

INDICE

ABSTRACT	I
1. TEORIA	1
1.1. <i>Anatomia dell'encefalo</i>	1
1.1.1 <i>Midollo allungato</i>	1
1.1.2 <i>Ponte</i>	2
1.1.3 <i>Mesencefalo</i>	2
1.1.4 <i>Diencefalo</i>	3
1.1.5 <i>Cervello</i>	4
1.1.6 <i>Cervelletto</i>	5
1.1.7 <i>La sostanza grigia</i>	6
1.1.8 <i>La sostanza bianca</i>	7
1.1.9 <i>Liquido cerebrospinale (liquor)</i>	7
1.1.10 <i>Ventricoli encefalici</i>	8
1.1.11 <i>Aree di Brodmann</i>	8
1.2 SPECIALIZZAZIONE DEGLI EMISFERI	12
1.3 PATOLOGIE NEURODEGENERATIVE.....	12
1.3.1 <i>Demenza di Alzheimer (AD)</i>	13
1.3.2 <i>Degenerazione corticobasale (CBD)</i>	14
1.3.3 <i>Deterioramento cognitivo lieve (MCI)</i>	16
1.3.4 <i>Demenza frontotemporale (DFT)</i>	17
1.4 RISONANZA MAGNETICA.....	18
1.5 PARAMETRI DI RISONANZA MAGNETICA	20
1.6 RISONANZA FUNZIONALE.....	21
1.6.1 <i>Cenni storici</i>	23
1.6.2 <i>Segnale BOLD</i>	25
1.6.3 <i>Risonanza funzionale con stimoli</i>	29
1.6.4 <i>Resting state</i>	32
1.6.5 <i>Default Mode Network (DMN)</i>	33
2. MATERIALI E METODI	35
2.1 SOGGETTI.....	35

2.2	STRUMENTAZIONE	35
2.3	ACQUISIZIONE DELL'ESAME DI RM	37
2.4	SPM - CONN.....	38
2.4.1	<i>SPM</i>	38
2.4.2	<i>CONN</i>	38
2.4.3	<i>Conversione dei dati</i>	38
2.4.4	<i>Basic Info</i>	39
2.5	PREELABORAZIONE.....	42
2.5.1	<i>Realignment</i>	42
2.5.2	<i>Slice-timing</i>	43
2.5.3	<i>Outlier detector</i>	44
2.5.4	<i>Functional normalization (direct)</i>	45
2.5.5	<i>Smoothing</i>	46
2.5.6	<i>Come eseguire la pipeline di preelaborazione di CONN</i> ...	46
2.6	DENOISING	47
2.6.1	<i>Valutazione dei risultati di denoising</i>	47
2.6.2	<i>Come eseguire la pipeline di denoising di CONN</i>	49
2.7	ANALYSES (1ST-LEVEL) - MISURE DI CONNETTIVITÀ FUNZIONALE.....	50
2.7.1	<i>Misure di connettività seed-based (SBC)</i>	50
2.7.2	<i>Come calcolare le mappe SBC di CONN</i>	53
2.8	ANALYSES (2ND-LEVEL) – DEDUZIONI A LIVELLO DI CLUSTER	53
2.8.1	<i>Statistiche parametriche basate sulla Random Field Theory (RFT)</i>	54
2.8.2	<i>Come ottenere le deduzioni a livello di cluster su CONN</i> ...	56
3.	RISULTATI	57
3.1	DEMENZA DI ALZHEIMER E DEMENZA FRONTOTEMPORALE: CONFRONTO DELL'AVERAGE CONNETTIVITY	59
3.1.1	<i>DMN della Corteccia Prefrontale Media</i>	59
3.1.2	<i>DMN del Lobo Parietale Laterale Sinistro</i>	62
3.1.3	<i>DMN del Lobo Parietale Laterale Destro</i>	64
3.1.4	<i>DMN della Corteccia Cingolata Posteriore</i>	66
3.2	DEMENZA DI ALZHEIMER E DETERIORAMENTO COGNITIVO LIEVE: CONFRONTO DELL'AVERAGE CONNETTIVITY	68

3.2.1	<i>DMN della Corteccia Prefrontale Media</i>	68
3.2.2	<i>DMN del Lobo Parietale Laterale Sinistro</i>	71
3.2.3	<i>DMN del Lobo Parietale Laterale Destro</i>	73
3.2.4	<i>DMN della Corteccia Cingolata Posteriore</i>	75
3.3	DEMENZA FROTNTEMPORALE E DETERIORAMENTO COGNITIVO LIEVE: CONFRONTO DELL' AVERAGE CONNETTIVITY	77
3.3.1	<i>DMN della Corteccia Prefrontale Media</i>	77
3.3.2	<i>DMN del Lobo Parietale Laterale Sinistro</i>	79
3.3.3	<i>DMN del Lobo Parietale Laterale Destro</i>	80
3.3.4	<i>DMN della Corteccia Cingolata Posteriore</i>	82
4.	CONCLUSIONI.....	83
5.	ELENCO ACRONIMI	85
6.	BIBLIOGRAFIA E SITOGRAFIA.....	87

ABSTRACT

La presente tesi ha come obiettivo fondamentale quello di analizzare i pattern di connettività funzionale cerebrale in pazienti affetti da diverse forme di demenza. I soggetti che sono stati fonte di studio risultano affetti da quattro diverse patologie neurodegenerative: demenza di Alzheimer, demenza frontotemporale, demenza corticobasale e deterioramento cognitivo lieve.

Per poter effettuare le valutazioni, la prima fase è l'esecuzione di un esame di risonanza magnetica funzionale dell'encefalo allo stato di riposo. Nel caso di questo studio, l'esame è stato effettuato presso il dipartimento di scienze radiologiche dell'Azienda Ospedaliero Universitaria Delle Marche (AN), dove è stato installato il sistema GE SIGNA PET/RM, una nuova apparecchiatura ibrida che consente l'acquisizione simultanea di immagini PET ed RM. Tuttavia, per questo lavoro di tesi, è stato necessario utilizzare solo la componente RM, il cui scanner integrato presenta un campo magnetico statico di 3T. Quest'ultima caratteristica consente di ottenere una migliore definizione delle immagini, una significativa riduzione dei tempi di acquisizione e un notevole aumento della risoluzione spaziale, rendendo così la RM 3T una scelta ideale per l'analisi dettagliata delle strutture e delle funzioni cerebrali.

Dall'esame di risonanza funzionale con tecnica resting state effettuato sui soggetti è possibile ottenere informazioni sulla funzione di regioni cerebrali specifiche e sulla connettività funzionale tra diverse parti del cervello. L'esame di risonanza di questo tipo si concentra sull'osservazione delle variazioni spontanee nel segnale BOLD (Blood-Oxygen-Level Dependent), permettendo così di indagare e comprendere meglio la funzionalità cerebrale in assenza di attività specifica da compiti o stimoli esterni. Il segnale BOLD è il risultato della complessa interazione tra il flusso, il volume e l'ossigenazione del sangue in risposta ai cambiamenti nell'attività neuronale.

Questa tecnica riesce, nella pratica, a rilevare i cambiamenti nella distribuzione dell'ossigeno legato all'attività cerebrale e li traduce in variazioni del segnale RM che possono essere utilizzate per mappare l'attività neuronale nel cervello.

La successiva elaborazione delle immagini, ottenute dall'esame di risonanza, prevede una serie di passaggi effettuabili tramite l'utilizzo della toolbox CONN, un software multipiattaforma in grado di eseguire calcoli, visualizzazioni e analisi di connettività funzionale. La prima fase è quella della preelaborazione, che corregge o riduce l'impatto di una serie di fattori noti che possono influenzare negativamente la qualità dei dati. Si passa poi alla fase di denoising che consiste in una serie di procedure standard che identificano e rimuovono fonti di rumore residuo non correlato all'attività neurale. Si procede quindi con l'analisi di primo livello che si propone di valutare il grado di connettività funzionale tra diverse regioni cerebrali, mediante la misurazione delle correlazioni temporali tra le fluttuazioni del segnale BOLD. Infine, si conclude con le analisi di secondo livello che comportano la conduzione di test statistici separati per ciascuna unità di analisi individuale.

Per ottenere dei risultati più significativi dalle analisi di secondo livello è stato necessario studiare i soggetti raggruppandoli secondo la patologia da cui sono affetti e confrontandoli tra loro. Nello specifico queste analisi sono state ripetute per 3 gruppi: nel primo gruppo sono state analizzate le differenze tra i soggetti affetti da demenza di Alzheimer e quelli affetti da demenza frontotemporale; nel secondo gruppo abbiamo calcolato le differenze tra i pazienti con demenza di Alzheimer e i pazienti a cui è stata diagnosticata una forma di deterioramento cognitivo lieve; infine, per il terzo gruppo, abbiamo valutato le differenze nella connettività funzionale tra i pazienti con demenza frontotemporale e il gruppo di pazienti con deterioramento cognitivo lieve.

1. TEORIA

1.1. ANATOMIA DELL'ENCEFALO

L'encefalo ha una complessa struttura tridimensionale e svolge uno stupefacente numero di funzioni. Si tratta di un organo che contiene circa 20 miliardi di neuroni, ognuno dei quali può elaborare informazioni provenienti da 200'000 differenti fonti contemporaneamente. Grazie alla sua straordinaria capacità di elaborazione, l'encefalo è la fonte dei sogni, delle passioni, dei progetti, dei ricordi e dei comportamenti di ognuno di noi. Tutto ciò che facciamo e che siamo è frutto della sua attività.

L'encefalo adulto può essere suddiviso in sei regioni principali: il midollo allungato, il ponte, il mesencefalo (che insieme formano il tronco encefalico), il diencefalo, il cervello e il cervelletto. Queste diverse regioni svolgono ruoli specifici e collaborano sinergicamente per consentirci di esistere, pensare, muoverci e vivere la nostra complessa vita quotidiana.

1.1.1 Midollo allungato

Il midollo allungato è il punto di connessione tra il midollo spinale e il tronco encefalico [Figura 1]. In questa regione le informazioni sensitive vengono indirizzate al talamo e ad altri centri del tronco encefalico; inoltre, contiene i principali centri per la regolazione delle funzioni autonome, come la frequenza cardiaca, la pressione sanguigna e la digestione.

La sua porzione caudale è simile al midollo spinale, in quanto possiede una forma rotondeggiante e un sottile canale centrale. In prossimità del ponte, si allarga per continuare nel quarto ventricolo.

Il midollo allungato include tre gruppi di nuclei che hanno diverse funzioni:

- 1- Stazioni intermedie e centri di elaborazione: molti fasci ascendenti possono contrarre sinapsi nei nuclei sensitivi e motori del midollo allungato che agiscono come stazioni intermedie.

- 2- Nuclei dei nervi cranici.
- 3- Nuclei autonomi: responsabili della regolazione delle funzioni vitali autonome.

1.1.2 Ponte

Il ponte si trova immediatamente al di sopra del midollo allungato [Figura 1]; il suo nome deriva dal fatto che svolge un ruolo di connessione tra il cervelletto e il tronco encefalico. Il ponte contiene nuclei coinvolti nel controllo motorio viscerale e somatico.

Forma una prominente sporgenza sulla superficie anteriore del tronco encefalico. Gli emisferi cerebellari si trovano posteriormente al ponte, dal quale sono parzialmente separati tramite il quarto ventricolo. Il ponte contiene:

- Nuclei motori e sensitivi per quattro nervi cranici.
- Nuclei che coadiuvano il controllo involontario della respirazione.
- Nuclei che elaborano e trasmettono comandi cerebellari che arrivano tramite i peduncoli cerebellari medi.
- Fasci ascendenti, discendenti e orizzontali.

1.1.3 Mesencefalo

I nuclei presenti nel mesencefalo elaborano le informazioni visive e uditive, e coordinano e dirigono risposte motorie somatiche involontarie a tali stimoli. Questa regione contiene anche alcuni centri coinvolti nel mantenimento della coscienza.

La superficie del mesencefalo è detta tetto e contiene due paia di nuclei sensitivi, i tubercoli quadrigemini superiori e inferiori. Il mesencefalo contiene inoltre i principali nuclei della formazione reticolare. Stimoli specifici di questa regione possono produrre un gran numero di risposte motorie involontarie [Figura 1].

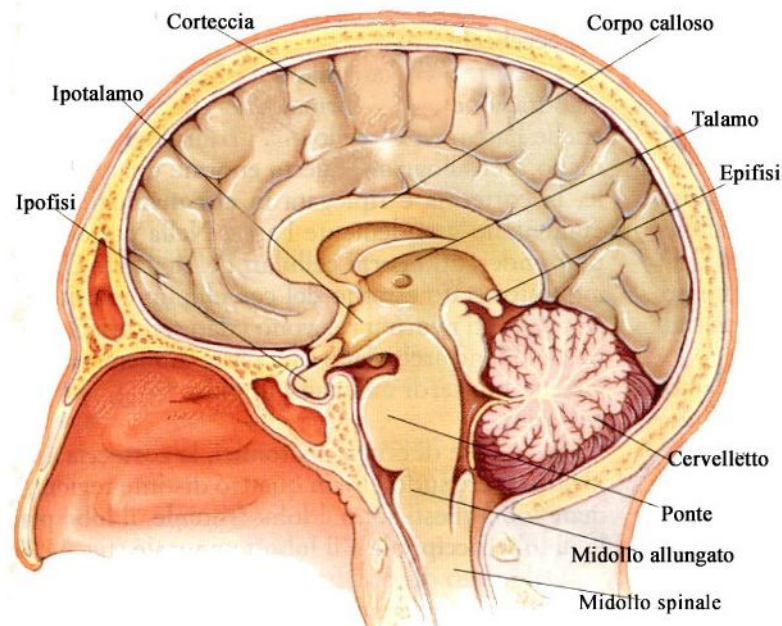


Figura 1: Sezione sagittale dell'anatomia dell'encefalo

1.1.4 Diencefalo

Il diencefalo costituisce la porzione profonda dell'encefalo, in continuità con il cervello e connette gli emisferi cerebrali. Presenta quattro suddivisioni:

- Epitalamo: Costituisce il tetto e la parete posteriore del terzo ventricolo. Contiene posteriormente la ghiandola pineale, o epifisi, formazione endocrina che secerne melatonina. Quest'ultima è fondamentale per la regolazione dei cicli circadiani, con effetti secondari sulle funzioni riproduttive.
- Talamo: La maggior parte del tessuto nervoso del diencefalo si trova nel talamo di destre e di sinistra. Si tratta di due formazioni ovoidali che costituiscono le pareti del diencefalo e sono centri di controllo di informazioni sensitive e motorie. Le informazioni sensitive ascendenti, provenienti dal midollo spinale e dai nervi cranici vengono elaborate nei nuclei talamici. Il talamo agisce come una sorta di filtro, permettendo il passaggio unicamente di una parte delle informazioni che vi arrivano. Il talamo è un'importante stazione che

coordina le attività motorie a livello conscio e inconscio. I due talami sono separati dal terzo ventricolo.

- Ipotalamo: È un centro di controllo viscerale. Un sottile peduncolo collega l'ipotalamo alla ghiandola pituitaria (ipofisi). Contiene un gran numero di importanti centri integrativi. I centri ipotalamici ricevono continue informazioni sensitive dal cervello, dal tronco encefalico e dal midollo spinale. Questi neuroni percepiscono e rispondono a variazioni della composizione del LCS e del liquido interstiziale. È la principale congiunzione tra sistema nervoso e sistema endocrino.
- Subtalamo: Partecipa al controllo e alla regolazione della motilità.

1.1.5 Cervello

Il cervello è la regione più voluminosa ed è suddiviso in due ampi emisferi cerebrali. Separati da una scissura longitudinale. La superficie è detta corteccia cerebrale è costituita di sostanza grigia ed ha un aspetto convoluto per la presenza di solchi. Quest'ultimi separano le circonvoluzioni adiacenti, dette, dette giri. Alcuni solchi più ampi dividono il cervello in lobi, ogni lobo prende il nome dell'osso osso del cranio con cui contrae rapporto topografico [Figura 2].

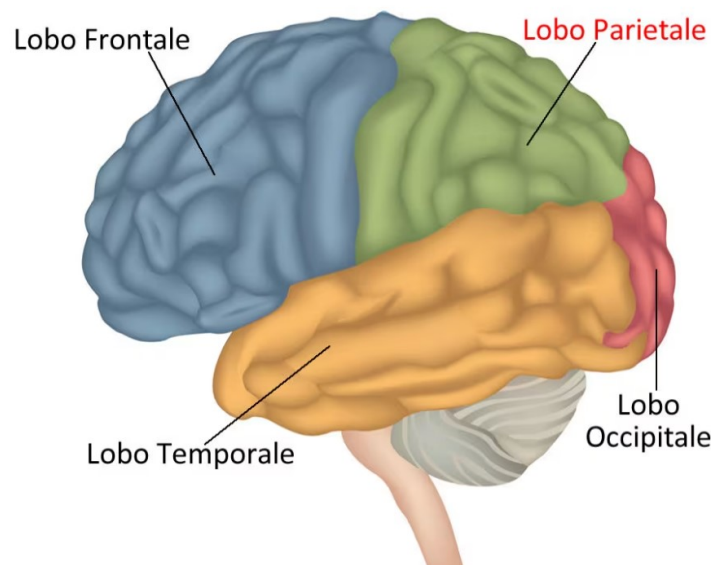


Figura 2: rappresentazione della posizione dei lobi cerebrali.

La corteccia ricopre i due emisferi cerebrali e forma una serie di giri che aumentano la l'area di superficie degli emisferi. Inoltre, presiede alle più complicate funzioni nervose, e funzioni analitiche e integrative complesse richiedono un gran numero di neuroni.

Ogni emisfero riceve informazioni sensitive e genera comandi motori destinati alla metà opposta del corpo. Sono inoltre presenti delle differenze funzionali tra i due emisferi. L'assegnazione di una specifica funzione a una specifica regione della corteccia è sempre imprecisa. Poiché i limiti sono indistinti, con considerevole sovrapposizione, ogni regione può svolgere diverse funzioni. Alcuni aspetti, come la coscienza, non possono essere assegnati a nessuna singola regione.

La maggior parte del cervello è coinvolta nell'elaborazione di informazioni sensitive e motorie somatiche. Quest'ultime quando vengono trasportate al cervello, raggiungono lo stato di coscienza e i neuroni cerebrali esercitano un controllo diretto o indiretto.

1.1.6 Cervelletto

Il cervelletto presenta due emisferi cerebellari. Le pieghe sono meno prominenti rispetto alle circonvoluzioni degli emisferi cerebrali. Ogni emisfero consiste di due lobi anteriore e posteriore separati da una scissura primaria. Lungo la linea mediana gli emisferi sono separati da una sottile striscia di tessuto corticale, detta verme. La corteccia cerebellare contiene le voluminose cellule di Purkinje, ramificate, da cui si diparte un gran numero di dendriti che si aprono a ventaglio nella sostanza grigia.

All'interno, la sostanza bianca del cervelletto, presenta una struttura ramificata definita arbor vitae per la sua forma che ricorda un albero.

Il cervelletto riceve informazioni propriocettive dal midollo spinale e controlla tutte le informazioni visive, tattili, statiche e uditive che riceve dall'encefalo. Molti assoni non contraggono sinapsi nei nuclei cerebellari ma

passano attraverso gli strati profondi della corteccia del cervelletto dove contraggono sinapsi con le terminazioni dendritiche delle cellule di Purkinje.

Il cervelletto ha il compito di correggere automaticamente le attività motorie sulla base di informazioni sensitive e della memoria di movimenti acquisiti.

1.1.7 La sostanza grigia

La sostanza grigia è quella parte del tessuto nervoso che comprende i corpi cellulari dei neuroni, i dendriti e le fibre non mielinizzate, e costituisce la corteccia cerebrale. Essa riveste gli emisferi cerebrali e i nuclei encefalici più profondi, i gangli del sistema nervoso autonomo [Figura 3] e le colonne del midollo spinale dove assumono la caratteristica forma ad “H”. La sostanza grigia funge da punto di partenza per gli input motori e inoltre seleziona e avvia le informazioni che devono essere trasmesse dal sistema nervoso.

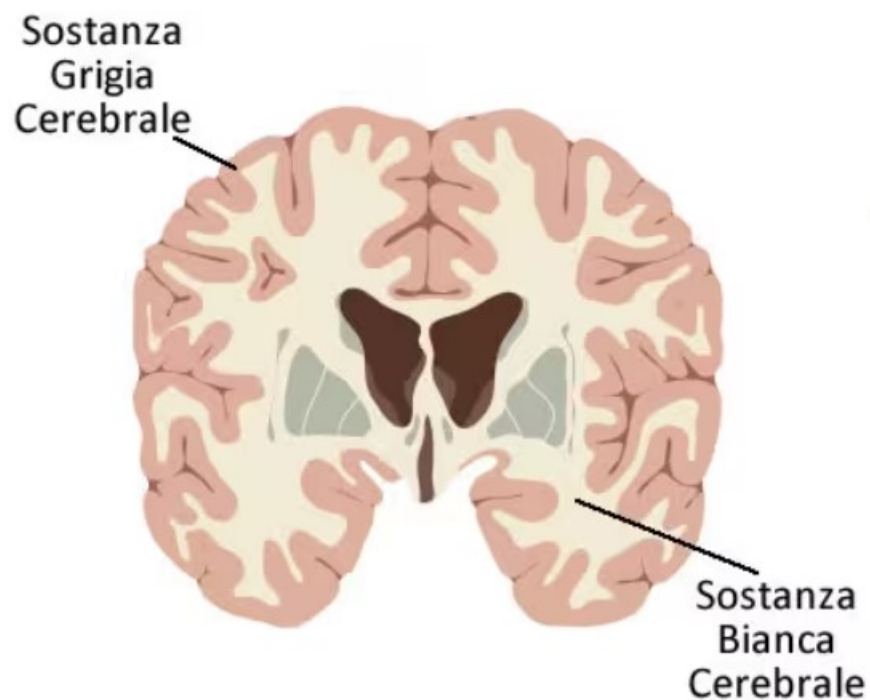


Figura 3: rappresentazione della distribuzione della sostanza bianca e della sostanza grigia in una sezione coronale dell'encefalo.

1.1.8 La sostanza bianca

La sostanza bianca è coperta dalla sostanza grigia della corteccia cerebrale [Figura 3]. Essa è composta da fibre mieliniche che si organizzano in fasci, i quali si estendono tra diverse aree corticali o collegano la corteccia a regioni distinte dell'encefalo. Nel suo insieme, questa sostanza bianca centrale contiene:

- le fibre associative, che interconnettono porzioni di corteccia cerebrale dello stesso emisfero. Le fibre più corte sono chiamate "fibre arcuate", esse seguono un percorso curvato, formando un arco che collega un giro cerebrale all'altro. D'altra parte, i "fascicoli longitudinali" fungono da connessioni tra il lobo frontale e gli altri lobi presenti nello stesso emisfero cerebrale;
- fibre commessurali, che permettono la comunicazione tra i due emisferi. Tra i fasci commessurali più importanti vi sono il corpo calloso e la commessura anteriore;
- le fibre di proiezione, che collegano la corteccia cerebrale al diencefalo, al tronco encefalico, al cervelletto e al midollo spinale. Tutti gli assoni, indipendentemente dalla loro destinazione nelle aree sensitive, motorie o associative della corteccia cerebrale, devono attraversare il diencefalo.

1.1.9 Liquido cerebrospinale (liquor)

Il liquido cerebrospinale (LCS) circonda e bagna le superfici esposte del sistema nervoso centrale (SNC) e svolge diverse importanti funzioni:

- Impedire il contatto tra le strutture nervose e le ossa circostanti;
- Sostenere l'encefalo il quale è sospeso nel cranio e galleggia nel liquor.
- Trasportare sostanze nutritizie, messaggeri chimici e prodotti di rifiuto.

Con l'eccezione del plesso coroideo, il rivestimento ependimale è permeabile, e il LCS si trova in costante comunicazione chimica con il liquido interstiziale del SNC. Poiché tra liquido interstiziale intercorrono ampi scambi, variazioni di Ph o di composizione chimica del SNC possono produrre cambiamenti nella composizione del LCS.

1.1.10 Ventricoli encefalici

Nel cervello adulto esistono 4 ventricoli: uno all'interno di ciascun emisfero cerebrale uno nel diencefalo e uno tra ponte e cervelletto. Ogni ventricolo è riempito di liquor e da cellule ependimali. I ventricoli laterali hanno una forma complessa, sono separati dal setto pellucido. Il corpo di ogni ventricolo è posizionato all'interno del lobo parietale e si estende in parte nel lobo frontale e nell'occipitale, tramite le corna anteriori e posteriori. I due ventricoli laterali sono in comunicazione con il terzo ventricolo tramite il foro interventricolare. Il quarto ventricolo è invece connesso al mesencefalo mediante l'acquedotto mesencefalico e si allunga e restringe fino al midollo allungato fino a canale centrale del midollo spinale. [1]

1.1.11 Aree di Brodmann

Nel cervello, diverse regioni della corteccia cerebrale svolgono ruoli chiave nelle funzioni cognitive e comportamentali. Una metodologia utilizzata per mappare queste regioni e le loro specifiche funzioni è l'approccio sviluppato da Korbinian Brodmann, che ha portato all'identificazione delle cosiddette "aree di Brodmann", così denominate in onore del suo ideatore. Grazie a questo sistema di classificazione, la corteccia cerebrale può essere divisa in 52 aree numerate in sequenza, consentendo una comprensione più dettagliata delle diverse funzioni cerebrali e delle relative localizzazioni. Queste aree sono distinte dall'anatomia microscopica attraverso le forme e i tipi di cellule e le loro connessioni. Nonostante le controversie sulla precisione della localizzazione di queste aree, le aree di Brodmann sono ancora oggi ampiamente utilizzate.

