



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

Dipartimento di Psicologia Generale

Corso di Laurea Magistrale in Neuroscienze e Riabilitazione Neuropsicologica

Tesi di Laurea Magistrale

**Correlati neurali nell'invecchiamento sano:
come i dati neuroanatomici e funzionali a riposo correlano con le
performance cognitive al test di Stroop?**

*Neural correlates in healthy aging: how do neuroanatomical and resting-
state functional data correlate with cognitive performance on the Stroop
test?*

Relatrice:

Prof.ssa Cristina Scarpazza

Correlatore esterno:

Dott. Nicola Filippini

Laureanda: Irene Dottarelli

Matricola: 2087571

Anno Accademico 2023/2024

INDICE

ABSTRACT	5
-----------------------	---

Capitolo 1 – INTRODUZIONE

1.1 Cambiamenti neurocognitivi nell'invecchiamento.....	10
1.2 Cambiamenti strutturali del cervello con l'invecchiamento.....	17
- Declino nel volume della Materia grigia.....	17
- Cambiamenti nella Materia bianca.....	18
1.3 Teorie dell'invecchiamento cognitivo.....	20
1.4 I Networks cerebrali.....	23
- Networks funzionali a riposo e invecchiamento.....	25
1.5 Lacune nella Letteratura, Domanda di Ricerca e Ipotesi.....	28

Capitolo 2 – METODI

2.1 Raccolta dati.....	31
- Lo studio GUTBRAIN.....	31
- Il campione.....	34
2.2 Valutazione neuropsicologica.....	35
- Mini-Mental State Examination, MMSE.....	36
- Test di Stroop.....	37
- Trail Making Test (part A), TMT-A.....	38
- Edinburgh Handedness Inventory.....	39
2.3 Procedure di Neuroimaging.....	40
- Risonanza Magnetica Strutturale.....	42
<i>FSL-VBM (Voxel-Based Morphometry)</i>	44
- Risonanza Magnetica di Diffusione.....	46
<i>TBSS (Tract-Based Spatial Statistics)</i>	47
- Risonanza Magnetica Funzionale allo stato di riposo.....	49
<i>Independent Component Analysis (ICA) e Dual Regression:</i>	51

Capitolo 3 – RISULTATI

3.1 Partecipanti.....	56
3.2 Risonanza magnetica strutturale e DTI.....	58
<i>Materia Grigia (Gray Matter)</i>	59
<i>Materia Bianca (White Matter)</i>	60
3.3 Risonanza magnetica funzionale a riposo.....	61
<i>Networks funzionali nel campione</i>	61
<i>Confronto nei networks funzionali tra i due gruppi</i>	65
<i>Confronto tra i networks funzionali in correlazione alle performance al test di Stroop</i>	70
<i>Ulteriori analisi</i>	75
3.4 Discussione.....	77
3.5 Limiti.....	78
 Capitolo 4 - CONCLUSIONI	81
 Bibliografia.....	85
Appendice.....	93

Ringraziamenti

Desidero esprimere la mia più sincera gratitudine a tutte le persone che mi hanno accompagnato e sostenuto durante questo percorso. In primo luogo, vorrei ringraziare la mia relatrice, Prof.ssa Cristina Scarpazza, per i suoi consigli e la pazienza dimostrata durante la stesura di questa tesi. Un ringraziamento speciale va anche al mio correlatore, Dott. Nicola Filippini, per il suo supporto costante e per avermi guidato nell'analisi dei dati con grande competenza, trasmettendomi ogni giorno passione e interesse. Ringrazio la Dott.ssa Giulia Serafica per essere stata un'importante guida durante tutto il mio percorso di tirocinio.

Desidero esprimere il mio apprezzamento per tutto il team dell'IRCCS S. Camillo, in particolare per l'opportunità di svolgere il tirocinio che è stato fondamentale per la realizzazione di questo lavoro, per la mia crescita professionale e personale.

Grazie a Caterina e Chiara, donne forti e colleghe speciali, spero che il nostro futuro sia proprio come abbiamo sognato insieme.

Alle mie amiche, rifugio di serenità, legame forte ed essenziale.

Ringrazio i miei genitori David e Serena, mia sorella Caterina e tutta la mia grande famiglia per il loro affetto e sostegno, per essere il motore della mia determinazione, essere casa, amore e vita.

Abstract

In un contesto in cui l'aspettativa di vita è in continuo aumento e la popolazione anziana cresce esponenzialmente, lo studio approfondito dei cambiamenti neurali alla base delle modifiche comportamentali osservabili negli anziani è di vitale importanza. Questo elaborato si propone di confrontare un gruppo di soggetti giovani e uno di anziani sani, con l'obiettivo di discutere le principali differenze cerebrali tra i due gruppi rilevabili nelle immagini di Risonanza Magnetica. In particolare, in questa tesi viene esaminato come, nell'invecchiamento sano, la connettività funzionale nei networks neurali cambi in relazione alle performance ottenute nel test di Stroop, utilizzato per quantificare e valutare le funzioni esecutive, come il controllo inibitorio e l'inibizione di una risposta dominante.

Ipotizziamo di osservare un peggioramento delle performance nei test cognitivi selezionati nel gruppo di anziani rispetto al gruppo di soggetti giovani. Inoltre, prevediamo che il confronto delle immagini di risonanza magnetica tra il gruppo di soggetti giovani e quello di soggetti anziani mostri una riduzione sia nel volume della sostanza grigia che nell'integrità dei fasci di sostanza bianca nel gruppo dei partecipanti anziani.

Particolare attenzione sarà posta nell'indagare la correlazione tra le performance allo Stroop Test e l'attività cerebrale misurata tramite risonanza magnetica funzionale in stato di riposo, tra i due gruppi di partecipanti (i.e. giovani adulti e anziani sani).

I dati sono stati raccolti durante la mia esperienza di tirocinio. Tutti i soggetti selezionati per la stesura di questo elaborato hanno preso parte al progetto GUTBRAIN, che prevede

l'acquisizione di immagini di risonanza magnetica e la somministrazione di una batteria completa di valutazione neuropsicologica.

Tra i test neuropsicologici somministrati, ne sono stati selezionati alcuni utili a rispondere alle domande di questa tesi: 1) Mini Mental State Examination (MMSE) che ci consente di valutare lo stato cognitivo globale del soggetto (il campione è composto da soggetti sani), 2) Test di Stroop per valutare il controllo inibitorio, in particolare l'inibizione di una risposta dominante, e per studiare come le performance ottenute a questo test correlino con cambiamenti nei networks funzionali nell'anziano, 3) Trail Making Test (TMT-A) utilizzato come variabile di controllo per tenere in considerazione l'effetto della velocità di elaborazione, 4) test per la dominanza manuale per caratterizzare la popolazione di studio.

Per le sequenze di risonanza magnetica acquisiti all'interno di questo progetto ne sono state selezionate tre: 1) Risonanza Magnetica strutturale, 2) Diffusion Tensor Imaging (DTI) e 3) Risonanza Magnetica Funzionale allo stato di riposo. Queste ci permettono di indagare la struttura cerebrale, osservare i cambiamenti di materia grigia e bianca che occorrono durante l'invecchiamento, e di studiare i networks cerebrali e le loro modificazioni correlate all'età anche in relazione a performance comportamentali.

I risultati ottenuti per il confronto giovani vs anziani mostrano cambiamenti nelle sequenze di Risonanza Magnetica strutturale e di DTI, variazioni nei networks funzionali dovuti all'età e un miglioramento nelle performance ottenute al test di Stroop dal gruppo di anziani associato a una diminuzione di forza di connettività all'interno del *Lateral Visual Network*, *Left Frontal Parietal Network* e *Right Frontal Parietal Network*.

