di impulso secondo la tecnica di Stejskal e Tanner a sequenze spin-echo (tipicamente SE-EPI), l'immagine risultante necessariamente riflette i contrasti da almeno due sorgenti: la diffusione e il T2. Le immagini pesate in T2 hanno una sensibilità e quindi un b value di 0: se in queste immagini una regione appare iperintensa, è plausibile che questa iperintensità non sia dovuta alla perdita di segnale legata alla diffusione. Dividendo il DWI ($b \cdot 1000$) per le immagini pesate in T2 (b_0) si ottiene una "exponential diffusion image", anche detta "attenuation factor map". Successivi calcoli permettono la costruzione pixel per pixel di una mappa ADC, che mostra una marcata ipointensità nei territori ischemici in acuto; col tempo quest'area si trasformerà in un'area di iperintensità. L'utilizzo delle mappe ADC permette una valutazione quantitativa e riproducibile delle alterazioni della diffusione nelle varie condizioni patologiche dell'encefalo, non solo in corrispondenza di aree di alterato segnale nelle immagini convenzionali, ma anche nelle aree che appaiono normali nelle immagini stesse. Un ulteriore livello di elaborazione prevede, previa l'applicazione di gradienti sensibilizzanti alla diffusione secondo almeno 6 assi di orientamento diverso, la ricostruzione del tensore di immagine e di mappe che descrivono sia la diffusività media (D) che il grado di anisotropia della sostanza bianca, generalmente mediante il calcolo dell'anisotropia frazionata (FA). La valutazione delle immagini isotrope, di seguito indicate come immagini pesate in diffusione, e delle mappe di ADC, D , FA può essere eseguita soggettivamente oppure quantitativamente. Il primo semplice approccio si è rivelato utile nello studio dell'ischemia cerebrale e per la diagnosi differenziale delle lesioni cistiche sia in sede intra-assiale che extra-assiale. L'analisi delle mappe ADC, D , FA permette una quantificazione non solo del danno macroscopico evidente come aree di alterato segnale nelle immagini RM convenzionali, ma anche del danno microscopico che non è apparente nelle immagini stesse. In particolare le mappe ADC, D , FA possono essere valutate con regioni di interesse (ROI: regions of interest) o con istogrammi. L'analisi con istogrammi, in cui si rappresentano sulle ascisse i valori della misura di interesse (ADC, FA o D) e sulle ordinate il numero di pixel o voxel di un'immagine o di una serie di immagini, offre alcuni vantaggi quali una rappresentazione sintetica della distribuzione globale del parametro, un'intrinseca elevata potenza statistica e un'elevata riproducibilità, maggiore di quella ottenibile con le regioni di interesse. L'analisi con istogrammi può ovviamente determinare una perdita di informazione relativa alla distribuzione spaziale delle alterazioni. Tuttavia, un parziale recupero di questa informazione nell'analisi con istogrammi è possibile mediante varie operazioni di segmentazione, sia su base anatomica (ad esempio del lobo temporale) sia sulla base dei reperti dell'imaging convenzionale, come, ad esempio, con l'esclusione di lesioni macroscopiche, sia infine sulla base delle diverse caratteristiche di anisotropia riflesse nei diversi valori di FA con separazione rispettivamente della sostanza bianca, altamente anisotropa, dalla sostanza grigia, isotropa. Il liquor mostra valori di ADC compresi tra 2.7 e 3.2×10^{-3} mm²/s che sono molto più elevati di quelli del parenchima encefalico

normale il cui range è compreso tra 0.7 e 0.8 $\times 10^{-3}$ mm²/s. Il valore di ADC nel liquor mostra negli istogrammi una tipica distribuzione gaussiana. Soprattutto negli istogrammi che derivano da molteplici sezioni encefaliche si osserva tuttavia una distribuzione dei valori di ADC o D tricompartimentale per la presenza di voxel con valori intermedi tra quelli del parenchima cerebrale e quelli del liquor (effetto volume parziale). Fra le misure impiegate per la descrizione della distribuzione dei dati negli istogrammi, quella maggiormente impiegata è l'altezza del picco. Sfruttando le caratteristiche dei valori di ADC o D rispettivamente del liquor e del parenchima encefalico, è possibile tentare di descrivere globalmente le alterazioni encefaliche in una determinata patologia a partire da un singolo set di dati. Infatti, dopo aver segmentato il volume intracranico dai tessuti extracranici, è possibile applicare un valore soglia (pari al valore medio del liquor meno 2SD) che separi (al 97.5%) il liquor dal parenchima cerebrale; questa procedura permette di determinare la percentuale del volume intracranico occupato dal parenchima (Brain volume index: volume intracranico – volume occupato da liquor/ volume intracranico) e dal liquor. Il Brain Volume Index è una misura indiretta dell'atrofia del parenchima cerebrale e pertanto una stima del tessuto definitivamente perso correlato ad un danno irreversibile.

Diffusion tensor imaging (DTI)

La RM con tensore di diffusione permette l'acquisizione di ulteriori informazioni. La diffusione nell'encefalo non è isotropa (ossia non è uguale in tutte le direzioni), a causa della presenza di barriere direzionali, costituite prevalentemente dai tratti mielinizzati della sostanza bianca. Acquisendo immagini in direzioni diverse dello spazio e rielaborando i dati con la matrice del tensore, si raccolgono informazioni relative alla direzionalità della diffusione. Accanto alla mappa di diffusività media è possibile ottenere la mappa di anisotropia frazionale, ove l'ipointensità corrisponde alla massima isotropia (ossia a una diffusione ugualmente distribuita in tutte le direzioni, come nel liquor), mentre l'iperintensità corrisponde alla massima anisotropia (ossia a una diffusione orientata in un'unica direzione, come nel corpo calloso). Esiste usualmente una correlazione negativa tra le misure quantitative della diffusività media e quelle dell'indice di anisotropia frazionale (Jones et al. 1999). Una recente evoluzione della RM con tensore di diffusione è la Trattografia ("fiber tracking"), che per mezzo di appositi algoritmi converte l'informazione sulla direzionalità della diffusione in una ricostruzione tridimensionale delle connessioni di fibre attraverso i voxel (Moseley, Bammer and Illes 2002).

RM pesata in diffusione

L'aumento della diffusività, fornisce informazioni, riguardanti l'entità della distruzione di tessuto nervoso ad un livello ultrastrutturale diffuso non evidenziabile con le metodiche di RM convenzionale. Tramite mappe di diffusività e di anisotropia frazionale è possibile eseguire misure quantitative

nell'ambito di regioni d'interesse che possono essere posizionate in regioni iperintense o nella sostanza bianca apparentemente normale (O'Sullivan et al. 2001). Le alterazioni iperintense della sostanza bianca di verosimile natura vascolare presentano un aumento della diffusività media e ridotti valori di anisotropia frazionale, alterazioni indicative di una significativa distruzione strutturale dei fasci di fibre della sostanza bianca. Nelle lesioni leucoaraiotiche viene mantenuta la correlazione negativa tra misure quantitative della diffusività media e dell'indice di anisotropia frazionale presente nella sostanza bianca normale. Nel core degli infarti ischemici, però, i valori di diffusività media sono molto più elevati, perché l'evoluzione pseudocistica della lesione fa assumere al tessuto caratteri di diffusività simil-liquorali. Tale caratteristica permette di differenziare le lesioni leucoaraiotiche dagli esiti d'infarti lacunari. Esiste inoltre una correlazione tra severità della leucoaraiosi, valutata sia con scale visive che con scale volumetriche, e valore di diffusività media che risulta proporzionalmente aumentata. Sul piano istopatologico le lesioni leucoaraiotiche corrispondono ad un danno di differente severità (Awad et al. 1986) che solo in parte è caratterizzabile con la RM convenzionale. Uno studio di RMD eseguito postmortem su due encefali fissati in formalina ha mostrato una correlazione negativa tra valori di anisotropia frazionale e gradazione del danno istopatologico a livello delle lesioni leucoaraiotiche. Il carico lesionale delle lesioni leucoaraiotiche ha una correlazione molto debole con le funzioni cognitive. Sebbene ciò sia stato attribuito alla differente severità del danno istopatologico, le misure di diffusione a livello lesionale, che pur correlano con tale danno, non correlano con il deficit cognitivo. È possibile che negli stati più avanzati, la gliosi che si manifesta a livello lesionale, fornendo nuove barriere biologiche, può interferire con l'aumento di diffusione e possa addirittura ridurre la diffusività media contribuendo alla mancanza di tale correlazione. Al contrario, quando effettuate sulla sostanza bianca apparentemente normale, le misure di diffusione correlano molto meglio con la sindrome disesecutiva nei soggetti con leucoaraiosi ischemica (O'Sullivan et al. 2001). Tale correlazione si riscontra anche nella sostanza bianca di soggetti anziani normali, privi di leucoaraiosi, e che mostrano un declino cognitivo età-correlato. La capacità della RM diffusionale di evidenziare la distruzione dei tratti di sostanza bianca, comprendendo sia le connessioni cortico-corticali sia quelle cortico-sottocorticali, è compatibile con la cosiddetta sindrome da "disconnessione corticale".

44

ADC e stato cognitivo

Una delle tecniche più impiegate per diagnosticare precocemente e prevedere la progressione di malattia è la RM morfo-volumetrica. Questa, tuttavia, ha diversi limiti. Innanzitutto la misurazione dello spessore corticale si basa su un'assegnazione arbitraria di una soglia d'intensità di segnale che si usa per distinguere la sostanza bianca dalla sostanza grigia. Inoltre questa tecnica, misurando volumi o spessori, non dà informazioni sulla struttura del tessuto. I valori di ADC, d'altra parte, sono influenzati dalla struttura del tessuto ed in particolare aumentano in maniera direttamente proporzionale con il danno

della sostanza bianca. In corso di AD, i valori di ADC potrebbero rappresentare una misura più sensibile rispetto alle misure volumetriche. Nell'ambito della demenza vascolare, viceversa, i valori dell'ADC potrebbero risultare indicatore precoce di atrofia. In linea con queste supposizioni, recenti studi hanno mostrato un aumento dei valori medi emisferici di ADC in relazione allo stato cognitivo (Carlesimo et al. 2010, Kantarci et al. 2001, Stahl et al. 2007, Fellgiebel et al. 2004, Bozzali et al. 2001, Hanyu et al. 1999) (tabella 3).