Brodmann (1909) studiò dettagliatamente la corteccia, osservando come i suoi strati, i tessuti, i neuroni e le altre cellule variassero in struttura e dimensione. Identificò e numerò le diverse aree del cervello di molti mammiferi, ponendo fine a una notevole confusione nella denominazione delle parti della corteccia che esisteva all'epoca. Prima della ricerca di Brodmann, alcune aree del cervello cominciavano a essere identificate, come le aree di Broca e Wernicke. Queste aree sono state identificate dopo che sono stati scoperti danni in queste aree, dopo che sono stati notati deficit di linguaggio in questi individui. La mappatura del cervello di Brodmann [Figura 4] si spinge oltre e descrive tutte le aree funzionali della corteccia in base alle caratteristiche anatomiche e alle microstrutture corticali. Le aree di Brodmann sono state ampiamente discusse, dibattute e perfezionate nel corso degli anni e rimangono la mappatura della corteccia più conosciuta e utilizzata. Di seguito sono riportate alcune delle aree principali:

Aree di Brodmann 1, 2 e 3 - Corteccia somatosensoriale primaria

La corteccia somatosensoriale primaria è responsabile dell'elaborazione delle sensazioni del corpo. I recettori presenti in tutto il corpo captano queste sensazioni e sono responsabili del rilevamento del tatto, del dolore, della temperatura e della localizzazione tattile. Questa regione è importante anche per i movimenti abili e coordinati e per l'apprendimento motorio.

Area di Brodmann 4 - Corteccia motoria primaria

La corteccia motoria primaria è essenziale per l'avvio dei movimenti motori e per il loro coordinamento. Ogni area della corteccia motoria corrisponde precisamente a specifiche parti del corpo sul lato controlaterale del corpo. Ad esempio, per muovere la gamba sinistra, viene stimolata una parte della corteccia motoria primaria dell'emisfero destro.

Area di Brodmann 9 - Corteccia prefrontale dorsolaterale

La corteccia prefrontale dorsolaterale è situata nel lobo frontale ed è essenziale per le funzioni cognitive "superiori" come la memoria di lavoro, la pianificazione, il ragionamento astratto, la pianificazione motoria e

l'organizzazione. Data la sua importanza per molte funzioni esecutive, quest'area presenta molteplici connessioni tra le aree corticali e sottocorticali del cervello.

Area di Brodmann 17 - Corteccia visiva primaria

La corteccia visiva primaria, situata nei lobi occipitali, è una struttura essenziale per l'elaborazione degli stimoli visivi. È l'area visiva più studiata del cervello ed è altamente specializzata nell'elaborazione di oggetti statici e in movimento, oltre ad essere in grado di riconoscere gli schemi.

Area di Brodmann 21 - Giro temporale medio

Il giro temporale medio è uno dei principali giri (dorsali) sulla superficie dei lobi temporali. Si ritiene che quest'area sia coinvolta in funzioni quali il riconoscimento dei suoni e il recupero semantico, oltre che nella memoria semantica, nell'elaborazione del linguaggio e nell'elaborazione dell'aritmetica verbale e mentale.

Area di Brodmann 22 - Giro temporale superiore

Anche il giro temporale superiore è situato all'interno dei lobi temporali e ha un ruolo nella comunicazione verbale e non verbale. È stato dimostrato che quest'area è importante per contribuire all'elaborazione delle informazioni relative agli oggetti e allo spazio e per elaborare le indicazioni sociali non verbali. Inoltre, quest'area è coinvolta nella memoria uditiva a breve termine e nella produzione del linguaggio. Si ritiene che in quest'area si trovi anche l'area di Wernicke, una regione associata alla comprensione e alla produzione del linguaggio.

Aree di Brodmann 23, 24, 28 e 33 - Giro del cingolo

Il giro cingolato è una grande piega arcuata sopra il corpo calloso. È una parte importante del sistema limbico e aiuta a regolare le emozioni e il dolore. Si ritiene che questo giro guidi direttamente la risposta cosciente dell'organismo alle esperienze spiacevoli, oltre a essere coinvolto nella paura

e nell'evitamento degli stimoli negativi. Poiché il giro del cingolo impara a evitare le conseguenze negative, svolge anche un ruolo nella memoria.

Aree di Brodmann 39 - Giro angolare

Insieme all'area 40 e 22 forma l'Area di Wernicke. È composta da diversi giri, più o meno grandi a seconda dell'individuo e si occupa della fluidità del linguaggio. In particolare, quest'area permette di elaborare frasi complete e di senso compiuto

Aree di Brodmann 44 e 45 - Area di Broca

Situata nei lobi frontali, l'area di Broca è una regione essenziale per la produzione del linguaggio. Quest'area è in grado di mettere insieme gli elementi del linguaggio, di selezionare le informazioni da una varietà di fonti e di contribuire a produrre informazioni sui movimenti motori necessari per il linguaggio parlato e scritto. Allo stesso modo, l'area di Broca può aiutare a controllare i meccanismi di elaborazione sintattica e a costruire frasi e modelli di discorso complessi. [2]

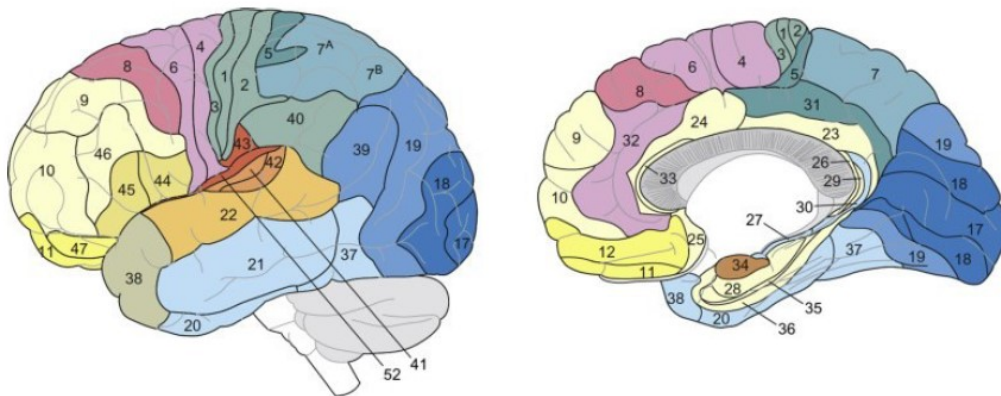


Figura 4: Rappresentazione della mappatura cerebrale delle Aree di Brodmann

1.2 SPECIALIZZAZIONE DEGLI EMISFERI

Le funzioni di ordine superiore non sono equamente distribuite su entrambi gli emisferi; questa specializzazione prende il nome di lateralizzazione funzionale. L'emisfero sinistro presiede essenzialmente alle funzioni verbali e di astrazione, l'emisfero destro alle funzioni non verbali e percettivo-spaziali. Nella maggior parte delle persone, il centro del linguaggio si trova nell'emisfero sinistro, detto anche emisfero categorico ed esegue anche compiti analitici, come effettuare calcoli matematici o prendere decisioni logiche.

L'emisfero cerebrale destro, detto anche emisfero rappresentativo, analizza le informazioni sensitive e mette il corpo in relazione con l'ambiente esterno. Permette l'identificazione di oggetti familiari tramite tatto, odorato o gusto. Gioca in ruolo fondamentale nel riconoscimento delle facce e nella comprensione delle relazioni spaziali tridimensionali. Le persone con lesioni all'emisfero di destra sono talvolta incapaci di dare inflessioni emotive alle proprie parole [1].

1.3 PATOLOGIE NEURODEGENERATIVE

Le malattie neurodegenerative sono un gruppo eterogeneo di disturbi neurologici che influenzano negativamente la vita di milioni di persone in tutto il mondo e comportano la progressiva perdita di neuroni nel sistema nervoso centrale (SNC) o periferico (SNP) [3]. Il collasso della struttura e della funzione delle reti neurali e la perdita di neuroni, che non sono in grado di rinnovarsi in modo efficiente, culminando in una compromissione della memoria, della cognizione, del comportamento, della funzione sensoriale e/o motoria. Nonostante alcuni trattamenti possano contribuire a mitigare alcuni dei sintomi fisici o mentali associati alle malattie neurodegenerative, al momento attuale non esistono terapie in grado di rallentare significativamente la progressione di tali malattie, né sono disponibili cure

definitive. Il termine "demenza" rappresenta un concetto generale utilizzato per descrivere una serie di malattie che causano un significativo deterioramento della memoria e/o delle abilità cognitive, al punto da compromettere le normali attività quotidiane di una persona. Attualmente, sono in corso approfondite ricerche per comprendere meglio le cause della demenza, ma si pensa che il meccanismo di fondo sia legato a un accumulo di proteine a livello cerebrale che interferisce con il suo funzionamento. Le malattie neurodegenerative, come la demenza frontotemporale, portano ad accumuli anomali di proteine nel cervello. Nelle diverse tipologie di demenza possono osservarsi aggregati proteici differenti. In realtà, anche le alterazioni dei vasi sanguigni cerebrali possono dare origine a forme di demenza definite "vascolari". In una minoranza di casi, è possibile identificare e trattare una causa reversibile della demenza. Lo screening di queste cause reversibili fa parte della valutazione diagnostica di chiunque presenti alterazioni della memoria o del pensiero [4].

1.3.1 Demenza di Alzheimer (AD)

La demenza di Alzheimer è una malattia cronica e progressiva caratterizzata da perdita di memoria e alterazione delle funzioni cerebrali di ordine superiore, quali pensiero astratto, capacità di giudizio e personalità. Si tratta della causa più comune di demenza senile. I sintomi possono comparire intorno ai 50-60 anni di età o anche più tardi, benché occasionalmente siano colpiti individui più giovani. La maggior parte dei casi di Alzheimer si associa a elevate concentrazioni di reticoli neurofibrillari e placche a livello di nuclei della base e giro dell'ippocampo. Queste regioni encefaliche sono direttamente collegate all'elaborazione dei ricordi. Resta ancora da stabilire se tali depositi provochino la demenza di Alzheimer o se siano un segno secondario di alterazioni metaboliche in atto dovute a cause ambientali, ereditarie o infettive.

La diagnosi consiste nell'esclusione di alterazioni metaboliche e anatomiche che possano somigliare alla demenza, in una dettagliata anamnesi e nella valutazione delle condizioni fisiche e delle funzioni mentali.

I sintomi iniziali sono subdoli: sbalzi d'umore, irritabilità, depressione e mancanza generale di energia. Con il progredire della condizione, tuttavia, diventa più difficile ignorare la situazione. I soggetti affetti dalla demenza di Alzheimer hanno difficoltà a prendere decisioni anche minime; compiono errori, talvolta pericolosi, a causa di un giudizio sbagliato o di una dimenticanza. Con l'avanzare della perdita di memoria, i problemi diventano sempre più gravi. Il soggetto può dimenticare i familiari, il proprio indirizzo o come si usa il telefono. La perdita di memoria di solito comincia con l'incapacità di immagazzinare i ricordi a lungo termine, seguita dalla perdita dei ricordi fissati di recente. Alla fine, vengono cancellati anche i ricordi a lungo termine di importanza fondamentale. La perdita di memoria altera le capacità sia intellettive che motorie, e i soggetti affetti da Alzheimer avanzato hanno difficoltà a svolgere anche i più semplici compiti motori.

I soggetti affetti da demenza di Alzheimer mostrano una pronunciata diminuzione del numero di neuroni corticali, in particolare nei lobi frontali e temporali; tale perdita è correlata a un'inadeguata produzione di acetilcolina nei nuclei della base del cervello. Gli assoni che lasciano questa regione si proiettano in tutta la corteccia cerebrale, per cui, quando la produzione di ACh diminuisce, si assiste al deterioramento delle funzioni corticali.

Non esiste una cura per la demenza di Alzheimer, ma alcuni farmaci e integratori ne rallentano la progressione in molti pazienti, riducendo la necessità di assistenza a domicilio. [1]

1.3.2 Degenerazione corticobasale (CBD)

La degenerazione corticobasale (CBD) è una demenza che comporta la perdita di funzioni cognitive come la capacità di pensare, ricordare o ragionare al punto da interferire con la vita quotidiana e le attività di una persona. Il CBD colpisce principalmente la corteccia cerebrale e i gangli della

base. La malattia continua a peggiorare, provoca la morte delle cellule nervose e la riduzione di più aree del cervello (atrofia). [5]

La CBD provoca problemi nel controllo dei movimenti, solitamente coinvolgendo in modo predominante un lato del corpo, mentre l'altro rimane relativamente intatto. Questa asimmetria nella manifestazione dei sintomi è notevole, soprattutto nelle fasi iniziali della malattia [6].

I sintomi motori più comunemente osservati includono: rigidità e rallentamento nei movimenti, spesso limitati a un singolo arto; progressivamente, gli arti possono assumere posture anormali a causa di contrazioni muscolari prolungate (dystonia); episodi di mioclono; difficoltà nella deambulazione con instabilità posturale e frequenti cadute; fenomeno dell'"arto alieno", in cui un arto sembra comportarsi in modo indipendente rispetto alla volontà del paziente o senza che il paziente ne sia consapevole.

La diagnosi della degenerazione cortico-basale (CBD) è basata sull'esame neurologico. Tuttavia, non solo è estremamente complicata nelle fasi iniziali della malattia, ma rimane complicato anche nelle fasi più avanzate. Questo perché i sintomi e i disturbi associati alla CBD possono sovrapporsi a quelli di altre malattie neurodegenerative, come il morbo di Parkinson, l'Alzheimer, la malattia di Pick, la paralisi sopranucleare progressiva o la malattia di Creutzfeldt-Jakob. Si stima che circa la metà delle persone che manifestano segni e disturbi tipici della CBD possano anche essere affette da un'altra malattia neurodegenerativa. Indagini strumentali basate sulle immagini, come la tomografia assiale computerizzata (TAC) e la risonanza magnetica (RM), possono essere utilizzate per rivelare alterazioni delle aree cerebrali interessate dalla CBD (corteccia cerebrale, gangli della base) ed escludere altre malattie con disturbi simili. [7]

Nelle fasi iniziali della malattia sono spesso presenti solo alcuni sintomi e in forma lieve. Vi è comunque una ricerca molto attiva di nuovi marcatori che permettano di porre una diagnosi quanto più certa possibile, per cui è

auspicabile che nei prossimi anni vi siano aggiornamenti riguardo questi aspetti.

1.3.3 Deterioramento cognitivo lieve (MCI)

Il Deterioramento Cognitivo Lieve (MCI) rappresenta una fase iniziale in cui si manifesta una perdita di memoria o di altre capacità cognitive, come il linguaggio o la percezione visiva/spaziale, in individui che però conservano la capacità di svolgere autonomamente la maggior parte delle attività quotidiane.

Questa condizione comporta cambiamenti cognitivi sufficientemente significativi da essere percepiti dalla persona stessa, dai suoi familiari e dagli amici, ma non compromette la sua autonomia nell'esecuzione delle normali attività quotidiane.

L'MCI può manifestarsi per una varietà di motivi, e le persone colpite possono avere esiti diversi, alcune sviluppano una demenza, mentre altre no. Per le malattie neurodegenerative come la demenza di Alzheimer, l'MCI può rappresentare una fase iniziale nel continuum della malattia, specialmente quando sono evidenti i segni caratteristici nel cervello. In alcuni individui, il deterioramento cognitivo lieve può tornare a una cognizione normale o rimanere stabile nel tempo. Tuttavia, ci sono situazioni in cui l'MCI può essere erroneamente diagnosticato, ad esempio quando i cambiamenti cognitivi sono causati da farmaci o altre condizioni. Pertanto, è fondamentale che le persone che sperimentano cambiamenti nella loro capacità cognitiva cerchino assistenza medica il prima possibile per ottenere una diagnosi accurata e, se necessario, intraprendere un trattamento appropriato.

Gli esperti classificano il deterioramento cognitivo lieve in base alle capacità di pensiero interessate:

MCI amnestico: MCI che colpisce principalmente la memoria. Una persona può iniziare a dimenticare informazioni importanti che prima

avrebbe ricordato facilmente, come appuntamenti, conversazioni o eventi recenti.

MCI non amnestico: MCI che colpisce le capacità di pensiero diverse dalla memoria, tra cui la capacità di prendere decisioni valide, di valutare il tempo o la sequenza di passi necessari per completare un compito complesso o la percezione visiva. [8]

La diagnosi di MCI può essere effettuata utilizzando 4 criteri principali. Il primo criterio è un disturbo soggettivo della memoria, che può essere valutato mediante un questionario. Il secondo criterio è il deterioramento cognitivo oggettivo in almeno un dominio cognitivo. Il terzo criterio è la conservazione del funzionamento quotidiano. Il quarto criterio è l'assenza di diagnosi concorde di demenza. [9]

1.3.4 Demenza frontotemporale (DFT)

La demenza frontotemporale è una condizione neurodegenerativa causata da danni ai neuroni situati nei lobi frontali e temporali del cervello. Questa patologia presenta una gamma variegata di sintomi, tra cui problemi emotivi, difficoltà nella comunicazione e nella mobilità. È importante notare che questa forma particolare di demenza è più comune tra le persone al di sotto dei 60 anni. L'età di insorgenza della malattia varia tra i 21 e gli 80 anni, ma nella maggior parte dei casi, si manifesta tra i 45 e i 64 anni. Questo aspetto la rende particolarmente impegnativa, specialmente in termini di impatto sul lavoro e sulla vita familiare, rispetto ad altre forme di demenza, come l'Alzheimer.

I sintomi della demenza frontotemporale sono progressivi. All'inizio, possono essere limitati a uno solo, ma con l'evolversi della malattia, la persona colpita può incontrare crescenti difficoltà nella pianificazione e nell'organizzazione delle attività quotidiane. Possono anche manifestare comportamenti socialmente inappropriati o avere difficoltà a comunicare con gli altri e a mantenere relazioni significative con i loro cari.

Nel corso del tempo, la DFT predispone un individuo a complicazioni fisiche come polmonite, infezione o lesioni da caduta. L'aspettativa di vita media è di 7 a 13 anni dopo l'inizio dei sintomi (Onyike e Diehl-Schmid, 2013). La causa più comune di morte è la polmonite. [10]

La diagnosi di demenza frontotemporale si basa sulla valutazione di un medico esperto in questi disturbi. Il tipo di problemi riscontrati dal paziente e i risultati degli esami neurologici sono al centro della diagnosi. Le scansioni cerebrali, mediante risonanza magnetica o PET esami aggiuntivi molto utili, ma devono essere interpretati nel contesto dell'anamnesi e dell'esame neurologico del paziente. [11]

Non esistono cure farmacologiche specifiche per questa tipologia di demenza, ma esistono farmaci che possono ridurre l'irritabilità o la depressione.

1.4 RISONANZA MAGNETICA

La Risonanza Magnetica è una metodica di imaging che studia la componente nucleare dell'idrogeno, in quanto è un elemento largamente diffuso in natura e costituente fondamentale dell'organismo umano. I protoni dei nuclei di idrogeno possiedono una carica elettrica positiva e, ruotando su sé stessi, generano un campo magnetico. In condizioni normali, l'orientamento dei singoli campi magnetici protonici nello spazio è casuale: sommando idealmente i vettori di tutti i campi protonici, il risultato finale è zero, in quanto per ogni campo orientato in un verso ne esiste uno con identica direzione e verso opposto. Questo spiega perché i sistemi biologici non hanno una magnetizzazione complessiva, pur essendo formati da miliardi di campi magnetici. La risultante di tutti i momenti di dipolo magnetici dell'idrogeno viene definita *magnetizzazione macroscopica*, e non è altro che un vettore caratterizzato da un verso, un'intensità e una direzione.

Per effettuare l'esame di risonanza magnetica, il paziente deve essere inserito all'interno di un magnete che genera un campo magnetico esterno. A

questo punto i campi magnetici protonici perdono il loro orientamento casuale nello spazio e si orientano nella direzione del campo magnetico esterno (senso longitudinale), mentre per quanto riguarda il verso possono disporsi in parallelo o in antiparallelo rispetto al campo magnetico esterno.

I protoni, oltre ad orientarsi nella direzione del campo magnetico, assumono un movimento di precessione attorno all'asse del campo magnetico esterno: la misura della velocità angolare con la quale si effettua questa rotazione può essere effettuata mediante l'equazione di Larmor ed è funzione dell'intensità del campo magnetico esterno.

A questo punto si procede introducendo una perturbazione nel sistema tramite l'invio di una radiazione elettromagnetica nel range delle radiofrequenze (detta *impulso di radiofrequenza*) che viaggia ortogonalmente al vettore di magnetizzazione macroscopica. L'impulso di radiofrequenza ha lo scopo principale di fornire nuova energia ai protoni e quindi, per essere efficiente ed entrare in risonanza deve avere una frequenza pari alla frequenza di Larmor. La prima conseguenza dell'assorbimento dell'energia da parte dei protoni è che alcuni di essi acquisiscono uno stato energetico tale da farli disporre nel verso antiparallelo al campo esterno e, di conseguenza, la somma dei campi magnetici cambia e porta ad una riduzione della *magnetizzazione longitudinale*.

La seconda conseguenza è la sincronizzazione di fase dei protoni per quanto riguarda il movimento di precessione. Infatti, se prima i protoni precedevano tutti con la stessa frequenza ma "sfasati", ora sono perfettamente sincronizzati e vengono detti "in fase". La somma vettoriale della componente trasversale del movimento di precessione sarà pari alla somma dei moduli dei protoni esposti all'impulso di radiofrequenza che porta quindi alla creazione di una *magnetizzazione trasversale*.

Pertanto, il vettore di magnetizzazione macroscopica si è notevolmente modificato, è molto più orientato trasversalmente che longitudinalmente e comincia a precedere intorno al proprio asse di rotazione.

Una volta scomparso l'impulso di radiofrequenza, il sistema torna alle condizioni precedenti: avviene, cioè, il cosiddetto *rilassamento*, che prevede il recupero della magnetizzazione longitudinale e la scomparsa della magnetizzazione trasversale. Questi due fenomeni avvengono in modi e tempi separati. Il recupero della magnetizzazione longitudinale si ha quando gli spin cambiano nuovamente verso, tornando allo stato iniziale, mentre la scomparsa della componente trasversale si ha quando i protoni perdono la sincronizzazione, scambiando l'energia acquisita tra di loro.

1.5 PARAMETRI DI RISONANZA MAGNETICA

Tra i parametri principali della risonanza magnetica definiamo quindi i tempi di rilassamento. Il tempo di rilassamento longitudinale **T1** esprime la velocità con cui viene recuperata la magnetizzazione longitudinale, in particolare il tempo necessario affinché quest'ultima raggiunga il 63% del suo valore di equilibrio. Il tempo di rilassamento trasversale **T2** esprime la velocità con cui decade la magnetizzazione trasversale, in particolare è il tempo necessario affinché quest'ultima si riduca fino al 37%.

Abbiamo poi un altro valore, che è la densità protonica ed esprime il numero di nuclei risonanti per unità di volume del tessuto: l'intensità del segnale è direttamente proporzionale alla densità protonica, a parità di altri parametri.

Il tempo di rilassamento T2 risulta essere molto più breve del T1 in relazione alla maggiore velocità con la quale avviene il defasamento protonico rispetto alla velocità con la quale viene recuperata la magnetizzazione longitudinale.

I tessuti vanno incontro al rilassamento in tempi diversi, in relazione al loro contenuto di protoni e, soprattutto, al tipo di legami che gli atomi di idrogeno formano tra loro e con gli altri atomi. I tempi di rilassamento sono influenzati dalla velocità con cui i protoni possono scambiare energia tra di loro o cederla ad altri elementi.

Esistono poi delle differenze per ciascuno tempo di rilassamento: il T1 è influenzato dalla presenza di molecole di medie dimensioni che possiedono campi magnetici fluttuanti a frequenze vicine a quella di precessione dei protoni, con le quali lo scambio di energia avviene più rapidamente (come il tessuto adiposo), mentre il T2 è influenzato dalla presenza di macromolecole che inducono disomogeneità di campo magnetico (come il muscolo).

La RM permette quindi di estrarre tre tipi di immagini diverse, due delle quali sono il risultato della variazione dei livelli di grigio espresse come differenze di T1 e T2 dei tessuti in esame, mentre nella terza sono espressione del diverso contenuto di protoni (DP). Le immagini ottenute si dicono “pesate” in T1, T2, e in DP. Per caratterizzare in modo appropriato un tessuto sono necessarie almeno due pesature, quella in T1 e quella in T2.

Per ottenere le immagini con il tipo di pesatura desiderata è necessario inviare impulsi di radiofrequenza, aspettare il segnale proveniente dai tessuti, misurarlo e utilizzarlo per ricostruire l'immagine. Gli impulsi di radiofrequenza che è necessario inviare sono più di uno, e l'ordine con il quale sono evocati e diretti al paziente prende il nome di *sequenza di impulsi*.

È necessario a questo punto introdurre altri due parametri che caratterizzano le sequenze, il **TR** e il **TE**. Il primo è il *tempo di ripetizione* e non è altro che il tempo trascorso tra l'invio di un impulso di radiofrequenza e il successivo. Il secondo è invece il *tempo di Echo*, ossia il tempo necessario dopo il quale si riceve un segnale dai tessuti. Combinazioni di questi due valori consentono di ottenere un'immagine pesata in T1, piuttosto che in T2.

1.6 RISONANZA FUNZIONALE

Fino allo sviluppo dei metodi di neuroimaging, l'unico modo per capire come la funzione mentale fosse organizzata nel cervello, era quello di esaminare il cervello di individui che avevano subito danni a causa di ictus, infezioni o lesioni. È attraverso questo tipo di studi che sono state fatte molte prime scoperte sulla localizzazione delle funzioni mentali nel cervello.

