

**UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI NAPOLI FEDERICO II  
FACOLTÀ DI MEDICINA E CHIRURGIA**



**SCUOLA DOTTORATO DI RICERCA IN MEDICINA MOLECOLARE  
XX CICLO  
ANNO ACCADEMICO 2006-2007  
DOTTORATO DI RICERCA IN NEUROSCIENZE**

**TESI**

**DECLINO COGNITIVO LIEVE E DEMENZA DI  
ALZHEIMER: IMAGING INTEGRATO SPECT-MRI  
DELLA PROGRESSIONE DI MALATTIA**

**IL COORDINATORE:**

**Chiar.mo Prof.**

**Lucio Annunziato**

**CANDIDATO:**

**Dott. Carmine Mollica**

**ANNO ACCADEMICO 2006-2007**

## INTRODUZIONE

Il Declino Cognitivo Lieve (Mild Cognitive Impairment, MCI) configura un profilo cognitivo del soggetto anziano intermedio tra l'invecchiamento fisiologico e la demenza franca.

Il gruppo di studio della Mayo Clinic (Petersen et al., 1999) ha recentemente definito la categoria del MCI descrivendone la storia naturale e i precisi criteri diagnostici. Si caratterizza, nella sua forma più frequente, per un deficit di memoria isolato e progressivo, segnalato dal paziente o dai suoi familiari, confermato da una prestazione inferiore a quella dei controlli di pari età a test neuropsicologici ma non tale da soddisfare i criteri per la diagnosi di malattia di Alzheimer (AD) probabile così come stabiliti dal National Institute of Neurological and Communicative Disorders (NINCDS) e dall'Alzheimer's Disease and Related Disorders Association (ADRDA) (McKhann et al., 1984).

Tale deficit mnesico non ha impatto sulle funzioni strumentali né di base della vita quotidiana, non è correlabile a condizioni patologiche note, si associa a una normale funzione cognitiva globale, in assenza di demenza.

Una recente review dello stesso gruppo (Petersen et al., 2001), sottolineando l'estrema eterogeneità dei quadri clinici genericamente inclusi nella categoria diagnostica del MCI, propone una ulteriore suddivisione in: 1) soggetti con deficit isolato di memoria (MCI amnesico); 2) soggetti con lieve deficit di memoria e deficit in più aree cognitive; 3) soggetti con deficit di una o più funzioni cognitive senza disturbo di memoria.

L'importanza di una identificazione precoce dei soggetti con deficit cognitivi assimilabili al quadro MCI nasce dal fatto che osservazioni cliniche longitudinali hanno evidenziato una progressione verso forme di

demenza franca con tassi di progressione compresi tra il 10% ed il 20% per anno più elevati rispetto ai soggetti anziani cognitivamente normali per i quali il tasso di progressione si attesta intorno all'1-2% per anno.

Sarebbe perciò auspicabile una precoce diagnosi di MCI, dal momento che questo stadio di predemenza si è dimostrato rispondente ad una terapia farmacologica capace se non di arrestare la progressione verso la demenza franca, quanto meno di rallentarla.

E' necessario però sottolineare che la diagnosi clinica di MCI rimane tuttora difficile, non essendo stata definita una sintomatologia specifica contrariamente a quanto si verifica nella demenza franca.

In tal senso la ricerca si è indirizzata verso l'identificazione di markers specifici che possano portare all'individuazione di soggetti con MCI a rischio di progressione verso lo stato di demenza franca e,

soprattutto, nell'ambito di questo gruppo, dei soggetti a rischio di sviluppare AD.

Il neuroimaging, sia morfologico che funzionale, nella demenza può avere allo stato attuale un ruolo diagnostico, soprattutto nella diagnosi precoce e in quella differenziale, e può anche offrire un contributo scientifico per quanto riguarda gli aspetti più squisitamente patogenetici.

Nella diagnosi precoce il neuroimaging può permettere di rilevare una sindrome dementigena nelle fasi iniziali, quando sintomi e segni non siano cioè così chiari da consentire una diagnosi clinica di probabilità.

L'attenzione è stata posta, quindi, sulle strutture cerebrali riconosciute quali aree di coinvolgimento patologico precoce che possano rappresentare markers per la caratterizzazione dei soggetti che svilupperanno demenza.

Nelle analisi qualitative e/o quantitative degli studi di imaging volti ad identificare i correlati anatomici del MCI/AD, la scelta di quali strutture cerebrali valutare è stata guidata da studi istopatologici post-mortem nell'AD secondo i quali lo sviluppo della degenerazione neurofibrillare evolve secondo un preciso pattern gerarchico che prevede 10 stadi. I grovigli neurofibrillari (neurofibrillary tangles, NFT) e i depositi di proteina *tau* si sviluppano dapprima a livello della corteccia peririnale (stadio 1) e successivamente in quella entorinale e nell'ippocampo (stadio 2 e 3), con modeste alterazioni a carico dei lobi temporali e della corteccia insulare. Successivamente, viene coinvolta la neocortex temporale (giro fusiforme e giri temporali medio-inferiore, stadio 4-6), seguita dalle aree corticali associative polimodali (stadio 7); infine, si estende all'intera corteccia, (stadio 8-10), coinvolgendo anche le aree motoria e sensitiva primarie e le aree secondarie unimodali (Braak et

al., 1996; Delacourte et al., 1999). Esiste una relazione tra stadio patologico e stadio cognitivo (valutato pre-mortem) secondo cui gli stadi transentorinali (stadio 1-3 ) corrispondono al periodo clinicamente silente dell'AD, gli stadi limbici (stadio 4-6, coinvolgimento del lobo temporale mediale, MTL ) rappresentano la fase incipiente di AD caratterizzata da lieve deficit cognitivi come il deficit di memoria isolato. Negli stadi neocorticali (stadi 7-10), quasi tutti i soggetti sviluppano una demenza più o meno completa, in accordo ai criteri operativi di AD che richiedono deficit di più funzioni cognitive oltre quella della memoria.