Tabella 3

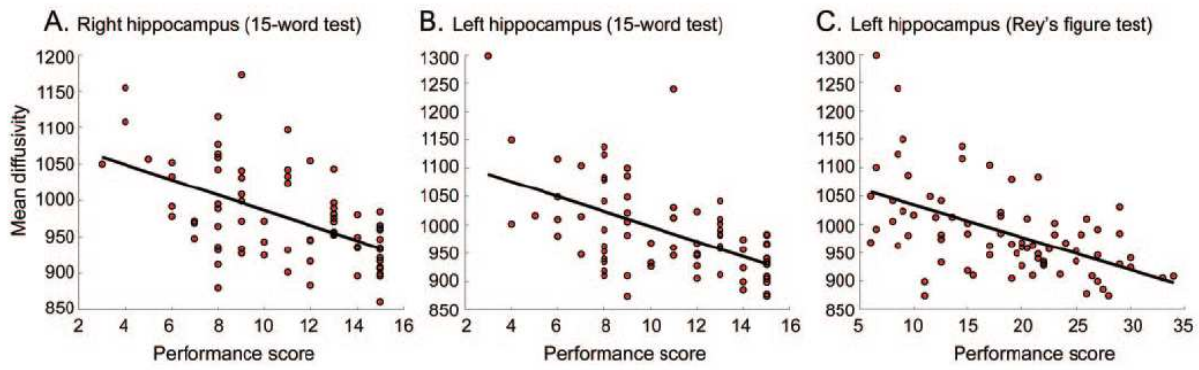
Autore	Anno	Pazienti	Risultati
Stahl et al.	2007	15 AD 16 MCI	ADC aumentato nello splenio del corpo calloso in AD. ADC aumentato nel lobo temporale e parietale in AD ed MCI vs sani e nella SB temporale in pazienti con AD vs sani e MCI.
Fellgiebel et al.	2004	14 MCI 19 AD	ADC aumentato nella SB temporale nei pazienti con MCI. ADC aumentato nella SB parietale e temporale nei pazienti con MCI e con AD.
Bozzali et al.	2001	16 AD	ADC aumentato nella SB temporale, frontale e parietale e nel corpo calloso.
Kantarci et al.	2001	19 MCI 21 AD	ADC aumentato in SB temporale, occipitale, parietale in AD.
Hanyu et al.	1999	23 AD	ADC ratio diminuito nel corpo calloso anteriore e posteriore.

45

SB = sostanza bianca

Un aumento dell'ADC (apparent diffusion coefficient) ed una diminuzione della FA (anisotropia frazionaria) sono stati riportati nella sostanza bianca del lobo temporale, nell'ippocampo, nella sostanza bianca posteriore e nel corpo calloso di pazienti con AD lieve e moderata, riflettendo le alterazioni biofisiche precoci nella progressione dell'AD. Gli autori della maggior parte degli studi hanno riportato una forte correlazione tra il MMSE e l'ADC media e i valori di FA nella sostanza bianca. La figura sottostante (figura 18) mostra i risultati di uno studio che ha dimostrato la correlazione esistente, anche nei soggetti anziani non dementi, tra i punteggi ottenuti ad un test sensibile alla memoria (test delle 15 parole e test della figura di Rey) e la diffusività media a livello dell'ippocampo destro e sinistro (Carlesimo et al. 2010).

Figura 18



da Carlesimo et al. 2010

L'ADC regionale riflette le performance cognitive in pazienti affetti da AD

INTRODUZIONE

La relazione tra le malattie cerebrovascolari e l'AD è oggetto di un dibattito tuttora irrisolto (Iadecola and Gorelick 2003). La definizione di un ruolo dei fattori di rischio nell'instaurarsi e nella progressione della demenza può avere importanti implicazioni cliniche, soprattutto perché offrirebbe l'opportunità di influenzare la progressione del declino cognitivo agendo su di essi (de la Torre 2008). Un crescente numero di studi dimostra che la patologia degenerativa e quella vascolare siano entrambe implicate nell'AD e che possono influenzarsi a vicenda (Knopman and Roberts 2010). Alcuni autori propongono di riconsiderare la patologia dementigena come un continuum dalle forme vascolari a quelle degenerative.

L'atrofia mediale temporale rilevata alla RM rappresenta il *biomarker d'imaging* più validato per l'AD (Dubois et al. 2010). Tuttavia, le anomalie vascolari come la leucoaraiosi possono essere osservate persino in pazienti che presentano tutti i criteri clinici per un'AD tipica. D'altra parte la leucoaraiosi è un dato prominente nei pazienti con VaD, che tuttavia vanno incontro inevitabilmente ad atrofia corticale. Negli ultimi anni studi di risonanza pesata in diffusione hanno descritto un incremento della diffusività dell'acqua a livello delle lesioni iperintense (WMH) ed al livello della sostanza bianca apparentemente normale (NAWM) in pazienti con alterazione delle *performance* cognitive (O'Sullivan et al. 2004, Della Nave et al. 2007, Nitkunan et al. 2008, Shenkin et al. 2005, Viana-Baptista et al. 2008). Un aumento dei valori ADC è stato descritto anche in relazione ad un disturbo dell'emodinamica cerebrale, suggerendo che questi possano essere precursori delle lesioni leucoaraiotiche (Conklin et al. 2010). Lo studio LADIS ha recentemente mostrato che un incremento dei valori di ADC a livello della NAWM è correlato alla severità delle WMH ed ha un forte effetto WMH-indipendente sulle funzioni cognitive in pazienti con leucoaraiosi (Schmidt et al. 2010). Come detto in precedenza, altri studi avevano già descritto l'incremento dei valori di ADC principalmente a livello delle regioni temporali e posteriori, in pazienti dementi rispetto ai controlli (Stahl et al. 2007, Kantarci et al. 2001). Un incremento della motilità casuale dell'acqua può dipendere da una riduzione degli ostacoli cellulari ed extracellulari, come ad esempio una perdita dell'integrità di membrana od una riduzione della densità cellulare. Nell'insieme questi dati pongono il quesito se l'incremento della diffusione dell'acqua nei pazienti affetti da demenza possa riflettere una disfunzione neuronale sottostante l'atrofia o precorrente la formazione di lesioni gliotiche.

Inoltre, difetti della sostanza bianca sono stati osservati nei pazienti con AD in tutte le fasi di malattia e nei modelli animali (Roher et al. 2002); è quindi possibile che un'alterazione della diffusibilità dell'acqua a livello della sostanza bianca apparentemente sana possa costituire un indice precoce di demenza.

Lo scopo di questo studio è valutare se i valori regionali del coefficiente di diffusione apparente dell'acqua valutati a livello della sostanza bianca apparentemente sana siano correlati al carico di danno vascolare, all'aterosclerosi sistemica ed allo stato cognitivo in soggetti anziani.

MATERIALI E METODI

Sono stati arruolati per questo studio 96 pazienti consecutivi afferenti al nostro Dipartimento di Neurologia per Malattia d'Alzheimer, diagnosticata secondo i criteri diagnostici NINCDS-ADRDA (McKhann et al. 1984). Tutti i soggetti sono stati sottoposti ad un'attenta anamnesi per valutazione dei fattori di rischio vascolare, ad un eco-color-doppler dei vasi del collo, ad un esame di RM encefalo ed a valutazione neuropsicologica. La Tabella 4 riassume il profilo demografico ed i fattori di rischio vascolari di questi pazienti.

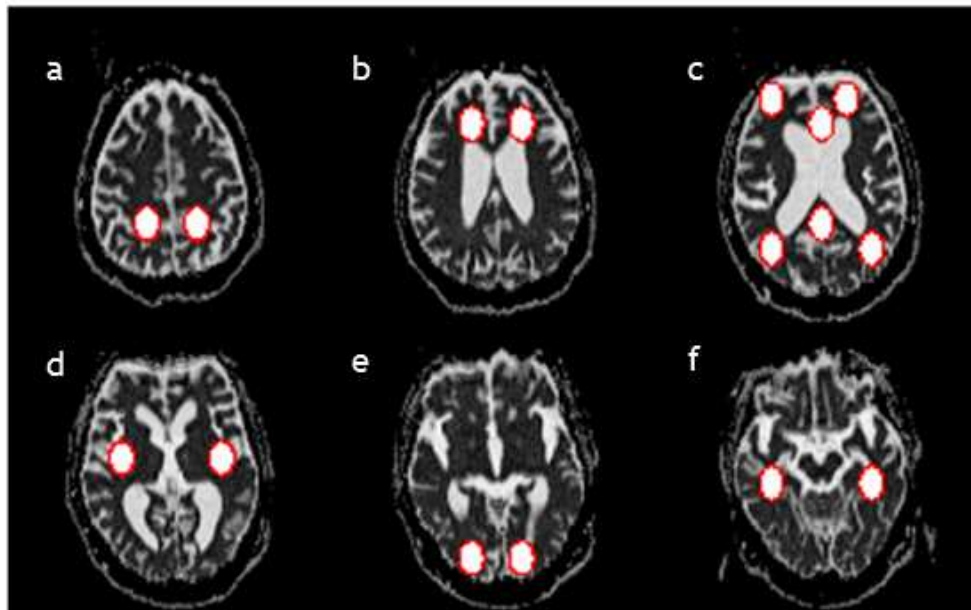
Esame RM

L'esame è stato eseguito utilizzando un magnete da 1,5 Tesla (magnetom Avanto B13, SIEMENS, Erlangen, Germany). Il protocollo di acquisizione prevedeva sequenze Fluid-Attenuated Inversion Recovery - FLAIR (TR = 11451 msec, TE=102msec, TI= 2360msec, FOV= 300 fase 87.5%, matrix size 320 fase 75%, slice thickness=3mm) condotte su piani assiali, Turbo Spin Echo - TSE T2 pesate con soppressione del grasso (*Fat Saturate*) (TR=10400 msec, TE= 105 msec, FOV= 250 fase 84.4 %, matrix size= 384 fase 70%, slice thickness= 3mm) condotte su piani coronali, Gradient Echo - GRE T2* pesate (TR= 3927 msec, TE= 106 msec, FOV 280 fase 75%, matrix size= 256 fase 75%, slice thickness= 4mm) condotte su piani assiali, Spin Echo - SE T1 pesate (TR , TE, TI, FOV, matrix size, slice thickness) condotte su piani sagittali e completato con sequenze EchoPlanar Imaging – EPI (TR=3927 msec, TE=106 msec, FOV= 230 fase 100%, matrix size= 128 fase 100%, slice thickness= 5 mm) pesate in diffusione.

Atrofia L'atrofia corticale è stata valutata, a livello delle strutture medio-temporali, attraverso la misura dell'ampiezza radiale del corno temporale sulle immagini T2 su tagli assiali, secondo un metodo validato (Frisoni et al. 2002a)

Mappe ADC Con un *software* d'analisi d'immagine, le mappe medie ADC sono state calcolate pixel per pixel sulla base dell'equazione di Stejskal e Tanner (*Stejskal and Tanner 1965*). Sono state disegnate regioni d'interesse (ROI) ellittiche di pixel (mm²). Per costruire le mappe ADC, le ROI sono state posizionate come mostrato in figura 19 a livello della NAWM (Stahl et al. 2007).

Figura 19 Regione d'interesse: lobo parietale (a), lobo frontale (b), corpo calloso e sostanza bianca peri-callosale (c), capsula interna (d), lobo occipitale (e), lobo temporale (f).



WMH Le aree iperintense, definite come aree circoscritte di aumento di intensità di segnale a livello della sostanza bianca, sono state valutate utilizzando le immagini ottenute con le sequenze FLAIR. Sono stati esclusi dallo studio i pazienti con evidenza sia di pregresse lesioni ischemico-emorragiche sia di lesione neoplastica. È stata utilizzata una scala che stratifica le lesioni della sostanza bianca in quattro aree (Frisoni et al. 2003):

PVH (periventricular hyperintensities): somma di score ottenuti valutando cappuccio frontale (0-2), cappuccio occipitale (0-2), bande sovraentricolari (0-2) in entrambi i lati;

DWMH (deep white matter hyperintensities): somma di score ottenuti valutando sostanza bianca frontale (0-6), parieto-occipitale (0-6), temporale (0-6) in entrambi i lati;

BGH (basal ganglia hyperintensities): somma di score ottenuti valutando nucleo caudato (0-6), putamen (0-6), globo pallido (0-6), talamo (0-6);

Infratentoriali: somma di score ottenuti valutando cervelletto (0-4) e tronco encefalo (0-4).