Questi risultati offrono, fra le altre cose, supporto alla teoria della *dedifferenziazione*, suggerendo che il declino relato all'età nella specializzazione funzionale dei networks potrebbe essere associato ad un peggioramento delle performance cognitive.

In conclusione, lo studio fornisce nuove evidenze sull'importanza dell'attività cerebrale funzionale allo stato di riposo per comprendere i cambiamenti cognitivi legati all'età e sottolinea l'impatto dell'invecchiamento sui networks funzionali e sulla loro funzionalità.

Capitolo 1 – INTRODUZIONE

Il numero e la proporzione di anziani nella società sono in costante crescita, e questa tendenza è destinata a diventare sempre più marcata nei prossimi anni. Secondo un'indagine delle Nazioni Unite del 2019, la popolazione globale di persone sopra i 65 anni è destinata a crescere dagli attuali 703 milioni a 1,5 miliardi entro il 2050 (ONU, 2019). Questo aumento significativo è attribuibile a due principali fattori: il calo del tasso di natalità e di fertilità e l'aumento dell'aspettativa di vita (associata al miglioramento delle terapie in ambito medico). Questi cambiamenti demografici porteranno a un maggiore bisogno di risorse e servizi per gli anziani, con implicazioni importanti per le politiche sociali e sanitarie a livello globale; infatti, una popolazione che invecchia comporta un aumento del carico sociale e finanziario. Per questi motivi, è estremamente importante indagare quali siano i cambiamenti che occorrono durante la fase dell'invecchiamento, in quanto questo potrebbe sia aiutare a promuovere un invecchiamento sano che nel mantenere un buon funzionamento cognitivo.

Con l'età si verificano importanti modifiche cerebrali, modifiche che vanno dal livello molecolare a quello funzionale, tali cambiamenti includono alterazioni della struttura, della funzione e dei processi metabolici, i quali si associano spesso ad un osservabile declino cognitivo. Questi cambiamenti cognitivi normali sono importanti da comprendere in quanto possono influenzare il funzionamento quotidiano dell'anziano e possono aiutare a distinguere tra stati normali e patologici (Harada et al., 2013). L'interesse di questo elaborato è concentrarsi sui cambiamenti neurocognitivi che occorrono durante l'invecchiamento normale e che possono spiegare le variazioni cognitive normalmente osservate. L'attenzione verrà posta in particolare su quelle che sono le performance in

compiti che richiedono l'utilizzo delle funzioni esecutive, come l'attenzione e l'inibizione.

Questo capitolo tratta di quattro temi principali; in primo luogo, saranno esaminati i cambiamenti neurocognitivi che si verificano nell'anziano, esplorando come l'invecchiamento influenzi le capacità cognitive e le performance in vari domini. Successivamente, verranno analizzate le modificazioni strutturali del cervello legate all'invecchiamento sano, concentrandoci su come la materia grigia, la materia bianca e altri aspetti morfologici si trasformino con il passare del tempo. Il terzo punto riguarda una rassegna delle principali teorie dell'invecchiamento, con particolare attenzione alle ipotesi della compensazione e della dedifferenziazione. Infine, saranno introdotti i concetti chiave relativi ai network funzionali cerebrali, poiché la comprensione della loro organizzazione e interazione sarà cruciale per rispondere alle domande centrali di questa ricerca.

1.1 Cambiamenti neurocognitivi nell'invecchiamento

I cambiamenti cognitivi che caratterizzano il normale processo di invecchiamento sono stati ampiamente documentati e studiati nella letteratura scientifica. È ben noto che alcune abilità cognitive, come quelle lessicali, sono particolarmente resistenti agli effetti dell'invecchiamento e in alcuni casi possono addirittura migliorare con l'età.

Al contrario, altre abilità cognitive mostrano un declino progressivo man mano che l'età avanza. Questo declino riguarda principalmente funzioni esecutive e abilità di memoria, attenzione, e ragionamento astratto. Il profilo cognitivo della persona, durante l'arco di vita, è ben rappresentato nella figura sottostante (fig.1.1), presa da una metanalisi di Salthouse (2010).

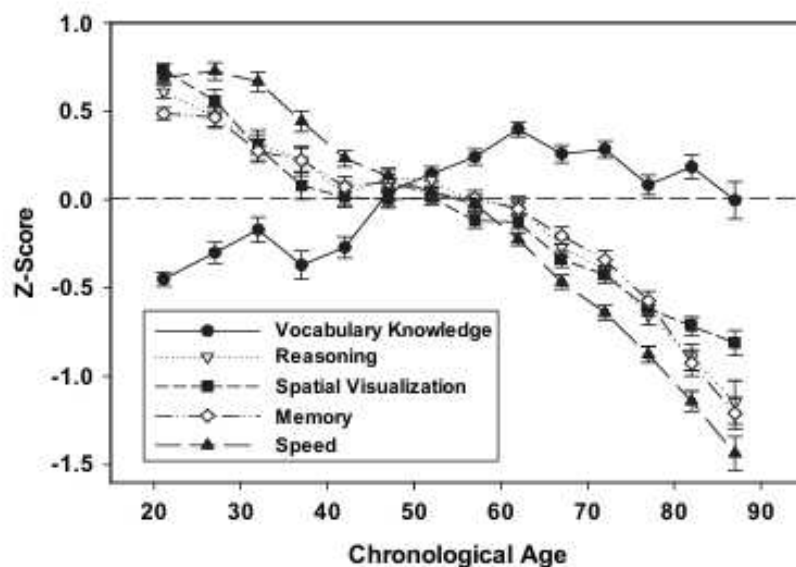


Fig.1.1- illustra la relazione tra capacità cognitive ed età, utilizzando i dati raccolti dall'autore. Per confrontare le diverse variabili, tutte sono espresse in z-score. Le barre sopra e sotto i simboli rappresentano gli errori standard, indicando la precisione delle stime. I risultati mostrano un aumento delle abilità acquisite in età più avanzata, come ad esempio quelle relative al numero di vocaboli conosciuti, e un declino quasi lineare delle altre funzioni a partire dall'età adulta (± 50 anni). Questo modello rappresenta, in accordo con numerosi altri studi, il profilo cognitivo tipico dell'invecchiamento.

Intelligenza cristallizzata e intelligenza fluida

I concetti di intelligenza cristallizzata e fluida descrivono come le capacità cognitive cambino nel corso della vita e, sono due fattori dell'intelligenza generale identificati in origine da Raymond Cattell nel 1937.

L'intelligenza cristallizzata si riferisce alle competenze, abilità e conoscenze acquisite attraverso l'esperienza e la pratica, come il vocabolario e le conoscenze generali, che tendono a rimanere stabili o migliorare con l'età. Le abilità così dette "cristallizzate" tendono a rimanere stabili o addirittura ad aumentare tra la sesta e la settima decade di

vita, migliorando a un tasso compreso tra 0.02 e 0.003 deviazioni standard per anno (Salthouse, 2012).

L'intelligenza fluida riguarda la capacità di risolvere problemi e ragionare su informazioni nuove e non familiari, che include funzioni come la velocità di elaborazione e la memoria. Molte abilità “fluide” hanno un picco nella terza decade di vita e poi vanno incontro ad un declino stimato di -0.02 deviazioni standard per anno (Salthouse, 2012).

Le abilità cognitive si dividono in domini specifici: velocità di elaborazione, attenzione, memoria, linguaggio, abilità visuospatiali e funzioni esecutive. Queste tendono a cambiare durante il ciclo di vita.