Appare, quindi, evidente come le modificazioni istopatologiche tipiche degli stadi 4-6 siano compatibili con il quadro del declino cognitivo lieve così come è definito e ciò pone l'attenzione sulle alterazioni che si verificano a carico del lobo temporale mediale, essendo l'ippocampo e al corteccia entorinale fondamentali per il normale

svolgimento dei processi alla base della formazione e del mantenimento della memoria.

Le alterazioni di tipo atrofico a carico del lobo temporale mediale sembrano, quindi, utilizzabili in studi volumetrici MRI quali markers di MCI e di eventuale progressione verso la AD.

L'uso della Voxel-based-Morphometry (VBM) in pazienti con MCI che sviluppano Alzheimer ha evidenziato un'atrofia ippocampale entorinale, che spiega i deficit della memoria. Tale dato presenta però una scarsa specificità, essendo l'MTL sede di accumulo della proteina tau anche nel soggetto anziano normale.

Tuttavia, la conversione ad AD sembra essere correlata ad una più lieve, ma più specifica, atrofia della neocortex temporale e del cingolo anteriore, che predicono l'imminente sviluppo di deficit in altre aree cognitive e, quindi, di demenza.



Nella fase successiva, il confronto tra le immagini dei due gruppi così ottenute ha permesso di evidenziare, nei pazienti MCI, la presenza di atrofia localizzata principalmente a livello di ippocampo, giro del cingolo e insula, mentre nei pazienti AD l'atrofia coinvolge, oltre le zone succitate, l'encefalo in maniera diffusa.

Dall'osservazione dei risultati ottenuti è emersa un'ulteriore riprova che, essendo nei pazienti MCI la compromissione localizzata a specifiche aree dell'encefalo che sono le stesse colpite negli stadi iniziali dell'AD, l'MCI costituisce esso stesso uno stadio clinico iniziale suscettibile di progressione verso una demenza franca di tipo AD.

Deficit del flusso ematico cerebrale regionale (rCBF) o del metabolismo cerebrale regionale del glucosio (rCMRglc), misurati rispettivamente con metodica SPECT (Tomografia ad emissione di fotone singolo) e con metodica PET (Tomografia ad emissione di positroni), sono

stati ben documentati nei pazienti con AD. Sia il rCBF che il rCMRglc sono indici di funzionalità neuronale/sinaptica e forniscono un valido indice “in vivo” degli effetti dei processi neuropatologici sulla funzione cerebrale in pazienti con AD. Ciò è supportato dal fatto che le riduzioni in rCBF e rCMRglc sono co-localizzate con le aree in cui si verificano le alterazioni neuropatologiche correlate all’AD (cingolo posteriore, aree temporo-parieto-occipitali, e più tardivamente, le aree associative frontali). Inoltre, le aree risparmiate anche nelle fasi più tardive della malattia (corteccia perirolandica, corteccia visiva primaria, strutture profonde come i gangli della base, talamo e cervelletto) nella maggior parte degli studi hanno mostrato normali rCBF e rCMRglc.

Deficit metabolici e perfusionali sono stati riportati a livello dell’ippocampo e della corteccia entorinale nei pazienti con MCI rispetto ai controlli (de Leon et al., 2001; De Santi et al., 2000; Mosconi et al.,

2005, 2006; Nestor et al., 2003) mentre riduzioni del rCMRglc e/o rCBF nella corteccia parieto-temporale e nel cingolo posteriore sono indici migliori per distinguere gli MCI dai AD avendo anche un valore predittivo di conversione in AD (Chetelat et al., 2003; Huang et al., 2002; Minoshima et al., 1997; Nestor et al., 2003; Scarmeas et al., 2004). Kogure et al. ha osservato riduzione del rCBF anche in alcune aree corticali (frontale, parietale, occipitale).

Attualmente, non è noto se il pattern di progressione MCI/AD sia caratterizzato da una stretta associazione dei due fenomeni tale per cui la perdita di sostanza grigia (GM) giustifichi l'ipometabolismo, oppure se il deficit metabolico sia maggiore del tasso di atrofia.

Tuttavia, nonostante i progressi tecnologici, la SPECT e la PET restano caratterizzate da una relativamente bassa risoluzione spaziale, nella maggior parte dei casi maggiore di 6 mm di FWHM (full width at

half maximum). Di conseguenza, in strutture con dimensioni comparabili alla risoluzione spaziale delle immagini (<12mm di spessore), come la neocortex, l'apparente concentrazione del tracciante è influenzata dalle strutture circostanti, un fenomeno noto come effetto di volume parziale (PVE). Tale effetto è particolarmente critico quando la proporzione relativa delle componenti tissutali cerebrali è alterata così come accade nell'AD. In presenza di PVE, almeno una parte della riduzione osservata nell'uptake corticale dei traccianti può essere spiegata sulla base dell'atrofia, impedendo così potenzialmente la comprensione dei fenomeni che sottendono la malattia.

La correzione del PVE (PVEc) è teoricamente possibile se si conoscono la distribuzione delle componenti tissutali all'interno delle immagini funzionali e la risoluzione dello scanner. L'imaging strutturale ad alta risoluzione come l'MRI, fornisce l'informazione morfologica

necessaria che, associata alla conoscenza della risoluzione dello scanner, può essere usata per correggere le immagini funzionali dal PVE e ottenere misure accurate della concentrazione dei traccianti nei differenti tessuti cerebrali (Quarantelli et al., 2004), indipendentemente dal loro spessore.

Purtroppo, gli studi finora pubblicati su AD ed MCI che hanno affrontato questo aspetto, hanno utilizzato metodi di PVEc che si limitavano a correggere il dato PET o SPECT per l'incremento del CSF, senza tenere conto dell'alterazione locale del rapporto GM/WM (Ibanez et al., 1998) e/o hanno analizzato le immagini dopo PVEc con tecniche che implicano uno smoothing delle immagini, re-introducendo il PVE e quindi vanificando la correzione (Chatelat et al., 2003; Ibanez et al., 1998; Matsuda et al., 2002), risultando in una sostanziale inefficienza del sistema di correzione (Quarantelli et al., 2004).

Scopo del nostro studio è quello di confrontare la riduzione di rCBF indipendentemente dalla perdita di GM nei due gruppi di pazienti (MCI e AD), usando un metodo di PVEc che tiene conto delle alterazioni relative sia della WM che del CSF.