Tra le tante conquiste che la risonanza magnetica funzionale (fMRI) ha consentito nella ricerca neuroscientifica sono di particolare rilevanza i contributi per la chiarificazione dell'anatomia funzionale dei sistemi sensoriali. In particolare, questa tecnologia ha permesso di creare mappe precise delle aree visive nel cervello umano e di individuare diverse regioni nell'ambito dell'udito che si occupano della frequenza dei suoni, del movimento degli stimoli sonori, dell'elaborazione delle voci e dell'analisi delle informazioni sintattiche e lessicali.

L'avvento delle moderne tecniche di RM funzionale è stato reso possibile da nuove scoperte sperimentali e progressi tecnologici significativi. Tra questi, un elemento chiave è stata l'osservazione che il consumo di ossigeno aumenta in misura proporzionalmente minore rispetto al flusso sanguigno durante l'attivazione cerebrale. Altri quattro fattori cruciali che hanno contribuito allo sviluppo dell'attuale fMRI includono:

- La scoperta delle proprietà paramagnetiche dell'emoglobina;
- Lo sviluppo di tecniche di campionamento RM ultrarapide quali tecniche EPI;
- L'osservazione dell'effetto BOLD in vivo con RM in corso di riperfusione cerebrale e in associazione a stimolazione visiva come metodo sostitutivo dei traccianti paramagnetici;
- Lo sviluppo di progressi delle tecniche di elaborazione numerico-statistica dei dati, che ha prodotto sia rigore scientifico che estrema flessibilità nell'estrazione dell'informazione funzionale dalle serie fMRI.

La crescente attenzione verso la fMRI è giustificata dalla sua straordinaria capacità di visualizzare l'attività cerebrale in modo sicuro e non invasivo, offrendo una risoluzione spaziale eccezionale e una risoluzione temporale relativamente buona, superando così i limiti dei metodi precedenti come la tomografia a emissione di positroni (PET) [12]. La fMRI sfrutta la tecnologia di risonanza magnetica per esaminare l'attività cerebrale, misurando le

variazioni nell'ossigenazione locale del sangue, che a sua volta riflettono l'intensità dell'attività cerebrale in una specifica regione.

L'aspetto particolarmente interessante è che la quantità di sangue inviata all'area è superiore a quella necessaria per reintegrare l'ossigeno utilizzato dalle cellule per svolgere la loro attività. Pertanto, l'aumento del flusso sanguigno legato all'attività neuronale porta a una relativa sovrabbondanza di ossigeno nel sangue locale. La fMRI sfrutta proprio questa variazione dell'ossigenazione che viene definito segnale BOLD (segnale dipendente dal livello di ossigenazione del sangue).

Inoltre, poiché l'alta risoluzione spaziale della risonanza funzionale è associata ad un ridotto rapporto segnale-rumore, una strategia chiave nel miglioramento della risoluzione spaziale e temporale consiste nel controbilanciare la perdita di segnale attraverso l'uso di risonanze magnetiche ad alto campo magnetico.

1.6.1 Cenni storici

Per capire meglio come le funzioni mentali si relazionano con i processi cerebrali nello stato normale, i ricercatori avevano bisogno di un modo per immaginare la funzione cerebrale mentre le persone eseguivano compiti mentali progettati per manipolare processi specifici.

Negli anni '80 diversi gruppi di ricercatori hanno iniziato a utilizzare la tomografia a emissione di positroni (PET). Quest'ultima misura la scomposizione di materiali radioattivi all'interno dell'organismo. Utilizzando traccianti radioattivi legati a molecole biologiche, è possibile misurare aspetti della funzione cerebrale come il flusso sanguigno o il metabolismo del glucosio. Tuttavia, l'uso della PET è stato limitato a causa delle preoccupazioni sulla sicurezza dell'esposizione alle radiazioni e della scarsa disponibilità di sistemi.

La fMRI ha fornito esattamente lo strumento che le neuroscienze cognitive stavano cercando. In primo luogo, era sicura, il che significava che poteva

essere utilizzata in un'ampia gamma di individui, che potevano essere scansionati più volte se necessario e poteva essere utilizzata con i bambini. Inoltre, la fMRI presentava alcuni importanti vantaggi tecnici, in particolare, la sua risoluzione spaziale era di gran lunga migliore.

Quando i primi ricercatori di fMRI raccolsero i loro dati all'inizio degli anni '90, dovettero anche creare gli strumenti per analizzarli, poiché non esisteva un software per l'analisi dei dati, i primi studi hanno creato mappe di attivazione semplicemente sottraendo l'attivazione media durante un compito dall'attivazione durante un altro.

I cambiamenti di segnale nella corteccia visiva erano evidenti anche dall'ispezione di singole immagini di sottrazione. Per ottenere un'evidenza statistica di questo effetto, le immagini acquisite durante i blocchi di stimolazione sono state confrontate con le immagini dei blocchi senza stimolazione utilizzando un semplice test t a coppie. L'approccio era semplice per individuare l'attivazione, ma i suoi limiti sono diventati subito evidenti. In primis richiedeva lunghi blocchi di stimolazione per consentire al segnale di raggiungere uno stato stazionario. In secondo luogo, il semplice approccio del t-test non teneva conto della complessa struttura temporale dei dati fMRI, che violava i presupposti della statistica.

Ci si è resi conto che la maggiore risoluzione temporale della fMRI rispetto alla PET consentiva l'uso di disegni evento-correlati (ER), in cui si poteva valutare l'impatto individuale di singoli stimoli relativamente brevi. Una serie di studi fondamentali ha stabilito la gamma di disegni fMRI evento-correlati per i quali la risposta di Bold si comportava come una risposta di tipo "atipico" in quanto la linearità del Bold è un risultato cruciale, che semplifica drasticamente l'analisi.

Dal 2000 è diventato sempre più comune un nuovo approccio all'analisi fMRI, che cerca di analizzare le informazioni presenti nei pattern di attività piuttosto che la risposta nei singoli voxel. Conosciuti come analisi dei pattern multi-voxel (MVPA), analisi dell'informazione dei pattern o apprendimento

automatico, questi metodi cercano di determinare il grado di distinzione delle diverse condizioni (come le diverse classi di stimoli) sulla base dei pattern di attivazione fMRI e anche di capire che tipo di informazione è presente nei pattern di attività.

Una particolare innovazione di questa serie di metodi è che si concentrano sulla formulazione di previsioni su nuovi dati, piuttosto che sulla semplice descrizione dei modelli esistenti in un particolare insieme di dati [12].

1.6.2 Segnale BOLD

Come descritto precedentemente, il segnale BOLD deriva dall'interazione tra il flusso sanguigno, il volume sanguigno e l'ossigenazione del sangue in risposta ai cambiamenti dell'attività neuronale. In breve, in uno stato attivo, la concentrazione locale di emoglobina ossigenata aumenta, il che incrementa l'omogeneità della suscettibilità magnetica, determinando un aumento del segnale RM pesato in T2*. Come mostrato nella Figura 5, il segnale BOLD (blu) non aumenta istantaneamente e non torna alla linea di base subito dopo la fine dello stimolo (rosso). Poiché questi cambiamenti nel flusso sanguigno sono relativamente lenti (evolvono nell'arco di diversi secondi), il segnale BOLD è una rappresentazione sfocata e ritardata del segnale neurale originale.

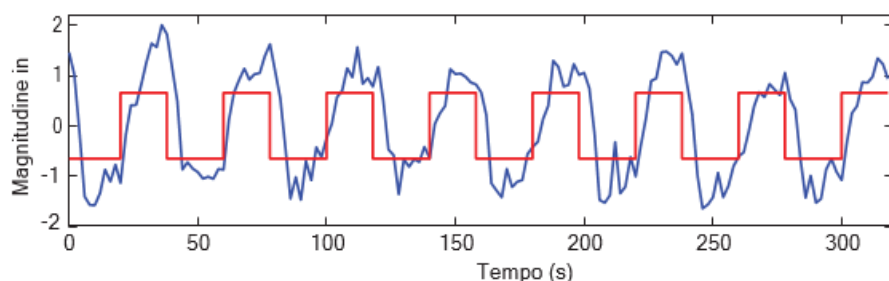


Figura 5: In rosso è rappresentata la serie temporale dello stimolo, in blu il segnale BOLD di un voxel attivo.

La funzione di risposta emodinamica, HRF (Hemodynamic Response Function) può essere descritta come la risposta ideale, priva di rumore, a uno stimolo di durata infinitesimale. Presenta una serie di caratteristiche importanti, illustrate nella Figura 6:

- **Altezza del picco:** È la caratteristica di interesse più comune, poiché è più direttamente correlata alla quantità di attività neuronale nel tessuto.
- **Tempo:** Indicato come tempo necessario per raggiungere il picco dell'HRF, il quale cade generalmente entro 4-6 secondi dall'inizio dello stimolo.
- **Ampiezza:** l'HRF aumenta entro 1-2 secondi e ritorna alla linea di base entro 12-20 secondi dall'inizio dello stimolo.
- **Calo iniziale:** Alcuni studi hanno identificato un calo iniziale nel segnale BOLD che si verifica nei primi 1-2 secondi e si pensa che rifletta il consumo iniziale di ossigeno prima che si verifichino cambiamenti nel flusso e nel volume del sangue.
- **Sottotraccia post-stimolo:** L'HRF mostra generalmente un undershoot tardivo, di ampiezza relativamente ridotta rispetto alla risposta positiva, che persiste fino a 20 secondi o più dopo lo stimolo.

È importante notare che esiste una sostanziale variabilità in ciascuna di queste caratteristiche della HRF (Hemodynamic Response Function) tra le aree cerebrali e tra gli individui.

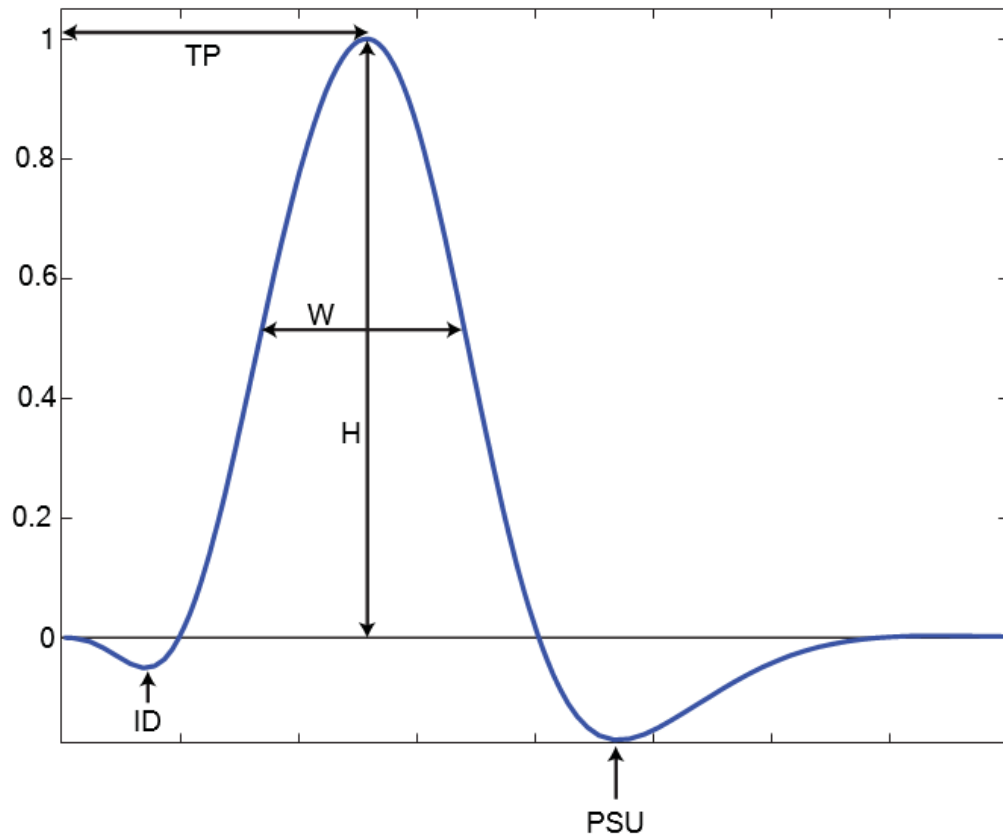


Figura 6 Caratteristiche della risposta emodinamica HRF. Il picco è caratterizzato da TP (tempo trascorso tra lo stimolo e il picco); H (altezza della risposta); W (ampiezza HRF a metà altezza); PSU (fase di decadimento post stimolo) e ID (eventuale fase di depressione iniziale).

Una caratteristica importante del segnale BOLD è che la relazione tra la risposta neurale e il segnale BOLD presenta proprietà lineari di invarianza temporale (LTI). Il significato della linearità è che, se una risposta neurale è scalata di un fattore X , anche la risposta BOLD è scalata dello stesso fattore X . Come mostrato nel pannello A della Figura 7, quando la risposta neurale (rossa) è raddoppiata in grandezza, la risposta BOLD attesa (blu) sarà raddoppiata in grandezza. La linearità implica anche l'additività, nel senso che, se si conosce la risposta di due eventi separati, se gli eventi dovessero verificarsi entrambi a breve distanza di tempo, il segnale risultante sarebbe la somma dei segnali indipendenti. Questo è illustrato nel pannello B della Figura 7, dove le risposte neurali per eventi separati (in verde) si sommano linearmente per creare la risposta BOLD prevista. L'invarianza temporale significa che, se uno stimolo viene spostato di t secondi, anche la risposta BOLD sarà spostata della stessa quantità.

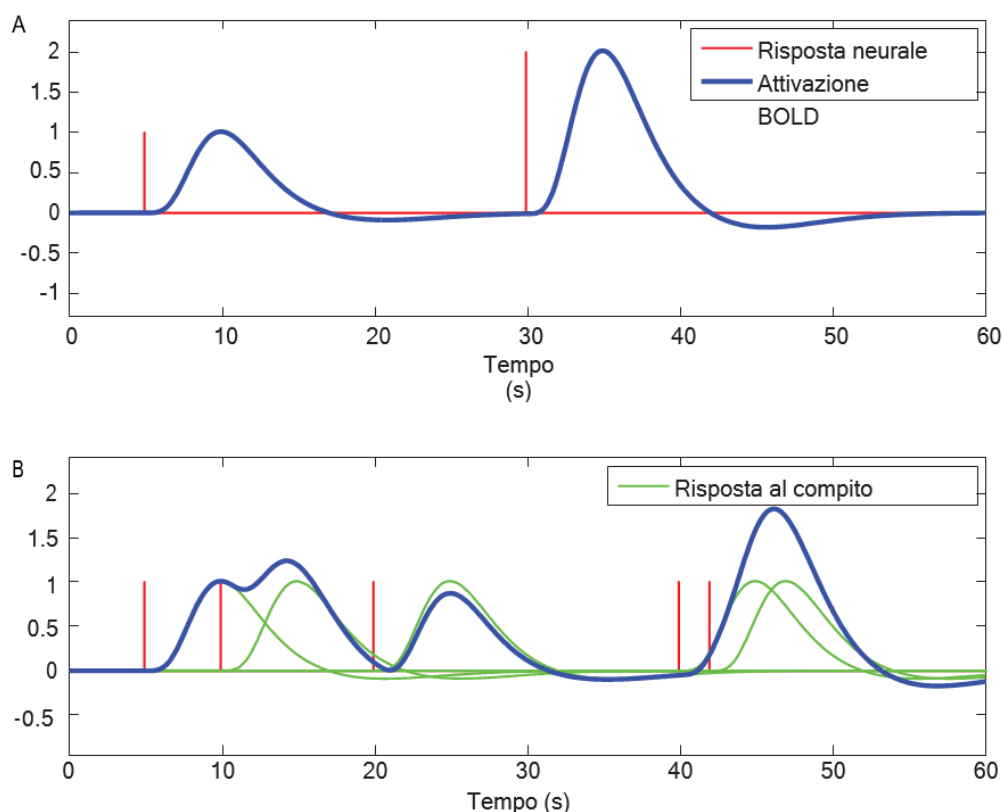


Figura 7 Esempi di invarianza temporale lineare. Il pannello A illustra che, quando un segnale neurale è il doppio di un altro, anche l'attivazione BOLD è il doppio. Il pannello B mostra come i segnali di prove separate, indicati in verde, si sommano linearmente per ottenere l'attivazione BOLD.

Per ottenere la risposta BOLD prevista utilizzando la convoluzione, abbiamo bisogno di una stima della HRF. Un modo per stimare la forma della risposta è quello di presentare stimoli che siano ampiamente distanziati nel tempo (ad esempio, ogni 30 secondi) e poi semplicemente per fare una media delle risposte evocate in ogni punto del tempo rispetto allo stimolo. La Figura 8 mostra un esempio di questo processo. Il pannello A mostra la serie temporale originale, dove le finestre di 22 secondi intorno a ogni stimolo (che iniziano 2 secondi prima dello stimolo e durano 20 secondi dopo) sono evidenziate con colori diversi. Gli 11 segmenti finestrati sono sovrapposti nel

pannello B e dopo la media dei corsi temporali (pannello C) si ottiene un'immagine meno rumorosa della funzione di risposta.

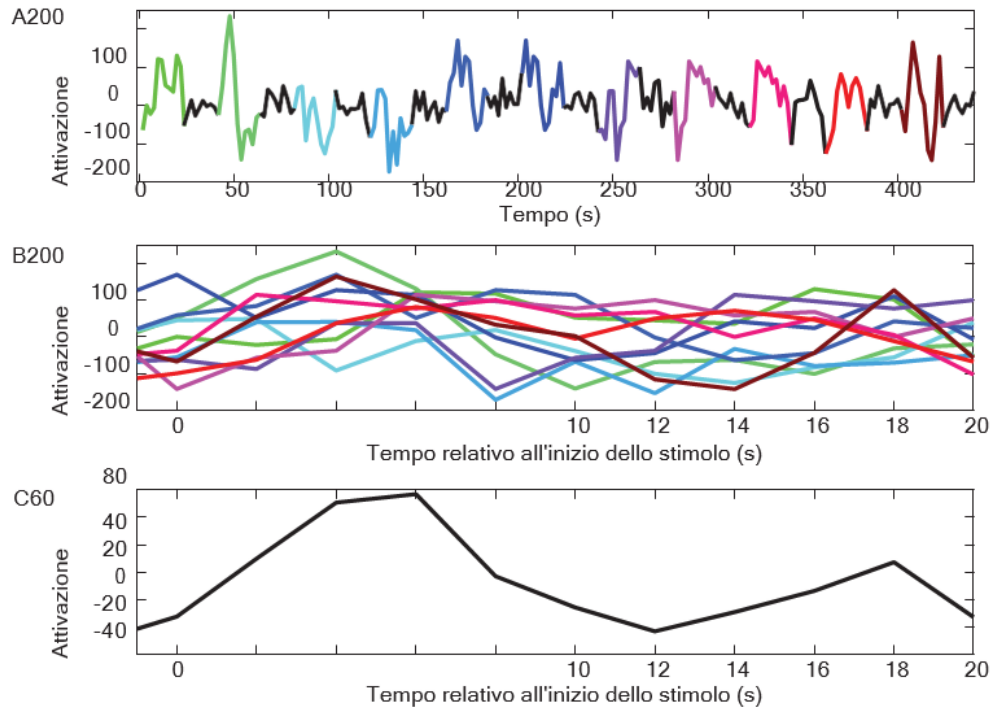


Figura 8 Esempio di mediazione selettiva. Il pannello A mostra la serie temporale originale. Il pannello B sovrappone la serie temporale BOLD fenestrata e il pannello C mostra la media delle serie temporali fenestate.

1.6.3 Risonanza funzionale con stimoli

In questa tipologia di fMRI vengono rilevate le variazioni del segnale di risonanza magnetica dipendenti dal livello di ossigeno nel sangue (BOLD) che si ottengono quando si verificano cambiamenti nell'attività neuronale in seguito a una variazione dello stato cerebrale, come quella prodotta, ad esempio, da uno stimolo o da un compito. Una delle premesse alla base di molti usi attuali dell'imaging funzionale è che vari comportamenti e funzioni cerebrali si basano sul reclutamento e sull'interazione coordinata di componenti di sistemi cerebrali "su larga scala" che sono spazialmente distinti, distribuiti e tuttavia connessi in reti funzionali. Inoltre, le mappe che identificano la posizione di aree particolarmente critiche, come quelle

coinvolte nella produzione e nella comprensione del linguaggio, hanno un'importanza diretta nelle valutazioni cliniche e nella pianificazione degli interventi.

Nella fMRI è necessario utilizzare una strumentazione di risonanza magnetica dove possono essere somministrati diversi tipi di stimoli in modo controllato. Ad esempio, si possono riprodurre suoni, presentare scene visive e registrare piccoli movimenti o risposte motorie. Sebbene i metodi di imaging convenzionali possano essere adattati alla fMRI, la maggior parte degli studi viene eseguita utilizzando metodi "istantanei", di cui l'imaging ecoplanare è il principale esempio. I miglioramenti apportati negli ultimi anni alla tecnologia delle bobine a gradiente hanno permesso l'implementazione di questi metodi di imaging ultrarapidi, in cui immagini trasversali complete vengono registrate in un tempo sostanzialmente inferiore al secondo (in genere circa 50-100 ms). Sebbene queste immagini abbiano una risoluzione e una qualità complessiva inferiori rispetto alle immagini utilizzate per la diagnosi radiologica, non subiscono l'offuscamento dovuto al movimento fisiologico, consentono la registrazione multi-slice dell'intero cervello in pochi secondi permettendo di campionare la risposta emodinamica a eventi transitori. Le immagini di una sequenza possono differire l'una dall'altra anche in assenza di variazioni dello stato cerebrale, a causa della varianza del segnale e degli effetti del "rumore" (come quello prodotto da tensioni casuali all'interno delle bobine e dei componenti utilizzati per registrare i segnali di risonanza magnetica), per cui gli studi di risonanza magnetica confrontano insieme di immagini acquisite durante due o più condizioni diverse utilizzando una qualche forma di analisi statistica. Le registrazioni multiple del segnale di risonanza magnetica consentono un grado di mediazione del segnale che aumenta l'affidabilità dei risultati.

Tra i molti tipi di studio che possono essere eseguiti ci sono due paradigmi principali di uso comune. Nei cosiddetti disegni a blocchi, in cui gli stimoli vengono presentati in brevi cicli alternati ("blocchi") della durata di alcuni secondi e i segnali RM vengono poi confrontati per ogni blocco. Un compito

di stimolazione visiva per localizzare le aree visive primarie, è quello di far vedere al paziente una scacchiera luminosa tremolante per 20 secondi, seguita da uno schermo scuro per 20 secondi, con questi blocchi ripetuti più volte; otto coppie di blocchi, ad esempio, richiederebbero una registrazione totale che dura meno di 6 minuti. Durante questo tempo, le immagini possono essere registrate per molte diverse fette parallele (in genere 10-20). In questo esempio, verrebbero acquisite 80 immagini per ciascuna fetta per entrambe le condizioni (stimolo ON e OFF). I voxel all'interno del cervello interessati dallo stimolo (come la corteccia visiva primaria) forniscono una sequenza di punti di dati in cui il segnale si alterna in intensità e in sincronia con la stimolazione a causa dell'effetto BOLD. Individuando quali voxel mostrano questo pattern alternato, è possibile identificare la corteccia visiva.

Questo schema è semplice da implementare e può essere utilizzato per localizzare diverse funzioni di base, Figura 9, tra cui: le aree sensoriali primarie, ad esempio presentando stimoli uditivi rispetto al silenzio; le aree coinvolte in compiti motori semplici, come il tocco delle dita; le aree visive di ordine superiore, ad esempio presentando volti rispetto ad altri oggetti per identificare le regioni che rispondono al riconoscimento dei volti; e le aree linguistiche di ordine superiore. [13]

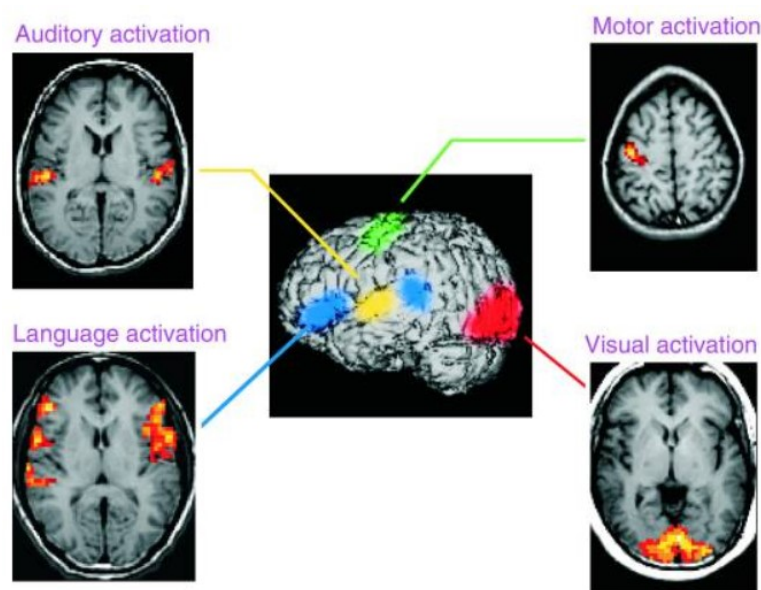


Figura 9 Una serie di compiti semplici eseguiti in sequenza per identificare le aree funzionali critiche, sovrapposte ad immagini strutturali.