È stata scelta questa scala per poter verificare la relazione tra il carico gliotico e la diffusibilità dell'acqua a livello di diverse aree cerebrali. La severità delle lesioni della sostanza bianca è stata anche valutata con la scala di Fazekas, per permettere il confronto con gli studi effettuati in precedenza (Fazekas et al. 1987).

Tabella 4.

Pazienti (n=96)		Risonanza magnetica		
sesto (F; %)	45; 46.9%	<i>Valore ADC media (sd)</i>		
	<i>media (SD)</i>	area	destra	sinistra
età, anni	80.5 (3.6)	lobo frontale	846.7 (96.2)	865.4 (141.1)
Educazione, anni	7.7 (4.6)	lobo parietale	802 (71.1)	803.2 (67.6)
Fattori di rischio vascolare % (n)		anteriori pericallosali	864.4 (113.2)	874.2 (144.6)
fumo	7.2% (7)	posteriori pericallosali	856 (99.1)	869.7 (154)
ipertensione	70.8% (68)	gangli della base	775.0 (69.4)	785.4 (69.2)
iperlipidemia	35.4% (34)	temporale	829.6 (100.3)	865.5 (162.1)
obesità	7.3% (7)	parieto-occipitali	799.5 (73.1)	803.9 (64.7)
diabete	19.8% (19)	corpo calloso anteriore	940.5 (244.6)	
fibrillazione atriale	9.4% (9)	corpo calloso posteriore	838.7 (142.2)	
Valutazione Neuropsicologica		<i>Iperintensità della sostanza bianca media (sd)</i>		
<i>Dominio cognitivo (test)</i>	<i>media (valori normali)</i>	area	destra	sinistra
Memoria (15 parole di Rey)	28.34 ± 7.89 (>28.53)	cappucci frontali	1.1 (0.8)	0.9 (0.9)
Attenzione (Barrage doppio)	88.43 ± 14.09 (95%)	PVH bande ventricolari	0.9 (0.8)	0.9 (0.8)
Prassia (copia di disegno)	6.61 ± 2.28 (>7.18)	cappucci occipitali	1 (1)	1 (1)
Ragiornamento astratto (matrici progressive di Raven)	21.49 ± 7.4 (>18.96)	frontali	2.1 (1.8)	1.9 (1.5)
Linguaggio (fluenza verbale)	14.9 ± 5.6 (>9.5)	DWMH parieto-ccipitali	1.5 (1.5)	1.5 (1.5)
MMSE	20.6 ± 3.6 (>24)	temporali	0.8 (1.1)	0.7 (1.2)
Aterosclerosi Carotidea		nucleo caudato	0.1 (0.4)	0.1 (0.4)
Ultrasuoni	<i>media (sd)</i>	putamen	0.1 (0.4)	0.1 (0.3)
IMT, mm	0.84 (0.1)	BG talamo	0.2 (0.4)	0.1 (0.3)
Indice di placca	1.65 (1)	globo pallido	0.1 (0.3)	0.1 (0.3)
		tronco encefalo	0.05 (0.2)	
		Infra-tentoriale cervelletto	0.04 (0.2)	
		Fazekas scale PVH	1.2 (0.9)	
		DWMH	1.2 (0.86)	
		<i>ampiezza del corno temporale, mm (sd)</i>		
		destra	0.6 (0.2)	
		sinistra	0.5 (0.2)	

Valutazione Neuropsicologica

La batteria di valutazione neuropsicologica ha incluso sia misure di efficienza cognitiva globale, che lo studio di diversi domini cognitivi. La versione italiana del Mini Mental State Examination (MMSE; (Grigoletto et al. 1999) è stata utilizzata come misura globale dello stato cognitivo. La memoria episodica a lungo termine è stata testata con il test di apprendimento uditivo verbale di Rey (Rey Auditory Verbal Learning, RAVL), valutando il richiamo immediato ed a 15 min della lista di 15 parole. La memoria a breve termine e visiva è stata esplorata attraverso i compiti di Digit Span ed il Test di Corsi (Lezak 2004). Le funzioni cognitive fonologiche (Caltagirone et al. 1979) e semantiche (Spinnler and Tognoni 1987) sono state studiate, insieme alla denominazione degli oggetti della vita reale (Miceli et al. 1994). La capacità di risoluzione dei problemi ed il ragionamento astratto sono state valutate tramite il test di Matrici progressive colorate di Raven (PM-47), l'attenzione tramite il compito di Barrage doppio (accuratezza di risposte tra corrette e scorrette) (Feuerstein 1979), e la prassia di costruzione attraverso la copia di alcuni disegni (Lezak 2004). Per ogni test, i punteggi ottenuti ad i compiti neuropsicologici sono stati corretti per età ed educazione, seguendo le norme di validazione per la popolazione Italiana (Spinnler and Tognoni 1987).

51

Ecocolordoppler dei vasi epiaortici

Le arterie del collo sono state valutate tramite l'ecocolordoppler dei vasi epiaortici (sonda 3 - 9 MHz; iU22, Philips Ultrasound) utilizzando dei criteri validati (Grant et al. 2003), come descritto altrove (Altamura et al. 2007). Il grado di stenosi carotidea è stato stabilito tramite dei criteri che considerano le velocità del flusso ematico e le caratteristiche morfologiche. Le immagini migliori sono state digitalizzate per successive valutazioni. Le lesioni steno-occlusive nell'arteria carotide comune distale (CAA), nel bulbo carotideo e nell'arteria carotide interna sono state valutate e definite secondo i criteri validati. Per ogni segmento, lo score di placca è stato definito:

0: nessuna placca;

1: una piccola placca o stenosi inferiore a 30% del diametro del vaso;

2: una placca determinante stenosi tra il 30% e il 50% del diametro del vaso

3: una singola placca che determina stenosi maggiore del 50% del diametro del vaso

L'indice di placca (PI) è stato calcolato sommando gli score delle arterie carotidiche destra e sinistra (Silvestrini et al. 2009).

Le misurazioni dello spessore medio intimale (IMT) sono state eseguite a livello dell'arteria carotide comune circa 1.5 cm prossimalmente alla biforcazione, secondo le linee guida (Touboul et al. 2007). In breve, un'immagine longitudinale delle CCA distale è stata acquisita con i soggetti sdraiati in posizione supina e il capo ruotato di 45 gradi a sinistra o a destra. L'IMT è stato calcolato misurando lo spessore mediointimale maggiore, sulla parete vicina e lontana, nel punto libero di placche, mediante un particolare programma computerizzato. Lo spessore della CCA è stato definito come la media dei maggiori spessori parietali ottenuti dalla parete vicina e lontana su entrambi i lati. È stato poi calcolato il valore di IMT medio, utilizzato per l'analisi statistica.

Analisi Statistica

Un calcolo formale del campione non è stato effettuato poiché questo è uno studio esplorativo sulla possibile correlazione tra le mappe ADC misurate a livello della NAWM di diverse regioni cerebrali, le *performance* a test che valutano i diversi domini cognitivi, ed i *marker* di aterosclerosi sistemica. Abbiamo ipotizzato che la variabilità dei valori di ADC potesse essere correlata alle performance cognitive dopo aver tenuto conto dell'età, il sesso e di altre variabili come i carico di lesioni gliotiche (WMH). Considerato il numero di variabili indipendenti misurate per ogni parametro studiato (mappe ADC, scale di valutazione della leucoaraiosi, atrofia corticale, *marker* di aterosclerosi), per non sottostimare l'effetto di questi fattori sulle *performance* cognitive, sulla base della letteratura, sono state studiate solo le relazioni ipotizzate plausibili dal punto di vista biologico. Questo significa che considerando 11 predittori potenziali per il modello di regressione, $9 \cdot 10 \times 10 = 90 \cdot 100$ casi possono essere raccomandati come ampiezza di campione per un'analisi affidabile. Il nostro campione finale di 96 pazienti risultava appropriato per l'analisi. In ogni caso, anche considerando 11 predittori, 9 casi per predittore possono essere considerati sufficienti per uno studio esplorativo come questo. Poiché lo studio è mirato a verificare se la gravità del declino cognitivo misurato con test di valutazione globale (MMSE) e specifici per i diversi domini cognitivi (variabili dipendenti) sono correlati agli indici radiologici, di atrofia e di diffusione dell'acqua e di aterosclerosi sistemica, il miglior modello utilizzabile è quello della regressione lineare. La regressione semplice è stata utilizzata per valutare prima l'associazione bivariata tra i test ed i predittori potenziali. Un'analisi di regressione multipla è stata quindi applicata per rimuovere l'effetto potenziale delle caratteristiche demografiche e dei fattori di rischio. La correlazione tra le variabili indipendenti (atrofia, valori ADC nelle diverse aree, WMH, IMT, indice di placca) sono state analizzate attraverso test non parametrici (Spearman). Il potenziale effetto dei fattori di rischio vascolare sulle variabili indipendenti è stato valutato tramite il test di Mann-whitney. L'analisi statistica è stata effettuata con SPSS 17.0 (SPSS Inc., Chicago).

Tesi di dottorato in Scienze della neuroplasticità e del recupero neurofunzionale, di Claudia Altamura, discussa presso l'Università Campus Bio-Medico di Roma in data 23/02/2011.

La disseminazione e la riproduzione di questo documento sono consentite per scopi di didattica e ricerca, a condizione che ne venga citata la fonte.