Velocità di elaborazione

È una tra le abilità fluide che iniziano a diminuire durante la terza decade di vita (Salthouse, 2010), si riferisce alla velocità con cui svolgiamo le attività cognitive e alla rapidità delle risposte motorie.

Il calo generale della performance che si può osservare in un anziano durante una valutazione neuropsicologica e /o durante la vita di tutti i giorni, è in gran parte dovuto alla riduzione della velocità di elaborazione, la quale compromette l'efficienza generale della persona. Interessante sottolineare che un calo in questo tipo di abilità è in grado di influenzare tutti gli altri domini cognitivi a cascata.

Attenzione

L'attenzione è una funzione cruciale per il funzionamento cognitivo quotidiano, è sottesa da sistemi cognitivi complessi e multi modulari con un'organizzazione neurale diffusa. Tra i vari tipi di attenzione si possono individuare i seguenti: sostenuta, selettiva, divisa e

alternata. Quelle che risentono maggiormente dell'effetto dell'invecchiamento sono l'attenzione selettiva e quella divisa (Salthouse, 1995). Si osserva una performance peggiore negli anziani rispetto ai giovani anche in compiti che richiedono l'utilizzo della memoria di lavoro, sistema che permette di mantenere e manipolare temporaneamente le informazioni necessarie per compiti cognitivi (Salthouse, 1989). Tutte le componenti attentive sopra elencate e la memoria di lavoro sono essenziali per il funzionamento quotidiano della persona e per il successo in una vasta gamma di attività.

Memoria

È considerata la funzione cognitiva che per antonomasia peggiora durante il ciclo di vita, il peggioramento della performance osservabile negli anziani in compiti di memoria, potrebbe essere dovuto a un rallentamento nella velocità di elaborazione (Luszcz et al.; 1999), a una ridotta abilità nell'ignorare le informazioni irrilevanti (Darowski et al.; 2008) e un diminuito uso di strategie per migliorare l'apprendimento e la memoria (Davis et al.; 2013).

Linguaggio

Come precedentemente affermato, il linguaggio è un dominio che rimane relativamente intatto durante l'invecchiamento, presentando talvolta un miglioramento durante il tempo (Salthouse, 2010).

Abilità visuospatiali

Questo gruppo di funzioni cognitive riguardano la capacità di comprendere lo spazio sia in due che in tre dimensioni. Le abilità di costruzione visiva, che consistono nella capacità di combinare singole parti per formare un insieme coerente (come nell'assemblare mobili partendo da vari componenti), tendono a diminuire con l'età.

Tuttavia, le abilità visuospatiali rimangono preservate. Queste includono la percezione degli oggetti, ossia la capacità di riconoscere oggetti familiari come articoli domestici o volti, e la percezione spaziale, che permette di comprendere la posizione fisica degli oggetti, sia singolarmente che in relazione ad altri oggetti.

Funzioni esecutive

Il declino cognitivo è un fenomeno noto nell'invecchiamento sano, che compromette varie abilità mentali, tra cui le funzioni cognitive necessarie per svolgere compiti complessi. Le funzioni esecutive (FE), in particolare, sono considerate una sottocategoria fondamentale di queste abilità (Cabeza et al.,2004).

Maggiore attenzione sarà dedicata a descrivere come le funzioni esecutive (FE) evolvono lungo il ciclo di vita, data l'importanza di queste capacità cognitive per affrontare la ricerca condotta in questo lavoro, in cui è stato impiegato principalmente il test di Stroop. Il test di Stroop, descritto dettagliatamente nel capitolo 2, è uno strumento chiave per valutare il controllo inibitorio, una delle componenti essenziali delle FE. Queste funzioni rappresentano un insieme di processi cognitivi di alto livello che consentono agli individui di pianificare, prendere decisioni, adattarsi a situazioni nuove e regolare il proprio comportamento in base agli obiettivi prefissati.

Le principali componenti delle FE includono: l'inibizione, ovvero la capacità di controllare risposte automatiche non appropriate; la flessibilità cognitiva, che permette di passare rapidamente da un compito all'altro; l'aggiornamento della memoria di lavoro, fondamentale per mantenere e manipolare informazioni rilevanti; e la pianificazione, che consente di strutturare sequenze di azioni per raggiungere obiettivi a lungo termine (Idowu et al.,2023). Queste capacità sono cruciali per molte attività quotidiane, come

guidare, risolvere problemi complessi, gestire più compiti contemporaneamente e prendere decisioni in ambienti dinamici. L'importanza di questi processi per le attività della vita quotidiana evidenzia il loro ruolo centrale nel mantenimento di una buona qualità di vita e dell'autonomia della persona anche in età avanzata (Idowu et al.,2023).

Numerose sono le teorie che si propongono di spiegare come e perché le FE peggiorino durante l'invecchiamento (Idowu et al.;2023), segue un elenco delle principali con una breve spiegazione:

- *Teoria del deficit di Inibizione* (Hasher e Zacks, 1988): suggerisce che gli anziani siano più suscettibili alle distrazioni a causa di una ridotta capacità di inibire informazioni irrilevanti. Questo deficit di controllo attentivo influisce sull'abilità di rimuovere informazioni non pertinenti, limitando il recupero di quelle rilevanti durante l'esecuzione di compiti.
- *Ipotesi prefrontale esecutiva* (West, 1996): Il declino delle funzioni esecutive è strettamente legato a cambiamenti strutturali e funzionali nella corteccia prefrontale. Questa regione del cervello, fondamentale per il controllo cognitivo e la regolazione del comportamento, è particolarmente vulnerabile all'invecchiamento, il che spiega il deterioramento delle abilità come la pianificazione e l'inibizione.
- *Teoria della velocità di elaborazione* (Salthouse, 1996): sostiene che il declino cognitivo con l'età sia principalmente dovuto a una riduzione della velocità di elaborazione. Le operazioni mentali rallentano, rendendo più difficile immagazzinare e recuperare informazioni in tempo utile, con un impatto negativo soprattutto sulle funzioni che richiedono rapide decisioni.

- *Framework dell'attenzione esecutiva* (Engle, 2002): sostiene che le persone anziane tendono a essere meno efficaci nel mantenere il controllo dell'attenzione, soprattutto quando si trovano ad affrontare compiti complessi in ambienti caratterizzati da elevata interferenza. In situazioni che richiedono concentrazione prolungata e la gestione di informazioni concorrenti, l'inefficienza nell'inibire distrazioni risulta particolarmente problematica, influenzando negativamente la performance complessiva.
- *Ipotesi del deficit di strategia* (Bailey et al.;2009): Gli anziani spesso faticano a sviluppare e applicare strategie efficaci per la codifica delle informazioni, rendendo difficile l'elaborazione delle conoscenze necessarie per completare compiti specifici. Questa difficoltà può limitare la loro capacità di affrontare attività quotidiane, poiché l'efficacia nella gestione delle informazioni è cruciale per il successo in situazioni che richiedono concentrazione e organizzazione.

Sebbene le varie teorie sull'invecchiamento cognitivo sembrino modulari e separate, in realtà sono interconnesse, sia direttamente che indirettamente. Ogni teoria esplora un aspetto specifico del declino cognitivo, ma insieme contribuiscono a una comprensione più completa e olistica del fenomeno. L'invecchiamento cognitivo non può essere ridotto a un solo processo isolato; piuttosto, è un fenomeno eterogeneo e complesso che coinvolge un'ampia gamma di cambiamenti sia fisiologici che cognitivi (Idowu et al.;2023).

Di particolare rilevanza per questo lavoro è il concetto di inibizione, intesa come la capacità di sopprimere risposte automatiche o dominanti che possono interferire con il comportamento desiderato. L'inibizione è un processo cruciale attraverso il quale le risposte automatizzate vengono controllate e rese non operative (Idowu et al.;2023).