1.6.4 Resting state

La risonanza magnetica funzionale allo stato di riposo (rs-fMRI) è stata descritta per la prima volta da Biswal nel 1995 e da allora è stata ampiamente utilizzata sia in soggetti sani che in pazienti con vari disturbi neurologici, neurochirurgici e psichiatrici. A differenza della risonanza magnetica funzionale basata su un paradigma o su un compito, la risonanza magnetica dello stato di riposo non richiede ai soggetti di eseguire alcun compito specifico. È stato dimostrato che le oscillazioni a bassa frequenza del segnale fMRI in stato di riposo sono correlate all'attività neurale spontanea.

Anche il principio della rs-fMRI si basa sulla fluttuazione del segnale BOLD, che è lo stesso della fMRI con compito attivo. La rs-fMRI si concentra sulle alterazioni spontanee del segnale BOLD. I dati possono essere acquisiti con una scansione dedicata, in cui gli individui sono istruiti semplicemente a riposare. La mancanza di un compito rende la rs-fMRI particolarmente interessante per i pazienti che possono avere difficoltà nonché per i pazienti pediatrici. Pertanto, l'applicazione della rs-fMRI in ambito clinico e di ricerca è cresciuta negli ultimi vent'anni.

Esistono diversi modi per analizzare i dati di rs-fMRI e ogni approccio ha implicazioni in termini di informazioni che possono essere estratte dai dati.

Una corretta interpretazione dei risultati della rs-fMRI richiede una comprensione dell'anatomia, della fisiopatologia e delle neuroscienze. Per facilitare la comprensione, la grande quantità di informazioni contenute nei dati della rs-fMRI può essere paragonata a una mappa. Quando si analizzano i dati, si possono estrarre informazioni sulla funzione di specifiche regioni cerebrali o sulla connettività funzionale tra diverse regioni cerebrali. Gli approcci analitici possono essere ampiamente suddivisi in due tipi: la segregazione funzionale e l'integrazione funzionale. La segregazione funzionale si concentra sulla funzione locale di specifiche regioni cerebrali ed è utilizzata principalmente per la mappatura del cervello. L'integrazione funzionale si concentra sulle relazioni funzionali o sulla connettività tra

diverse aree cerebrali e valuta il cervello come una rete integrata. Le tecniche di segregazione funzionale si basano sull'analisi dell'attività rs-fMRI, mentre le tecniche di integrazione si basano sull'analisi della connettività rs-fMRI. Confrontando i risultati della rs-fMRI con il modo in cui guardiamo una mappa, è possibile comprendere questi diversi metodi in modo più intuitivo.

La rs-fMRI è stata ampiamente utilizzata per caratterizzare i disturbi neuropsichiatrici. Sono disponibili diversi metodi per identificare le reti all'interno dei dati rs-fMRI sulla base della connettività utilizzando la frammentazione guidata dai dati e i precedenti anatomici. Ogni metodo enfatizza approcci diversi alla definizione della connettività cerebrale. Non esiste un singolo metodo attualmente considerato uno standard di criterio a sé stante. Pertanto, questi diversi metodi sono complementari tra loro. L'applicazione della rs-fMRI è facilitata da metodi che utilizzano definizioni a priori di regioni e reti cerebrali. La combinazione di diversi metodi è un'opportunità per ottenere una caratterizzazione della connettività a riposo dell'intero cervello più completa di quanto sia possibile utilizzando uno dei singoli metodi attualmente disponibili. [14]

1.6.5 Default Mode Network (DMN)

La DMN è stata originariamente descritta da Shulman et al. (1997) e successivamente da Raichle et al. (2001) ed è stato studiato che, in fase di riposo, alcune regioni cerebrali specifiche mostrano un aumento dell'attività metabolica mentre quando sono cognitivamente impegnate, risulta una riduzione della loro attività. [15]

La Default Mode è una rete neuronale che comprende diverse aree cognitive, come la corteccia prefrontale, la corteccia cingolata posteriore e la circonvoluzione angolare.

Nel corso degli anni i livelli di attività all'interno della DMN subiscono cambiamenti, soprattutto nello stato di riposo. I soggetti affetti da demenze

come il morbo d'Alzheimer e il decadimento cognitivo lieve mostrano ulteriori cambiamenti, soprattutto nelle regioni del cingolo posteriore e dell'ippocampo. Per questo motivo lo studio della connettività della DMN può fornire una valutazione più chiara nella relazione tra la patologia e la funzione di queste regioni, nonché potrebbe permettere di determinare quelli che sono i fattori critici coinvolti nel declino della funzionalità cerebrale. [16]

2. MATERIALI E METODI

2.1 SOGGETTI

I soggetti sottoposti a questo studio sono in totale 23, di età compresa tra i 61 e gli 85 anni, 17 uomini e 6 donne. Le demenze che hanno interessato la nostra analisi sono quelle precedentemente descritte, in particolare erano compresi 9 pazienti affetti da Alzheimer, 8 pazienti affetti da demenza frontotemporale, 4 pazienti affetti da deterioramento cognitivo lieve e 2 pazienti affetti da degenerazione cortico basale.

I soggetti sono stati sottoposti a risonanza magnetica funzionale su PET/RM 3T tra settembre 2022 e giugno 2023.

2.2 STRUMENTAZIONE

L'apparecchiatura utilizzata è la SIGNA PET/RM da 3 Tesla sita presso il Dipartimento di Scienze Radiologiche dell'Azienda Ospedaliero Universitaria Ospedali Riuniti di Ancona [Figura 10] [Figura 11]. Questo macchinario utilizza una tecnologia innovativa che unisce la risonanza magnetica alla tomografia a emissione di positroni (PET) consentendo di ottenere immagini anatomiche estremamente dettagliate e, al tempo stesso, di esaminare l'attività metabolica dei tessuti. In questo studio, nel particolare, abbiamo utilizzato la PET/RM solo per la sua componente di risonanza magnetica, la quale, essendo una 3T risulta avere un campo magnetico estremamente maggiore rispetto alle classiche RM [17]. Il rapporto segnale/rumore in risonanza magnetica varia linearmente con il campo magnetico; per tale motivo l'utilizzo di uno scanner 3T è particolarmente indicato per studi di risonanza magnetica funzionale. In particolare, garantisce una definizione migliore, riduzione dei tempi di e aumento della risoluzione spaziale. L'RM 3T presenta altresì un'aumentata suscettibilità

magnetica determinante nella magnificazione del segnale BOLD nella fMRI [18].

Componente	Specifiche
Il tavolo è staccabile e mobile. Il lettino del tavolo paziente è una parte applicata di tipo BF	
Altezza (da superficie lettino a pavimento)	Da 70 cm a 97 cm continuo
Lunghezza lettino fino alle porte bobina	225 cm (l'intervallo RM scansionabile è di 205 cm, l'intervallo PET scansionabile è di 188 cm) Letto PET/MR = 211,3 cm
Velocità longitudinale	da 0,5 cm/sec (0,197 pollici/sec) a 30 cm/sec (11,8 pollici/sec)
Riferimento anatomico	Il tavolo è dotato di riferimento anatomico Touch-n-Go
Asta IV	88 cm (34,65 in) nella configurazione estesa
Ripetibilità del posizionamento	+/- 0,5 mm (0,020 pollici)
Carico di lavoro sicuro del tavolo	Limite di peso del tavolo = 227 kg (500 lb) con il tavolo agganciato, sganciato e trasportato o in posizione sollevata verticale. Il carico di lavoro sicuro comprende il peso del paziente e il peso di tutti gli accessori o le apparecchiature collocate sul tavolo del paziente.

Figura 10: Caratteristiche lettino PET/RM.

Componente	Specifiche
Dimensioni dello spazio paziente	130 cm x 60 cm x 60 cm
Ventilazione	Sistema di ventilazione del paziente nel tunnel
Comunicazione	Sistema di intercomunicazione a 2 vie nel tunnel
Illuminazione	Luce a LED a intensità variabile
Solo tavolo GEM	Ingresso con testa o piedi in avanti, per esami che includono testa/collo

Figura 11: Caratteristiche gantry PET/RM.

La bobina che viene utilizzata per eseguire gli esami neuro di testa, collo e rachide è la HNU (Head and Neck Unit). Si tratta di una bobina ricevente che dispone di 19 canali di ricezione che consentono una copertura anatomica in latero-laterale pari a 24cm.

Prima di eseguire qualsiasi tipologia di esame RM, il paziente deve compilare la documentazione apposita per garantire che non ci siano controindicazioni particolari all'esecuzione dell'esame. A questo punto il paziente viene posto in posizione supina sul lettino, vengono utilizzati poggiatesta e cuscinetti per mantenere testa e collo comodi e allineati in modo tale che il piano sagittale mediano e il piano orizzontale tedesco risultino perpendicolari alla superficie d'appoggio. Si procede con la chiusura della parte anteriore della bobina e la centratura con i laser a livello del nasion per

assicurarci che tutta la regione di studio sia compresa all'interno del campo di vista. Vista la durata dell'esame, è importante invitare i pazienti a riposarsi e rilassarsi per ridurre al minimo i movimenti volontari e garantire la corretta acquisizione delle immagini.

2.3 ACQUISIZIONE DELL'ESAME DI RM

Per il nostro studio abbiamo eseguito due sequenze in particolare che sono necessarie per poter proseguire con le successive analisi. La sequenza T1 bravo assiale, per lo studio della componente strutturale, e una sequenza di resting state per l'analisi della componente funzionale. In particolare, l'acquisizione di quest'ultima è stata possibile grazie all'utilizzo di una sequenza ecoplanare (EPI). Questa sequenza, avendo un'elevata velocità di campionamento è in grado di registrare le variazioni di segnale legate all'effetto BOLD. La sequenza di resting state può essere eseguita o facendo 3 acquisizioni da 5 minuti ciascuna, oppure, come nel nostro caso, un'unica acquisizione dalla durata di 15 minuti durante cui vengono fatti 446 campionamenti. Nella Tabella 1 vengono descritte le specifiche della sequenza EPI utilizzata.

ACQUISITION TR	2000 msec
GROUP DELAY	0 msec
DUMMY SAMPLES	4 samples
VIEW ORDER	Top/Down
SLICE ORDER	Sequential
PSD TRIGGER	Internal
EFFECTIVE TR	2000 msec
STATISTICAL SAMPLES	446 samples
TOTAL SCAN TIME	15:00 (mm:ss)
TE	Min 17.3 Max 36

Tabella 1: Caratteristiche sequenza EPI per il Resting State.

2.4 SPM - CONN

Per analizzare le immagini acquisite tramite l'esame di risonanza magnetica è stato utilizzato MATLAB. Quest'ultimo è un software sia per il calcolo numerico che per il linguaggio di programmazione, in particolare, in questo studio si è fatto ricorso ad SPM e nello specifico alla toolbox CONN.

2.4.1 SPM

SPM (Statistical Parametric Mapping), è stato sviluppato dal Laboratorio di Imaging Funzionale presso l'University College of London, da un team guidato da Karl Friston. È un software libero e open source che necessita dell'interfaccia Matlab, nato per consentire l'analisi di sequenze di dati di imaging cerebrale che includono immagini di fMRI, PET e SPECT ed è il software più diffuso per le analisi di fMRI.

2.4.2 CONN

Per il pre-processing delle immagini, è stato utilizzato il software multipiattaforma CONN che si basa su Matlab\SPM (Statistical Parametric Mapping), per calcolare, visualizzare ed ottenere un'analisi di connettività funzionale a partire da immagini di risonanza magnetica. È possibile ottenere l'analisi partendo da dati di neuroimaging sia di resting state come nel nostro caso, che di risonanza funzionale con stimoli.

2.4.3 Conversione dei dati

Nel nostro caso, SPM è stato utilizzato per il primo passaggio di preelaborazione, ossia la conversione delle immagini da standard DICOM a formato NifTI. Lo standard DICOM viene utilizzato in ambito radiologico per consentire la comunicazione, la visualizzazione, l'archiviazione e la stampa di dati. NifTI (Neuroimaging Informatics Technology Initiative) è

invece un formato di dati utilizzato per immagini neurologiche e che consente l'analisi di dati MRI con diversi software.

Per convertire le immagini di MRI dei soggetti è stata utilizzata la funzione DICOM import presente nella schermata software di SPM12. È stato necessario per ogni soggetto convertire sia le immagini morfologiche che quelle funzionali. Nel primo caso dalla conversione si ottiene 1 singolo file formato .nii, mentre nel caso delle immagini funzionali si ottengono una serie file .nii pari al numero di campionamenti della sequenza EPI utilizzata.

2.4.4 Basic Info

Prima di iniziare con la vera e propria preelaborazione è necessario aprire un nuovo progetto su CONN tramite l'apposito pulsante “**project**” e successivamente “**new project**”. A questo punto è richiesto di inserire le informazioni di base del nostro studio, come mostrato nella Figura 12 la finestra che viene mostrata richiede di specificare il numero dei soggetti in studio, il numero di sessioni, il tempo di ripetizione e il tipo di acquisizione. Nel nostro caso abbiamo inserito 24 soggetti, 1 ripetizione, 2 secondi come tempo di ripetizione e l'acquisizione continua.

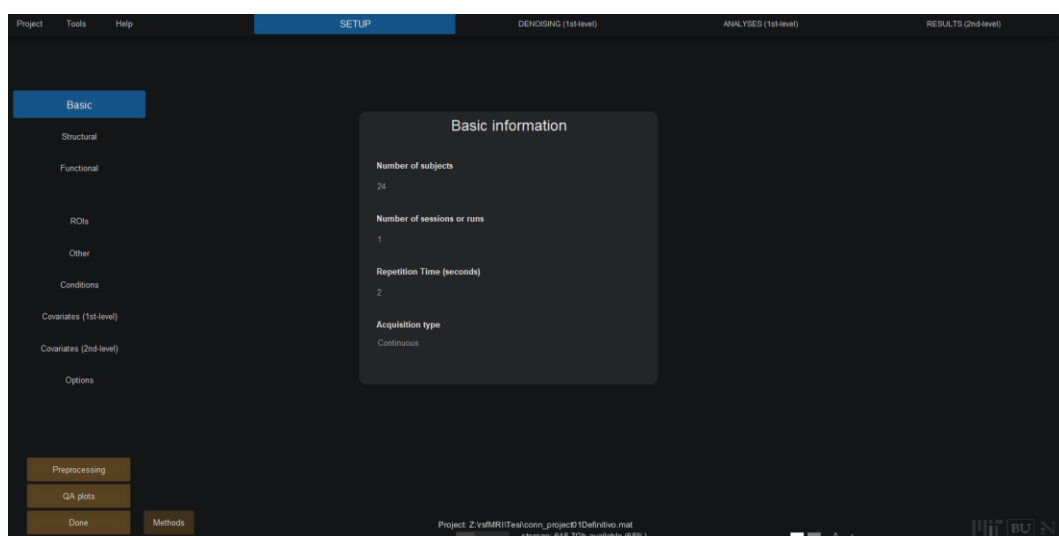


Figura 12: schermata delle informazioni di base di CONN.

A questo punto è necessario caricare i nostri dati che abbiamo precedentemente convertito [Figura 13]. Premendo il pulsante “**Structural**” si aprirà una nuova finestra con l’elenco di 24 soggetti e sarà necessario caricare per ogni soggetto i relativi dati strutturali. Nel nostro caso abbiamo inserito i pazienti in ordine alfabetico in modo da riuscire ad associare facilmente il numero del soggetto con il nome del paziente.

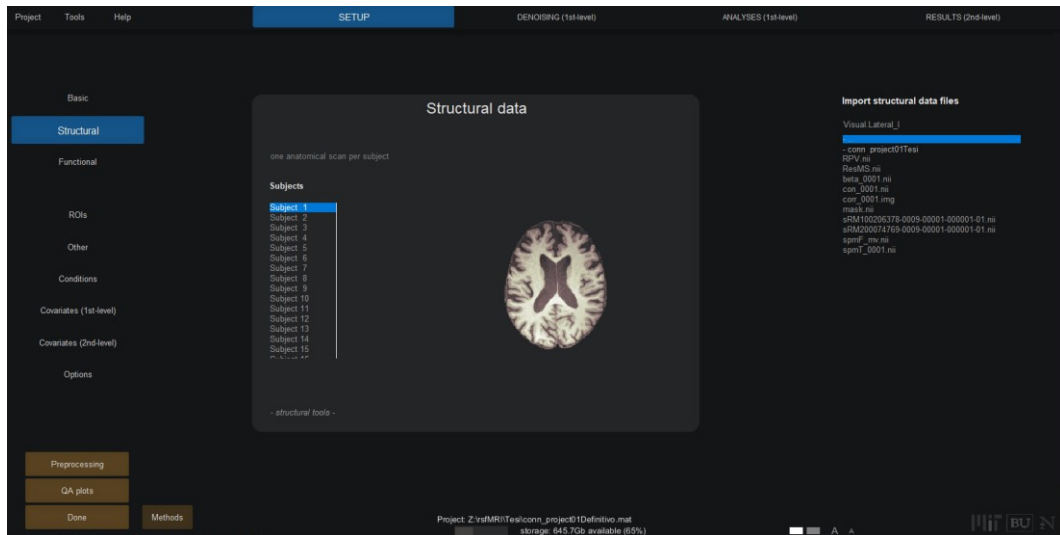


Figura 13: Schermata dell’inserimento dei dati strutturali.

Allo stesso modo, premendo sul pulsante “**Functional**” si aprirà una nuova finestra con un nuovo elenco di 24 soggetti per ognuno dei quali dovremo caricare i dati funzionali del paziente corrispondente [Figura 14].

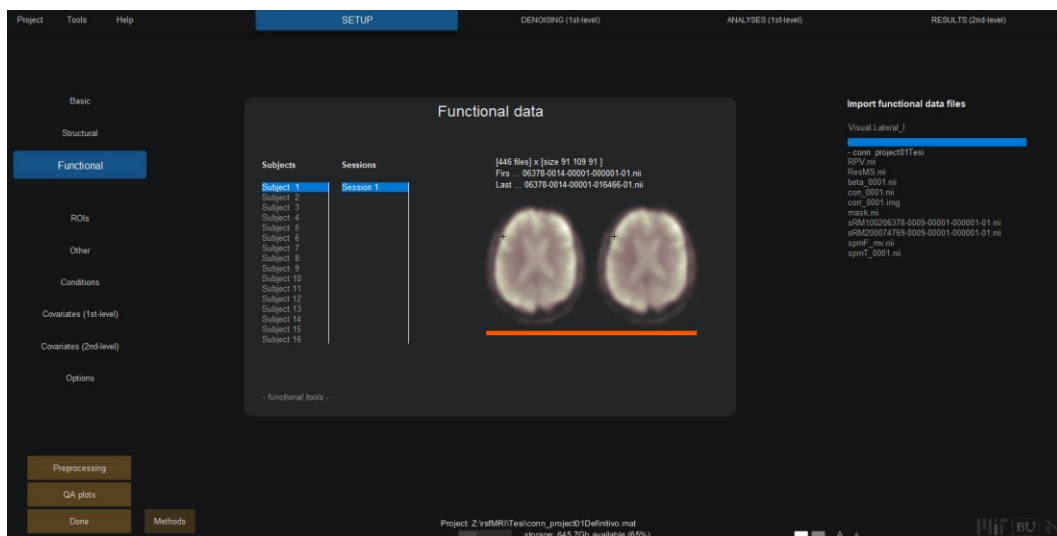


Figura 14: Schermata inserimento dati funzionali.

È necessario che l'ordine di caricamento dei pazienti sia sempre lo stesso tra strutturale e funzionale per poter avere una correlazione tra le due immagini e una corretta analisi.

È inoltre possibile inserire delle covariate. Questa opzione consente di creare dei sottogruppi che potranno essere successivamente confrontati durante l'analisi di secondo livello. Per impostare le covariate è sufficiente cliccare su **“Covariate (2nd-level)”** e, nella finestra che si aprirà con l'elenco dei soggetti, attribuire il numero “1” ai soggetti che devono essere inclusi nel sottogruppo, e “0” ai soggetti che invece devono essere esclusi [Figura 15].

In questo studio le covariate che sono state create sono 3, una per il sottogruppo dei pazienti affetti da Alzheimer, una per i pazienti affetti da demenza frontotemporale, e una per i pazienti con deterioramento cognitivo lieve.

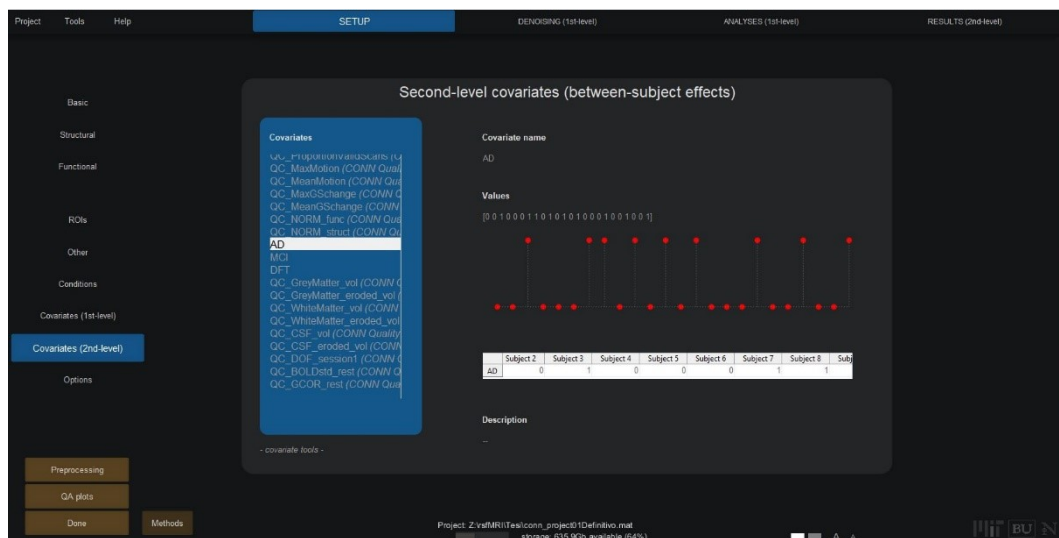


Figura 15: Schermata per l'inserimento delle covariate.

2.5 PREELABORAZIONE

Le fasi di preelaborazione hanno la finalità di andare a correggere o ridurre il più possibile l'influenza di tutta una serie di fattori noti che inficiano sulla qualità dei dati di risonanza magnetica sia funzionale che anatomica. Tra questi fattori troviamo il movimento del soggetto, le distorsioni temporali e spaziali dovuti alla sequenzialità del protocollo di acquisizione, alle disomogeneità di campo magnetico e anche, ovviamente, alle differenze anatomiche tra i vari soggetti [Figura 16]. Poiché questi effetti sono sempre presenti in tutte le acquisizioni, sono state sviluppate una serie di passaggi, svolti sequenzialmente, ognuno dei quali cerca di correggere uno o più fattori. È importante sottolineare che queste azioni correttive vengono applicate ai dati, morfologici e funzionali, grezzi prima di procedere alla forma di attivazione funzionale o di analisi.

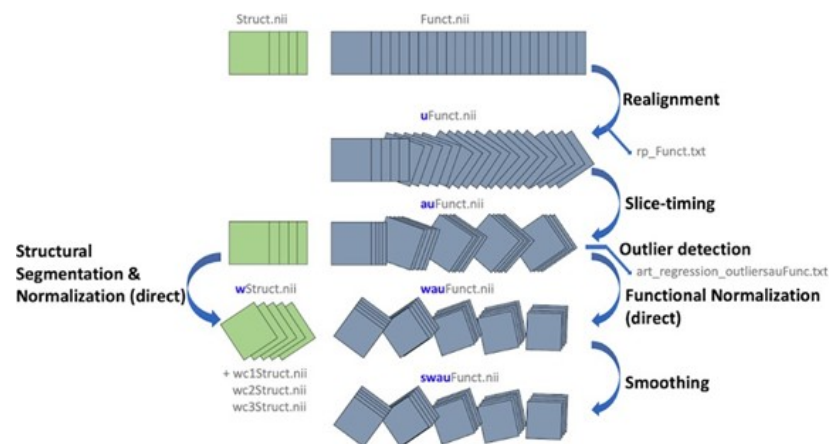


Figura 16: Schema delle fasi di preelaborazione.

2.5.1 Realignment

Questo primo passaggio, il “riallineamento”, consente di stimare e correggere gli effetti derivanti dal movimento all’interno dello scanner. I dati funzionali vengono riallineati utilizzando la procedura SPM12 per il *realign & unwarp* (Anderson et al. 2001), in cui tutte le scansioni vengono

coregistrate e ricampionate a un'immagine di riferimento (la prima scansione della prima sessione) utilizzando l'interpolazione b-spline. In questo modo è anche possibile trattare le potenziali interazione tra distorsione della suscettibilità e il movimento, stimando le derivate del campo di deformazione rispetto al movimento della testa e ricampionando i dati funzionali in modo che corrispondano al campo di deformazione dell'immagine di riferimento.

- Come input, in questa fase abbiamo i dati funzionali e otteniamo come output i dati funzionali riallineati (nel dataset primario), una nuova immagine di riferimento data dalla media di tutte le scansioni dopo il riallineamento e una stima dei parametri di movimento.

2.5.2 Slice-timing

Lo slice-timing correction (STC) è una procedura di SPM12 che consente di correggere il disallineamento temporale tra una fetta e l'altra dei dati funzionali causato dalla natura sequenziale dell'acquisizione fMRI.

- Come input, in questa fase abbiamo i dati funzionali e otteniamo come output i dati funzionali corretti STC. Nella fase di input è necessario inserire le informazioni sull'ordine di acquisizione delle slice e questo passaggio può essere fatto manualmente, selezionandole da un elenco di sequenze di acquisizione comuni, o lette automaticamente dal file collaterale .json.

In questo caso è stata scelta la modalità automatica in quanto la modalità di acquisizione era diversa tra un paziente e l'altro e non c'era una soluzione univoca che fosse corretta per tutti.