## PAZIENTI E METODI

Sono stati studiati 12 soggetti con MCI (età media 74,8 anni; Mini Mental State Examination, MMSE,  $27,8 \pm 2$ , range 24,9-30) e 10 pazienti con AD probabile di lieve severità (criteri NINDS-ADRDA, età media 79,5 anni, MMSE  $21,2 \pm 2,4$ , range 16,9-24), sottoponendoli a uno studio SPET per la valutazione del rCBF e a uno studio volumetrico MRI.

### SPET

Gli studi SPET sono stati eseguiti 20-30 minuti dopo la somministrazione endovenosa di 740-1110 MBq di [ $^{99m}\text{Tc}$ ]-HMPAO (Ceretek<sup>®</sup>, Nycomed Amersham Sorin), usando una gamma-camera dedicata per lo studio cerebrale a 64 fette, dotata di un collimatore LEHR (Cera SPET, Digital Scintigraphics, D.S.I, Waltham, MA, USA). Gli studi sono stati acquisiti per 30 minuti con modalità step-and-shoot (120 step di

3°, 15 secondi per step, matrice 128 x 128). Le immagini (grandezza del pixel: 1,673 mm) sono state ricostruite usando un filtro Butterworth (cut-off  $0.9 \text{ cm}^{-1}$ , order=10) e sono state corrette per l'attenuazione assumendo una attenuazione uniforme all'interno dello scalpo, applicando un fattore di attenuazione di ordine zero di  $0,120 \text{ cm}^{-1}$  (Chang et al., 1987).

### MRI

Le immagini sono state acquisite con un tomografo a 1,5 T (Gyrosan Intera, Philips, Netherlands), utilizzando una sequenza fast-GrE 3D, T1 pesata, con ottimizzazione del contrasto tra GM e WM mediante preparazione con impulso di inversione (TR/TE/TI 11/2/600 msec, voxel size 0,98x0,98x1,2 mm), ottenendo un set di 124 fette dello spessore di 1,2 mm e parallele alla linea bi-commissurale (CA-CP, commessura anteriore, commessura posteriore).



Successivamente, le immagini sono state segmentate in mappe di GM, WM e CSF utilizzando una tecnica di segmentazione MRI (Ashburner et al., 2000) di largo uso, implementata nel software di elaborazione di immagini Statistical Parametric Mapping (SPM99, Wellcome Department of Cognitive Neurology, London, UK; <http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm> ) e co-registrate agli studi SPET mediante un metodo completamente automatizzato basato sulla massimizzazione della normalized mutual information tra i due set di dati (Studholme, et al. 1998) come implementata in SPM.

### *Correzione per il PVE*

Un set di volumi di interesse (VOI) corticali includenti i lobi cerebrali e l'ippocampo per ciascun lato e una singola regione per il cervelletto e il cingolo posteriore, è stato definito in uno spazio standard, definito da un template ottenuto dalla trasformazione lineare di 305 esami

MRI di soggetti normali al sistema di coordinate di Talairach (per una  
trattazione delle differenze tra lo spazio MNI e lo spazio stereotassico di  
Talairach si veda [http://www.mrc-  
cbu.cam.ac.uk/Imaging/Common/mninspace.shtml](http://www.mrc-cbu.cam.ac.uk/Imaging/Common/mninspace.shtml)). Il set di VOI così  
definito a priori è stato adattato per ciascun paziente alla mappa di GM  
segmentata e co-registrata usando i parametri di normalizzazione derivanti  
dalla matrice di normalizzazione di SPM99 (Berkouk et al., 2003).

Per ciascuna VOI, sono state quindi calcolati le concentrazioni  
medie del tracciante dalla SPET (valori non-corretti) ed i corrispondenti  
valori corretti per il PVE (Rousset et al., 1998; Quarantelli et al., 2004).

Per la successiva analisi statistica i valori di ciascun set (corretti e  
non-corretti) sono stati normalizzati per i corrispondenti valori cerebellari.

### Analisi statistica

Il confronto tra i gruppi MCI e AD è stata eseguita per ciascuna regione utilizzando il test T di Student. Il livello di significatività è stato stabilito per  $P < 0,05$ .

## RISULTATI

I risultati dell'analisi per volumi di interesse sono riportati in tabella 1.

Prima della correzione per il PVE, i lobi temporali (sia l'ippocampo che la corteccia laterale) e il cingolo posteriore ( $p < 0,01$ ) mostrano una significativa riduzione del CBF nell'AD confrontata con i pazienti con MCI ( $P < 0,05$ ).

Dopo la correzione per il PVE, solo la riduzione del CBF nel cingolo posteriore restava significativa ( $p < 0,05$ ).

	<b>Lobo occipitale sinistro</b>	<b>Lobo frontale sinistro</b>	<b>Lobo temporale sinistro</b>	<b>Lobo parietale sinistro</b>	<b>Ippocampo sinistro</b>
<b>Non corretto</b>	-1%	-4%	<b>-7%</b>	-4%	<b>-13%</b>
<b>Corretto</b>	3%	-1%	0%	-1%	-1%

	<b>Lobo occipitale destra</b>	<b>Lobo frontale destra</b>	<b>Lobo temporale destra</b>	<b>lobo parietale destra</b>	<b>Ippocampo destra</b>
<b>Non corretto</b>	-1%	-5%	<b>-8%</b>	-4%	<b>-16%</b>
<b>Corretto</b>	2%	-1%	-1%	1%	-2%

	<b>Cingolo Posteriore</b>
<b>Non corretto</b>	<b>-7%</b>
<b>Corretto</b>	<b>-7%</b>

## Tabella 1

Riduzione percentuale media nei pazienti AD confrontati con quelli MCI. I dati sono riportati prima (non-corretti) e dopo (corretti) correzione per gli effetti di volume parziale.

Le differenze significative ( $P < 0.05$ ) sono evidenziate su fondo grigio.

## DISCUSSIONE

Lo studio delle dinamiche che sottendono all'instaurarsi dell'atrofia della sostanza grigia e delle alterazioni metabolico-funzionali in parallelo alla conversione da declino cognitivo lieve (MCI) ad Alzheimer clinicamente probabile è una tappa cruciale nella comprensione delle demenze, in quanto essa permetterebbe di monitorare nuove strategie terapeutiche volte a modificare la progressione della malattia ed a valutare i loro effetti su di essa.