1.2 Cambiamenti strutturali del cervello con l'invecchiamento

Le prove riguardanti le modificazioni che il cervello subisce durante il processo di invecchiamento derivano da numerosi studi condotti attraverso tecniche di neuroimaging strutturale, che hanno permesso di ottenere una visione sempre più precisa e dettagliata di tali cambiamenti. Le differenze tra il cervello di un giovane e quello di un anziano risultano evidenti e coinvolgono principalmente la riduzione del volume della materia grigia e il deterioramento dell'integrità della materia bianca. Questi cambiamenti strutturali non avvengono in maniera uniforme in tutto il cervello, ma interessano maggiormente specifiche regioni. Questi deterioramenti strutturali possono influenzare negativamente le prestazioni cognitive.

Nella seguente sezione, verranno esaminati in dettaglio i principali cambiamenti strutturali legati all'invecchiamento cerebrale, con l'obiettivo di fornire un quadro di riferimento utile per comprendere e contestualizzare i risultati ottenuti nel presente lavoro.

- Declino nel volume della Materia grigia

Il declino della materia grigia è un processo complesso che coinvolge una serie di fattori biologici e strutturali. Tra i principali, vi è la perdita progressiva di neuroni, l'accumulo di placche beta amiloidi, che sono strettamente collegate ai processi neurodegenerativi tipici dell'invecchiamento, nonché una riduzione della dimensione dei neuroni stessi e della densità sinaptica (Harada et al., 2013). Questi cambiamenti compromettono la capacità delle cellule cerebrali di comunicare in modo efficiente, contribuendo al declino delle funzioni cognitive e al rallentamento dei processi cognitivi con l'avanzare dell'età.

Le strutture cerebrali che risultano maggiormente vulnerabili al declino della materia grigia includono le aree prefrontali, il nucleo caudato, il cervelletto e l'ippocampo. Queste regioni giocano un ruolo cruciale nella regolazione di funzioni cognitive di alto livello, come il ragionamento, la memoria e il controllo motorio. In particolare, le aree prefrontali sono tra le più colpite dal processo di invecchiamento, con un significativo aumento dell'atrofia. Questi dati sono in linea con le osservazioni cliniche relative ai cambiamenti neurocognitivi che si verificano negli anziani, in cui si riscontra spesso un deterioramento delle funzioni esecutive, dell'attenzione, della memoria, della capacità di pianificazione, riduzione delle capacità decisionali, della flessibilità cognitiva e della memoria di lavoro (Raz et al.;2005).

Allo stesso tempo, alcune aree cerebrali sembrano preservarsi meglio nel corso dell'invecchiamento. Tra queste, la corteccia visiva primaria, la corteccia entorinale e le regioni parietali mostrano una maggiore resistenza al declino della materia grigia, questo fenomeno suggerisce che non tutte le regioni cerebrali invecchiano allo stesso modo, e che alcune aree potrebbero mantenere più a lungo la loro funzionalità (Raz et al.;2005).

- Cambiamenti nella Materia bianca

I cambiamenti della materia bianca, fondamentale per le connessioni tra le diverse aree cerebrali, sono stati oggetto di approfonditi studi condotti grazie all'uso della Diffusion Tensor Imaging (DTI).

Questa tecnica consente di misurare la velocità e la direzione in cui l'acqua si diffonde attraverso la materia bianca, fornendo indicazioni sulla densità e sull'integrità strutturale di queste connessioni. La DTI si basa sul principio che l'acqua si muove in modo diverso in base alla struttura del tessuto in cui si trova; ad esempio, nell'ambito della materia

bianca, l'acqua tende a diffondere lungo gli assoni, rivelando informazioni preziose sulla salute delle connessioni cerebrali.

Studi condotti utilizzando questa avanzata tecnica di neuroimaging hanno evidenziato l'esistenza di un gradiente antero-posteriore nel cervello, riguardante l'integrità della materia bianca durante il processo di invecchiamento (Head et al.;2004), le regioni frontali del cervello presentano la maggiore carenza strutturale. La compromissione della materia bianca in queste regioni potrebbe quindi contribuire a una serie di difficoltà cognitive che gli anziani possono sperimentare.

Inoltre, i cambiamenti della materia bianca non si limitano a una semplice riduzione della densità; possono anche riflettere processi complessi come la demielinizzazione, che può essere causata da vari fattori, tra cui malattie neurodegenerative, infiammazioni o semplicemente il normale processo di invecchiamento (Wen et al.;2004). Tali alterazioni nelle connessioni cerebrali possono influenzare la comunicazione tra aree cerebrali distanti, compromettendo così l'integrazione delle informazioni e, di conseguenza, le prestazioni cognitive complessive.

Nel capitolo dei risultati risulta evidente come i cambiamenti sopra elencati interessino in maniera massiccia e globale il cervello della popolazione anziana.

1.3 Teorie dell'invecchiamento cognitivo

L'invecchiamento cerebrale è un fenomeno complesso che comporta modificazioni sia strutturali che funzionali, che il normale processo di invecchiamento è associato a una riduzione del volume della materia grigia (GM) e a un deterioramento dell'integrità della materia bianca (WM). Questi cambiamenti, osservati anche attraverso tecniche di neuroimaging, rappresentano marcatori biologici del declino fisiologico che accompagna l'avanzare dell'età. Per spiegare invece le differenze nelle prestazioni a compiti cognitivi e nell'attività cerebrale fra giovani e anziani, sono state proposte due teorie:

- *Ipotesi della Dedifferenziazione*: sostiene che l'aumento dell'attività cerebrale negli anziani rifletta una riduzione della specificità neuronale. Con l'età, i processi neuronali diventano meno specializzati e più generalizzati, e ciò porterebbe a un'attivazione più diffusa di aree cerebrali durante l'esecuzione di compiti cognitivi. I meccanismi di elaborazione delle informazioni che in individui più giovani sono limitati a specifiche regioni del cervello, con l'invecchiamento si estendono a più aree, implicando una *perdita di efficienza e precisione neuronale*. Di questa ipotesi ne parlano Li e Lindenberger in un articolo del 1999, gli autori esplorano l'ipotesi della differenziazione cognitiva in relazione all'invecchiamento, propongono che il deterioramento dei sistemi neurotrasmettitoriali, come il sistema dopaminergico, possa essere una delle cause principali della riduzione della specificità delle funzioni cognitive negli anziani. Secondo la loro ipotesi, il declino delle risorse neurobiologiche rende i processi cognitivi meno distinti, portando a una maggiore correlazione tra abilità cognitive che in giovane età sono più differenziate. La dedifferenziazione comporta che le diverse funzioni cognitive, che in giovani adulti vengono eseguite da aree

cerebrali specifiche, tendono a diventare meno specializzate con l'età, con una conseguente sovrapposizione funzionale e riduzione della precisione del processamento cognitivo. Questo fenomeno è collegato al deterioramento dei networks e all'interazione tra fattori neurobiologici e cognitivi durante il processo di invecchiamento.

- Ipotesi della *Compensazione*: l'aumento dell'attività cerebrale osservata negli anziani rappresenta un meccanismo adattativo che il cervello mette in atto per contrastare il declino cognitivo legato all'età; in risposta alla perdita di integrità, il cervello anziano recluta regioni supplementari per mantenere la performance cognitiva, cercando di compensare le difficoltà attraverso una maggiore richiesta di risorse cognitive. Tra i più celebri modelli dell'invecchiamento cognitivo troviamo: Il modello HAROLD, *Hemispheric Asymmetry Reduction in Older Adults* (Cabeza, 2002), il quale afferma che l'attività neurale è meno lateralizzata negli anziani rispetto ai giovani; l'ipotesi CRUNCH, *Compensation Related Utilization of Neural Circuits Hypothesis* (Reuter-Lorenz e Cappel, 2008), secondo la quale esisterebbe un maggiore livello di attivazione neurale negli anziani rispetto ai giovani e un possibile reclutamento di aree cerebrali alternative; il modello PASA, *Posterior Anterior Shift in Aging* (Davis et al.;2007), sostiene che esista una riduzione dell'attività cerebrale nelle regioni occipito-temporali e un aumento dell'attività cerebrale nelle regioni anteriori, negli anziani rispetto ai giovani.