		frontale		peri-call ant		Corpo calloso		peri call post		GB		parietale		temp		parieto-occ	
		ds	sn	ds	sn	ant	post	ds	sn	ds	sn	ds	sn	ds	sn	ds	sn
frontale	ds	-	r.744 p<.001	r.625 p<.001	r.644 p<.001	r.369 p<.001	r.312 p.002	r.464 p<.001	r.526 p<.001	r.332 p.001	r.422 p<.001	r.245 p.017	r.342 p.001	r.079 p.447	r.206 p.046	r.257 p.012	r.308 p.002
	sn	r.744 p<.001	-	r.573 p<.001	r.622 p<.001	r.454 p<.001	r.462 p<.001	r.327 p<.001	r.453 p<.001	r.383 p<.001	r.314 p.002	r.253 p.013	r.393 p<.001	r.112 p.279	r.136 p.190	r.291 p.004	r.275 p.007
peri-call ant	ds	r.625 p<.001	r.573 p<.001	-	r.768 p<.001	r.410 p<.001	r.251 p.014	r.345 p.001	r.432 p<.001	r.306 p.003	r.243 p.009	r.123 p.236	r.191 p.062	r.146 p.158	r.098 p.342	r.42 p<.001	r.307 p.002
	sn	r.644 p<.001	r.622 p<.001	r.768 p<.001	-	r.380 p<.001	r.239 p.019	r.432 p<.001	r.437 p<.001	r.328 p.001	r.321 p.002	r.246 p.016	r.318 p.002	r.211 p.04	r.116 p.264	r.378 p<.001	r.229 p.026
corpo calloso	ant	r.369 p<.001	r.622 p<.001	r.410 p<.001	r.380 p<.001	-	r.481 p<.001	r.324 p.001	r.324 p.001	r.258 p.012	r.304 p.003	r.281 p.006	r.296 p.003	r.199 p.053	r.219 p.039	r.388 p<.001	r.228 p.026
	post	r.312 p.002	r.454 p<.001	r.251 p.014	r.239 p.019	r.481 p<.001	-	r.302 p.003	r.297 p.003	r.158 p.127	r.329 p.001	r.209 p.042	r.299 p.003	r.-035 p.738	r.151 p.145	r.344 p.001	r.163 p.113
peri-call post	ds	r.464 p<.001	r.462 p<.001	r.345 p.001	r.432 p<.001	r.324 p.001	r.302 p.003	-	r.676 p<.001	r.244 p.017	r.264 p.01	r.085 p.414	r.172 p.093	r.223 p.03	r.337 p.001	r.361 p<.001	r.337 p.001
	sn	r.526 p<.001	r.327 p<.001	r.432 p<.001	r.437 p<.001	r.324 p.001	r.297 p.003	r.676 p<.001	-	r.175 p.089	r.225 p.028	r.306 p.003	r.331 p.001	r.175 p.09	r.235 p.022	r.3 p.003	r.246 p.015
GB	ds	r.332 p.001	r.453 p<.001	r.306 p.003	r.328 p.001	r.258 p.012	r.158 p.127	r.244 p.017	r.175 p.089	-	r.687 p<.001	r.206 p.046	r.196 p.059	r.208 p.043	r.210 p.041	r.102 p.324	r.063 p.543
	sn	r.422 p<.001	r.314 p.002	r.243 p.009	r.321 p.002	r.304 p.003	r.329 p.001	r.264 p.01	r.225 p.028	r.656 p<.001	-	r.209 p.042	r.151 p.145	r.252 p.014	r.284 p.005	r.-002 p.986	r.003 p.979
parietale	ds	r.245 p.017	r.253 p.013	r.123 p.236	r.246 p.016	r.281 p.006	r.209 p.042	r.085 p.414	r.306 p.003	r.206 p.046	r.209 p.042	-	r.703 p<.001	r.075 p.474	r.015 p.885	r.093 p.375	r.019 p.859
	sn	r.342 p.001	r.393 p<.001	r.191 p.062	r.318 p.002	r.296 p.003	r.299 p.003	r.172 p.093	r.331 p.001	r.196 p.059	r.151 p.145	r.703 p<.001	-	r.008 p.939	r.-044 p.675	r.219 p.033	r.098 p.344
temp	ds	r.079 p.447	r.112 p.279	r.146 p.158	r.211 p.04	r.199 p.053	r.-035 p.738	r.223 p.031	r.175 p.09	r.208 p.043	r.252 p.014	r.075 p.474	r.008 p.939	-	r.601 p<.001	r.091 p.383	r.202 p.05
	sn	r.206 p.046	r.136 p.190	r.098 p.342	r.116 p.264	r.219 p.039	r.151 p.145	r.337 p.001	r.235 p.022	r.210 p.041	r.284 p.005	r.015 p.885	r.-044 p.675	r.601 p<.001	-	r.166 p.107	r.119 p.249
parieto-occ	ds	r.257 p.012	r.291 p.004	r.42 p<.001	r.378 p<.001	r.388 p<.001	r.344 p.001	r.361 p<.001	r.3 p.003	r.102 p.324	r.-002 p.986	r.093 p.375	r.219 p.033	r.091 p.383	r.166 p.107	-	r.606 p<.001
	sn	r.308 p.002	r.275 p.007	r.307 p.002	r.229 p.026	r.228 p.026	r.163 p.113	r.337 p.001	r.246 p.015	r.063 p.543	r.003 p.979	r.019 p.859	r.098 p.344	r.202 p.05	r.119 p.249	r.606 p<.001	-

Tabella 5 GB = gangli della base; temp = temporale; parietocc = parietoccipitale; peri-call ant/post = aree pericallosali anteriori/posteriori; ds = destro; sn= sinistro. In grassetto sono evidenziate le correlazioni significative

Tabella 6 Relazione tra le misure di WMH, valori ADC ed atrofia (test di Spearman)

			corpo calloso		temporale		atrofia	
			ant	post	ds	sn	ds	Sn
Fazekas DWMH			r .360 p<.001	r . 212 p. 038	NS	NS	NS	r .231 p .024
Fazekas PVH			r .318 p. 002	r . 233 p. 022	NS	NS	NS	r .337 p. 001
PVH	frontale	ds	r .236 p .021	NS	NS	NS	r .267 p. 008	r .364 p < .001
		sn	r .231 p .024	NS	NS	NS	r .219 p. 032	r .371 p < .001
	bande	ds	r .383 p<.001	NS	NS	NS	r .263 p. 01	r .339 p. 001
		sn	r .276 p. 006	NS	NS	NS	r .308 p. 002	r .251 p. 014
	occipitale	ds	r .265 p .009	NS	NS	NS	NS	NS
		sn	r .235 p. 021	NS	NS	NS	NS	r .269 p. 008
DWMH	frontale	ds	r .242 p. 017	NS	NS	NS	NS	r .203 p. 048
		sn	r .245 p. 016	NS	NS	NS	NS	NS
	parietocc	ds	r .203 p. 048	NS	NS	NS	NS	r .213 p. 039
		sn	r .251 p. 013	NS	NS	NS	NS	r .278 p. 006
	temporale	ds	r . 227 p. 026	r . 256 p. 012	NS	NS		r .252 p. 014
		sn	NS	r . 259 p. 011	NS	NS	NS	NS
atrofia	ds	NS	NS	r . 208 p. 043	NS	-	r .511 p<. 001	
	sn	r . 254 p. 013	NS	r . 274 p. 008	NS	r .511 p<. 001	-	

GB = gangli della base; parietocc = parietoccipitale; peri-call ant = aree pericallosali anteriori; ds = destro; sn= sinistro; NS = non significativo.

Le relazioni significative sono evidenziate in grassetto.

RISULTATI

La tabella 4 riassume i valori dei punteggi ottenuti dai soggetti ai test neuropsicologici, le misure di aterosclerosi e di imaging cerebrale. I fattori di rischio vascolare non hanno presentato nessuna relazione con tutti gli altri parametri esaminati. L'IMT e l'indice di placca non risultavano correlati con alcuno degli indici esaminati. Il test di Spearman ha evidenziato una correlazione tra diversi indici di imaging cerebrale. In particolare, i valori di ADC misurati nelle varie aree sono risultati altamente correlati. La tabella 5 riassume queste relazioni. Attraverso il test di Spearman sono state inoltre individuate delle relazioni tra gli indici di carico glicotico a livello cerebrale ed i valori ADC. Queste relazioni sono riassunte in tabella 6. Va notata in particolare la relazione tra il valore delle mappe ADC a livello del corpo calloso anteriore e di molti indici di WMH, e di questi ultimi con il grado di atrofia. I vari punteggi ottenuti nella valutazione delle WMH sono risultati altamente correlati tra loro ma non riportiamo i risultati, per semplicità e poiché sono al di là dell'obiettivo dello studio. In un secondo livello di analisi abbiamo valutato, attraverso il modello di regressione lineare, quali indici radiologici per una data area anatomica risultavano essere predittori delle performances ottenute ad i test cognitivi. Riassumendo, le funzioni mensiche sono risultate prevalentemente correlate con il grado di atrofia ($p = .003$). Le prove attentive sono risultate associate primariamente con le aree parieto-occipitali sinistre ($p = .001$) e poi con il grado di atrofia ($p = .001$) e le aree pericallosali posteriori sinistre ($p = .014$). Le variabili predittive per il linguaggio sono risultate il corpo calloso posteriore e le aree temporali sinistra (rispettivamente $p = .021$, e $p = .022$). La prassia è sembrata essere influenzata dalle aree pericallosali posteriori ($p = .002$), e dal corpo calloso posteriore ($p = .012$). Le aree parietali sinistre ($p = .002$) e l'indice di leucoaraiosi periventricolare frontale sinistro ($p = .003$) sono risultate predittori per le prove di ragionamento astratto. Infine, il MMSE è associato a diverse aree: parietale sin ($p < .001$), periventricolare frontale sin ($p = .002$), frontale ds ($p = .001$), parieto-occipitale ds ($p = .021$), parietale ds ($p = .029$).

55

Di seguito ne riportiamo i risultati in dettaglio:

Memoria (test delle 15 parole di Rey)

Modello	Coefficienti non standardizzati		Coefficienti standardizzati	t	Sig.
	B	Deviazione standard Errore	β		
(Costante)	34,012	1,945		17,492	,000
atrofia sn	-10,607	3,520	-,316	-3,013	,003

Attenzione (Barrage doppio, risposte corrette)

Modello	Coefficienti non standardizzati		Coefficienti standardizzati	t	Sig.	
	B	Deviazione standard Errore	Beta			
1	(Costante)	32,814	9,411		3,487	,001
	area parieto-occipitale sn	-,031	,012	-,407	-2,599	,014
2	(Costante)	42,896	8,634		4,968	,000
	area parieto-occipitale sn	-,038	,010	-,510	-3,679	,001
	atrofia sn	-8,345	2,371	-,488	-3,520	,001
3	(Costante)	25,664	10,357		2,478	,019
	area parieto-occipitale sn	-,045	,010	-,600	-4,527	,000
	atrofia sn	-8,577	2,189	-,502	-3,918	,000
	aree pericallosali posteriori ds	,027	,010	,337	2,603	,014

Linguaggio (fluenza verbale semantica)

Modello	Coefficienti non standardizzati		Coefficienti standardizzati	t	Sig.	
	B	Deviazione standard Errore	Beta			
1	(Costante)	3,626	5,501		,659	,512
	corpo calloso posteriore	,014	,007	,243	2,077	,042
2	(Costante)	23,712	10,120		2,343	,022
	corpo calloso posteriore	,015	,006	,269	2,364	,021
	temporale sn	-,025	,011	-,266	-2,335	,022

56

Prassia (copia di disegni)

Modello	Coefficienti non standardizzati		Coefficienti standardizzati	t	Sig.	
	B	Deviazione standard Errore	β			
1	(Costante)	16,626	2,539		6,549	,000
	aree pericallosali posteriori ds	-,012	,003	-,422	-3,975	,000
2	(Costante)	19,201	2,645		7,258	,000
	aree pericallosali posteriori ds	-,009	,003	-,340	-3,167	,002
	corpo calloso posteriore	-,005	,002	-,275	-2,563	,012

Ragionamento astratto (matrici progressive di Raven)

Modello	Coefficienti non standardizzati		Coefficienti standardizzati	t	Sig.	
	B	Deviazione standard Errore	Beta			
1	(Costante)	50,370		5,616	,000	
	parietale sn	-,036	,011	-,340	-,3256	,002
2	(Costante)	51,282	8,546	6,001	,000	
	parietale sn	-,035	,011	-,325	-,3260	,002
	PVH frontale sn	-2,536	,831	-,304	-3,052	,003

Misura globale di decadimento cognitivo (MMSE)

Modello	Coefficienti non standardizzati		Coefficienti standardizzati	t	Sig.	
	B	Deviazione standard Errore	Beta			
1	(Costante)	36,439	4,306	8,462	,000	
	parietale sn	-,020	,005	-,367	-3,685	,000
2	(Costante)	36,328	4,158	8,736	,000	
	parietale sin	-,018	,005	-,342	-3,533	,001
	PVH frontale sn	-1,089	,403	-,262	-2,703	,008
3	(Costante)	30,132	4,463	6,752	,000	
	parietale sin	-,022	,005	-,410	-4,314	,000
	PVH frontale sn	-1,191	,386	-,286	-3,085	,003
	frontale ds	,011	,004	,290	3,046	,003
4	(Costante)	37,578	5,425	6,926	,000	
	parietale sin	-,020	,005	-,367	-3,877	,000
	PVH frontale sn	-1,222	,377	-,294	-3,243	,002
	frontale ds	,012	,004	,306	3,288	,001
5	parieto-occipitale ds	-,012	,005	-,212	-2,301	,024
	(Costante)	35,374	5,394		6,558	,000
	parietale sin	-,032	,007	-,588	-4,330	,000
	PVH frontale sn	-1,192	,369	-,286	-3,234	,002
	frontale ds	,011	,003	,300	3,295	,001
	parieto-occipitale ds	-,012	,005	-,212	-2,354	,021
	parietale ds	,015	,007	,296	2,224	,029

DISCUSSIONE

La relazione tra demenza ed aterosclerosi è ancora un mosaico a cui mancano alcune tessere. Studi precedenti hanno descritto che diversi marcatori di aterosclerosi (IMT, WMH) sono associati al deterioramento cognitivo anche in pazienti con AD tipico (Frisoni et al. 2010, de la Torre 2010). Il nostro studio mostra che i valori regionali di diffusibilità dell'acqua (ADC) sono correlati con le *performance* ottenute da pazienti affetti da AD a test neuropsicologici che esplorano i diversi domini cognitivi. Inoltre i valori ADC in diverse aree, ed in particolare a livello del lobo parietale, sono correlati con i punteggi ottenuti al MMSE, un test generale di valutazione cognitiva.