2.5.3 Outlier detector

Questa fase permette di individuare potenziali scansioni anomale o movimenti del soggetto nello scanner. Per ogni timepoint viene considerato un riquadro di 140x180x115 mm intorno al cervello e vengono presi 6 punti di controllo, uno al centro di ogni faccia del riquadro. A questo punto si calcola lo spostamento framewise, se risulta superiore a 0,9 mm o con variazioni di segnale BOLD globali, superiore a 5 s.d. vengono contrassegnati come potenziali anomalie. Il segnale BOLD globale viene calcolato per ogni timepoint come variazione media nella maschera globale di spm, misurata in unità di deviazione standard [Figura 17].

- Come input, in questa fase abbiamo i dati funzionali e i parametri di movimento stimati dalla fase di realignment. Come output otteniamo un elenco dei potenziali outlier e nuove immagini di riferimento per i dati funzionali ottenuti dalla media di tutte le scansioni ad eccezione di quelle potenzialmente anomale.

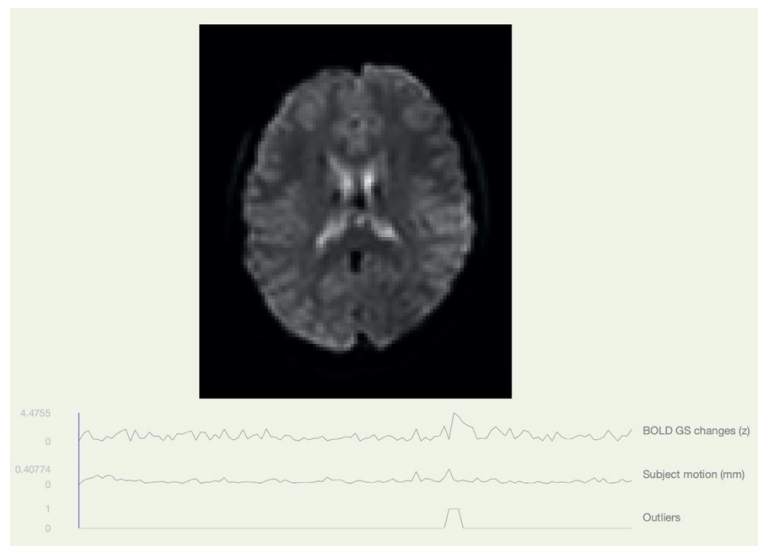


Figura 17: Nel grafico viene mostrata nella prima riga la misura del segnale BOLD, nella seconda riga il movimento del soggetto e nella terza riga le possibili anomalie riconosciute.

2.5.4 Functional normalization (direct)

Sia i dati funzionali che anatomici vengono normalizzati nello spazio MNI standard (Montreal Neurological Institute) e segmentati in materia grigia, materia bianca e in aree tissutali CSF utilizzando la procedura di segmentazione e normalizzazione unificata SPM12 (Ashburner e Friston, 2005) [Figura 18]. Questa procedura esegue iterativamente la classificazione dei tessuti, stimando le successive mappe di probabilità tissutale (TPM) dai valori di intensità dell'immagine funzionale/anatomica di riferimento, e la registrazione, stimando la trasformazione spaziale non lineare che meglio approssima le TPM successive e precedenti, fino alla convergenza.

Per i dati funzionali, questa procedura di normalizzazione diretta viene applicata utilizzando il segnale BOLD medio come immagine di riferimento, mentre per i dati strutturali viene usato un volume grezzo pesato in T1. Sia i dati strutturali che funzionali vengono ricampionati in un rettangolo di selezione predefinito di 180x216x180 mm con voxel isotropici di 2mm (per i dati funzionali) e di 1mm (per i dati strutturali) utilizzando un'interpolazione spline del quarto ordine.

- Come input, in questa fase abbiamo i dati funzionali e i dati strutturali e otteniamo come output i dati funzionali e strutturali nello spazio MNI, maschere di materia bianca, materia grigia e CSF.

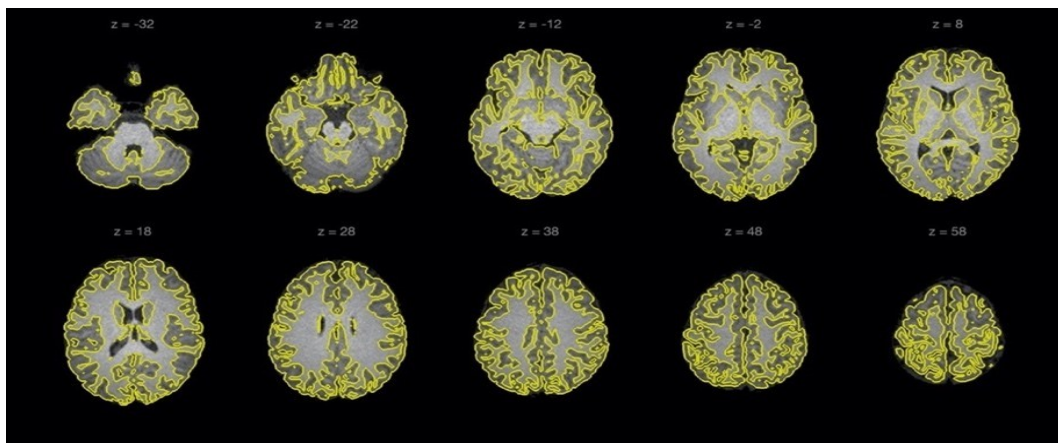


Figura 18: Segmentazione e normalizzazione nello spazio MNI.

2.5.5 Smoothing

Per aumentare il rapporto segnale/rumore BOLD e ridurre l'influenza della variabilità residua funzionale e della circonvoluzione anatomica tra i soggetti, i dati funzionali vengono “uniformati”. Questo è possibile utilizzando una convoluzione spaziale con un kernel gaussiano di 8 mm di larghezza massima (FWHM).

- Come input, in questa fase abbiamo i dati funzionali e otteniamo come output i dati funzionali “smussati”.

2.5.6 Come eseguire la pipeline di preelaborazione di CONN

Tutti questi passaggi vengono eseguiti in successione automatica una volta avviata la pipeline di preelaborazione.

Dopo aver inserito su CONN i dati funzionali grezzi e i dati strutturali grezzi per uno o più soggetti come visto nel paragrafo 2.4.4, fare clic sul pulsante "**Preprocessing**", selezionare la prima linea di preelaborazione, contrassegnata come “*default preprocessing pipeline for volume-based analyses (direct normalization to MNI-space)*” e fare clic su "**Done**" e "**Start**" [Figura 19].

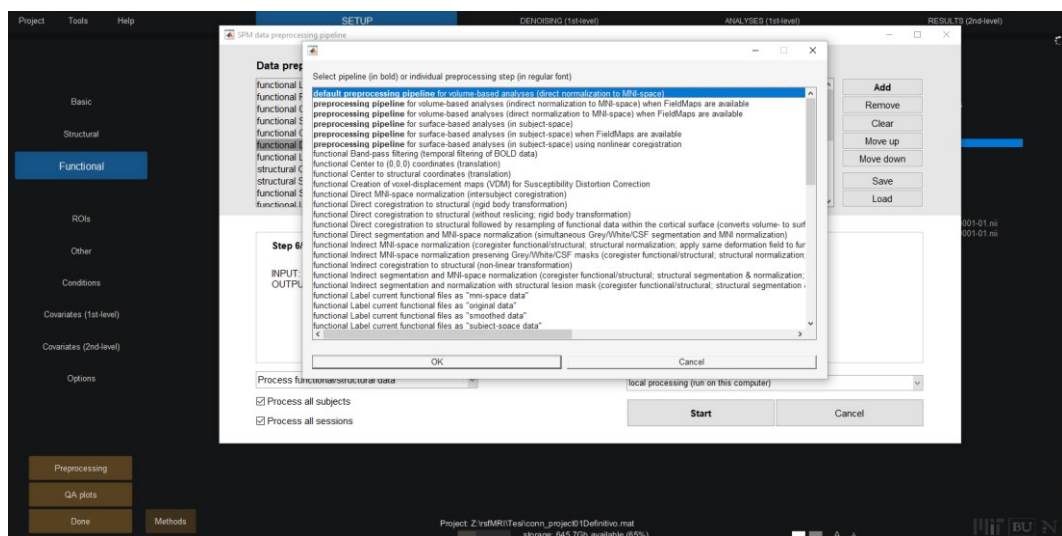


Figura 19: Schermata di avvio della default preprocessing pipeline.

2.6 DENOISING

Questa sezione di CONN, definita pipeline di denoising, descrive le procedure standard utilizzate per caratterizzare e rimuovere le fonti di rumore residuo non neurale. Vengono combinate due fasi: la fase di regressione lineare dei potenziali effetti confondenti del segnale BOLD e il filtro temporale a banda passante.

- **Regressione lineare:** i fattori che vengono considerati confondenti dal segnale BOLD vengono rimossi per ciascun voxel, soggetto e sessione funzionale, utilizzando la regressione ai minimi quadrati ordinari (OLS). I potenziali effetti confondenti vengono poi utilizzati per implementare una procedura di correzione del rumore basata su componenti anatomiche e includono componenti di rumore provenienti dalla materia bianca cerebrale e dalle aree cerebrospinali (Behzadi et al. 2007), parametri di movimento stimati del soggetto (Friston et al. 1995), scansioni outlier identificate (Power et al. 2014). [19]
- **Filtro temporale a banda passante:** vengono rimosse dal segnale BOLD le frequenze temporali inferiori a 0,008Hz o superiori a 0,09Hz. In questo modo è possibile ridurre al minimo l'influenza del rumore fisiologico, del movimento e di altre fonti di rumore. Il filtraggio è implementato da operazioni che minimizzano gli effetti di confine e viene eseguito dopo la regressione per evitare qualsiasi disallineamento di frequenza nella procedura.

2.6.1 Valutazione dei risultati di denoising

L'effetto del denoising che agisce per minimizzare l'influenza degli artefatti, può essere caratterizzato stimando la distribuzione dei valori di connettività funzionale (FC) tra coppie di punti scelti a caso all'interno del cervello prima e dopo il denoising. Considerando il segnale BOLD dopo la preelaborazione, le distribuzioni di FC mostrano un'elevata variabilità sia tra

i soggetti che tra le sessioni, oltre che l'influenza di effetti fisiologici e di movimento su larga scala. Dopo il denoising, le distribuzioni FC risultano approssimativamente centrate, con piccole ma evidenti code nel lato positivo e una variabilità tra soggetti e tra sessioni, notevolmente ridotta [Figura 20].

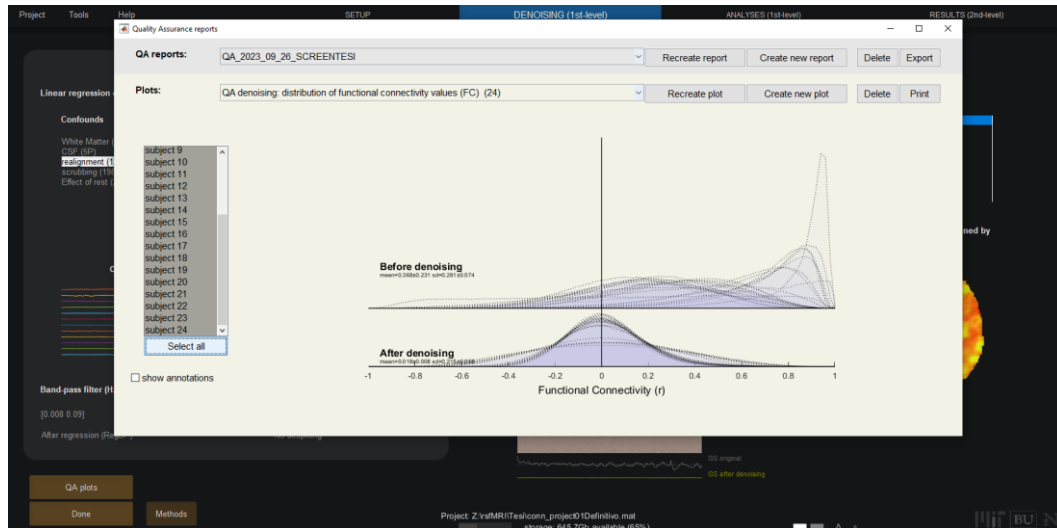


Figura 20: Schermata di distribuzione dei valori di connettività prima e dopo il denoising.

Altri modi utili per valutare la qualità dei risultati della procedura di denoising sono il calcolo delle correlazioni QC-FC (Ciric et al. 2017). Anche le correlazioni QC-FC esaminano i valori di connettività (FC) tra coppie di punti scelti a caso all'interno del cervello, ma invece di visualizzare semplicemente la distribuzione dei valori, questo metodo valuta se i valori FC sono correlati tra i soggetti utilizzando anche altre misure di controllo di qualità (QC). Inoltre, questa distribuzione può essere confrontata direttamente con una distribuzione di ipotesi nulla (NH) associata (mostrata come linee rosse tratteggiate della Figura 21), con un valore di corrispondenza percentuale che quantifica il grado di somiglianza tra i due (una corrispondenza del 95% o superiore con NH indica la mancanza di associazioni QC-FC degne di nota). [19]

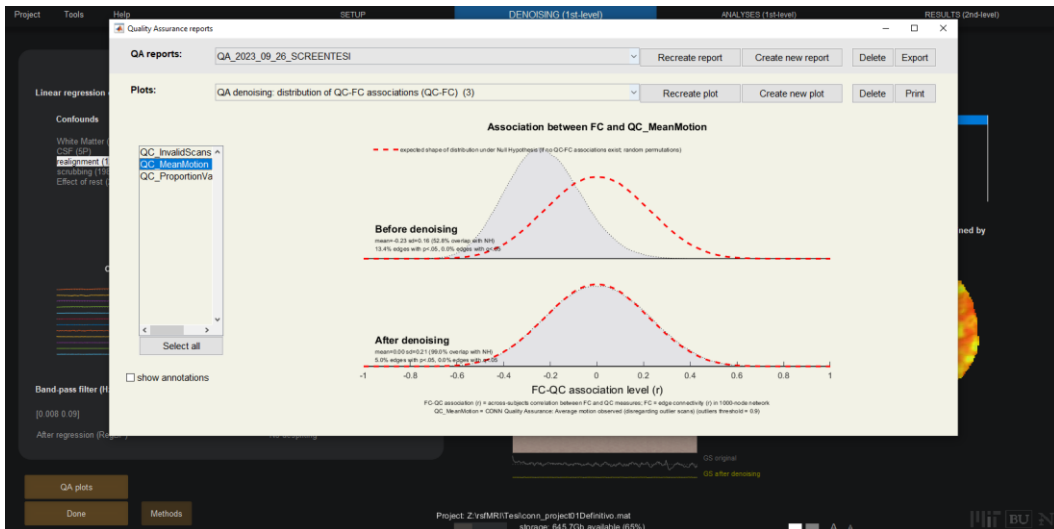


Figura 21: Distribuzione dei valori di connettività con associazione FC per il denoising.

2.6.2 Come eseguire la pipeline di denoising di CONN

Anche in questo caso tutte le opzioni saranno impostate di default, per avviare la procedura di denoising appena descritta è quindi sufficiente cliccare sulla finestra di “**Denoising**” successivamente su “**Done**” e “**Start**”. A questo punto inizierà l’esecuzione della pipeline di denoising predefinita. [Figura 22]

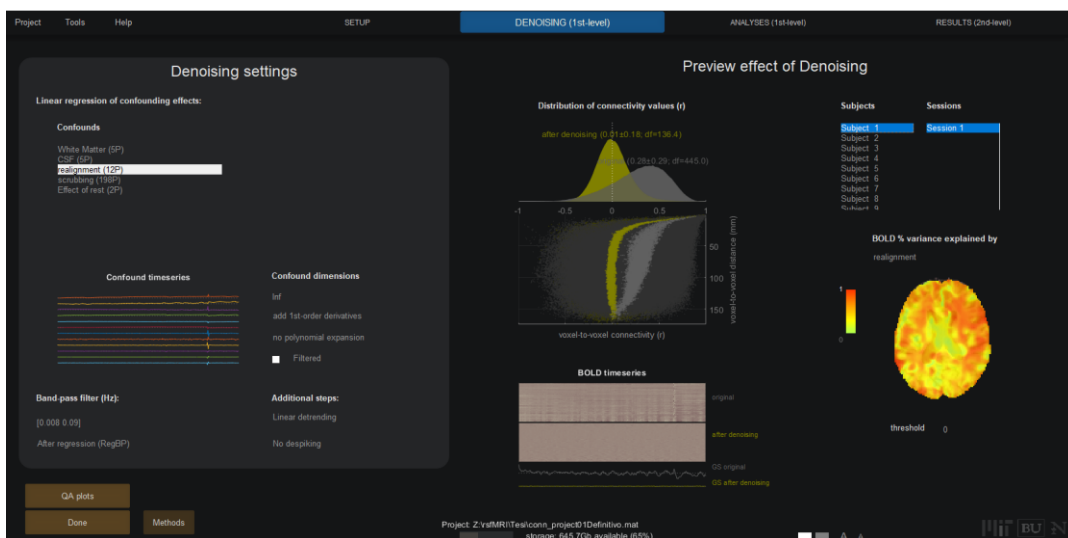


Figura 22: Schermata di denoising.

2.7 ANALYSES (1ST-LEVEL) - MISURE DI CONNETTIVITÀ FUNZIONALE

L'analisi di primo livello cerca di quantificare il grado di integrazione funzionale tra diverse aree cerebrali misurando le correlazioni temporali tra le fluttuazioni del segnale BOLD. Esiste un'elevata gamma di metodi che ci consentono di fare queste misure e possiamo suddividerle nelle seguenti categorie:

- Misure di connettività seed-based, volte a indagare le proprietà della connettività funzionale da singoli *seed* o regioni.
- Misure ROI-to-ROI, volte a indagare i modelli di connettività tra regioni diverse;
- Approcci teorici ai grafi, volti a studiare le proprietà dei grafi di connettività tra più regioni;
- Misure basate sul network cerebrale, volte a studiare le proprietà all'interno del connettoma cerebrale;
- Misure di connettività dinamica, volte a studiare le fonti di variabilità temporale nei modelli di connettività funzionale.

Nei prossimi paragrafi saranno spiegate nel dettaglio le misure di connettività che abbiamo utilizzato in questo studio.

2.7.1 Misure di connettività seed-based (SBC)

Le metriche di connettività seed-based caratterizzano i modelli di connettività con un "*seed*" (seme) o una ROI (regione d'interesse) predefinita. Questo tipo di metrica viene spesso utilizzato quando si vuole studiare la connettività in poche singole regioni e si vuole analizzare dettagliatamente i modelli di connettività tra queste aree e il resto del cervello [Figura 23].

Il pattern di connettività con un singolo seme spesso comprende la stessa area, quantificando indirettamente il livello di omogeneità all'interno dell'area stessa, ma spesso comprende anche diverse altre aree distanti, quantificando direttamente la forza della connettività interregionale.

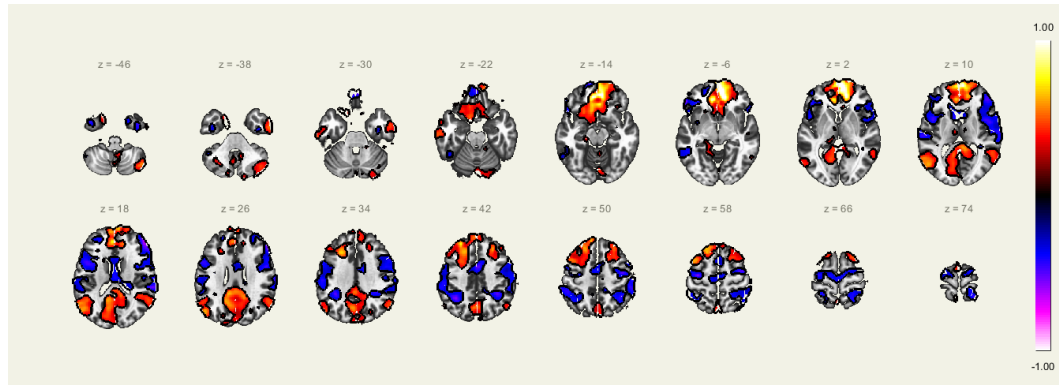


Figura 23: Esempio di mappa mSBC con seme DefaultMode.mPFC durante il riposo mentre si controllano tutte le altre ROI di rete in un singolo soggetto.

Mappe di connettività multivariate seed-based (mSBC)

Le mappe SBC multivariate sono calcolate come coefficienti di correlazione semiparziale tra le serie temporali BOLD di una ROI e le serie temporali BOLD di ogni singolo voxel, dopo aver controllato per una o più serie temporali BOLD di altre ROI. Queste mappe [Figura 24] hanno lo scopo di indagare i potenziali percorsi di connettività. Rappresentano il livello di connettività effettiva o diretta tra un singolo seme/ROI e ogni voxel, dopo aver scontato gli effetti che possono essere mediati o spiegati da altre ROI.

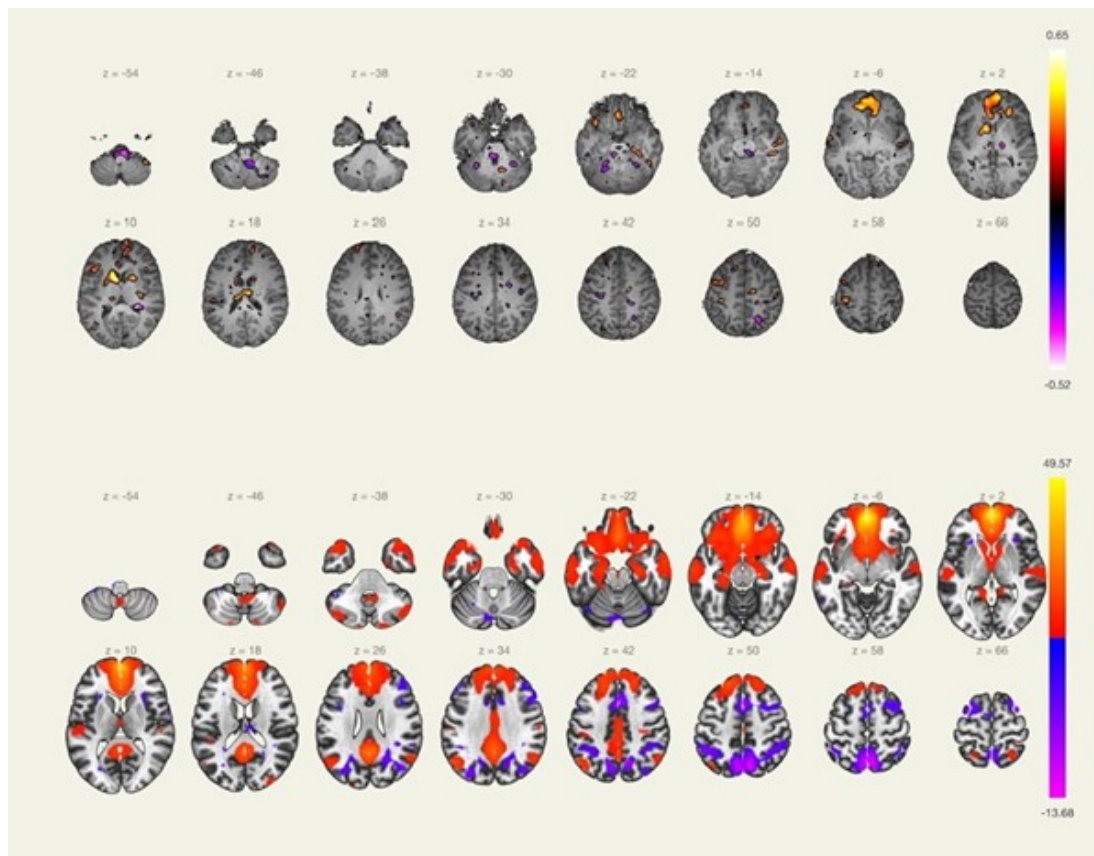


Figura 24: Esempio di mappa mSBC con seme DefaultMode.mPFC durante il riposo mentre si controllano tutte le altre ROI di rete in un singolo soggetto in alto e media su 198 soggetti in basso.

Mappe di connettività ponderata seed-based (wSBC)

Le mappe wSBC sono utilizzate per caratterizzare la forza della connettività funzionale specifica per ogni compito o condizione. Sono calcolate usando un modello lineare ai minimi quadrati (WLS) ponderato con pesi temporali definiti dall'utente che identificano ogni singolo compito. Negli eventi o compiti legati ai disegni, i pesi sono definiti come una specifica serie temporale della condizione convoluta con una funzione di risposta emodinamica canonica. Nelle analisi del resting state puro, i pesi sono definiti per comprendere interi run o sessioni.

Le mappe SBC ponderate possono essere interpretate esattamente come le mappe SBC standard, andando solo a limitare la durata del compito specifico (le wSBC sono definite in modo da essere esattamente uguali alle mappe SBC quando si utilizzano pesi costanti che comprendono l'intera serie temporale).

2.7.2 Come calcolare le mappe SBC di CONN

Una volta effettuato il denoising si passa alla finestra successiva cliccando su “**Analyses (1st-level)**” e si seleziona, nell’elenco a sinistra, le misure di connettività “**Seed-to-voxel**” [Figura 25]. Se si vogliono eseguire più serie di analisi di primo livello, cliccare su “**Create/rename new first-level analysis**”. Tutte le opzioni hanno un’impostazione predefinita per calcolare le mappe SBC secondo le caratteristiche descritte in precedenza, è quindi sufficiente cliccare su “**Done**” e “**Start**” per calcolare le mappe SBC per ogni soggetto, condizione e “*seed*”.