E' ben noto, infatti, che la malattia di Alzheimer è caratterizzata da atrofia cerebrale, e sono noti solo in grandi linee i pattern di diffusione di questa caratteristica anatomo-patologica della malattia (Smith, 2002).

Il concetto di diffusione nella corteccia delle alterazioni anatomo-patologiche durante la progressione della malattia è già stato espresso in epoca pre-risonanza magnetica (Pearson, RCA 1985)

Negli stadi più precoci della malattia sembra essere colpita solo la corteccia entorinale, successivamente l'atrofia si estende all'ippocampo e al lobo temporale mediale (MTL).

Le proiezioni neuronali a partire dall'MTL atrofico riducono, così, il loro supporto neurotrofico alle cellule piramidali nelle aree associative della corteccia.

In base alle proiezioni dall'MTL la regione corticale ad essere successivamente interessata è la temporo-parietale.

In dipendenza dalle connessioni sinaptiche, altre aree cerebrali vengono a mano a mano colpite, fino ad arrivare ad un'atrofia diffusa della corteccia, con un relativo risparmio del polo occipitale e del cervelletto.

Come considerato da Smith, quindi, a partire dalla corteccia entorinale si sviluppa un meccanismo a cascata che porta al

coinvolgimento prima delle strutture più vicine ad essa, e successivamente, di aree corticali superiori (Smith, 2002).

Diversi studi hanno affrontato una analisi della perdita di sostanza grigia in soggetti MCI ed in soggetti AD utilizzando la VBM (Karas et al., 2004; Chetelat et al., 2005).

In uno studio del 2002 Karas e coll. hanno effettuato un confronto tra 25 soggetti AD, (MMSE  $15,6 \pm 5,2$ ) e 25 soggetti normali, (MMSE  $28,1 \pm 1,5$ ), evidenziando nell'AD la presenza di un coinvolgimento diffuso a livello silviano, ippocampale e temporo-polare, con relativo risparmio della corteccia sensori-motoria, del polo occipitale e del cervelletto.

Nel successivo lavoro (Karas et al, 2004), il confronto è effettuato tra 33 AD (MMSE  $21,1 \pm 5,3$ ), 22 MCI (MMSE  $26,4 \pm 1,9$ ) e 14 volontari normali (NV) (MMSE  $27,8 \pm 1,7$ ).



I risultati ottenuti hanno evidenziato nei pazienti con MCI, rispetto ai soggetti normali, la presenza di atrofia coinvolgente ippocampo, talamo, corteccia temporale superiore ed insula, mentre il confronto tra AD ed MCI, limitatamente ai risultati ottenuti con la VBM, ha evidenziato un interessamento delle aree associative temporo-parietali e dell'insula bilateralmente, con un effetto residuo sul lobo temporale mediale.

Chetelat e coll. hanno invece effettuato un confronto tra MCI e soggetti normali (Chetelat et al. 2002), confermando l'interessamento dell'ippocampo già nei soggetti con MCI, evidenziando in un seguente studio su 18 pazienti MCI (MMSE  $27,3 \pm 1,2$ ) seguiti per un periodo di 18 mesi (Chetelat et al. 2005), che i soggetti che progredivano da MCI ad AD, avevano un pattern di perdita di GM ippocampale e paraippocampale più pronunciato.

In quello studio la maggiore perdita di sostanza grigia nei soggetti “converters” rispetto ai “non converters” si localizza a livello di ippocampo, giro temporale mediale e inferiore, cingolo posteriore e precuneo, indicando che l’interessamento del MTL avviene prevalentemente in fase prodromica e nelle prime fasi dell’AD clinicamente evidente.

La riduzione del rCBF a livello delle strutture del MTL mostrata da studi SPECT è concorde con i reperti morfo-strutturali (Ohnishi et al., 1995; Julin et al., 1997; Rodriguez et al., 1999), dimostrando che le alterazioni metaboliche/CBF nell’AD, confrontate con i soggetti normali, sono correlate alla perdita di GM.

Dati preliminari di confronto voxel-based delle alterazioni strutturali e funzionali in pazienti con AD (Baron et al., 2001b) hanno mostrato che l’atrofia spiegherebbe l’ipometabolismo in tutte le strutture

ad eccezione del PCC, un'area nota per essere affetta precocemente nell'AD (Minoshima et al., 2000), dove la riduzione del CMRglc risultava molto più pronunciata della riduzione della densità della GM.

Una significativa riduzione metabolica nella stessa area è stata trovata nello stadio pre-demenza dell'AD (Minoshima et al., 1997) e risultati simili sono stati riportati in due studi SPECT (Johnson et al., 1998; Kogure et al., 2000), così come in soggetti non dementi a rischio di sviluppare AD come i portatori dell'allele ApoE4 (Reiman et al., 1996; Small et al., 2000) e in soggetti asintomatici portatori della mutazione pre-senilina 1 (Johnson et al., 2000).

Recenti studi PET hanno rivelato una selettiva riduzione metabolica nel PCC e nel precuneo non solo nell'AD lieve-moderato ma anche nell'AD molto precoce usando una tecnica di standardizzazione anatomica stereotassica come SPM. Tali riduzioni metaboliche risultavano

significative anche dopo correzione del PVE usando immagini RM segmentate (Ibanez et al., 1998). Tuttavia, tale tecnica di correzione del PVE non può essere considerata affidabile poiché, oltre a correggere solo per il CSF e non per la WM, implica una trasformazione spaziale non-lineare, una significativa fonte di errori di localizzazione spaziale, e una pesante operazione di smoothing che di fatto reintroduce il PVE.

Risultati simili sono stati anche riportati da un'analisi voxel-based di dati MRI e SPET (Matsuda et al., 2002b), in cui il PCC, il precuneo e la corteccia parietale associativa mostrano una maggiore riduzione del rCBF piuttosto che del volume della GM, non fornendo, a tale proposito, dati quantitativi.