Nonostante entrambe le teorie supportino l'idea di cambiamenti funzionali durante l'invecchiamento, esse differiscono profondamente nelle loro implicazioni.

La dedifferenziazione suggerisce che un deterioramento delle capacità cognitive si associa ad una minore specializzazione neuronale, mentre la compensazione sottolinea la capacità del cervello di adattarsi e di mantenere prestazioni efficienti nonostante le limitazioni imposte dall'età.

Tuttavia, rimane aperta la questione se questi cambiamenti funzionali riflettano una riorganizzazione fondamentale dell'architettura cerebrale o semplicemente l'adozione di diverse strategie cognitive tra giovani e anziani.

Va inoltre sottolineato che l'interpretazione dei risultati derivanti da studi basati su task fMRI è inevitabilmente influenzata dai paradigmi sperimentali utilizzati. La natura stessa delle attività proposte durante gli esperimenti può influenzare i pattern di attivazione osservati, e ciò limita la generalizzabilità delle conclusioni. A questo proposito, l'uso della fMRI a riposo (rfMRI) ha offerto un'alternativa importante, in quanto permette di misurare le fluttuazioni spontanee dell'attività cerebrale in assenza di specifici compiti cognitivi. Questo approccio consente di esplorare le differenze nell'organizzazione funzionale del cervello a riposo, offrendo una prospettiva più neutra e priva delle influenze esercitate dai paradigmi cognitivi sui pattern di attivazione.

1.4 I Networks cerebrali

Fino a questo punto, abbiamo esaminato le trasformazioni che il cervello subisce nel corso della vita, con un particolare focus sui cambiamenti neurocognitivi e strutturali, e abbiamo iniziato ad esplorare i cambiamenti funzionali che si verificano con l'avanzare dell'età, introducendo l'ipotesi della compensazione e quella della dedifferenziazione. Per una comprensione più approfondita di questo lavoro, è fondamentale introdurre il concetto di reti cerebrali, o networks cerebrali, e analizzare come queste reti evolvano e si modifichino nel corso del processo di invecchiamento.

I networks cerebrali rappresentano gruppi di aree cerebrali interconnesse che lavorano insieme per svolgere specifiche funzioni cognitive e comportamentali. Comprendere la dinamica di queste reti è essenziale per individuare come i cambiamenti strutturali e neurocognitivi influenzano le funzioni cerebrali nel tempo. L'invecchiamento, infatti, non si limita a provocare alterazioni nelle singole regioni cerebrali, ma può anche influenzare le connessioni tra di esse, modificando le modalità di comunicazione e cooperazione tra le diverse aree. Pertanto, un'analisi dei networks cerebrali può fornire informazioni preziose su come il cervello degli anziani risponde a questi cambiamenti, contribuendo a una comprensione più completa delle sfide cognitive associate all'invecchiamento.

La mente come una rete e la connettività funzionale

Il funzionamento di una specifica regione cerebrale è intrinsecamente legato alla sua connettività con altre aree del cervello. Questa interazione evidenzia una visione del cervello come una rete complessa, composta da unità neurali che sono collegate tra loro tramite connettività strutturale, funzionale o una combinazione di entrambe.

La connettività strutturale si riferisce alle connessioni fisiche tra le varie regioni cerebrali, rappresentate dalle fibre nervose che formano un intricato sistema di comunicazione. D'altra parte, la connettività funzionale è definita come la correlazione temporale tra eventi neurofisiologici che avvengono in aree spazialmente distanti del cervello (Shen,2015). Questo significa che anche se due regioni cerebrali non sono direttamente connesse da vie neuronali, possono comunque mostrare un'attività sincronizzata durante l'esecuzione di compiti cognitivi o in stati di riposo. Questa dipendenza temporale è fondamentale per comprendere come diverse aree del cervello collaborano per elaborare informazioni e generare comportamenti.

Le reti funzionali a riposo

A partire dagli studi di neuroimaging condotti da Biswal e colleghi nel 1995, è emersa l'evidenza che esiste una sincronia tra le regioni cerebrali che condividono proprietà funzionali. Questa scoperta ha segnato un punto di svolta nella comprensione della connettività cerebrale, suggerendo che le interazioni tra aree diverse possono avere un impatto significativo sul funzionamento cognitivo. Negli anni successivi a queste scoperte, l'adozione di metodiche di neuroimaging per l'analisi del cervello a riposo è diventata sempre più comune nella ricerca scientifica. Come sarà approfondito nel capitolo 2, queste tecniche offrono un vantaggio significativo: consentono una comprensione più profonda delle risposte cerebrali e delle fonti di variazione tra gruppi, indipendentemente dai comportamenti o dalle strategie utilizzate (Deery et al.,2022).

Inoltre, la ricerca ha dimostrato che i modelli di attivazione durante le attività cognitive sono simili a quelli osservati durante lo stato di riposo (Cole et al.,2014). Questo suggerisce che l'architettura di una rete funzionale a riposo rappresenta, in parte, il “circuitto” attraverso il quale scorre l'attività durante le prestazioni cognitive, questo

permette di applicare anche alla connettività funzionale allo stato di riposo le teorie della compensazione e della dedifferenziazione viste nel paragrafo precedente.

Lo studio della connettività funzionale a riposo rappresenta un valido strumento per comprendere e analizzare l'invecchiamento cognitivo. Esaminando come le reti cerebrali si modificano nel tempo e come queste modifiche possano influenzare le capacità cognitive, i ricercatori possono ottenere informazioni preziose sui processi che sottendono al deterioramento cognitivo.

- Networks funzionali a riposo e invecchiamento

Le connessioni all'interno e tra le reti possono cambiare nel tempo in numero, forza, configurazione ed efficienza e in funzione dell'apprendimento, dell'età o degli stati di malattia (Genon et al., 2018). Per fornire un quadro completo della letteratura esistente su questa tematica, riportiamo di seguito un riassunto dettagliato delle attuali conoscenze su come i networks cerebrali si organizzano e si modificano nel corso del tempo, concentrandoci sui punti che risultano utili per comprendere i risultati di questo lavoro. Questo riassunto è basato sulla metanalisi condotta da Deery e colleghi nel 2022, che rappresenta una delle analisi più approfondite e recenti in questo campo:

- *Riduzione della connettività intra-rete* in tutte o alcune delle reti analizzate negli anziani;
- *Aumento di connettività inter networks* negli adulti più anziani rispetto ai giovani, fenomeno, noto come dedifferenziazione funzionale, suggerisce che il cervello in età avanzata tende a compensare la perdita di efficienza all'interno di specifici networks aumentando la comunicazione tra reti diverse.

- Durante il ciclo di vita le i networks funzionali si evolvono per diventare meno segregate, meno modulari e più integrate (combinando insieme i due processi precedenti):

Modularità: La modularità si riferisce alla tendenza del cervello a organizzarsi in moduli distinti, composti da gruppi di regioni che lavorano insieme per svolgere compiti specifici. Ogni modulo è relativamente indipendente, il che permette al cervello di ottimizzare l'elaborazione delle informazioni. Con l'invecchiamento, tuttavia, la modularità tende a diminuire, poiché le reti cerebrali diventano meno specializzate e le aree cerebrali iniziano a comunicare in modo più diffuso tra loro. Questo può portare a una perdita di efficienza e precisione nelle funzioni cognitive.