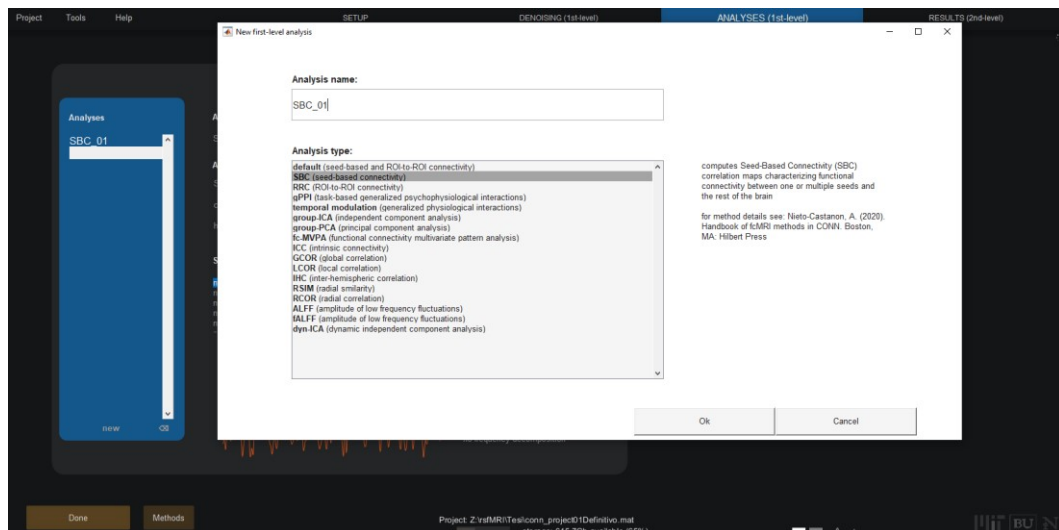


Figura 25: Schermata delle opzioni per le analisi di primo livello.

2.8 ANALYSES (2ND-LEVEL) – DEDUZIONI A LIVELLO DI CLUSTER

Sia nel contesto di misure basate sui voxel, come nel caso delle mappe SBC, sia nel contesto di misure ROI-to-ROI, come nel caso delle matrici RRC, le analisi di secondo livello prevedono l’esecuzione di un test statistico separato per ogni singola unità di analisi. Ciò provoca spesso un problema di confronti multipli, in quanto i normali controlli di falsi positivi porterebbero a tassi di errore eccessivamente elevati.

Un'analisi standard del GLM di secondo livello delle mappe di attivazione funzionale produce una singola mappa statistica parametrica, con un valore T o F per ciascun voxel, che caratterizza l'effetto di interesse. Quando si interpretano i dati, è più utile fare riferimento ad intere aree (cluster) piuttosto che a singoli voxel. Per fare questo sono stati sviluppati diversi metodi che permettono di definire i cluster partendo dai dati e di assegnare le statistiche a ogni cluster in modo da poter trarre conclusioni da esse, controllando allo stesso tempo la possibilità di falsi positivi. I tre metodi implementati da CONN sono:

- Parametric statistics based on Random Field Theory (Worsley et al. 1996)
- Nonparametric statistics based on permutation/randomization analyses (Bullmore et al. 1999)
- Nonparametric statistics based on Threshold Free Cluster Enhancement (Smith and Nichols, 2007)

2.8.1 Statistiche parametriche basate sulla Random Field Theory (RFT)

Per questo studio è stata utilizzata la Gaussian Random Field theory (Worsley et al. 1996). Le inferenze iniziano con una mappa statistica parametrica dei valori di T o F che vengono stimati tramite la GLM (general linear model). Alla mappa viene impostato un valore soglia, che può essere ad esempio $p < 0,001$, in questo modo tutte le aree che sono sopra questo il valore della soglia definiscono dei cluster non sovrapposti. Ogni cluster avrà quindi una sua dimensione (numero di voxel) che sarà comparata con una distribuzione di riferimento delle dimensioni attese sotto l'ipotesi nulla. Tale distribuzione è stimata considerando una combinazione dei gradi di libertà dell'analisi, il livello approssimativo di autocorrelazione spaziale dei residui del GLM e il livello di soglia selezionato.

I risultati, per ogni cluster, possono essere riassunti da un valore di p non corretto, definito come la probabilità che un cluster casuale, abbia queste dimensioni o maggiori, sotto l'ipotesi nulla. Allo stesso modo, il valore corretto di p FWE a livello di cluster è definito come la probabilità, nell'ambito dell'ipotesi nulla, di osservare almeno un cluster di dimensioni simili o superiori all'interno dell'intero volume di analisi. Infine, definiamo il valore corretto p FDR a livello di cluster, che rappresenta la proporzione prevista di scoperte erronee tra tutti i cluster di queste dimensioni o superiori all'interno dell'intero volume di analisi, sempre nell'ambito dell'ipotesi nulla.

In questo studio abbiamo utilizzato lo “**standard settings for cluster-based inferences #1: Random Field Theory parametric statistics**” che prevede di impostare la soglia delle mappe parametriche voxel-based di attivazione funzionale o di connettività, controllando in modo appropriato il tasso di errore familiare. In particolare, utilizza la RFT con una prima soglia non corretta pari a $p < 0,001$ per definire inizialmente i cluster di interesse, e successivamente una soglia corretta FDR pari a $p < 0,05$ per selezionare tra i cluster risultanti quelli ritenuti significativi (quelli più grandi di quanto ci si potrebbe ragionevolmente aspettare sotto l'ipotesi nulla).

2.8.2 Come ottenere le deduzioni a livello di cluster su CONN

Per ottenere i risultati, è sufficiente cliccare la finestra “**Results (2nd-level)**”, selezionare le covariate desiderate, i seed che si vogliono visualizzare e infine cliccare “**Results explorer**” [Figura 26].

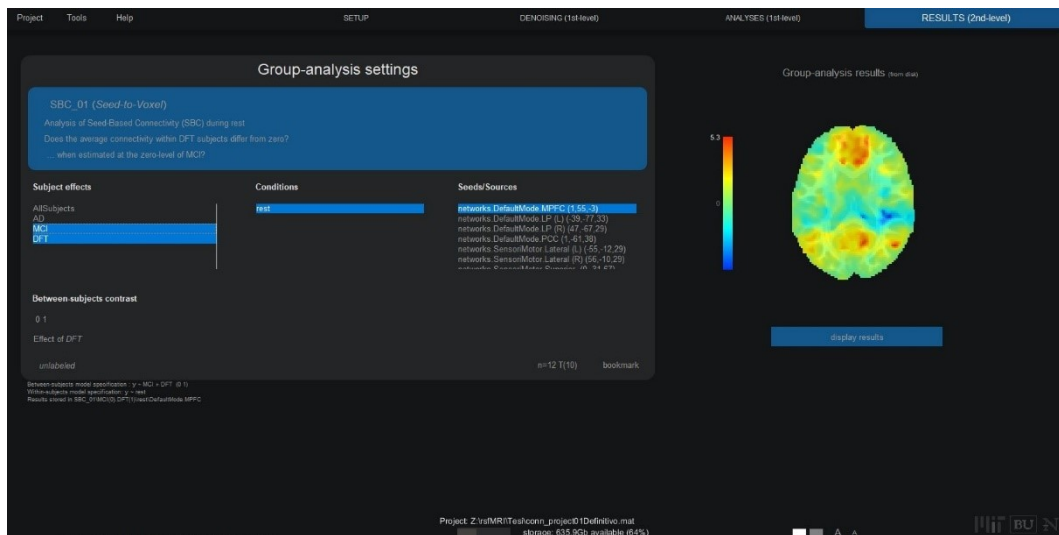


Figura 26: Schermata delle analisi di secondo livello con le covariate e i seed disponibili.

A questo punto è possibile scegliere tra diverse tipologie di display per visualizzare i risultati sotto varie forme. In questo studio sono state scelte la modalità “**slice display**” e la “**3D display**”, oltre alle immagini di default che vengono visualizzate non appena si apre la finestra “**Display results**”.

3. RISULTATI

Il software CONN consente di fare numerose tipologie di analisi, in questo studio si è scelto di utilizzare l'analisi della *seed based connectivity* durante il resting state. In particolare, la connettività è stata valutata per i seguenti *Seed*:

- Default Mode Network della corteccia prefrontale media (*DMN_mPFC*)
- Default Mode Network del lobo parietale laterale sinistro (*DMN_LP_l*)
- Default Mode Network del lobo parietale laterale destro (*DMN_LP_r*)
- Default Mode Network della corteccia cingolata posteriore (*DMN_PCC*)

Data la ridotta variabilità campionaria e il numero dei pazienti, sono stati identificati 3 gruppi principali andando così ad escludere dalle analisi di secondo livello i 2 soggetti che presentano degenerazione corticobasale (CBD).

- 1- Demenza di Alzheimer (AD): 9 soggetti
- 2- Demenza Frontotemporale (DFT): 8 soggetti
- 3- Deterioramento cognitivo lieve (MCI): 4 soggetti

Non avendo a disposizione un pool di soggetti sani, sono state valutate le differenze in average connectivity, nei network precedentemente indicati, per i 3 gruppi di demenza identificati.

Nello specifico si è valutata la significatività di queste differenze confrontando due gruppi alla volta; si è proceduto con il confronto tra la popolazione di soggetti affetti da demenza di Alzheimer e quella di soggetti affetti da demenza frontotemporale. Successivamente abbiamo calcolato le differenze tra soggetti affetti da demenza di Alzheimer e il gruppo di soggetti

a cui è stato diagnosticato il deterioramento cognitivo lieve. Infine, si sono valutate le differenze in average connectivity tra soggetti affetti da DFT e il gruppo di pazienti affetti da MCI.

La valutazione dei risultati è effettuata in termini di grandezza e significatività dei cluster ottenuti. È altresì possibile visualizzare graficamente i risultati riportati sull'encefalo standard (MNI brain-Talairach atlas). Nella valutazione del network della corteccia prefrontale media i risultati sono anche visualizzati in formato slice display e 3D display, rispettivamente evidenziando i voxel significativi slice per slice e sul rendering 3D dell'encefalo standard definito dal MNI.

3.1 DEMENZA DI ALZHEIMER E DEMENZA FRONTOTEMPORALE: CONFRONTO DELL' AVERAGE CONNETTIVITY

Vengono di seguito illustrati i risultati ottenuti nel confronto dell'average connectivity dei Default Mode Network per i *seed* precedentemente citati.

3.1.1 DMN della Corteccia Prefrontale Media

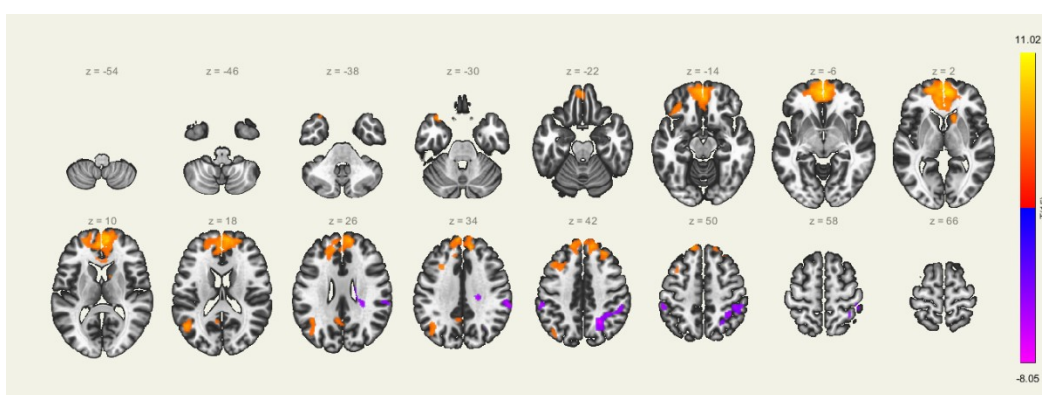


Figura 27: DMN mPFC in slice display del gruppo di studio AD vs DFT.

La Figura 27 permette una prima visualizzazione dei cluster di connettività consentendo, per ogni slice, di studiarne l'estensione.

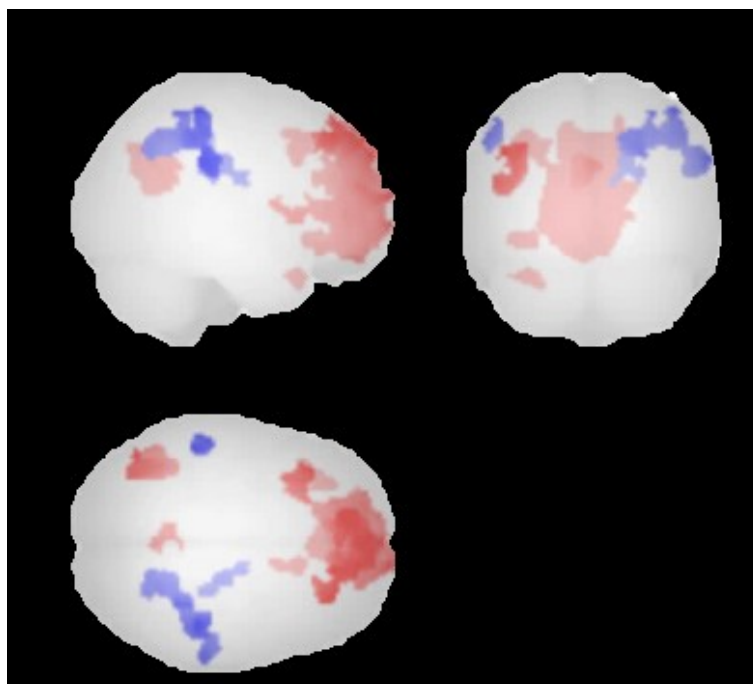


Figura 28: Cluster totali AD vs DFT in mPFC.

Nella Figura 28 sono riportati tutti i cluster dell'analisi tra soggetti con AD e DFT nel seed mPFC, nella Tabella 2 vengono espresse le caratteristiche dei 9 cluster individuati, in termini di grandezza (numero di voxel) e in termini di voxel statisticamente significativi (valore di p corretto FDR). Tanto più il valore di p si avvicina allo 0, tanto più il cluster è composto da voxel significativi.

Cluster (x,y,z)	Size	Size p-FDR
+08 +58 +22	7312	<0.00001
+24 -56 +42	1036	<0.00001
-48 -60 +18	660	0.000003
-30 +18 +36	309	0.001120
-08 -54 +26	201	0.009650
+20 -22 +34	190	0.010468
-34 +32 -10	157	0.020442
-54 -32 +46	141	0.027219
-38 +20 -34	125	0.037419

Tabella 2: Dimensioni dei cluster AD vs DFT in DMN mPFC.

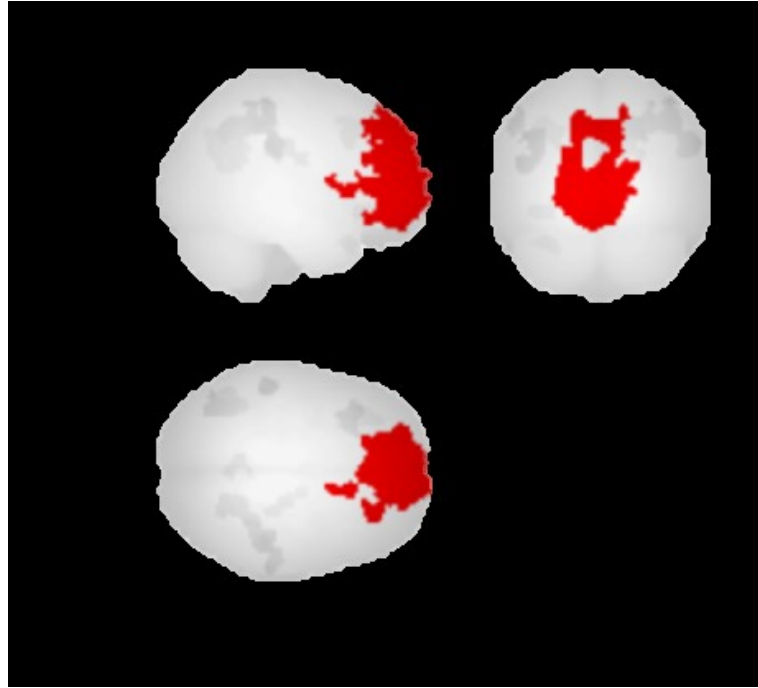


Figura 29: Cluster principale AD vs DFT in mPFC.

Nella Figura 29 si evince come il cluster maggiore sia situato in una regione dove il 20% dei voxel totali comprendano il 21% del polo frontale sinistro e il 17% dei voxel coprano il 16% polo frontale destro. Altre zone che rientrano in questo cluster con percentuali minori sono il giro paracingolato destro e sinistro e parte della corteccia frontale media.

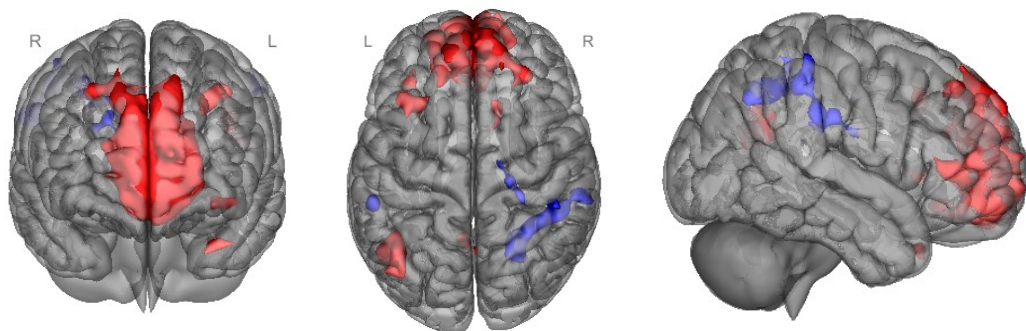


Figura 30: DMN mPFC in 3D display con visualizzazione nei tre piani principali del gruppo di studio AD vs DFT.

Nella Figura 30 la 3D display consente di vedere in maniera globale l'effettiva dimensione dei cluster di connessione nel gruppo in studio.

3.1.2 DMN del Lobo Parietale Laterale Sinistro

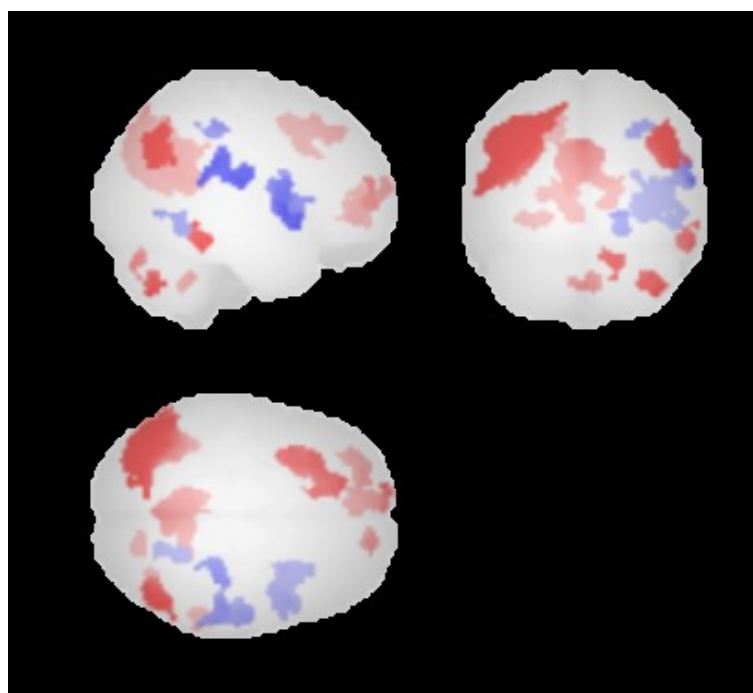


Figura 31: Cluster totali AD vs DFT in LP_1.

Nella Figura 31 sono riportati tutti i cluster dell'analisi tra soggetti con AD e DFT nel *seed* LP sinistro, mentre nella Tabella 3 sono riportati i valori dei 15 cluster individuati, in termini di grandezza (numero di voxel) e in termini di valore di voxel statisticamente significativi (valore di p-FDR).

Cluster (x,y,z)	Size	Size p-FDR
-42 -74 +28	2963	<0.00001
-06 -58 +30	1536	<0.00001
+46 +02 +12	867	<0.00001
-34 +12 +48	798	<0.00001
-06 +50 -04	473	0.000036
+60 -16 +18	454	0.000042
+46 -70 +34	436	0.000051
-26 +54 -08	206	0.005176
+22 -52 -12	162	0.012278
+38 -70 -40	162	0.012278
+16 +58 +04	146	0.016972

+62 -40 -20	135	0.020937
+34 -32 +48	127	0.024109
+04 -52 -46	109	0.037478
+16 -80 -30	101	0.044380

Tabella 3: Dimensioni dei cluster AD vs DFT in DMN LP_1.

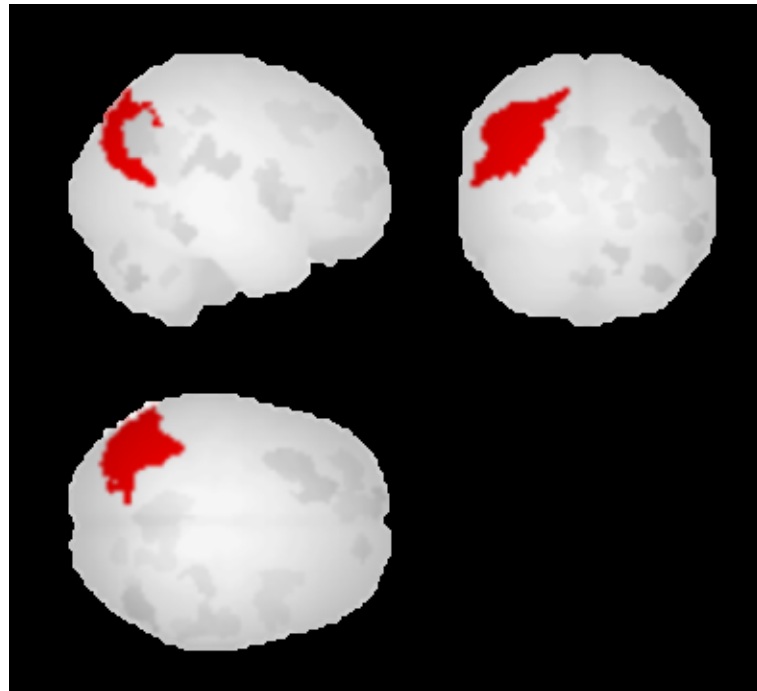


Figura 32: Cluster principale AD vs DFT in LP_1.

Il cluster maggiore in questo caso, [Figura 32] occupa con il 78% dei suoi voxel totali, il 46% della corteccia occipitale laterale di sinistra, e con l'11% dei suoi voxel, il 33% del giro angolare sinistro. Altre zone che sono coperte dai voxel di questo cluster, con percentuali minori, sono la corteccia occipitale laterale, divisione inferiore sinistra; il giro temporale medio e il lobo parietale superiore sinistro.

3.1.3 DMN del Lobo Parietale Laterale Destro

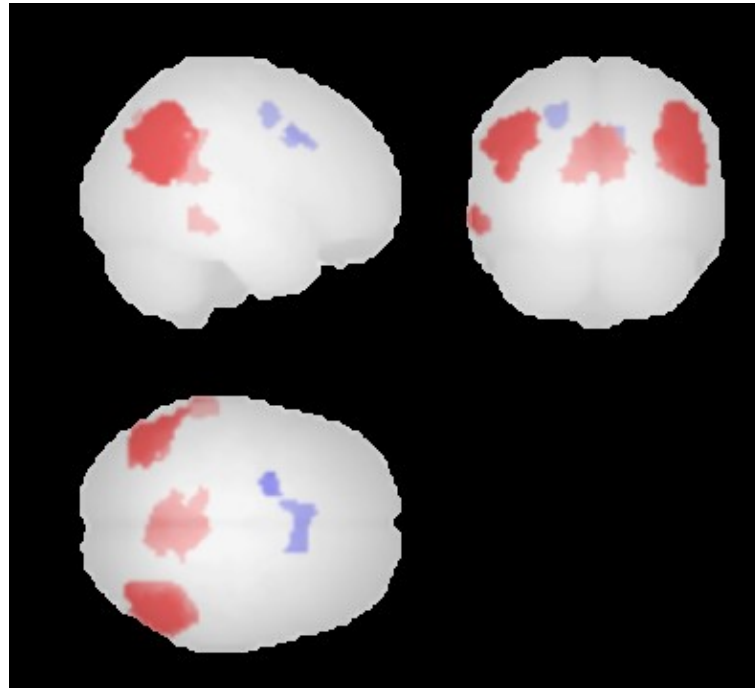


Figura 33: Cluster totali AD vs DFT in LP_r.

Nella Figura 33 sono riportati tutti i cluster dell'analisi tra soggetti con AD e DFT nel *seed* LP destro, mentre nella Tabella 4 sono descritti i 6 cluster totali in termini di dimensioni (numero di voxel) e di valori di voxel statisticamente significativi (valore p-FDR).