La diffusività, misurata tramite l'ADC, è influenzata da componenti strutturali (organelli intracellulari e macromolecole), barriere (membrane cellulari) e proprietà fisiche (viscosità e temperatura) del tessuto. In particolare, nell'AD essa potrebbe essere influenzata da depositi di amiloide, degenerazione neuritica e da destabilizzazione del citoscheletro. I cambiamenti della sostanza bianca riportati concordano con i dati istopatologici che mostrano una perdita parziale della mielina, degli assoni, degli oligodendrociti con una gliosi reattiva nella sostanza bianca e sono consistenti con i risultati di precedenti studi. Allo stesso modo studi precedenti hanno dimostrato una relazione della diffusibilità dell'acqua anche con l'emodinamica cerebrale (Conklin et al. 2010) e con il carico gliotico (Schmidt et al. 2010), suggerendo che le mappe ADC potrebbero essere utilizzate anche come indice precoce di danno aterosclerotico nei soggetti con demenza vascolare. Il nostro studio ha avuto l'obiettivo di valutare se l'ADC possa essere un indice in grado di riflettere sia il danno neurodegenerativo che aterosclerotico, e quindi rappresentare uno strumento diagnostico per quella percentuale di pazienti dementi (probabilmente la maggior parte) con patologia mista. Nell'insieme i nostri pazienti presentavano un deterioramento cognitivo di grado lieve-moderato, anche se con ampia variabilità tra soggetti, e disomogeneo, con un'iniziale atrofia corticale (Frisoni et al. 2002a). Allo stesso modo, presentavano un carico gliotico cerebrale ed aterosclerosi sistemica lieve (tabella 4).

L'inter-relazione tra gli indici radiologici analizzati nel nostro studio è complessa. I valori ADC misurati nelle diverse aree cerebrali risultano altamente correlati tra loro. Lo stesso accade per i punteggi alle scale di valutazione delle WMH. L'analisi di una loro possibile inter-relazione mette in evidenza come solo l'ADC rilevata a livello del corpo calloso sia associata alla maggior parte degli score di WMH. Al contrario, i punteggi regionali di WMH non sono risultati associati ad i valori regionali di ADC, suggerendo che il danno vascolare non sembra influenzare in modo rilevante la diffusibilità dell'acqua a livello della sostanza bianca apparentemente sana. I valori di ADC potrebbero essere influenzati dalla densità di popolazione neuronale, cioè riflettere un'atrofia corticale in uno stadio preclinico. Nella nostra popolazione di pazienti, l'atrofia corticale, misurata come ampiezza del corno

temporale, risultava correlata solo con i valori di ADC misurati a livello temporale e, di nuovo, a livello del corpo calloso anteriore. Il corpo calloso è la principale struttura coinvolta nella comunicazione cortico-corticale inter-emisferica ed è critico in diverse funzioni cognitive. Le fibre del corpo calloso originano prevalentemente dai grandi neuroni piramidali nello strato corticale III e V. Queste stesse popolazioni neuronali sono selettivamente coinvolte nella malattia di Alzheimer. In supporto a questa relazione, diversi studi RM hanno riportato un'alterazione microstrutturale del corpo calloso, misurata tramite l'anisotropia frazionaria derivata dal *diffusion tensor imaging* nei pazienti con AD (Lee et al. 2010, Di Paola et al. 2010). Si è anche ipotizzato che i processi vascolari danneggino l'integrità del corpo calloso nei pazienti sani, in MCI e in AD. Il danno vascolare della sostanza bianca sottocorticale, espresso dalle WMH, è frequente negli anziani, l'MCI e l'AD così come nella malattia cerebrovascolare. Tale danno della sostanza bianca potrebbe anche alterare l'integrità del corpo calloso tramite un danno diretto alle fibre assonali sotto-corticali.

È interessante notare invece come, l'atrofia misurata a livello del corno temporale sia associata ad un danno vascolare, soprattutto a livello delle aree anteriori (tabella 6). Questo risultato supporta l'ipotesi che il danno degenerativo sia favorito dal carico aterosclerotico. Valutando la relazione tra gli indici radiologici e le *performance* cognitive, si evidenzia come l'atrofia sia il maggior predittore dei punteggi ottenuti al solo test di Rey, una stima di memoria. Questi dati suggeriscono che questa misura di atrofia potrebbe avere il limite di rappresentare la disfunzione neuronale principalmente a carico delle aree anteriori. Va tuttavia preso in considerazione che nei nostri pazienti anche il danno vascolare era prevalentemente frontale (tabella 4). Questo dato è in accordo con un recente studio autoptico su pazienti con AD (Polvikoski et al. 2010) che ha dimostrato un'associazione tra il carico di patologia neurofibrillare e le PVH and DWMH frontali, come surrogato di patologia dei piccoli vasi.

59

Per gli altri domini cognitivi, anche quando l'atrofia sembra giocare un ruolo (attenzione), i valori di ADC sembrano essere dei predittori più accurati. Le abilità attentive, misurate attraverso l'accuratezza del barrage doppio, non sono risultate correlate ad alcun indice radiologico. Tuttavia, se si considerano solo le risposte corrette, si dimostra un'associazione con l'ADC a livello delle aree parieto-occipitali e le aree pericallosali posteriori. È possibile inoltre, che i punteggi ottenuti ad altri test attentivi, con una componente visiva meno rilevante, possano essere maggiormente correlati a queste misure. È interessante notare che il MMSE risulta essere maggiormente correlato ai valori diffusibilità dell'acqua a livello delle aree parietali rispetto all'atrofia. Questo dato è in linea con studi precedenti nell'AD che evidenziano un carico patologico importante a carico delle aree parietali.

La disomogeneità della popolazione esaminata può rappresentare un limite di questo studio, rendendo i nostri dati non immediatamente applicabili a pazienti affetti da altri tipi di demenza. Tuttavia studi precedenti effettuati su pazienti affetti da AD avevano riportato risultati simili (Stahl et al. 2007, Bozzali et al. 2001, Kantarci et al. 2001, Hanyu et al. 1999, Fellgiebel et al. 2004).

Nell'AD, la sostanza bianca sembra essere coinvolta in tutti gli stadi di malattia (Roher et al. 2002). Studi precedenti hanno mostrato che la diffusività dell'acqua misurata a livello dell'ippocampo può predire la conversione dei soggetti con MCI ad AD (Kantarci et al. 2005). Poiché i valori di ADC sembrano essere influenzati sia dal danno degenerativo che vascolare, soprattutto a livello del corpo calloso, questa misura potrebbe rappresentare anche un marker precoce di demenza. Studi longitudinali sono necessari per verificare questa ipotesi. La semplicità della misurazione, inoltre, risulta più vantaggiosa rispetto alle analisi morfo-volumetriche, permettendone probabilmente una più rapida diffusione clinica. Infine, poiché la misurazione della diffusibilità dell'acqua sembra riflettere il deterioramento nei diversi domini cognitivi, questa tecnica potrebbe rappresentare un utile mezzo diagnostico per la diagnosi differenziale tra diverse tipologie di demenza degenerativa.

Bibliografia

- Altamura, C., R. Squitti, P. Pasqualetti, F. Tibuzzi, M. Silvestrini, M. C. Ventriglia, E. Cassetta, P. M. Rossini & F. Vernieri (2007) What is the relationship among atherosclerosis markers, apolipoprotein E polymorphism and dementia? *Eur J Neurol*, 14, 679-82.
- Awad, I. A., P. C. Johnson, R. F. Spetzler & J. A. Hodak (1986) Incidental subcortical lesions identified on magnetic resonance imaging in the elderly. II. Postmortem pathological correlations. *Stroke*, 17, 1090-7.
- Bakker, S. L., F. E. de Leeuw, J. C. de Groot, A. Hofman, P. J. Koudstaal & M. M. Breteler (1999) Cerebral vasomotor reactivity and cerebral white matter lesions in the elderly. *Neurology*, 52, 578-83.
- Beaglehole R. 2003. The World Health Report 2003 - Shaping the Future., eds. Irwin A & P. T. Geneva, Switzerland: World Health Organization.
- Bisogno, T. & V. Di Marzo (2008) The role of the endocannabinoid system in Alzheimer's disease: facts and hypotheses. *Curr Pharm Des*, 14, 2299-3305.
- Bornstein, R. A., R. C. Starling, P. D. Myerowitz & G. J. Haas (1995) Neuropsychological function in patients with end-stage heart failure before and after cardiac transplantation. *Acta Neurol Scand*, 91, 260-5.
- Bozzali, M., M. Franceschi, A. Falini, S. Pontesilli, M. Cercignani, G. Magnani, G. Scotti, G. Comi & M. Filippi (2001) Quantification of tissue damage in AD using diffusion tensor and magnetization transfer MRI. *Neurology*, 57, 1135-7.
- Caltagirone, C., G. Gainotti, C. Masullo & G. Miceli (1979) Validity of some neuropsychological tests in the assessment of mental deterioration. *Acta Psychiatr Scand*, 60, 50-6.
- Carlesimo, G. A., A. Cherubini, C. Caltagirone & G. Spalletta (2010) Hippocampal mean diffusivity and memory in healthy elderly individuals: a cross-sectional study. *Neurology*, 74, 194-200.
- Chow, N., R. D. Bell, R. Deane, J. W. Streb, J. Chen, A. Brooks, W. Van Nostrand, J. M. Miano & B. V. Zlokovic (2007) Serum response factor and myocardin mediate arterial hypercontractility and cerebral blood flow dysregulation in Alzheimer's phenotype. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 104, 823-8.
- Conklin, J., J. Fierstra, A. P. Crawley, J. S. Han, J. Poublanc, D. M. Mandell, F. L. Silver, M. Tymianski, J. A. Fisher & D. J. Mikulis (2010) Impaired cerebrovascular reactivity with steal phenomenon is associated with increased diffusion in white matter of patients with Moyamoya disease. *Stroke*, 41, 1610-6.
- de Groot, J. C., F. E. de Leeuw, M. Oudkerk, J. van Gijn, A. Hofman, J. Jolles & M. M. Breteler (2000) Cerebral white matter lesions and cognitive function: the Rotterdam Scan Study. *Ann Neurol*, 47, 145-51.
- de la Torre, J. C. (2004) Is Alzheimer's disease a neurodegenerative or a vascular disorder? Data, dogma, and dialectics. *Lancet Neurol*, 3, 184-90.
- (2008) Alzheimer's disease prevalence can be lowered with non-invasive testing. *J Alzheimers Dis*, 14, 353-9.
- (2010) The vascular hypothesis of Alzheimer's disease: bench to bedside and beyond. *Neurodegener Dis*, 7, 116-21.