I nostri risultati integrano tali reperti, mostrando quantitativamente nei dati rCBF/ SPECT corretti per PVE relativi al gruppo AD, confrontato

con quello MCI, lo stesso pattern di coinvolgimento del PCC indipendentemente dalla perdita di GM.

Come precedentemente proposto da Minoshima et al., la discrepanza tra le alterazioni neuropatologiche del PCC, che si manifestano piuttosto tardivamente nell'evoluzione della AD, e la sua precoce riduzione metabolica appare compatibile più con una disfunzione sinaptica piuttosto che con lesioni neuronali.

Il ridotto flusso e/o metabolismo nel PCC e nel precuneo suggeriscono che le più precoci alterazioni funzionali nell'AD sono un effetto remoto causato dalla disconnessione neuroanatomica e della deafferentazione funzionale remota secondaria alla degenerazione neuronale primaria della corteccia rinale.

L'associazione del PCC con le strutture del MTL è stata ampiamente documentata. La principale proiezione dell'ippocampo

avviene attraverso il fornice ai corpi mamillari e al nucleo latero-dorsale del talamo. I corpi mamillari a loro volta proiettano al nucleo talamico anteriore, mentre sia il nucleo anteriore che quello latero-dorsale del talamo hanno ampie proiezioni al PCC. Le proiezioni dal PCC all'area pre-subiculare completano il circuito di Papez. Vi sono anche significative e dirette proiezioni dalla corteccia entorinale al PCC.

Sulla base di tali connessioni, nello stadio preclinico di AD, l'isolamento del PCC dagli input e dagli output sinaptici del MTL è un importante meccanismo alla base dei deficit cognitivi che caratterizzano i pazienti con MCI che progrediscono verso AD. Studi neuropsicologici suggeriscono, infatti, il ruolo del PCC in funzioni cognitive quali la memoria e l'orientamento spaziale.

Una simile disconnessione cortico-corticale si tradurrebbe poi in una riduzione del rCBF, documentata a livello del PCC.

I nostri dati si inseriscono in una serie di studi che tendono a sottolineare il ruolo del PCC nello sviluppo della patologia nell'AD, la cui riduzione del rCBF è stata recentemente proposta come segno importante nella diagnosi differenziale dell' AD rispetto ad altre forme di demenza (“posterior cingulate sign”) (Bonte et al., 2004).

## CONCLUSIONI

Nell'imaging dell' AD e del MCI, la correzione del PVE nelle immagini funzionali riveste un ruolo essenziale al fine di ottenere misure accurate relative all'uptake corticale dei traccianti.

Nello studio attuale, è stato utilizzato un software di analisi integrato di studi SPET cerebrali e di quelli MRI co-registrati e segmentati che accoppia un modulo di localizzazione automatica di ROI con un metodo di PVEc. In questo modo è stato possibile ottenere, con elevato grado di accuratezza, i reali valori delle ROI relative alla GM.

L'analisi quantitativa dei dati, dopo correzione del PVE, ha consentito di stabilire che, la riduzione selettiva del rCBF a livello del PCC precede le alterazioni morfo-strutturali a tale livello nell'AD rispetto al MCI, e sembrerebbe correlata alla disconnessione funzionale.



Studi longitudinali sono necessari per stabilire se l'ipoperfusione del PCC possa essere ragionevolmente usata come parametro per identificare nel gruppo eterogeneo dei pazienti con MCI, quelli che svilupperanno AD allo scopo di iniziare in questi adeguate terapie preventive che possano bloccare o quanto meno rallentare l'evoluzione della malattia.

## BIBLIOGRAFIA

1. Ashburner J., Friston K.J. Voxel-based morphometry: the methods.  
*Neuroimage 2000; 11:805-821.*
2. Baron J.C., Chetelat G., Desgranges B., Perchey G., Landeau B., de la Sayette V., eustache F. In vivo Mapping of Gray Matter Loss with Voxel-Based Morphometry in Mild Alzheimer's Disease.  
*Neuroimage 2001; 14:298-309.*
3. Berkouk K. et al. *HBM meeting 2003; Abs 1017.*
4. Bonte F.J., Harris T.S., Celeste A.R., Hynan L.S. Differential diagnosis between Alzheimer's and Frontotemporal disease by the posterior cingulated sign. *J Nucl Med 2004; 45:771-774.*
5. Braak H., Braak E. Evolution of the neuropathology of Alzheimer's disease. *Acta Neurol Scand Suppl. 1996; 165:3-12.*

6. Brunetti A., Postiglione A., Tedeschi E., Ciarmiello A., Quarantelli M., Covelli E. M., Milan G., Larobina M., Soricelli A., Sodano A., Alfano B. Measurement of global brain atrophy in Alzheimer's disease with unsupervised segmentation of spin-echo MRI studies. *J Magn Reson Imaging* 2000; 11(3):260-266
7. Chang L. *IEEE Trans Nucl Sci* 1987; 25:638-643
8. Chetelat G., Baron J.C. Early diagnosis of Alzheimer's disease: contribution of structural neuroimaging. *Neuroimage* 2003; 18:525-541.
9. Delacourte A., David J.P., Sergeant N., Buee L., Wattez A., Vermersch P., Ghzali F., Fallet-Bianco C., Pasquier F., Lebert F., Petit H., Di Menza C. The biochemical pathway of neurofibrillary degeneration in aging and Alzheimer's disease. *Neurology* 1999; 52(6):1158-1165.

10. Flicker C., Ferris S.H., Reisberg B. Mild Cognitive Impairment in the elderly: predictors of dementia. *Neurology* 1991; 41(7):1006-1009.
11. Huang C., Wahlund L.O., Svensson L., Winblad B., Julin P. Cingulate cortex hypoperfusion predicts Alzheimer's disease in mild cognitive impairment. *BMC Neurology* 2002; 2:9.
12. Ibanez V, Pietrini P, Alexander GE, Furey ML, Teichberg D, Rajapakse JC, Rapoport SI, Schapiro MB, Horwitz B. Regional glucose metabolic abnormalities are not the result of atrophy in Alzheimer's disease. *Neurology*. 1998 Jun;50(6):1585-93.
13. Johnson K.A., Jones K., Holman B.L., Becker J.A., Spiers P.A., Satlin A. Preclinical prediction of Alzheimer's disease using SPET. *Neurology* 1998; 50:1563-1571.