Cluster (x,y,z)	Size	Size p-FDR
+56 -68 +20	2774	<0.00001
+08 -58 +26	1971	<0.00001
-54 -60 +44	1149	<0.00001
+14 +16 +36	213	0.010815
-68 -38 -12	180	0.018869
-22 +00 +50	148	0.035107

Tabella 4: Dimensioni dei cluster AD vs DFT in DMN LP_r

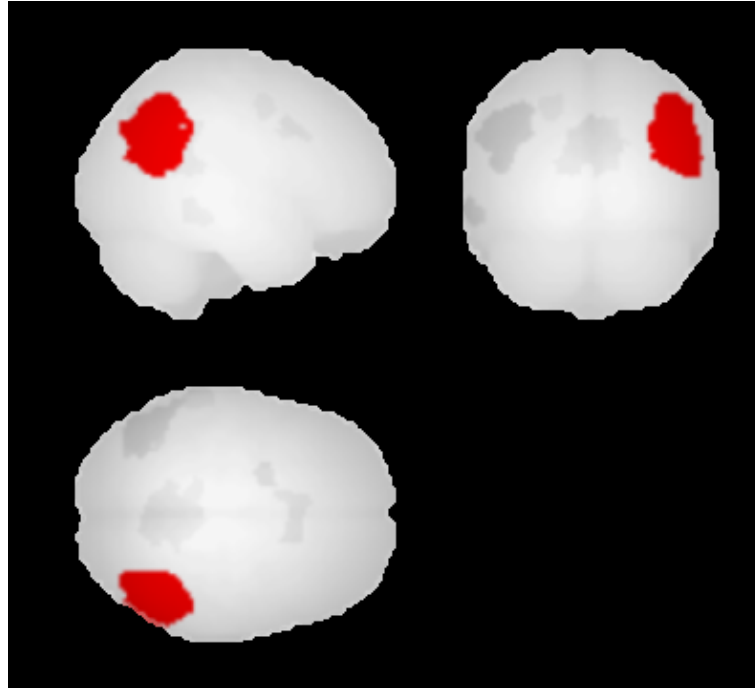


Figura 34: Cluster principale AD vs DFT in LP_r.

Il cluster principale rappresentato nella Figura 34 si trova per più della metà dei suoi voxel (51%) a coprire il 29% della corteccia laterale occipitale, divisione superiore destra, e per il 35% dei voxel totali a coprire il 67% del giro angolare destro. In percentuali minori, i voxel del cluster coprono parte della corteccia laterale occipitale, divisioni inferiore destra; il giro sopramarginale, divisione posteriore destra, il giro temporale medio, parte temporooccipitale destra e il lobo parietale superiore destro.

3.1.4 DMN della Corteccia Cingolata Posteriore

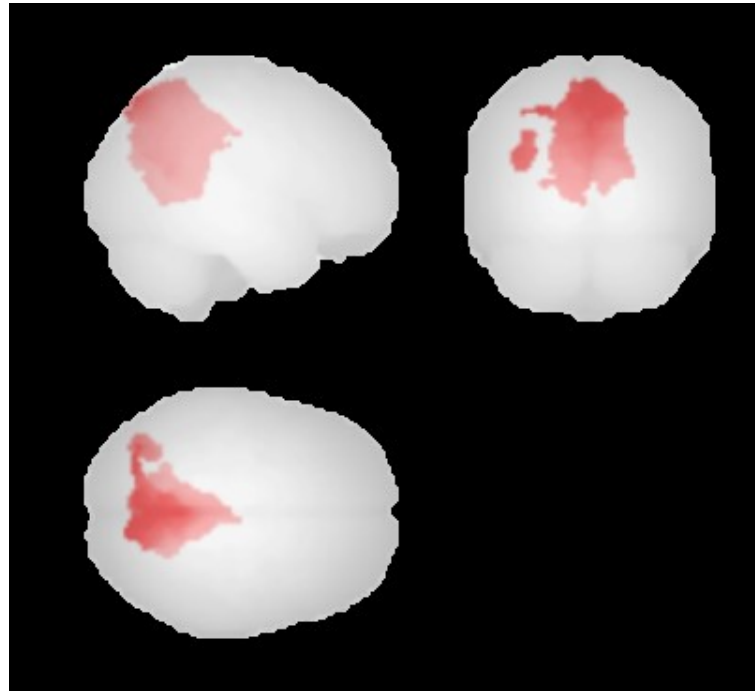


Figura 35: Cluster totali AD vs DFT in PCC.

Nella Figura 35 sono riportati tutti i cluster dell'analisi tra soggetti con AD e DFT nel *seed* PCC, mentre nella Tabella 5 sono riportati i 2 cluster analizzati, ordinati per dimensione (numero di voxel) e per valori di voxel statisticamente significativi (valore di p-FDR).

Cluster (x,y,z)	Size	Size p-FDR
+06 -56 +36	8556	<0.00001
+06 -56 +36	8556	<0.00001

Tabella 5: Dimensioni dei cluster AD vs DFT in DMN PCC.

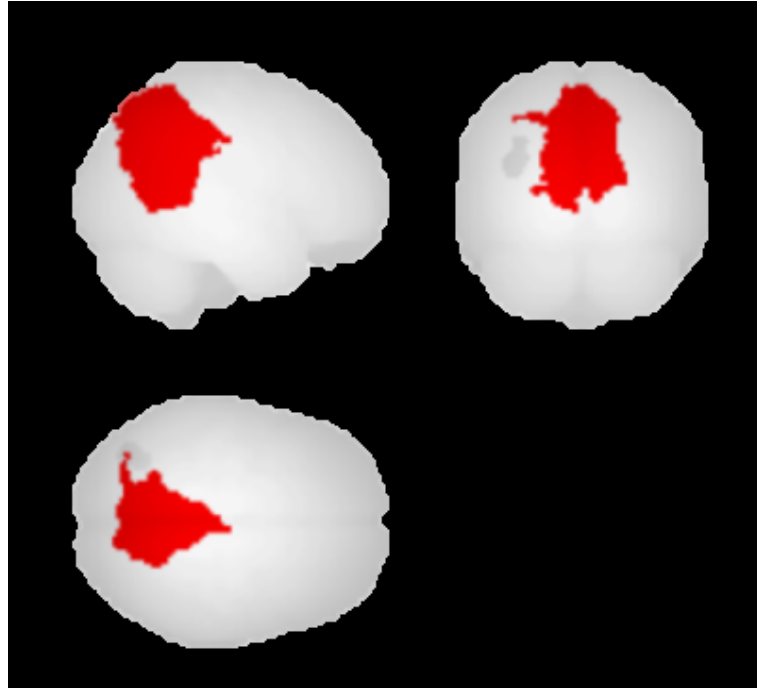


Figura 36: Dimensioni dei cluster AD vs DFT in DMN PCC.

Il cluster principale rappresentato nella Figura 36, per oltre la metà della sua dimensione (55% dei voxel totali) copre l'83% del precuneo, e per un'ulteriore 17% dei suoi voxel, copre il 60% del giro cingolato, divisione posteriore. Con percentuali ridotte di voxel, il cluster in questione copre anche parte della corteccia occipitale laterale, divisione superiore destra e sinistra; della corteccia cuneale destra e sinistra; della corteccia intracalcarea sinistra e del giro linguale sinistro.

3.2 DEMENZA DI ALZHEIMER E DETERIORAMENTO COGNITIVO LIEVE: CONFRONTO DELL' AVERAGE CONNETTIVITY

Vengono di seguito illustrati i risultati ottenuti nel confronto dell'average connectivity dei Default Mode Network per i *seed* precedentemente citati.

3.2.1 DMN della Corteccia Prefrontale Media

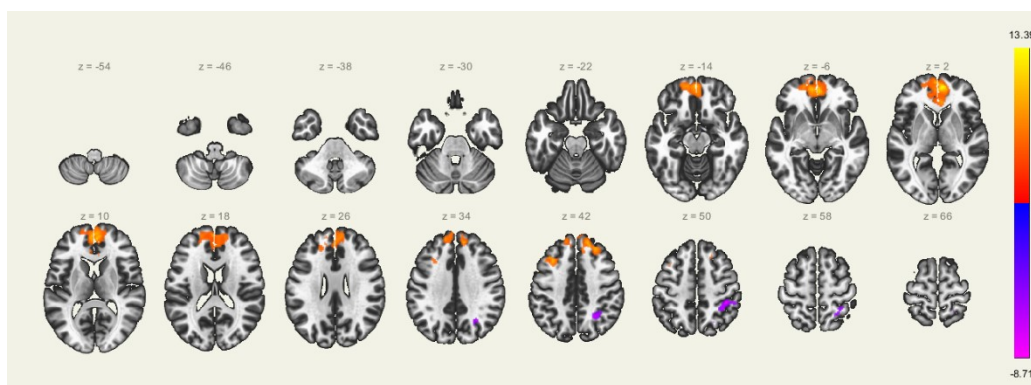


Figura 37: DMN mPFC in slice display del gruppo di studio AD vs MCI.

La Figura 37 rappresenta lo slice display dell'analisi tra il gruppo di soggetti con Alzheimer e il gruppo di soggetto con MCI, e in particolare, ci consente di avere una visualizzazione delle varie slice e di studiare, su ognuna di esse l'estensione dei cluster.

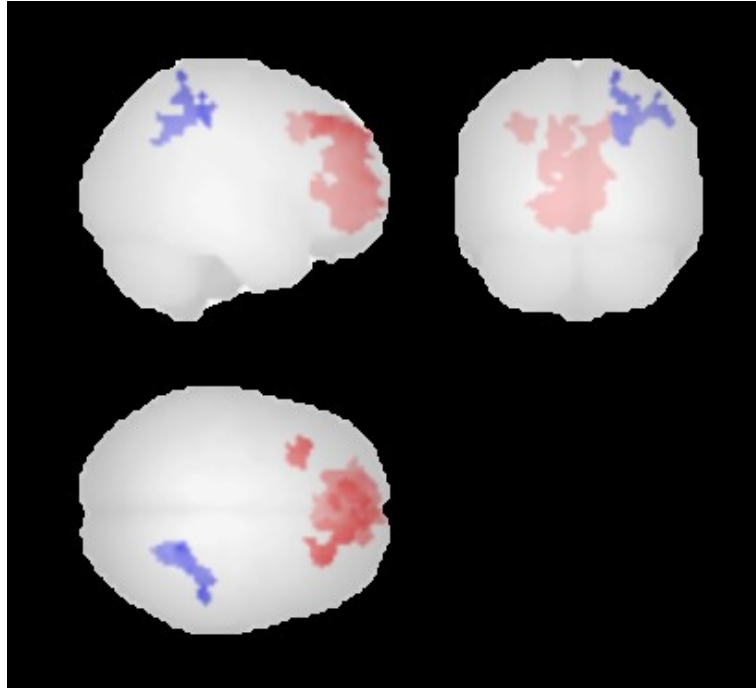


Figura 38: Cluster totali AD vs MCI in DMN mPFC.

Nella Figura 38 vengono rappresentati i 3 cluster dell'analisi tra soggetti con AD e MCI nel *seed* mPFC, e nella Tabella 6 vengono riportate le loro dimensioni in termini di numero di voxel e di rilevanza (valore p-FDR).

Cluster (x,y,z)	Size	Size p-FDR
+06 +52 +00	4436	<0.00001
+26 -54 +44	530	<0.00001
-36 +26 +44	218	0.000376

Tabella 6: Dimensioni dei cluster AD vs MCI in DMN mPFC.

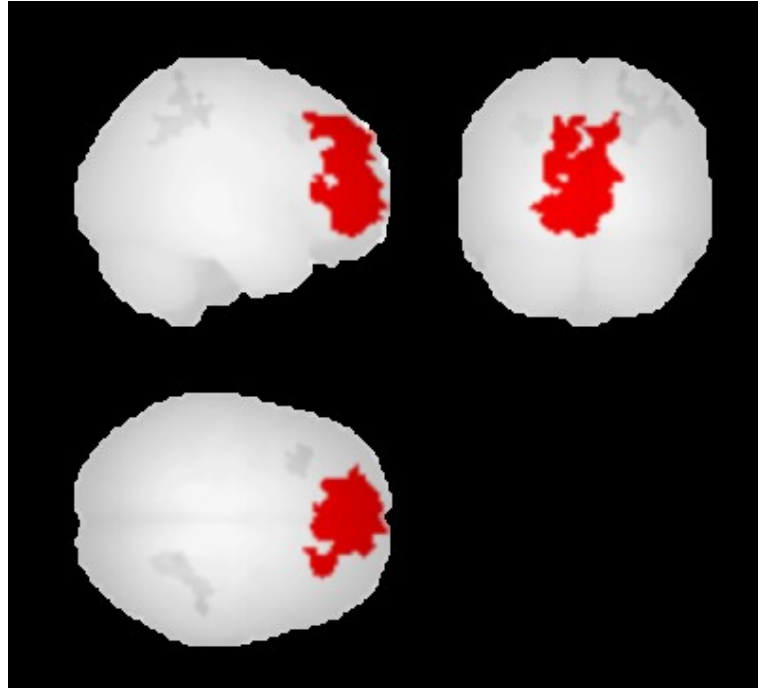


Figura 39: Cluster principale AD vs MCI in DMN mPFC.

Nella Figura 39 è rappresentato il cluster con maggiore rilevanza e da esso si evince che il 15% dei voxel totali coprono l'11% della regione del polo frontale destro e il 13% dei voxel totali coprono il 9% della regione del polo frontale sinistro. Con percentuali inferiori al 13% dei voxel totali, il cluster in questione, copre parte del giro paracingolato destro e sinistro; del giro cingolato, divisione anteriore; della corteccia media frontale; del giro frontale superiore destro e sinistro e del giro frontale medio destro e sinistro.

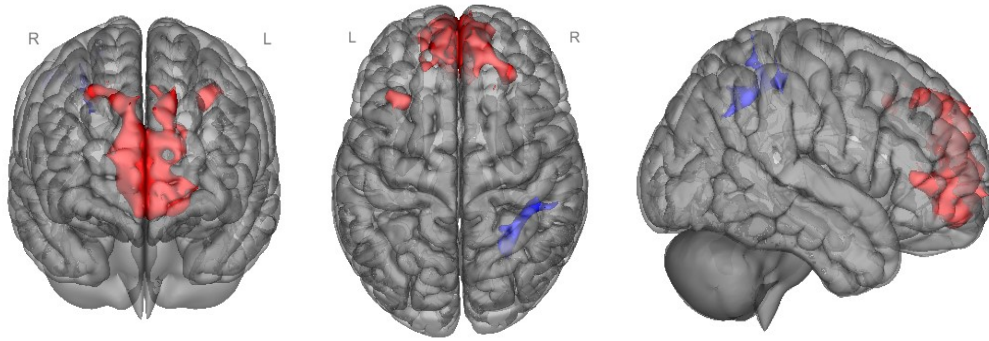


Figura 40: DMN mPFC in 3D display con visualizzazione nei tre piani principali del gruppo di studio AD vs MCI.

Con la visualizzazione del 3D display della Figura 40 è possibile analizzare, per il gruppo in esame, la dimensione dei cluster di connessione a livello globale.

3.2.2 DMN del Lobo Parietale Laterale Sinistro

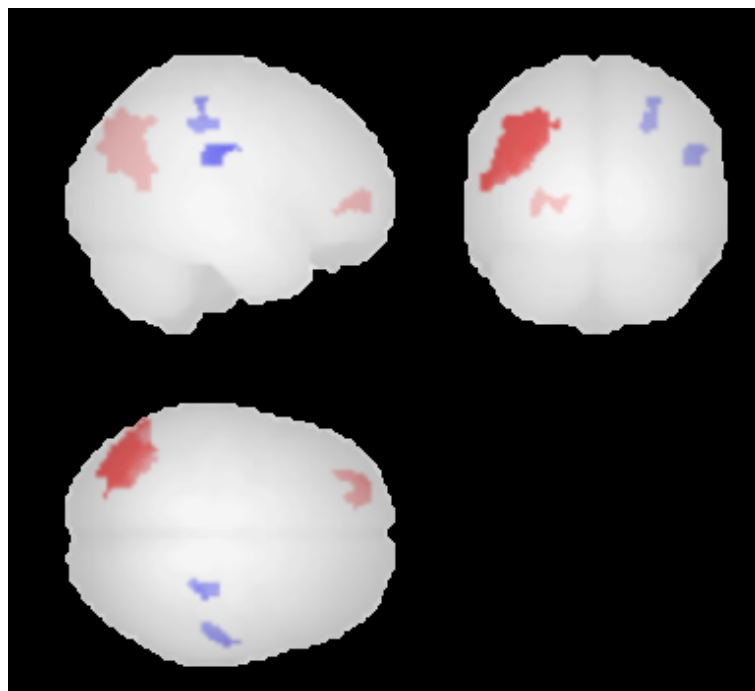


Figura 41: Cluster totali AD vs MCI in DMN LP_I.

Nella Figura 41 sono rappresentati i 4 cluster di connessioni presenti nel *seed* LP sinistro, e nella Tabella 7 vengono elencati in ordine di dimensione (numero di voxel) e in ordine di rilevanza (valore del p-FDR).

Cluster (x,y,z)	Size	Size p-FDR
-42 -72 +30	1521	<0.00001
-20 +48 -02	147	0.013057
+54 -24 +28	124	0.019738
+30 -34 +44	105	0.030271

Tabella 7: Dimensioni cluster AD vs MCI in DMN LP_l.

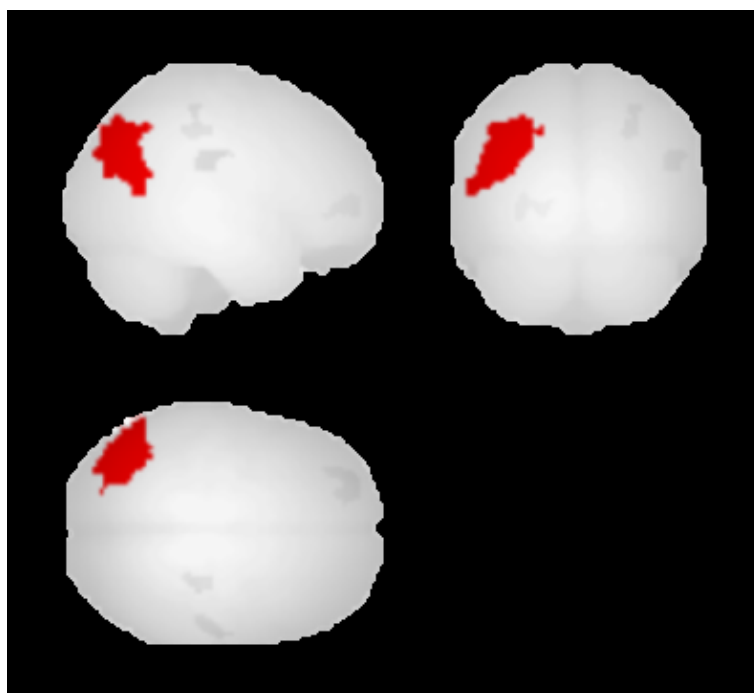


Figura 42: Cluster principale AD vs MCI in DMN LP_l.

Il cluster principale rappresentato nella Figura 42 per tre quarti della sua dimensione (75%) copre il 29% della corteccia occipitale laterale, divisione superiore sinistra. Con percentuali nettamente inferiori copre altre regioni come il polo frontale sinistro; il giro sopramarginale, divisione anteriore destra; il giro post centrale destro e la corteccia dell'opercolo parietale destra.

3.2.3 DMN del Lobo Parietale Laterale Destro

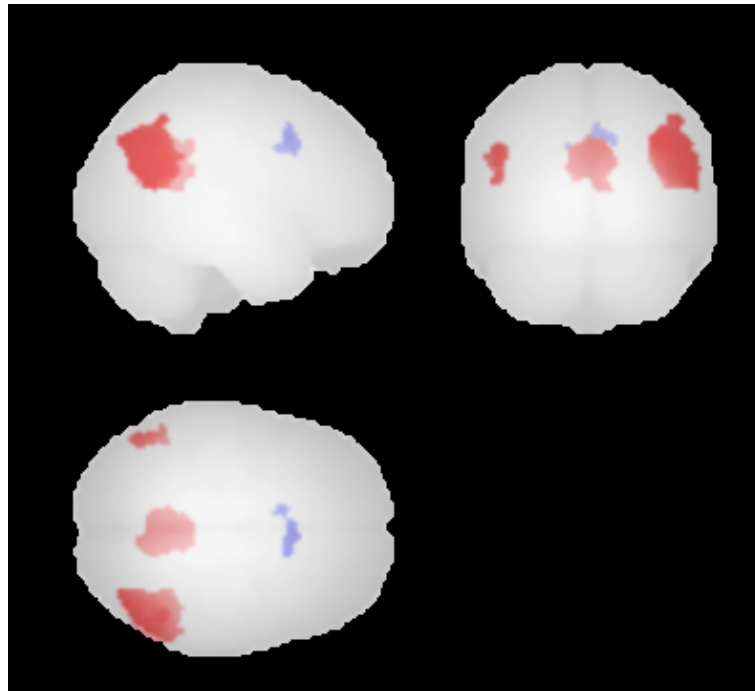


Figura 43: Cluster totali AD vs MCI in DMN LP_r.

Nella Figura 43 sono mostrati i 4 cluster rilevati dall'analisi tra soggetti con AD e MCI nel *seed* LP destro, nella Tabella 8 vengono elencati in termini di dimensione (numero di voxel) e in termini di rilevanza (p-FDR).

Cluster (x,y,z)	Size	Size p-FDR
+44 -70 +30	1916	<0.00001
+08 -58 +26	1229	<0.00001
-50 -68 +34	190	0.001315
+06 +18 +38	135	0.006091

Tabella 8: Dimensioni cluster AD vs MCI in DMN LP_r.

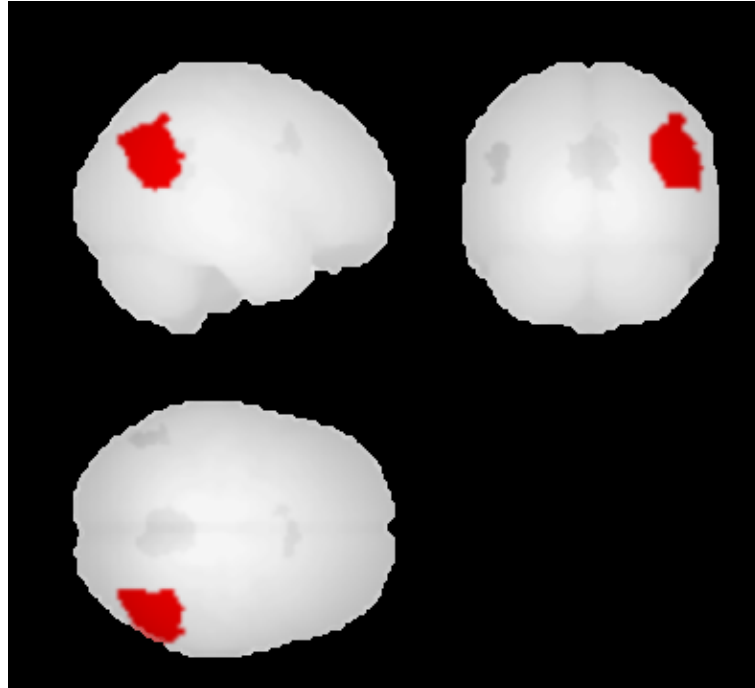


Figura 44: Cluster principale AD vs MCI in DMN LP_r.

Il cluster maggiore [Figura 44], in questo caso, per il 60% dei suoi voxel totali, copre il 24% della corteccia occipitale laterale, divisione superiore destra, e per un ulteriore 29% copre il 38% del giro angolare destro.

3.2.4 DMN della Corteccia Cingolata Posteriore

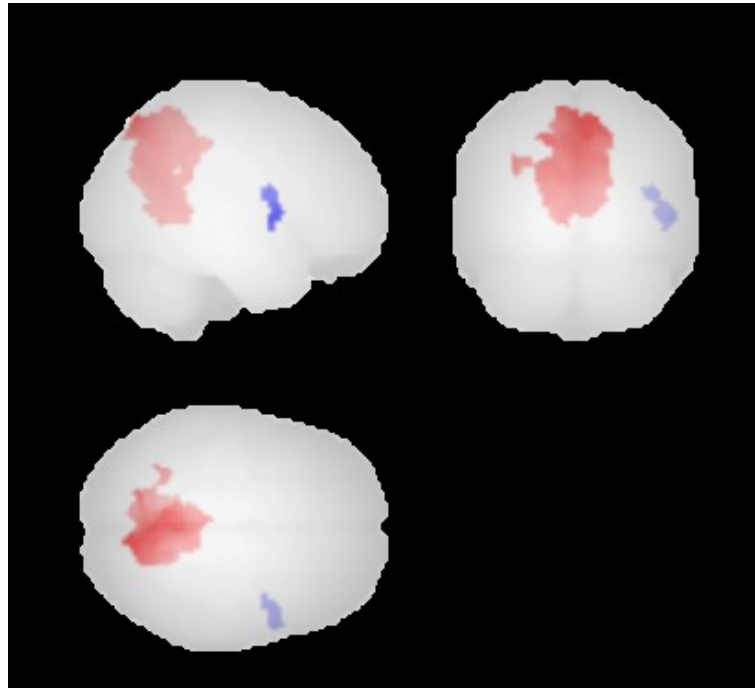


Figura 45: Cluster totali AD vs MCI in DMN PCC.

La Figura 45 rappresenta i 2 cluster risultanti dall'analisi tra soggetti nel *seed* PCC mentre nella Tabella 9 vengono elencati per dimensione (numero di voxel) e in base alla loro significatività (valore di p-FDR).

Cluster (x,y,z)	Size	Size p-FDR
-08 -56 +64	5697	<0.00001
+44 +02 +16	164	0.005639

Tabella 9: Dimensioni dei cluster AD vs MCI in DMN PCC.