- Debette, S., A. Beiser, C. DeCarli, R. Au, J. J. Himali, M. Kelly-Hayes, J. R. Romero, C. S. Kase, P. A. Wolf & S. Seshadri (2010) Association of MRI markers of vascular brain injury with incident stroke, mild cognitive impairment, dementia, and mortality: the Framingham Offspring Study. *Stroke*, 41, 600-6.
- Dede, D. S., B. Yavuz, B. B. Yavuz, M. Cankurtaran, M. Halil, Z. Ulger, E. S. Cankurtaran, K. Aytemir, G. Kabakci & S. Ariogul (2007) Assessment of endothelial function in Alzheimer's disease: is Alzheimer's disease a vascular disease? *J Am Geriatr Soc*, 55, 1613-7.
- Delano-Wood, L., N. Abeles, J. M. Sacco, C. E. Wierenga, N. R. Horne & A. Bozoki (2008) Regional white matter pathology in mild cognitive impairment: differential influence of lesion type on neuropsychological functioning. *Stroke*, 39, 794-9.
- Della Nave, R., S. Foresti, A. Pratesi, A. Ginestroni, M. Inzitari, E. Salvadori, M. Giannelli, S. Diciotti, D. Inzitari & M. Mascalchi (2007) Whole-brain histogram and voxel-based analyses of diffusion tensor imaging in patients with leukoaraiosis: correlation with motor and cognitive impairment. *AJNR Am J Neuroradiol*, 28, 1313-9.
- Deschaintre, Y., F. Richard, D. Leys & F. Pasquier (2009) Treatment of vascular risk factors is associated with slower decline in Alzheimer disease. *Neurology*, 73, 674-80.
- Di Paola, M., F. Di Iulio, A. Cherubini, C. Blundo, A. R. Casini, G. Sancesario, D. Passafiume, C. Caltagirone & G. Spalletta (2010) When, where, and how the corpus callosum changes in MCI and AD: a multimodal MRI study. *Neurology*, 74, 1136-42.
- Dickerson, B. C. & R. A. Sperling (2009) Large-scale functional brain network abnormalities in Alzheimer's disease: insights from functional neuroimaging. *Behav Neurol*, 21, 63-75.
- Dickstein, D. L., J. Walsh, H. Brautigam, S. D. Stockton, S. Gandy & P. R. Hof (2010) Role of vascular risk factors and vascular dysfunction in Alzheimer's disease. *Mt Sinai J Med*, 77, 82-102.
- Dubois, B., H. H. Feldman, C. Jacova, J. L. Cummings, S. T. Dekosky, P. Barberger-Gateau, A. Delacourte, G. Frisoni, N. C. Fox, D. Galasko, S. Gauthier, H. Hampel, G. A. Jicha, K. Meguro, J. O'Brien, F. Pasquier, P. Robert, M. Rossor, S. Salloway, M. Sarazin, L. C. de Souza, Y. Stern, P. J. Visser & P. Scheltens (2010) Revising the definition of Alzheimer's disease: a new lexicon. *Lancet Neurol*, 9, 1118-27.
- Ebrahim, S., O. Papacosta, P. Whincup, G. Wannamethee, M. Walker, A. N. Nicolaides, S. Dhanjil, M. Griffin, G. Belcaro, A. Rumley & G. D. Lowe (1999) Carotid plaque, intima media thickness, cardiovascular risk factors, and prevalent cardiovascular disease in men and women: the British Regional Heart Study. *Stroke*, 30, 841-50.
- Elosua, R., J. M. Ordovas, L. A. Cupples, C. S. Fox, J. F. Polak, P. A. Wolf, R. A. D'Agostino & C. J. O'Donnell (2004) Association of APOE genotype with carotid atherosclerosis in men and women: the Framingham Heart Study. *J Lipid Res*, 45, 1868-75.
- Esiri, M. M., Z. Nagy, M. Z. Smith, L. Barnettson & A. D. Smith (1999) Cerebrovascular disease and threshold for dementia in the early stages of Alzheimer's disease. *Lancet*, 354, 919-20.
- Faraci, F. M. (2006) Reactive oxygen species: influence on cerebral vascular tone. *J Appl Physiol*, 100, 739-43.
- Fazekas, F., J. B. Chawluk, A. Alavi, H. I. Hurtig & R. A. Zimmerman (1987) MR signal abnormalities at 1.5 T in Alzheimer's dementia and normal aging. *AJR Am J Roentgenol*, 149, 351-6.

- Fellgiebel, A., P. Wille, M. J. Müller, G. Winterer, A. Scheurich, G. Vucurevic, L. G. Schmidt & P. Stoeter (2004) Ultrastructural hippocampal and white matter alterations in mild cognitive impairment: a diffusion tensor imaging study. *Dement Geriatr Cogn Disord*, 18, 101-8.
- Feuerstein, R. 1979. The Dynamic Assessment of Retarded Performers. The Learning Potential Assessment Device. Theory, Instruments and Techniques. Baltimore: University Park Press.
- FISHER, M. (1951) Senile dementia- a new explanation of its causation. *Can Med Assoc J*, 65, 1-7.
- Frisoni, G. B., N. C. Fox, C. R. Jack, P. Scheltens & P. M. Thompson (2010) The clinical use of structural MRI in Alzheimer disease. *Nat Rev Neurol*, 6, 67-77.
- Frisoni, G. B., S. Galluzzi, L. Pantoni & M. Filippi (2007) The effect of white matter lesions on cognition in the elderly--small but detectable. *Nat Clin Pract Neurol*, 3, 620-7.
- Frisoni, G. B., C. Geroldi, A. Beltramello, A. Bianchetti, G. Binetti, G. Bordiga, C. DeCarli, M. P. Laakso, H. Soininen, C. Testa, O. Zanetti & M. Trabucchi (2002a) Radial width of the temporal horn: a sensitive measure in Alzheimer disease. *AJNR Am J Neuroradiol*, 23, 35-47.
- Frisoni, G. B., R. Rossi & A. Beltramello (2002b) The radial width of the temporal horn in mild cognitive impairment. *J Neuroimaging*, 12, 351-4.
- Frisoni, G. B., P. Scheltens, S. Galluzzi, F. M. Nobili, N. C. Fox, P. H. Robert, H. Soininen, L. O. Wahlund, G. Waldemar & E. Salmon (2003) Neuroimaging tools to rate regional atrophy, subcortical cerebrovascular disease, and regional cerebral blood flow and metabolism: consensus paper of the EADC. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 74, 1371-81.
- Fu, J. H., C. Z. Lu, Z. Hong, Q. Dong, D. Ding & K. S. Wong (2006) Relationship between cerebral vasomotor reactivity and white matter lesions in elderly subjects without large artery occlusive disease. *J Neuroimaging*, 16, 120-5.
- Godin, O., C. Tzourio, P. Maillard, A. Alperovitch, B. Mazoyer & C. Dufouil (2009) Apolipoprotein E genotype is related to progression of white matter lesion load. *Stroke*, 40, 3186-90.
- Gorgone, G., F. Ursini, C. Altamura, F. Bressi, M. Tombini, G. Curcio, P. Chiovenda, R. Squitti, M. Silvestrini, R. Ientile, F. Pisani, P. M. Rossini & F. Vernieri (2009) Hyperhomocysteinemia, intima-media thickness and C677T MTHFR gene polymorphism: a correlation study in patients with cognitive impairment. *Atherosclerosis*, 206, 309-13.
- Grant, E. G., C. B. Benson, G. L. Moneta, A. V. Alexandrov, J. D. Baker, E. I. Bluth, B. A. Carroll, M. Eliasziw, J. Gocke, B. S. Hertzberg, S. Katanick, L. Needleman, J. Pellerito, J. F. Polak, K. S. Rholl, D. L. Wooster & R. E. Zierler (2003) Carotid artery stenosis: gray-scale and Doppler US diagnosis--Society of Radiologists in Ultrasound Consensus Conference. *Radiology*, 229, 340-6.
- Grigoletto, F., G. Zappalà, D. W. Anderson & B. D. Lebowitz (1999) Norms for the Mini-Mental State Examination in a healthy population. *Neurology*, 53, 315-20.
- Gruhn, N., F. S. Larsen, S. Boesgaard, G. M. Knudsen, S. A. Mortensen, G. Thomsen & J. Aldershvile (2001) Cerebral blood flow in patients with chronic heart failure before and after heart transplantation. *Stroke*, 32, 2530-3.
- Gurol, M. E., M. C. Irizarry, E. E. Smith, S. Raju, R. Diaz-Arrastia, T. Bottiglieri, J. Rosand, J. H. Growdon & S. M. Greenberg (2006) Plasma beta-amyloid and white matter lesions in AD, MCI, and cerebral amyloid angiopathy. *Neurology*, 66, 23-9.

- Hanyu, H., T. Asano, H. Sakurai, Y. Imon, T. Iwamoto, M. Takasaki, H. Shindo & K. Abe (1999) Diffusion-weighted and magnetization transfer imaging of the corpus callosum in Alzheimer's disease. *J Neurol Sci*, 167, 37-44.
- Hofman, A., A. Ott, M. M. Breteler, M. L. Bots, A. J. Slooter, F. van Harskamp, C. N. van Duijn, C. Van Broeckhoven & D. E. Grobbee (1997) Atherosclerosis, apolipoprotein E, and prevalence of dementia and Alzheimer's disease in the Rotterdam Study. *Lancet*, 349, 151-4.
- Honig, L. S., W. Kukull & R. Mayeux (2005) Atherosclerosis and AD: analysis of data from the US National Alzheimer's Coordinating Center. *Neurology*, 64, 494-500.
- Iadecola, C. (2004) Neurovascular regulation in the normal brain and in Alzheimer's disease. *Nat Rev Neurosci*, 5, 347-60.
- (2010) The overlap between neurodegenerative and vascular factors in the pathogenesis of dementia. *Acta Neuropathol*, 120, 287-96.
- Iadecola, C. & P. B. Gorelick (2003) Converging pathogenic mechanisms in vascular and neurodegenerative dementia. *Stroke*, 34, 335-7.
- Iadecola, C., F. Zhang, K. Niwa, C. Eckman, S. K. Turner, E. Fischer, S. Younkin, D. R. Borchelt, K. K. Hsiao & G. A. Carlson (1999) SOD1 rescues cerebral endothelial dysfunction in mice overexpressing amyloid precursor protein. *Nat Neurosci*, 2, 157-61.
- Jellinger, K. A. (2008) Morphologic diagnosis of "vascular dementia" - a critical update. *J Neurol Sci*, 270, 1-12.
- Jellinger, K. A. & J. Attems (2010) Prevalence of dementia disorders in the oldest-old: an autopsy study. *Acta Neuropathol*, 119, 421-33.
- Jendroska, K., W. Poewe, S. E. Daniel, J. Pluess, H. Iwerssen-Schmidt, J. Paulsen, S. Barthel, L. Schelosky, J. Cervós-Navarro & S. J. DeArmond (1995) Ischemic stress induces deposition of amyloid beta immunoreactivity in human brain. *Acta Neuropathol*, 90, 461-6.
- Johnston, S. C., E. S. O'Meara, T. A. Manolio, D. Lefkowitz, D. H. O'Leary, S. Goldstein, M. C. Carlson, L. P. Fried & W. T. Longstreth (2004) Cognitive impairment and decline are associated with carotid artery disease in patients without clinically evident cerebrovascular disease. *Ann Intern Med*, 140, 237-47.
- Jones, D. K., D. Lythgoe, M. A. Horsfield, A. Simmons, S. C. Williams & H. S. Markus (1999) Characterization of white matter damage in ischemic leukoaraiosis with diffusion tensor MRI. *Stroke*, 30, 393-7.
- Jones, R. W., M. Kivipelto, H. Feldman, L. Sparks, R. Doody, D. D. Waters, J. Hey-Hadavi, A. Breazna, R. J. Schindler, H. Ramos & L. investigators (2008) The Atorvastatin/Donepezil in Alzheimer's Disease Study (LEADe): design and baseline characteristics. *Alzheimers Dement*, 4, 145-53.
- Kalaria, R. N. (1992) The blood-brain barrier and cerebral microcirculation in Alzheimer disease. *Cerebrovasc Brain Metab Rev*, 4, 226-60.
- Kamath, A. F., A. K. Chauhan, J. Kisucka, V. S. Dole, J. Loscalzo, D. E. Handy & D. D. Wagner (2006) Elevated levels of homocysteine compromise blood-brain barrier integrity in mice. *Blood*, 107, 591-3.