Segregazione: rappresenta la capacità del cervello di mantenere distinte le funzioni delle diverse reti, limitando la comunicazione tra moduli separati quando non è necessario. Questo fenomeno è spesso interpretato come segno di dedifferenziazione, dove le funzioni cerebrali diventano meno specifiche e più generalizzate.

Integrazione: capacità del cervello di coordinare le informazioni tra diverse reti funzionali per eseguire compiti complessi che richiedono la cooperazione di più aree. Con l'avanzare dell'età, l'integrazione tende a diventare più predominante, poiché il cervello cerca di compensare la riduzione della segregazione e della modularità. Sebbene un aumento dell'integrazione possa sembrare un adattamento positivo, spesso è il segnale di una ridotta efficienza delle reti, poiché il cervello

deve lavorare più duramente per completare compiti che in precedenza richiedevano meno comunicazione inter-networks.

- *La traiettoria delle differenze legate all'età* nella connettività della rete funzionale a riposo *non è lineare*, alcuni studi mostrano un andamento quadratico mostrando un punto di flesso nel terzo decennio per la connettività all'interno della rete e nel quarto decennio per la connettività tra reti;
- *Lateralizzazione ridotta* della connettività funzionale a riposo, in linea con ipotesi HAROLD;
- *Spostamento antero-posteriore* in linea con PASA della connettività funzionale;

Negli ultimi anni, la letteratura riguardante le reti cerebrali funzionali a riposo e il loro sviluppo nel corso della vita ha conosciuto una crescita significativa. Le evidenze emerse da questi studi indicano con grande certezza che gli anziani presentano una connettività funzionale ridotta all'interno delle singole reti, accompagnata da una maggiore connettività tra le diverse reti cerebrali. Questo fenomeno è caratterizzato da una diminuzione della segregazione, della modularità e dell'efficienza, evidenziando un cambiamento dalla connettività posteriore a quella anteriore durante lo stato di riposo (Deery et al.;2022). I risultati di questa ricerca risultano essere coerenti con quanto appena affermato e saranno analizzati nel terzo capitolo di questo elaborato.

1.5 Lacune nella Letteratura, Domanda di Ricerca e Ipotesi

Sebbene sia ben documentato che la connettività funzionale a riposo è compromessa negli anziani sani, non è ancora chiaro se tali cambiamenti contribuiscano al declino cognitivo associato all'età. Studi che esplorano la relazione tra connettività cerebrale e cognizione negli anziani hanno prodotto risultati eterogenei, e sovente in disaccordo tra loro. Nonostante l'ampia letteratura sull'invecchiamento cerebrale, vi è una carenza di studi che collegano direttamente la connettività funzionale cerebrale in stato di riposo con le performance cognitive nelle funzioni esecutive in un contesto di invecchiamento sano. Poche ricerche hanno confrontato in modo sistematico giovani adulti e anziani sani utilizzando misure di connettività funzionale e correlazioni con test cognitivi specifici, come lo Stroop Test (Hausman et al.;2020).

Lo studio si propone di esplorare i cambiamenti che avvengono nella connettività funzionale dei network neurali durante l'invecchiamento sano e di comprendere come tali cambiamenti influenzino le performance cognitive, in particolare le funzioni esecutive, come il controllo inibitorio. La domanda centrale è se e come le variazioni nella connettività cerebrale, misurate tramite risonanza magnetica funzionale, siano associate alle capacità esecutive misurate e quantificate attraverso il test di Stroop. Si ipotizza che i partecipanti anziani mostreranno un peggioramento delle performance nei test cognitivi rispetto ai giovani adulti, in particolare nelle funzioni esecutive valutate dallo Stroop.

Si prevede che le immagini di risonanza magnetica mostreranno, nel gruppo degli anziani, una riduzione del volume della sostanza grigia, dell'integrità dei fasci di sostanza bianca e cambiamenti nei networks funzionali rispetto ai giovani adulti. Infine si ipotizza che ci sarà una correlazione tra le performance cognitive (Stroop Test) e i cambiamenti

nell'attività cerebrale misurata tramite risonanza magnetica funzionale in stato di riposo, con un'alterata connettività nei network neurali negli anziani sani rispetto ai giovani. In questo modo, lo studio mira a collegare il declino cognitivo alle alterazioni strutturali e funzionali del cervello che avvengono con l'età.

Capitolo 2 – METODI

2.1 Raccolta dati

I dati utilizzati per la stesura di questa tesi provengono dalla raccolta dati per lo studio GUTBRAIN: “il ruolo del microbiota intestinale sull’invecchiamento e la neurodegenerazione: uno studio clinico e di neuroimmagine”. Ho partecipato attivamente alla raccolta dati durante la mia esperienza di tirocinio della durata di cinque mesi presso S. Camillo IRCCS S.R.L. società unipersonale, ospedale neuroriabilitativo, istituto di ricovero e cura a carattere scientifico.

- Lo studio GUTBRAIN

GUTBRAIN è uno studio che si propone di indagare quale sia il ruolo del microbiota intestinale sull’invecchiamento e la neurodegenerazione, progetto finanziato dal ministero della salute in quanto vincitore del bando per la ricerca finalizzata del 2021 (codice finalizzata: RF-2021-12372224) e approvato dal Comitato Etico per la Sperimentazione Clinica della provincia di Venezia e IRCCS San Camillo.

Il ricercatore responsabile dello studio è il Dott. Nicola Filippini e l’ente coordinatore dello studio è il San Camillo S.R.L. società unipersonale. Si tratta di uno studio multicentrico sperimentale su soggetti sani e pazienti con malattie neurologiche neurodegenerative con una durata prevista di 36 mesi.

Per questo progetto è previsto il reclutamento di 80 soggetti sani divisi in due gruppi (40 di età compresa tra 20 e 50 anni e 40 di età compresa tra 60 e 90 anni). I soggetti sani, facenti parte del gruppo di controllo, non devono avere diagnosi di alcuna malattia neurodegenerativa e/o psichiatrica, e ottenere un punteggio al MMSE superiore a 26.

Tutti i partecipanti vengono sottoposti a un protocollo di risonanza magnetica multimodale che comprende sequenze strutturali e funzionali della durata complessiva circa 40-50 minuti. Il protocollo di risonanza magnetica viene eseguito su uno scanner Philips Ingenia 3.0T presso l'IRCCS San Camillo.

Le sequenze di risonanza magnetica comprendono:

- A. Risonanza magnetica ad alta risoluzione 3D T1-weighted Magnetisation Prepared Rapid Gradient Echo (MPRAGE). Questa sequenza è utilizzata principalmente per studiare il tessuto strutturale macroscopico della materia grigia (GM) nelle regioni cerebrali sia corticali che sottocorticali. Le riduzioni della GM sono state ampiamente associate a processi di invecchiamento e/o a malattie e disfunzioni di tipo neurodegenerativo.
- B. RM di diffusione (dMRI). Questa sequenza è utilizzata per dedurre informazioni sulle proprietà microstrutturali della materia bianca (WM) e per delineare l'organizzazione assonale del cervello.
- C. Fluid Attenuated Inversion Recovery (T2-FLAIR). Questa sequenza è comunemente utilizzata nella pratica clinica, ad esempio per caratterizzare le iperintensità e le lesioni profonde della WM, derivanti da una serie di meccanismi biologici/patologici.
- D. RM funzionale allo stato di riposo (rfMRI). Questa sequenza viene utilizzata per studiare lo stato dei networks funzionali allo stato di riposo (RSN), che comprendono regioni cerebrali che condividono un corso temporale comune di fluttuazioni spontanee e si ritiene che rappresentino reti neurali funzionalmente critiche che riflettono le proprietà dell'organizzazione funzionale del cervello. La ricerca nel campo delle neuroscienze suggerisce sempre più spesso che il cervello

è cablato e organizzato funzionalmente in reti su larga scala spazialmente distinte, che a loro volta riflettono fattori preesistenti, pre-morbosi, e che possono aver contribuito a collocare ogni singolo cervello lungo lo spettro tra vulnerabilità o resilienza ai sintomi.