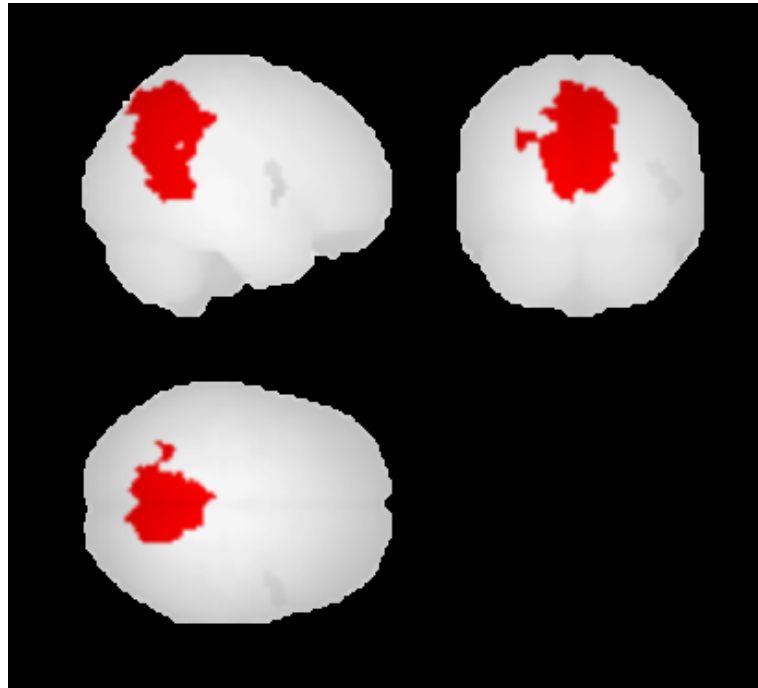


Figura 46: Cluster principale AD vs MCI DMN PCC.

Nella Figura 46 si evince come il cluster maggiore sia situato in una regione dove il 60% dei voxel totali comprendano il 68% del precuneo, mentre l'11% coprano il 27% del giro cingolato, divisione posteriore. Con percentuali molto minori, il cluster copre anche regioni della corteccia laterale occipitale, divisione superiore destra; della corteccia cuneale sinistra e destra e del giro linguale sinistro.

3.3 DEMENZA FRONTOTEMPORALE E DETERIORAMENTO COGNITIVO LIEVE: CONFRONTO DELL' AVERAGE CONNETTIVITY

Vengono di seguito illustrati i risultati ottenuti nel confronto dell'average connectivity dei Default Mode Network per i *seed* precedentemente citati.

3.3.1 DMN della Corteccia Prefrontale Media



Figura 47: DMN mPFC in slice display del gruppo di studio DFT vs MCI.

La Figura 47 rappresenta in modalità slice display la distribuzione e la dimensione dei cluster dei soggetti di questa analisi, fetta per fetta.

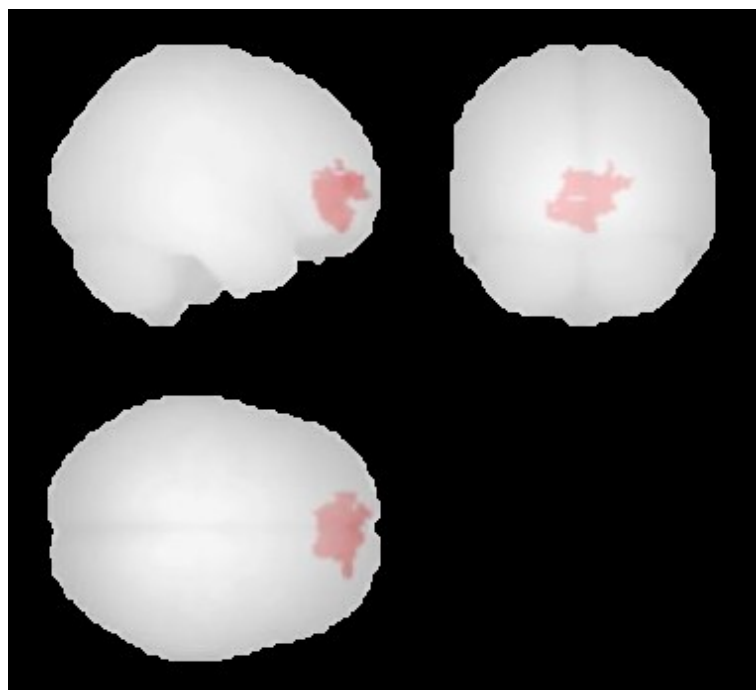


Figura 48: Cluster DFT vs MCI DMN mPFC.

Nella Figura 48 è riportato l'unico cluster rinvenuto nell'analisi tra soggetti con MCI e DFT nel *seed* mPFC, nella Tabella 10 vengono espresse le caratteristiche del cluster individuato, in termini di grandezza (numero di voxel) e in termini di significatività (valore di p corretto FDR).

Cluster (x,y,z)	Size	Size p-FDR
-06 +50 -12	1319	<0.00001

Tabella 10: Dimensione cluster DFT vs MCI DMN mPFC.

Questo unico cluster [Figura 48] copre con il 23% dei suoi voxel totali il 22% del giro paracingolato destro e con il 18% dei suoi voxel totali il 24% della corteccia frontale media. Con percentuali di voxel inferiori, questo cluster copre anche parte della regione del giro paracingolato sinistro; del polo frontale sinistro e del giro cingolato, divisione anteriore.

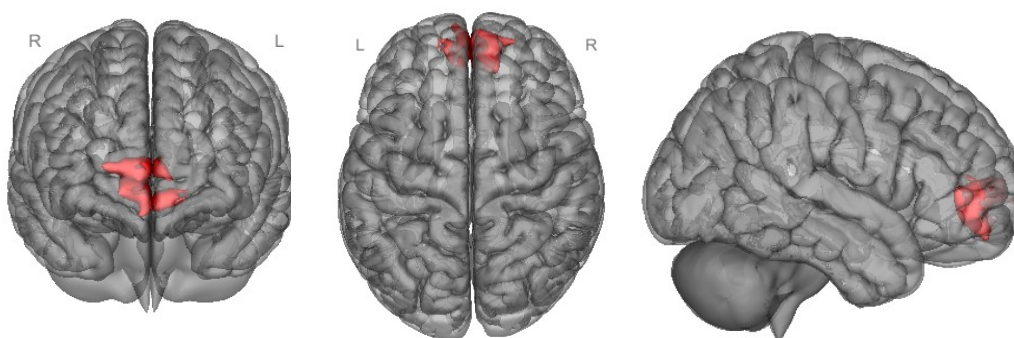


Figura 49: DMN mPFC in 3D display con visualizzazione nei tre piani principali del gruppo di studio DFT vs MCI.

La Figura 49 rappresenta la visualizzazione in 3D display dei cluster di connessione e consente di valutarne la loro dimensione globale.

3.3.2 DMN del Lobo Parietale Laterale Sinistro

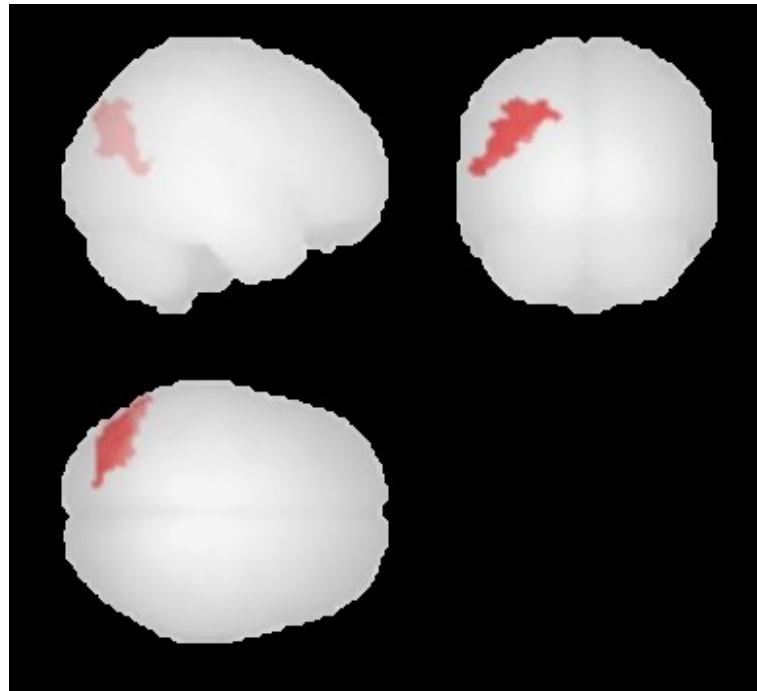


Figura 50: Cluster DFT vs MCI DMN LP_1.

Nella Figura 50 è rappresentato l'unico cluster risultante dall'analisi tra i soggetti nel *seed* LP sinistro e nella Tabella 11 viene caratterizzato per dimensione (numero di voxel) e per significatività (valore di p-FDR).

Cluster (x,y,z)	Size	Size p-FDR
-46 -78 +32	1048	<0.00001

Tabella 11: Dimensione cluster DFT vs MCI DMN LP_1.

L'unico cluster risultante da questa analisi [Figura 50] è quello che copre con la quasi totalità dei suoi voxel (91%), il 19% della corteccia occipitale laterale, divisione superiore sinistra e con un ulteriore 5% dei suoi voxel, il 3% della corteccia occipitale laterale, divisione inferiore sinistra.

3.3.3 DMN del Lobo Parietale Laterale Destro

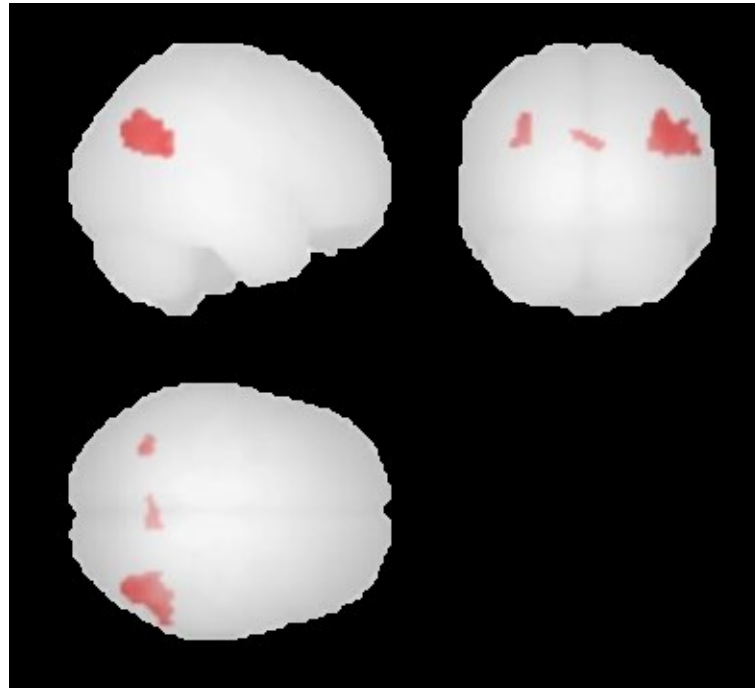


Figura 51: Cluster totali DFT vs MCI DMN LP_r.

Nella Figura 51 sono riportati tutti i cluster dell'analisi tra soggetti con DFT e MCI nel *seed* LP destro, mentre nella Tabella 12 sono descritti i 3 cluster elencati in termini di dimensioni (numero di voxel) e di significatività (valore p-FDR).

Cluster (x,y,z)	Size	Size p-FDR
+46 -72 +30	832	<0.00001
-34 -66 +40	82	0.037632
+06 -62 +26	73	0.038315

Tabella 12: Dimensioni cluster DFT vs MCI DMN LP_r.

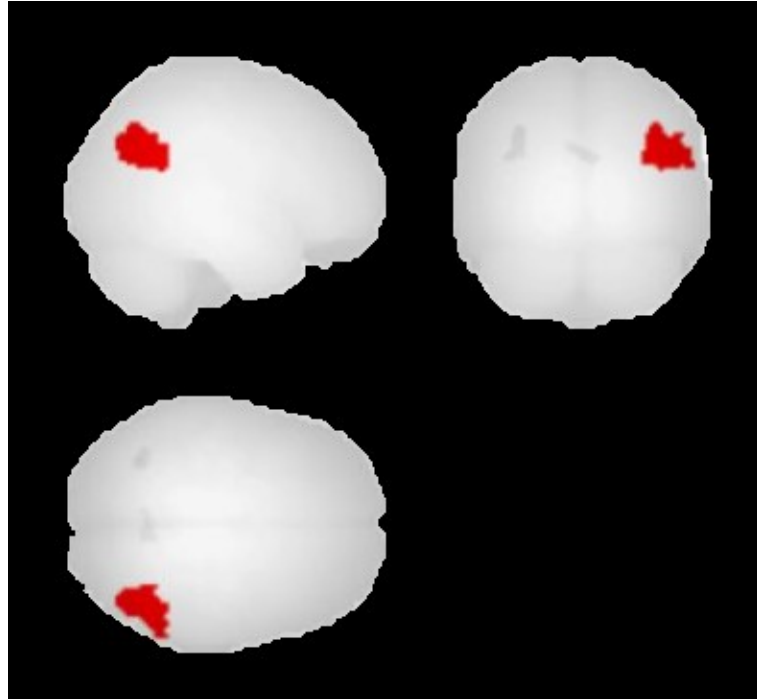


Figura 52: Cluster principale DFT vs MCI DMN LP_r.

Il cluster di maggior significatività tra i 3 ottenuti [Figura 52], copre con il 67% dei suoi voxel il 12% della corteccia occipitale laterale, divisione superiore destra e con un ulteriore 27% dei voxel copre il 15% del giro angolare destro.

3.3.4 DMN della Corteccia Cingolata Posteriore

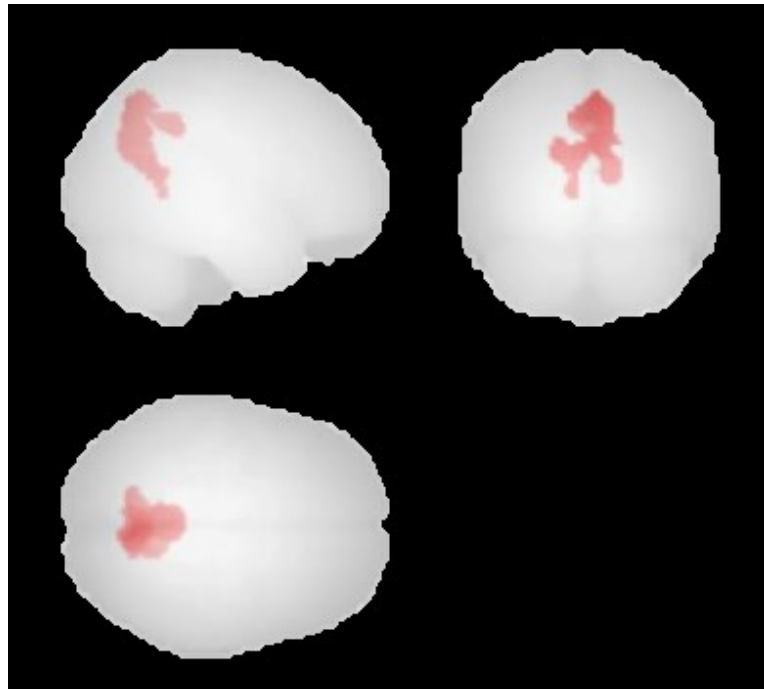


Figura 53: Cluster DFT vs MCI DMN PCC.

Nella Figura 53 viene rappresentato il singolo cluster risultante dall'analisi tra soggetti con DFT e MCI nel *seed* PCC, mentre nella Tabella 13 sono riportati i valori della sua dimensione (numero di voxel) e della significatività (valore di p-FDR).

Cluster (x,y,z)	Size	Size p-FDR
+06 -64 +54	1716	<0.00001

Tabella 13: dimensione cluster DFT vs MCI DMN PCC.

Questo unico cluster significativo [Figura 53] per un elevato numero di voxel (85%) occupa il 26% della corteccia del precuneo. Con percentuali inferiori copre anche zone del giro cingolato, divisione posteriore; della corteccia cuneale destra e sinistra e del giro linguale sinistro.

4. CONCLUSIONI

Dai risultati illustrati nel capitolo precedente è possibile osservare come nelle analisi del primo gruppo, in cui si sono valutate le differenze in connettività funzionale tra soggetti affetti da demenza di Alzheimer e soggetti che presentano Demenza frontotemporale, i cluster ottenuti sono numericamente e dimensionalmente più significativi rispetto a quelli degli altri gruppi oggetto di questo lavoro di tesi. Nella prima analisi, con il *seed* nella corteccia prefrontale media, i cluster principali di entrambi i gruppi occupano in percentuale maggiormente rilevante, il polo frontale. Nell'analisi del *seed* nel lobo parietale occipitale sinistro, i cluster principali di entrambi i gruppi si trovano principalmente a livello della corteccia occipitale laterale superiore sinistra. Nella terza analisi, quella con il *seed* a livello del lobo parietale occipitale destro, la percentuale maggiore di voxel del cluster principale, in entrambi i gruppi occupa principalmente la corteccia occipitale laterale superiore destra. Infine, anche nell'ultima analisi, quella con il *seed* nella corteccia cingolata posteriore, i cluster principali di entrambi i gruppi si localizzano principalmente a livello del precuneo e del giro cingolato.

Nel secondo gruppo analizzato abbiamo studiato le differenze in connettività funzionale tra soggetti che presentano demenza di Alzheimer e pazienti affetti da deterioramento cognitivo lieve ma non si sono evidenziate particolari differenze con il gruppo precedente. I cluster evidenziati infatti non differiscono in modo particolare né in termini di numero né in termini di dimensione. Inoltre, i cluster principali ricavati dalle 4 analisi effettuate, hanno caratteristiche molto simili a quelle del gruppo precedente

Il terzo gruppo in studio, quello tra soggetti affetti da demenza frontotemporale e soggetti che presentano il deterioramento cognitivo lieve, in 3 analisi su 4 presenta un solo cluster. Inoltre, le dimensioni di questi cluster, in termini di numero di voxel, risultano essere ridotti, se comparati con gli altri cluster ottenuti nei primi due gruppi di studio. Questo potrebbe

indicare una similitudine maggiore di pattern di connessione cerebrale tra i soggetti affetti da DFT e i soggetti che presentano MCI rispetto ai confronti con l'Alzheimer.

Inoltre, dai risultati ottenuti, si evince come la demenza d'Alzheimer abbia un pattern di connettività funzionale cerebrale particolarmente diverso rispetto alle altre due patologie neurodegenerative in analisi. In particolare, le regioni comprese nei cluster del primo e del secondo gruppo, possono essere associate ad aree disfunzionali note dalla letteratura per essere tipicamente riscontrate nella demenza di Alzheimer. Se consideriamo, ad esempio, che nell'analisi della DMN con *seed* nella corteccia prefrontale media [593.1.1], il cluster maggiore ottenuto comprende principalmente il polo frontale (destro e sinistro), regione notoriamente nota per avere un ruolo in molti compiti cognitivi complessi, come integrazione relazionale, il multitasking, l'elaborazione delle informazioni sociali ed emotive, e compiti di memoria [20]. È interessante evidenziare anche il risultato ottenuto dall'analisi del *seed* nella corteccia cingolata posteriore, in quanto il cluster ottenuto nelle analisi dei primi due gruppi evidenzia una connessione funzionale alterata in corrispondenza del precuneo e della corteccia cingolata. Queste regioni, secondo la letteratura sono, rispettivamente, le aree coinvolte nella comparsa dei primi sintomi clinici e nel pieno sviluppo della demenza di Alzheimer [21]. Per quanto riguarda le altre due analisi, quelle con i *seed* nei lobi parietali occipitali di destra e sinistra, le regioni comprese nei cluster corrispondono alla corteccia occipitale laterale sinistra e destra. Secondo la letteratura, la zona del lobo occipitale sembrerebbe restare relativamente inalterata nell'AD, questo si discosterebbe dai risultati ottenuti nel presente studio [22]. Nonostante ciò, si potrebbe attribuire suddetto riscontro al ridotto campione statistico a disposizione per questo lavoro di tesi.

5. ELENCO ACRONIMI

AD: Demenza di Alzheimer

BOLD: Blood-Oxygen-Level Dependent

CBD: Degenerazione corticobasale

CSF: Cerebrospinal fluid

DICOM: Digital Imaging and Communications in Medicine

DMN: Default mode network

DMN_LP_l: Default Mode Network del lobo parietale laterale sinistro

DMN_LP_r: Default Mode Network del lobo parietale laterale destro

DMN_mPFC: Default Mode Network della corteccia prefrontale media

DMN_PCC: Default Mode Network della corteccia cingolata posteriore

DFT: Demenza frontotemporale

DP: Densità protonica

EPI: Echo Planar Imaging

ER: Related event

FC: Functional connettivity

FDR: False Discovery Rate

FWE: Family-Wise Error

FWHM: Full Width at Half Maximum

GLM: General linear model

HNU: Head and Neck Unit

HRF: Hemodinamic Response Function

LCS: Liquido cerebrospinale

LTI: Linear Time-Invariant

MCI: Mild cognitive impairment

MNI: Montreal Neurological Institute

MVPA: Analisi dei pattern multi-voxel

NH: Null hypothesis

NifTI: Neuroimaging Informatics Technology Initiative

OLS: Ordinary Least Squares

PET: Tomografia a emissione di positroni

QC-FC: Funzionalità cerebrale correlata a misure di controllo di qualità

RM: Risonanza magnetica

rs-fMRI: Resting state functional Magnetic Resonance Imaging

RFT: Random Field theory

ROI: Region of interest

SBC: Seed-based connectivity

SNC: Sistema nervoso centrale

SNP: Sistema nervoso periferico

SPM: Statistical Parametric Mapping

SPECT: Single Photon Emission Computed Tomography

STC: Slice-timing correction

TE: Tempo di echo

TPM: Tissue probability maps

TR: Tempo di ripetizione

wSBC: Weighted seed-based

6. BIBLIOGRAFIA E SITOGRAFIA

- [1] F. Martini, R. Tallitsch e J. Nath, Anatomia umana, EdiSES, 2019.
- [2] O. Guy-Evans, «Brodman Areas Of The Brain,» 2023. [Online]. Available: <https://www.simplypsychology.org/brodman-areas.html>.
- [3] N. I. o. E. H. Sciences, «Neurodegenerative Diseases,» 09 June 2022. [Online]. Available: <https://www.niehs.nih.gov/research/supported/health/neurodegenerative/index.cfm>.
- [4] U. o. C. S. F. W. I. f. Neurosciences, «What is Dementia?,» [Online]. Available: <https://memory.ucsf.edu/what-dementia>.
- [5] N. I. o. H. (NIH), «Corticobasal Degeneration,» [Online]. Available: <https://www.ninds.nih.gov/health-information/disorders/corticobasal-degeneration>.
- [6] F. L. p. i. P. Onlus, «PARKINSONISMI: Degenerazione Cortico Basale (CBD),» [Online]. Available: <https://www.fondazioneimpe.it/degenerazione-cortico-basale>.
- [7] IISalute, «Degenerazione cortico-basale (DCB),» 23 Ottobre 2020. [Online]. Available: <https://www.issalute.it/index.php/la-salute-dalla-a-alla-z-menu/d/degenerazione-cortico-basale-dcb#diagnosi>.
- [8] A. Association, «Mild Cognitive Impairment (MCI),» [Online]. Available: https://www.alz.org/alzheimers-dementia/what-is-dementia/related_conditions/mild-cognitive-impairment.
- [9] N. I. o. medicine, «Predictors of Incident Mild Cognitive Impairment and Its Course in a Diverse Community-Based Population,» 04 January 2022. [Online]. Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8726570/>.
- [10] T. A. f. F. Degeneration, «Panoramica della malattia,» [Online]. Available: <https://www.theaftd.org/it/what-is-ftd/disease-overview/>.
- [11] A. association, «Frontotemporal Dementia,» [Online]. Available: <https://www.alz.org/alzheimers-dementia/what-is-dementia/types-of-dementia/frontotemporal-dementia>.
- [12] R. Poldrack, J. Mumford e T. Nichols, Handbook of functional MRI.

- [13] (NIH), National Institutes of Health, «Principles and practice of functional MRI of the human brain,» 1 July 2003. [Online]. Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC162295/>.
- [14] N. I. o. H. (NIH), «Resting-State Functional MRI: Everything That Nonexperts Have Always Wanted to Know,» August 2018. [Online].
- [15] W. W. Tryon, «Core Network Principles - Cognitive Neuroscience and Psychotherapy,» 2014. [Online].
- [16] J. v. d. G. S. A. R. Anne Hafkemeijer, «Imaging the default mode network in aging and dementia,» 23 July 2011. [Online]. Available: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S092544391100161X>.
- [17] T. r. clinic, «The benefits of the 3T MRI,» 2022. [Online]. Available: <https://theradclinic.com/the-benefits-of-the-3t-mri/>.
- [18] S. V. D. G. P. N. R. M. F.-P. S. B. P. P. L. C. Taïeb, «Utilità clinica e fattibilità economica di una risonanza magnetica 3T in un centro anticancro: l'esperienza del centro Oscar Lambret,» *Journal de Radiologie Diagnostique et Interventionnelle*, vol. 93, 2012.
- [19] A. Nieto-Castanon, Handbook of functional connectivity Magnetic Resonance Imaging methods in CONN, 2020.
- [20] N. L. o. M. (NIH), «Connectivity-Based Parcellation of the Human Frontal Pole with Diffusion Tensor Imaging,» 17 April 2013. [Online]. Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6618893/>.
- [21] H. W. T. Yokoi, «Involvement of the Precuneus/Posterior Cingulate Cortex Is Significant for the Development of Alzheimer's Disease: A PET (THK5351, PiB) and Resting fMRI Study,» [Online]. Available: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30344488/>.
- [22] C. Hill, «Sintomi unici basati sulla posizione del danno cerebrale nell'Alzheimer,» February 2022. [Online]. Available: <https://www.verywellhealth.com/location-of-brain-damage-in-alzheimers-3858649>.