- Kantarci, K., C. R. Jack, Y. C. Xu, N. G. Campeau, P. C. O'Brien, G. E. Smith, R. J. Ivnik, B. F. Boeve, E. Kokmen, E. G. Tangalos & R. C. Petersen (2001) Mild cognitive impairment and Alzheimer disease: regional diffusivity of water. *Radiology*, 219, 101-7.
- Kantarci, K., R. C. Petersen, B. F. Boeve, D. S. Knopman, S. D. Weigand, P. C. O'Brien, M. M. Shiung, G. E. Smith, R. J. Ivnik, E. G. Tangalos & C. R. Jack (2005) DWI predicts future progression to Alzheimer disease in amnesic mild cognitive impairment. *Neurology*, 64, 902-4.
- Knopman, D. S. & R. Roberts (2010) Vascular risk factors: imaging and neuropathologic correlates. *J Alzheimers Dis*, 20, 699-709.
- Koppel, J. & P. Davies (2008) Targeting the endocannabinoid system in Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*, 15, 495-504.
- Kosunen, O., S. Talasniemi, M. Lehtovirta, O. Heinonen, S. Helisalmi, A. Mannermaa, L. Paljärvi, M. Ryyänen, P. J. Riekkinen & H. Soininen (1995) Relation of coronary atherosclerosis and apolipoprotein E genotypes in Alzheimer patients. *Stroke*, 26, 743-8.
- Launer, L. J., G. W. Ross, H. Petrovitch, K. Masaki, D. Foley, L. R. White & R. J. Havlik (2000) Midlife blood pressure and dementia: the Honolulu-Asia aging study. *Neurobiol Aging*, 21, 49-55.
- Lee, D. Y., E. Fletcher, O. Martinez, N. Zozulya, J. Kim, J. Tran, M. Buonocore, O. Carmichael & C. DeCarli (2010) Vascular and degenerative processes differentially affect regional interhemispheric connections in normal aging, mild cognitive impairment, and Alzheimer disease. *Stroke*, 41, 1791-7.
- Lezak, M. 2004. Neuropsychological assessment. Oxford Oxford University Press.
- Li, L., X. Zhang, D. Yang, G. Luo, S. Chen & W. Le (2009) Hypoxia increases Abeta generation by altering beta- and gamma-cleavage of APP. *Neurobiol Aging*, 30, 1091-8.
- Marlatt, M. W., P. J. Lucassen, G. Perry, M. A. Smith & X. Zhu (2008) Alzheimer's disease: cerebrovascular dysfunction, oxidative stress, and advanced clinical therapies. *J Alzheimers Dis*, 15, 199-210.
- Marshall, R. 2004–2012. Study of Carotid Occlusion and Neurocognition. Bethesda, MD National Institute of Neurological Disorders and Stroke.
- Marshall, R. S. & R. M. Lazar (2011) Pumps, aqueducts, and drought management: vascular physiology in vascular cognitive impairment. *Stroke*, 42, 221-6.
- Massaro, A. R., A. P. Dutra, D. R. Almeida, R. V. Diniz & S. M. Malheiros (2006) Transcranial Doppler assessment of cerebral blood flow: effect of cardiac transplantation. *Neurology*, 66, 124-6.
- McKhann, G., D. Drachman, M. Folstein, R. Katzman, D. Price & E. M. Stadlan (1984) 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*, 34, 939-44.
- Miceli, G., A. Laudanna, C. Burani & R. Capasso. 1994. Batteria per l'Analisi dei Deficit Afasici (B.A.D.A.). Roma: CEPSAG, Università Cattolica del Sacro Cuore.
- Mielke, M. M., P. B. Rosenberg, J. Tschanz, L. Cook, C. Corcoran, K. M. Hayden, M. Norton, P. V. Rabins, R. C. Green, K. A. Welsh-Bohmer, J. C. Breitner, R. Munger & C. G. Lyketsos (2007) Vascular factors predict rate of progression in Alzheimer disease. *Neurology*, 69, 1850-8.

- Milton, N. G. (2002) Anandamide and noladin ether prevent neurotoxicity of the human amyloid-beta peptide. *Neurosci Lett*, 332, 127-30.
- Moseley, M., R. Bammer & J. Illes (2002) Diffusion-tensor imaging of cognitive performance. *Brain Cogn*, 50, 396-413.
- Moulakakis, K. G., S. N. Mylonas, G. S. Sfyroeras & V. Andrikopoulos (2009) Hyperperfusion syndrome after carotid revascularization. *J Vasc Surg*, 49, 1060-8.
- Muller, M., D. E. Grobbee, A. Aleman, M. Bots & Y. T. van der Schouw (2007) Cardiovascular disease and cognitive performance in middle-aged and elderly men. *Atherosclerosis*, 190, 143-9.
- Nitkunan, A., T. R. Barrick, R. A. Charlton, C. A. Clark & H. S. Markus (2008) Multimodal MRI in cerebral small vessel disease: its relationship with cognition and sensitivity to change over time. *Stroke*, 39, 1999-2005.
- Niwa, K., K. Kazama, L. Younkin, S. G. Younkin, G. A. Carlson & C. Iadecola (2002) Cerebrovascular autoregulation is profoundly impaired in mice overexpressing amyloid precursor protein. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 283, H315-23.
- Núñez, E., C. Benito, R. M. Tolón, C. J. Hillard, W. S. Griffin & J. Romero (2008) Glial expression of cannabinoid CB(2) receptors and fatty acid amide hydrolase are beta amyloid-linked events in Down's syndrome. *Neuroscience*, 151, 104-10.
- O'Leary, D. H., J. F. Polak, R. A. Kronmal, T. A. Manolio, G. L. Burke & S. K. Wolfson (1999) Carotid-artery intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke in older adults. Cardiovascular Health Study Collaborative Research Group. *N Engl J Med*, 340, 14-22.
- O'Sullivan, M., D. K. Jones, P. E. Summers, R. G. Morris, S. C. Williams & H. S. Markus (2001) Evidence for cortical "disconnection" as a mechanism of age-related cognitive decline. *Neurology*, 57, 632-8.
- O'Sullivan, M., R. G. Morris, B. Huckstep, D. K. Jones, S. C. Williams & H. S. Markus (2004) Diffusion tensor MRI correlates with executive dysfunction in patients with ischaemic leukoaraiosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 75, 441-7.
- Pantoni, L. & J. H. Garcia (1997) Pathogenesis of leukoaraiosis: a review. *Stroke*, 28, 652-9.
- Paternoster, L., N. A. Martinez-Gonzalez, R. Charleton, M. Chung, S. Lewis & C. L. Sudlow (2010) Genetic effects on carotid intima-media thickness: systematic assessment and meta-analyses of candidate gene polymorphisms studied in more than 5000 subjects. *Circ Cardiovasc Genet*, 3, 15-21.
- Pedrini, S., T. L. Carter, G. Prendergast, S. Petanceska, M. E. Ehrlich & S. Gandy (2005) Modulation of statin-activated shedding of Alzheimer APP ectodomain by ROCK. *PLoS Med*, 2, e18.
- Polvikoski, T. M., E. C. W. van Straaten, F. Barkhof, R. Sulkava, H. J. Aronen, L. Niinisto, M. Oinas, P. Scheltens, T. Erkinjuntti & R. N. Kalaria (2010) Frontal lobe white matter hyperintensities and neurofibrillary pathology in the oldest old. *Neurology*, 75, 2071-2078.
- Prins, N. D., E. J. van Dijk, T. den Heijer, S. E. Vermeer, J. Jolles, P. J. Koudstaal, A. Hofman & M. M. Breteler (2005) Cerebral small-vessel disease and decline in information processing speed, executive function and memory. *Brain*, 128, 2034-41.
- Pullicino, P. M. & J. Hart (2001) Cognitive impairment in congestive heart failure?: Embolism vs hypoperfusion. *Neurology*, 57, 1945-6.

- Querfurth, H. W. & F. M. LaFerla (2010) Alzheimer's disease. *N Engl J Med*, 362, 329-44.
- Ramani, A., J. H. Jensen & J. A. Helpert (2006) Quantitative MR imaging in Alzheimer disease. *Radiology*, 241, 26-44.
- Roberts, T. P. & H. A. Rowley (2003) Diffusion weighted magnetic resonance imaging in stroke. *Eur J Radiol*, 45, 185-94.
- Roher, A. E., N. Weiss, T. A. Kokjohn, Y. M. Kuo, W. Kalback, J. Anthony, D. Watson, D. C. Luehrs, L. Sue, D. Walker, M. Emmerling, W. Goux & T. Beach (2002) Increased A beta peptides and reduced cholesterol and myelin proteins characterize white matter degeneration in Alzheimer's disease. *Biochemistry*, 41, 11080-90.
- Roman, D. D., S. H. Kubo, S. Ormaza, G. S. Francis, A. J. Bank & S. J. Shumway (1997) Memory improvement following cardiac transplantation. *J Clin Exp Neuropsychol*, 19, 692-7.
- Rombouts, S. A., J. S. Damoiseaux, R. Goekoop, F. Barkhof, P. Scheltens, S. M. Smith & C. F. Beckmann (2009) Model-free group analysis shows altered BOLD fMRI networks in dementia. *Hum Brain Mapp*, 30, 256-66.
- Ruitenbergh, A., T. den Heijer, S. L. Bakker, J. C. van Swieten, P. J. Koudstaal, A. Hofman & M. M. Breteler (2005) Cerebral hypoperfusion and clinical onset of dementia: the Rotterdam Study. *Ann Neurol*, 57, 789-94.
- Sander, K., H. Bickel, H. Förstl, T. Etgen, C. Briesenick, H. Poppert & D. Sander (2010) Carotid-intima media thickness is independently associated with cognitive decline. The INVADE study. *Int J Geriatr Psychiatry*, 25, 389-94.
- Sasoh, M., K. Ogasawara, K. Kuroda, T. Okuguchi, K. Terasaki, K. Yamadate & A. Ogawa (2003) Effects of EC-IC bypass surgery on cognitive impairment in patients with hemodynamic cerebral ischemia. *Surg Neurol*, 59, 455-60; discussion 460-3.
- Schmidt, R., K. Petrovic, S. Ropele, C. Enzinger & F. Fazekas (2007) Progression of leukoaraiosis and cognition. *Stroke*, 38, 2619-25.
- Schmidt, R., S. Ropele, C. Enzinger, K. Petrovic, S. Smith, H. Schmidt, P. M. Matthews & F. Fazekas (2005) White matter lesion progression, brain atrophy, and cognitive decline: the Austrian stroke prevention study. *Ann Neurol*, 58, 610-6.
- Schmidt, R., S. Ropele, J. Ferro, S. Madureira, A. Verdelho, K. Petrovic, A. Gouw, W. M. van der Flier, C. Enzinger, L. Pantoni, D. Inzitari, T. Erkinjuntti, P. Scheltens, L. O. Wahlund, G. Waldemar, E. Rostrup, A. Wallin, F. Barkhof, F. Fazekas & L. s. group (2010) Diffusion-weighted imaging and cognition in the leukoaraiosis and disability in the elderly study. *Stroke*, 41, e402-8.
- Shenkin, S. D., M. E. Bastin, T. J. Macgillivray, I. J. Deary, J. M. Starr, C. S. Rivers & J. M. Wardlaw (2005) Cognitive correlates of cerebral white matter lesions and water diffusion tensor parameters in community-dwelling older people. *Cerebrovasc Dis*, 20, 310-8.
- Silbert, L. C., D. B. Howieson, H. Dodge & J. A. Kaye (2009) Cognitive impairment risk: white matter hyperintensity progression matters. *Neurology*, 73, 120-5.
- Silvestrini, M., B. Gobbi, P. Pasqualetti, M. Bartolini, R. Baruffaldi, C. Lanciotti, R. Cerqua, C. Altamura, L. Provinciali & F. Vernieri (2009) Carotid atherosclerosis and cognitive decline in patients with Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*, 30, 1177-83.