- E. Susceptibility-weighted MR Imaging (3D-swMRI). Questa sequenza è utilizzata per definire le malformazioni vascolari, micro-emorragie cerebrali, calcificazioni intracraniche e depositi metallici presenti nel cervello.

Tutti i soggetti vengono anche sottoposti a un protocollo neuropsicologico che comprende:

- A. Mini-Mental-State-Examination, test che valuta lo stato cognitivo generale;
- B. Fluenza fonemica e semantica, Stroop Test, Trail Making Test (TMT) versioni A e B, test utilizzati per valutare le funzioni esecutive e attentive;
- C. Memoria di prosa, Test di apprendimento verbale uditivo di Rey, Richiamo di figure complesse di Rey, Span spaziale, test utilizzati per valutare la funzione della memoria;
- D. Figura di Rey, per valutare l'abilità visuo-spaziale;
- E. Matrici progressive di Raven, test utilizzato per valutare le capacità di ragionamento;
- F. Beck Depression Inventory (BDI), test per valutare e quantificare l'umore della persona.

Inoltre, vengono raccolti campioni di sangue e di feci per generare dati microbici e infiammatori.

- Il campione

Per la stesura di questa tesi sono stati selezionati ed analizzati i dati di 90 soggetti, residenti o domiciliati tra le province di Padova e Venezia, senza diagnosi di malattie neurodegenerative, neurologicamente indenni e con performance nella norma ai test neuropsicologici. Nel caso in cui i partecipanti ottenessero punteggi inferiori ai cut-off corretti per età e scolarità durante la valutazione neuropsicologica, essi verranno esclusi dal campione di interesse, in quanto non rappresentativi della popolazione sana.

Nonostante per la ricerca GUTBRAIN fosse previsto un campione di soggetti di controllo di $N = 80$, diviso in due gruppi (giovani e anziani), sono stati reclutati un numero maggiore di soggetti per far fronte ad eventuali problemi di raccolta dati, come ad esempio: immagini di risonanza non buone o assenti, esame neuropsicologico incompleto. I dati selezionati per l'indagine di questa tesi, appartengono a soggetti che disponevano di buone immagini di risonanza e di risultati completi ai test neuropsicologici.

L'adesione allo studio è avvenuta su base volontaria, previa dettagliata informazione circa le caratteristiche, le finalità, le procedure, la durata, i rischi e i benefici dello stesso. Inoltre, è stato accertato che i partecipanti fossero idonei ad essere sottoposti al protocollo di risonanza magnetica. Al termine della fase informativa, ciascun partecipante ha acconsentito alla partecipazione allo studio firmando il modulo di consenso informato e l'informativa relativa al trattamento dei dati personali.

2.2 Valutazione neuropsicologica

Una definizione completa ed esaustiva di test psicologico è quella proposta da Cronbach: *“un test è una procedura sistematica per l’osservazione del comportamento di una persona e per la sua descrizione con l’aiuto di una scala numerica o un sistema di categorie”* (Cronbach, 1970). L’interesse del neuropsicologo però non è solo il comportamento in sé, ma risiede nelle informazioni che un certo comportamento può fornire sul funzionamento cognitivo dell’individuo.

La “valutazione psicometrica” è la fase della valutazione basata sulla somministrazione di alcuni test, ruolo di questi è proprio quello di fornire situazioni strutturate entro cui osservare il comportamento della persona da valutare, superando così i limiti intrinseci alla valutazione qualitativa. Lo scopo della valutazione è quello di delineare un profilo cognitivo in modo rigoroso e oggettivo.

Tra i test neuropsicologici somministrati ai partecipanti durante il protocollo valutativo dello studio GUTBRAIN (sopra elencati), soltanto alcuni sono stati presi in esame per le analisi che seguiranno, vediamo quali e perché:

- Mini Mental State Examination (Measso et al.;1993), selezionato ed utilizzato per verificare che tutti i membri del campione selezionato avessero un buon funzionamento cognitivo globale e che quindi potessero essere considerati cognitivamente sani;
- Test di Stroop (Cafarra et al.;2002), selezionato ed utilizzato per avere una misura delle capacità inibitorie dei due gruppi;
- Trail Making Test parte A (Giovagnoli A.R. et al.;1996), nelle analisi che seguiranno viene utilizzato come variabile di controllo per isolare l’effetto della velocità di

elaborazione e per per escludere che le differenze tra i due gruppi nella velocità' di esecuzione siano alla base delle differenze nello STROOP;

- Edinburgh Handedness Inventory (Oldfield, 1970), selezionato per caratterizzare la manualità della popolazione oggetto di studio. Questo è rilevante in quanto persone con diversa manualità (i.e. sinistrese o destrorse) hanno anche una conformazione cerebrale differente.

(tutti i test utilizzati sono consultabili nella sezione appendici di questo elaborato)

Nel dettaglio:

- Mini-Mental State Examination, MMSE

Il Mini – Mental State Examination è un breve test di screening che si propone di indagare il funzionamento cognitivo globale del soggetto. Presenta una serie di domande e di compiti che vogliono indagare le abilità di orientamento spazio-temporale della persona, le capacità di memoria, di attenzione, di calcolo, di linguaggio, di lettura, di esecuzione di comandi e di scrittura. Sono incluse anche prove che valutano le capacità prassico- costruttive del soggetto.

Il punteggio totale, dato dalla somma dei punteggi che il paziente ha ottenuto a ciascun item, può andare da un minimo di 0 (massimo deficit cognitivo) a un punteggio di 30 (nessun deficit cognitivo).

Sommando i punteggi ottenuti a ciascuna prova si ottiene un indice quantitativo generale delle capacità cognitive dell'esaminando, un punteggio sotto al 23,8 (Ver. Measso et al.; 1993) è considerato deficitario. Fattori come età e scolarità contribuiscono significativamente alle valutazioni dei punteggi attesi nella popolazione normale.

La versione del MMSE utilizzata durante la raccolta dati è la versione di Measso et al. 1993 come anche le tarature utilizzate.

I soggetti del campione di interesse hanno tutti ottenuto punteggio sopra al cut-off, possiamo quindi affermare che posseggono tutti un buon funzionamento cognitivo globale.

- Test di Stroop

Il test di Stroop è molto utilizzato e di grande rilievo nella pratica clinica; semplice e di veloce somministrazione, fornisce informazioni sulle capacità attentive, sulla flessibilità cognitiva e sulla sensibilità all'interferenza del soggetto, funzioni attribuite ai lobi frontali (Cafarra et al.;2002).

La versione utilizzata e somministrata durante la raccolta dati è una versione in italiano modificata e abbreviata del test di Stroop: Test di Stroop versione breve, standardizzazione italiana di Cafarra et al. 2002. I dati normativi di riferimento sono quelli della popolazione italiana (Cafarra et al.;2002).