14. Johnson S.C., Saykin A.J., Baxter L.C., Flashman L.A., Santulli R.B., McAllister T.W. The relationship between fMRI activation and cerebral atrophy: comparison of normal aging and Alzheimer's disease. *Neuroimage* 2000; 11:179-187.
15. Julin P., Lindqvist J., Svesnson L., Slomka P., Wahlund L.O. MRI-guided SPET measurements of medial temporal lobe blood flow in Alzheimer's disease. *J Nucl Med* 1997; 38:914-919.
16. Karas G.B., Burton E.J., Rombouts S.A.R.B., van Schijndel R.A., O'Brien J.T., Scheltens P., McKeith I.G., Williams D., Ballaré C., Barkhof F. A comprehensive study of gray matter loss in patients with Alzheimer's disease using optimized voxel-based morphometry. *Neuroimage* 2003; 18:895-907.
17. Kluger A., Ferris S.H., Golomb J., Mittelman M.S., Reisberg B. Neuropsychological prediction of decline to dementia in

- nondemented elderly. *J Geriatr Psychiatry Neurol.* 1999;  
*12(4):168-179.*
- 18.Kogure D., Matsuda H., Ohnishi T., Asada T., Uno M., Kunihiro T.,  
Nakano S., Takasaki M. Longitudinal evaluation of early  
Alzheimer's disease using brain perfusion SPET. *J Nucl Med* 2000;  
*41:1155-1162.*
19. Matsuda H., Kitayama N., Ohnishi T., Asada T., Nakano S.,  
Sakamoto S., Imabayashi E., Katoh A. Longitudinal evaluation of  
both morphologic and functional changes in the same individuals  
with Alzheimer's disease. *J Nucl Med* 2002a; *43:304-311.*
- 20.Matsuda H, Kanetaka H, Ohnishi T, Asada T, Imabayashi E,  
Nakano S, Katoh A, Tanaka F. Brain SPET abnormalities in  
Alzheimer's disease before and after atrophy correction. *Eur J Nucl  
Med* 2002b; *29:1502–1505.*

21. McKhann G., Drachman D., Folstein M., Katzman R., Price D., Stadlan E. Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: Report of the NINCDS-ADRDA Work Group under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease. *Neurology* 1984; 63:94-100.
22. Minoshima S., Giordani B., Berent S., Frey K.A., Foster N.L., Kuhl D.E. Metabolic reduction in the posterior cingulate cortex in very early Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 1997; 42:85-94.
23. Nestor P.J., Fryer T.D., Smielewski P., Hodges J.R. Limbic hypometabolism in Alzheimer's disease and Mild Cognitive Impairment. *Ann Neurol* 2003; 54:343-351.
24. Ohnishi T., Hoshi H., Nagamachi S. High-resolution SPET to assess hippocampal perfusion in neuropsychiatric diseases. *J Nucl Med* 1995; 36:1163-1169.

25. Pearson R.C.A., Esiri M.M., Hiorns R.W., Wilcock G.K., Powell T.P.S. Anatomical correlates of the distribution of the pathological changes in the neocortex in Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985; 82(13):4531-4534.
26. Petersen R.C., Doody R., Kurz A., Mohs R.C., Morris J.C., Rabins P.V., Ritchie K., Rossor M., Thal L., Winblad B. Current concepts in Mild Cognitive Impairment. *Arch Neurol.* 2001; 58:1985-1992.
27. Petersen R.C., Smith G.E., Waring S.C, Ivnik R.J., Tangalos E.G., Kokmen E. Mild Cognitive impairment: clinical characterization and outcome. *Arch Neurol.* 1999; 56:303-308.
28. Petersen R.C., Stevens J.C., Ganguli M., Tangalos E.G., Cummings J.L., DeKosky S.T. Practice Parameter: Early Detection of Dementia: Mild Cognitive Impairment (An Evidence-Based



- Review). Report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology* 2001; 56:1133-1142.
29. Quarantelli M., Berkouk K., Prinster A., Landeau B., Svarer C., Balkay L., Alfano B., Brunetti A., Baron J.C., Salvatore M. Integrated software for the analysis of brain PET/ SPET studies with Partial-Volume-Effect correction. *J Nucl Med* 2004; 45:192-201.
30. Reiman E.M., Caselli R.J., Yun L.S., Bandy D., Minoshima S. Preclinical evidence of Alzheimer's disease in person homozygous for the epsilon 4 allele for apolipoprotein E. *N Engl J Med* 1996; 334:752-758.
31. Rodriguez G., Nobili F., Copello F. 99mTc-HMPAO regional cerebral blood flow and quantitative electroencephalography in

Alzheimer's disease: a correlative study. *J Nucl Med* 1999; 40:522-529.

32. Rousset O.G., Ma Y., Evans A.C. Correction for partial volume effects in PET: principle and validation. *J Nucl Med* 1998; 39(5):904-911.

33. Scahill R.I., Schott J.M., Stevens J.M., Rossor M.N., Fox N.C. Mapping the evaluation of regional atrophy in Alzheimer's disease: unbiased analysis of fluid-registered serial MRI. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99(7):4703-4707. Scarmeas N., Habeck C.G., Zarahn E., Anderson K.E., Park A., Hilton J., Pelton G.H., Tabert M.H., Honig L.S., Moeller J.R., Devanand D.P., Stern Y. Covariance PET patterns in early Alzheimer's disease and subjects with cognitive impairment but no dementia: utility in group

discrimination and correlations with functional performance.

*Neuroimage 2004; 23:35-4*

34. Small G.W., Ercoli L.M., Silverman D.H., Huang S.C., Komo S.,

Bookheimer S.Y. Cerebral metabolic and cognitive decline in person at genetic risk for Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci*

*USA 2000; 97:6037-6042.*

35. Smith A.D. Imaging the progression of Alzheimer pathology

through the brain. *Proc Natl Acad Sci USA 2002; 99(7):4135-*

*4137.* Wolf H., Hensel A., Kruggel F., Riedel-Heller S.G., Arendt

T., Wahlund L.O., Gertz H.J. Structural correlates of mild cognitive

impairment. *Neurobiol Aging 2004; 25:913-924.*

36. Studholme, Hill and Hawkes. A normalized entropy measure of 3D

medical image alignment". *In Proc. Medical Imaging 1998, vol.*

*3338, San Diego, CA, p*

# APPENDICE

## *Metodo di correzione*

Il metodo di correzione del PVE utilizzato nel presente lavoro (Rousset et al., 1996) si basa sull'uso di matrici di coefficienti di trasferimento dipendenti dalla geometria. Tali coefficienti rappresentano la frazione di attività riferita, a causa del PVE, a ciascuna ROI da ognuna delle diverse regioni cerebrali.