- Silvestrini, M., P. Pasqualetti, R. Baruffaldi, M. Bartolini, Y. Handouk, M. Matteis, F. Moffa, L. Provinciali & F. Vernieri (2006) Cerebrovascular reactivity and cognitive decline in patients with Alzheimer disease. *Stroke*, 37, 1010-5.
- Simpson, J. E., P. G. Ince, C. E. Higham, C. H. Gelsthorpe, M. S. Fernando, F. Matthews, G. Forster, J. T. O'Brien, R. Barber, R. N. Kalaria, C. Brayne, P. J. Shaw, K. Stoeber, G. H. Williams, C. E. Lewis, S. B. Wharton & M. C. F. a. A. N. S. Group (2007) Microglial activation in white matter lesions and nonlesional white matter of ageing brains. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 33, 670-83.
- Skoog, I., B. Lernfelt, S. Landahl, B. Palmertz, L. A. Andreasson, L. Nilsson, G. Persson, A. Odén & A. Svanborg (1996) 15-year longitudinal study of blood pressure and dementia. *Lancet*, 347, 1141-5.
- Slooter, A. J., M. Cruts, A. Ott, M. L. Bots, J. C. Witteman, A. Hofman, C. Van Broeckhoven, M. M. Breteler & C. M. van Duijn (1999) The effect of APOE on dementia is not through atherosclerosis: the Rotterdam Study. *Neurology*, 53, 1593-5.
- Snowdon, D. A., L. H. Greiner, J. A. Mortimer, K. P. Riley, P. A. Greiner & W. R. Markesbery (1997) Brain infarction and the clinical expression of Alzheimer disease. The Nun Study. *JAMA*, 277, 813-7.
- Sojkova, J., S. S. Najjar, L. L. Beason-Held, E. J. Metter, C. Davatzikos, M. A. Kraut, A. B. Zonderman & S. M. Resnick (2010) Intima-media thickness and regional cerebral blood flow in older adults. *Stroke*, 41, 273-9.
- Sparks, D. L., M. N. Sabbagh, D. J. Connor, J. Lopez, L. J. Launer, P. Browne, D. Wasser, S. Johnson-Traver, J. Lochhead & C. Ziolkowski (2005) Atorvastatin for the treatment of mild to moderate Alzheimer disease: preliminary results. *Arch Neurol*, 62, 753-7.
- Spinnler, H. & G. Tognoni. 1987. Standardizzazione e taratura italiana dei test neuropsicologici. 78–80; 97–99. *Ital J Neurol Sci*.
- Staekenborg, S. S., E. L. Koedam, W. J. Henneman, P. Stokman, F. Barkhof, P. Scheltens & W. M. van der Flier (2009) Progression of mild cognitive impairment to dementia: contribution of cerebrovascular disease compared with medial temporal lobe atrophy. *Stroke*, 40, 1269-74.
- Staessen, J. A., T. Richart & W. H. Birkenhäger (2007) Less atherosclerosis and lower blood pressure for a meaningful life perspective with more brain. *Hypertension*, 49, 389-400.
- Stahl, R., O. Dietrich, S. J. Teipel, H. Hampel, M. F. Reiser & S. O. Schoenberg (2007) White matter damage in Alzheimer disease and mild cognitive impairment: assessment with diffusion-tensor MR imaging and parallel imaging techniques. *Radiology*, 243, 483-92.
- Stejskal, E. & J. Tanner. 1965. Spin diffusion measurements: spin echoes in the presence of a time-dependent field gradient. 288–292. *J Chem Phys*
- Tatemichi, T. K., D. W. Desmond, I. Prohovnik & D. Eidelberg (1995) Dementia associated with bilateral carotid occlusions: neuropsychological and haemodynamic course after extracranial to intracranial bypass surgery. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 58, 633-6.
- Teipel, S. J., M. Ewers, S. Wolf, F. Jessen, H. Kölsch, S. Arlt, C. Luckhaus, P. Schönknecht, K. Schmidtke, I. Heuser, L. Frölich, G. Ende, J. Pantel, J. Wiltfang, F. Rakebrandt, O. Peters, C. Born, J. Kornhuber & H. Hampel (2010) Multicentre variability of MRI-based medial temporal lobe volumetry in Alzheimer's disease. *Psychiatry Res*, 182, 244-50.
- Thomas, T., G. Thomas, C. McLendon, T. Sutton & M. Mullan (1996) beta-Amyloid-mediated vasoactivity and vascular endothelial damage. *Nature*, 380, 168-71.

- Touboul, P. J., M. G. Hennerici, S. Meairs, H. Adams, P. Amarenco, N. Bornstein, L. Csiba, M. Desvarieux, S. Ebrahim, M. Fatar, R. Hernandez Hernandez, M. Jaff, S. Kownator, P. Prati, T. Rundek, M. Sitzer, U. Schminke, J. C. Tardif, A. Taylor, E. Vicaut, K. S. Woo, F. Zannad & M. Zureik (2007) Mannheim carotid intima-media thickness consensus (2004-2006). An update on behalf of the Advisory Board of the 3rd and 4th Watching the Risk Symposium, 13th and 15th European Stroke Conferences, Mannheim, Germany, 2004, and Brussels, Belgium, 2006. *Cerebrovasc Dis*, 23, 75-80.
- Triantafyllidi, H., C. Arvaniti, J. Lekakis, I. Ikonomidis, N. Sifakas, S. Tzortzis, P. Trivilou, L. Zerva, E. Stamboulis & D. T. Kremastinos (2009) Cognitive impairment is related to increased arterial stiffness and microvascular damage in patients with never-treated essential hypertension. *Am J Hypertens*, 22, 525-30.
- van Dijk, E. J., N. D. Prins, H. A. Vrooman, A. Hofman, P. J. Koudstaal & M. M. Breteler (2008) Progression of cerebral small vessel disease in relation to risk factors and cognitive consequences: Rotterdam Scan study. *Stroke*, 39, 2712-9.
- van Oijen, M., F. J. de Jong, J. C. Witteman, A. Hofman, P. J. Koudstaal & M. M. Breteler (2007) Atherosclerosis and risk for dementia. *Ann Neurol*, 61, 403-10.
- Vega, G. L., M. F. Weiner, A. M. Lipton, K. Von Bergmann, D. Lutjohann, C. Moore & D. Svetlik (2003) Reduction in levels of 24S-hydroxycholesterol by statin treatment in patients with Alzheimer disease. *Arch Neurol*, 60, 510-5.
- Vermeer, S. E., N. D. Prins, T. den Heijer, A. Hofman, P. J. Koudstaal & M. M. Breteler (2003) Silent brain infarcts and the risk of dementia and cognitive decline. *N Engl J Med*, 348, 1215-22.
- Viana-Baptista, M., P. Bugalho, C. Jordão, N. Ferreira, A. Ferreira, M. Forjaz Secca, J. A. Esperança-Pina & J. M. Ferro (2008) Cognitive function correlates with frontal white matter apparent diffusion coefficients in patients with leukoaraiosis. *J Neurol*, 255, 360-6.
- Viswanathan, A., W. A. Rocca & C. Tzourio (2009) Vascular risk factors and dementia: how to move forward? *Neurology*, 72, 368-74.
- Vogels, R. L., J. M. Oosterman, D. M. Laman, A. A. Gouw, J. M. Schroeder-Tanka, P. Scheltens, W. M. van der Flier & H. C. Weinstein (2008) Transcranial Doppler blood flow assessment in patients with mild heart failure: correlates with neuroimaging and cognitive performance. *Congest Heart Fail*, 14, 61-5.
- Waldstein, S. R., P. P. Giggey, J. F. Thayer & A. B. Zonderman (2005) Nonlinear relations of blood pressure to cognitive function: the Baltimore Longitudinal Study of Aging. *Hypertension*, 45, 374-9.
- Wendell, C. R., A. B. Zonderman, E. J. Metter, S. S. Najjar & S. R. Waldstein (2009) Carotid intimal medial thickness predicts cognitive decline among adults without clinical vascular disease. *Stroke*, 40, 3180-5.
- Wu, Z., H. Guo, N. Chow, J. Sallstrom, R. D. Bell, R. Deane, A. I. Brooks, S. Kanagala, A. Rubio, A. Sagare, D. Liu, F. Li, D. Armstrong, T. Gasiewicz, R. Zidovetzki, X. Song, F. Hofman & B. V. Zlokovic (2005) Role of the MEOX2 homeobox gene in neurovascular dysfunction in Alzheimer disease. *Nat Med*, 11, 959-65.
- Yoshiura, T., A. Hiwatashi, K. Yamashita, Y. Ohyagi, A. Monji, Y. Takayama, E. Nagao, H. Kamano, T. Noguchi & H. Honda (2009) Simultaneous measurement of arterial transit time, arterial blood volume, and cerebral blood flow using arterial spin-labeling in patients with Alzheimer disease. *AJNR Am J Neuroradiol*, 30, 1388-93.

- Zhang, F., C. Eckman, S. Younkin, K. K. Hsiao & C. Iadecola (1997) Increased susceptibility to ischemic brain damage in transgenic mice overexpressing the amyloid precursor protein. *J Neurosci*, 17, 7655-61.
- Zlokovic, B. V. (2008) The blood-brain barrier in health and chronic neurodegenerative disorders. *Neuron*, 57, 178-201.
- Zuccalà, G., G. Onder, E. Marzetti, M. R. Monaco, M. Cesari, A. Cocchi, P. Carbonin, R. Bernabei & G. S. Group (2005) Use of angiotensin-converting enzyme inhibitors and variations in cognitive performance among patients with heart failure. *Eur Heart J*, 26, 226-33.