Assumendo che le ROI coprano l'intero campo di vista 3D (o almeno la parte di esso dove è presente un'attività apprezzabile), l'attività  $t_j$  misurata nella  $j^{\text{th}}$  ROI può essere formalmente considerata come la somma delle attività presenti in tutte le ROI (inclusa la stessa  $j^{\text{th}}$ ), ciascuna pesata per un fattore dipendente dalla geometria (chiamato coefficiente di trasferimento regionale) che rappresenta la percentuale di attività riferita dal  $i^{\text{th}}$  alla  $j^{\text{th}}$  ROI.

$$t_j = \sum_{i=1}^N \omega_{ij} T_i \quad (1)$$

I coefficienti di trasferimento possono essere elaborate ed arrangiati nella seguente matrice

$$\begin{bmatrix} t_1 \\ t_2 \\ \dots \\ t_N \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \omega_{11} & \omega_{21} & \dots & \omega_{N1} \\ \omega_{12} & \omega_{22} & \dots & \omega_{N2} \\ \dots & \dots & \dots & \dots \\ \omega_{1N} & \omega_{2N} & \dots & \omega_{NN} \end{bmatrix} \times \begin{bmatrix} T_1 \\ T_2 \\ \dots \\ T_N \end{bmatrix} \quad (2)$$

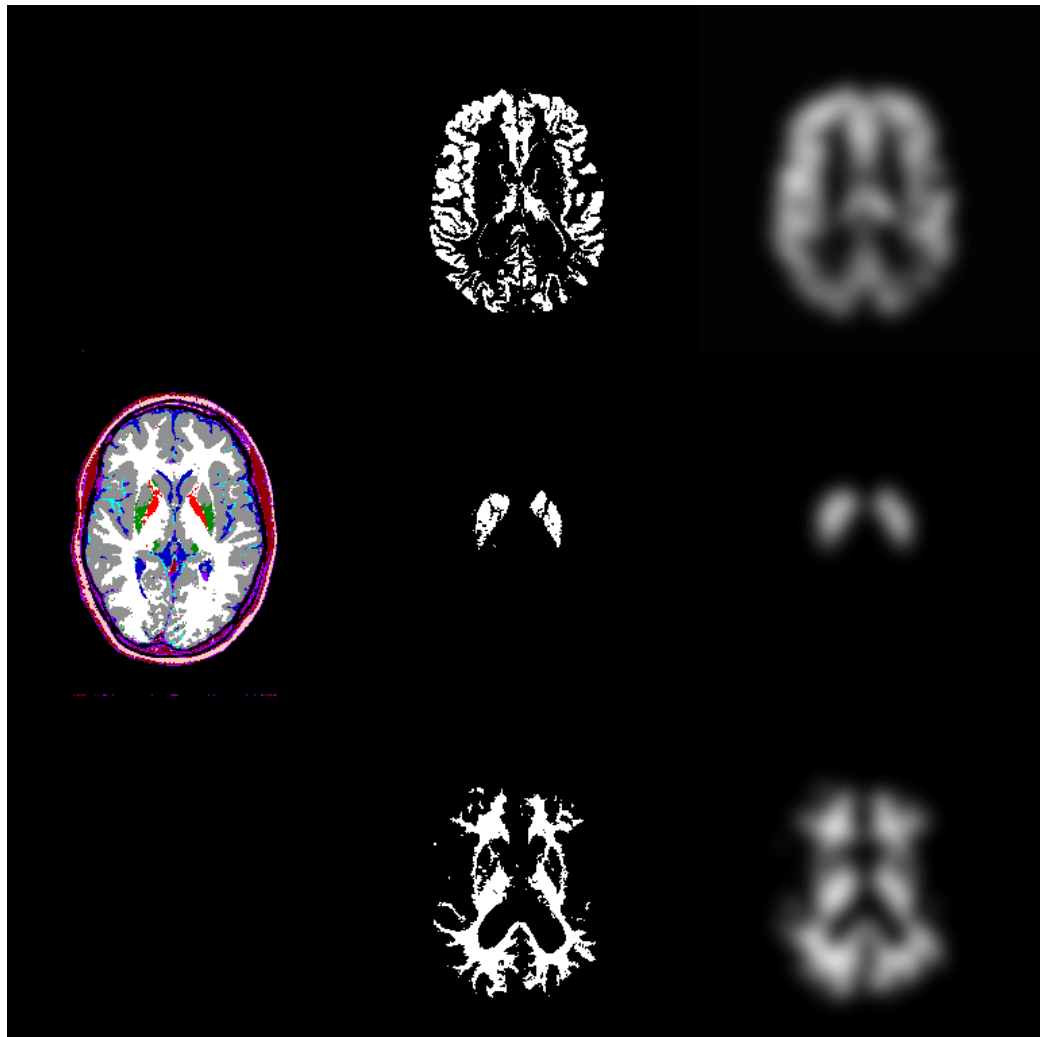
La matrice (2) rappresenta un sistema di  $N$  equazioni lineari, dove  $N$  rappresenta il numero di ROI, con  $N$  incognite, ciascuna delle quali rappresenta la concentrazione media reale del tracciante all'interno della ROI. Si noti che i membri diagonali dell'elemento centrale ( $\omega_{11}, \omega_{22}, \dots, \omega_{NN}$ ) rappresentano i stessi coefficienti di trasferimento (ad esempio, la percentuale di attività che rimane in ciascuna ROI).

Una volta che sono noti i coefficienti di trasferimento regionale, questo sistema può essere risolto, fornendo in tal modo le concentrazioni reali di traccianti.

I coefficienti di trasferimento regionale possono essere calcolati separatamente se si conosce la "point spread function" (PSF) dello scanner. Infatti, se si convolve la mappa delle  $j^{\text{th}}$  ROI con la PSF dello scanner (Fig 1 Rousset), la percentuale di attività che viene riferita all'interno delle  $i^{\text{th}}$  ROI rappresenta il coefficiente di trasferimento regionale  $\omega_{ji}$ . Questa procedura può essere eseguita per tutte le  $N^2$  coppie di ROI, fornendo così tutti i coefficienti di trasferimento.

Sebbene dipendenti dalla grandezza della ROI, le tecniche che si basano sulle ROI sono teoricamente meno sensibili al rumore e all'inaccuratezza della segmentazione e della co-registrazione, poiché gli errori sono mediati su ampi volumi, dove ROI di maggiore ampiezza forniscono risultati più robusti. Le ROI, comunque, devono essere definite a priori e assumendo di solito una omogeneità di segnale all'interno della ROI che non potrebbe essere reale.

Usando questo metodo, le misure corrette per il PVE relative alla concentrazione di attività nelle regioni calde soffrono di un errore residuo del 5% per mm di mis-registrazione assiale (Rousset et al., 1993).

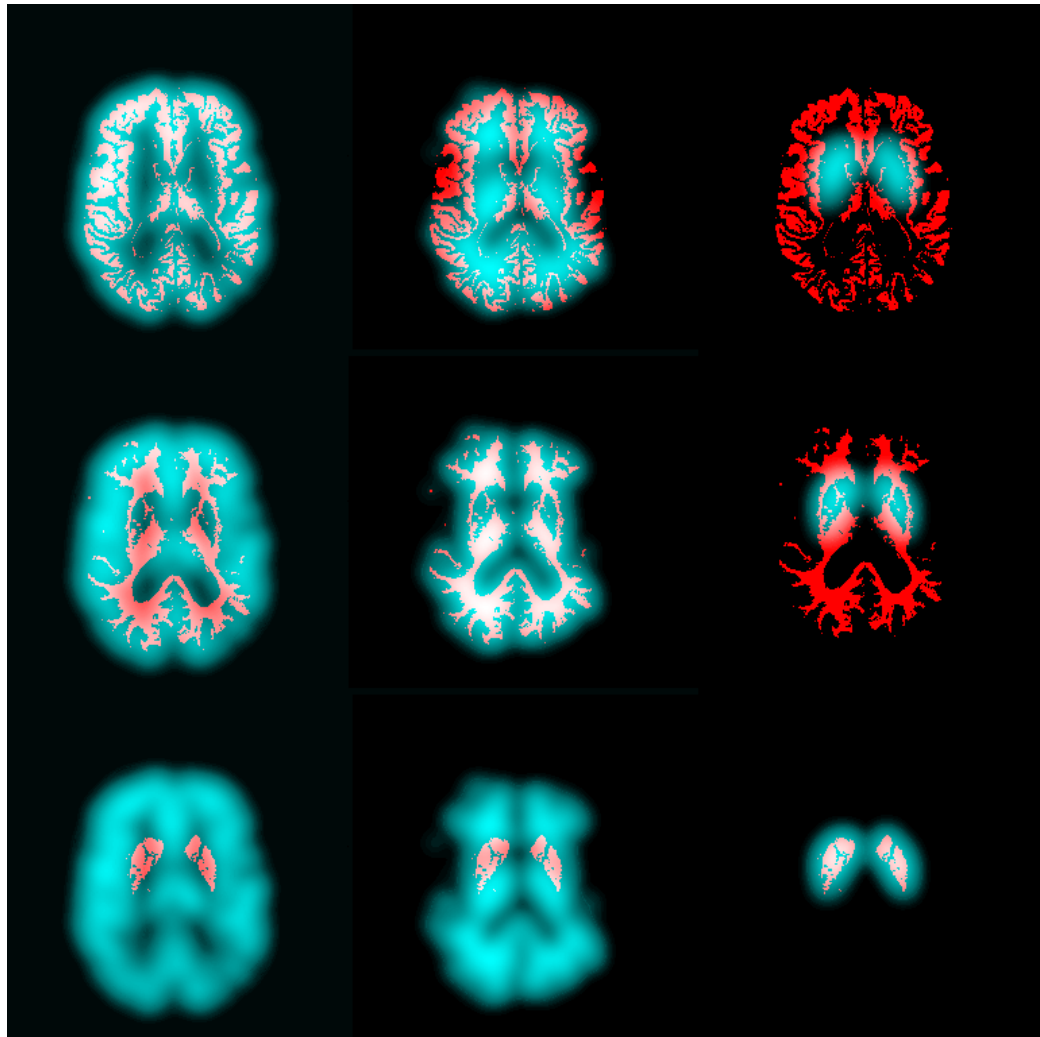


**Figure 1 Rousset A**

Esempio di procedura per il calcolo dei coefficienti di trasferimento regionale usati nel nostro studio per il calcolo dei valori medi reali di GM, WM e BG (gangli della base).

In questo esempio, eseguito solo in 2D per semplicità, da un'immagine segmentata (a sinistra) vengono derivate 3 ROI (al centro), rispettivamente, dall'alto verso il basso, GM, BG e WM.

Per ciascuna di queste ROI, sono state ottenute la corrispondente PET virtuale (a destra) mediante convoluzione per la PSF dello scanner.



**Figure 1 Rousset B**

I coefficienti di trasferimento regionali vengono successivamente ottenuti calcolando quale percentuale della PET virtuale (azzurro) di GM (colonna di sinistra), WM (colonna centrale) e BG (colonna di destra) cade all'interno delle ROI (rosso) di GM (riga superiore), WM (riga centrale) e BG (riga inferiore).

Si noti che gli elementi diagonali rappresentano i coefficienti di auto-trasferimento (i.e. GM a GM, WM a WM e BG a BG)

## INDICE

- **Introduzione** pag. 1
- **Pazienti e Metodi** pag. 14
- **Risultati** pag. 19
- **Discussione** pag. 21
- **Conclusioni** pag.31
- **Bibliografia** pag.33
- **Appendice** pag. 43