Due sono i punteggi che si possono ottenere dal test: il punteggio “effetto interferenza errori” ed “effetto interferenza tempo”. Il secondo punteggio, espresso in secondi, è stato quello che abbiamo considerato per la stesura della tesi. Ad un punteggio ottenuto (in secondi) maggiore, corrisponde una peggiore performance al test di Stroop e viceversa. Come previsto da numerose ricerche, anche nel campione preso in esame, è osservabile un aumento dell'effetto Stroop correlato all'età.

È interessante specificare che la capacità di inibire l'interferenza cognitiva che si verifica quando l'elaborazione di una specifica caratteristica dello stimolo ostacola l'elaborazione simultanea di un secondo attributo dello stimolo, nota come Effetto Stroop, non è

completamente e propriamente valutato dai metodi di scoring (Scarpina, Tagini,2017). Nasce dunque la necessità di un indice alternativo ed unanime per ottenere un'interpretazione più adeguata della performance. (Scarpina, Tagini,2017). Si propone di adottare un metodo di scoring che preveda: il conteggio delle risposte corrette in un tempo fisso per ciascuna condizione del test di Stroop (lettura parole, denominazione colore, interferenza) e un indice globale relativo alla performance nel compito di interferenza sottratte le abilità di lettura e/o denominazione dei colori (Scarpina, Tagini,2017).

Ad oggi non esistono però dei dati normativi basati su questo innovativo metodo di scoring e non se ne conosce l'applicabilità in contesti clinici (Scarpina, Tagini,2017), motivo per cui, per questo elaborato, utilizzeremo il punteggio in secondi dell'effetto interferenza sul tempo.

- Trail Making Test (part A), TMT-A

Lo scopo di questo test è quello di valutare le capacità di ricerca visuospatiale, di attenzione selettiva e di velocità psicomotoria. La versione del TMT-A utilizzata durante la raccolta dati è la versione di Giovagnoli et al. (1996), degli stessi autori sono anche i dati normativi utilizzati.

Il punteggio ottenuto al test è riportato in secondi, ad un punteggio maggiore, corrispondono performance peggiori. Come previsto in letteratura, anche nel campione esaminato è osservabile, all'aumentare dell'età, un aumento del tempo necessario per completare il task, suggerendo che sia presente un rallentamento generale relato all'invecchiamento. L'idea di considerare come covariata i punteggi ottenuti al TMT-A nelle analisi che seguiranno, si ispira allo studio di, Wolf et al. del 2014: "Age-Related

Increases in Stroop Interference: Delineation of General Slowing Based on Behavioral and White Matter Analyses”, il quale poggia proprio le sue basi sul dibattito: peggiori prestazioni al test di Stroop sono dovute a un rallentamento generale o a un peggioramento nella capacità inibitorie?

Gli autori hanno utilizzato il TMT-A per misurare il rallentamento generale, test che è comunemente usato come misura di controllo per valutare se le differenze nelle prestazioni nel compito di interferenza di Stroop sono dovute principalmente a un rallentamento generale delle funzioni cognitive anziché a un declino specifico nell'inibizione cognitiva. Utilizzando il TMT-A, gli autori possono separare gli effetti dell'invecchiamento sulle prestazioni del compito di Stroop dall'effetto del rallentamento cognitivo generale, consentendo loro di valutare in modo più preciso il contributo dell'inibizione cognitiva specifica all'interferenza di Stroop. I risultati suggeriscono ulteriormente che l'inibizione cognitiva, misurata attraverso il compito di Stroop, è un processo cognitivo qualitativamente distinto dal rallentamento generale, tende a peggiorare con l'età (Wolf et al.;2014).

- Edinburgh Handedness Inventory

È un test che permette di quantificare la preferenza di un soggetto per l'una o l'altra mano. La versione utilizzata è quella di Oldfield et al. del 1970. Il test prevede una serie di item, affermazioni; il partecipante deve indicare se preferisce svolgere l'azione riportata con una o con l'altra mano. Sommando i punteggi a ciascun item, otteniamo un numero compreso tra -1 e 1, dove il segno indica per quale mano è espressa la preferenza: se negativo, la preferenza è per la mano sinistra, se positivo, la preferenza è per la mano destra. Il coefficiente numerico indica la forza della preferenza, più questo è vicino a ± 1 ,

più la preferenza è marcata. I test di dominanza manuale vengono somministrati perché la dominanza manuale, cioè la preferenza nell'uso di una mano rispetto all'altra per compiere compiti manuali, può influenzare la lateralizzazione emisferica del cervello, ovvero il predominio funzionale di un emisfero cerebrale rispetto all'altro.

Ad esempio, nel caso del linguaggio, funzione notoriamente lateralizzata a sinistra, è stato dimostrato che esiste una relazione tra manualità e dominanza linguistica in soggetti sani, in particolare l'incidenza della dominanza linguistica nell'emisfero destro è risultata aumentare linearmente con il grado di mancinità, dal 4% nei destrimani forti (manualità = 1) al 15% negli ambidestri e al 27% nei mancini forti (manualità = -1) (Knecht et al.;2000).

Nel campione preso in esame la preferenza manuale è mediamente a destra, sia per il gruppo dei giovani, che per quello degli anziani.

2.3 Procedure di Neuroimaging

La risonanza magnetica (MRI, *Magnetic Resonance Imaging*) è una tecnica non invasiva che usa potenti magneti e radioonde per analizzare le strutture interne del corpo, per esaminare immagini cliniche e il metabolismo dei tessuti in vivo. Combina i vantaggi esistenti delle altre tecniche di imaging, come ad esempio i raggi x e la tomografia computerizzata (CT), senza tuttavia dividerne gli svantaggi.

Grazie alla sua alta sensibilità nel distinguere le differenze tra diversi tessuti e al suo dettaglio anatomico eccellente, la MRI supera altre modalità di imaging diventando così la scelta preferita per clinici e ricercatori.

In particolare, la MRI cerebrale offre una visione dettagliata del cervello in vivo, consentendo di comprendere i processi sia normali che patologici che coinvolgono le strutture cerebrali. Le informazioni raccolte e utilizzate in questo elaborato possono essere classificate in due categorie: *strutturali* e *funzionali*.

Tutti i partecipanti vengono sottoposti a un protocollo di risonanza magnetica multimodale che comprende le sequenze precedentemente elencate, il protocollo di risonanza magnetica viene eseguito su uno scanner Philips Ingenia 3.0T presso l'IRCCS San Camillo. I soggetti del campione di controllo, quello d'interesse per le indagini che seguiranno, dispongono di buone immagini di risonanza e del protocollo di acquisizione completo.

Tra tutte le sequenze acquisite per il progetto GUTBRAIN, quelle che abbiamo selezionato per le indagini a seguire sono:

- Risonanza magnetica ad alta risoluzione 3D T1-weighted Magnetisation Prepared Rapid Gradient Echo (MPRAGE);
- RM di diffusione (dMRI);
- RM funzionale allo stato di riposo (rfMRI).

Il Software utilizzato per le analisi di risonanza magnetica si chiama FSL (FMRIB Software Library). Questo package include tools per le analisi delle modalità di RM incluse in questo lavoro di tesi.

- Risonanza Magnetica Strutturale

La risonanza magnetica strutturale (MRI) fornisce dettagli anatomici statici del cervello, concentrandosi sia sulla sostanza grigia (GM), che contiene i corpi cellulari neuronali, sia sulla sostanza bianca (WM), composta da tratti di assoni mielinizzati.

Dalla risonanza magnetica strutturale, attraverso l'uso di specifici tools, si possono estrarre e valutare informazioni relative al volume delle strutture.

Tali misurazioni sono essenziali in ambito clinico per il monitoraggio della progressione delle malattie, per la diagnosi differenziale e per la rilevazione precoce di eventuali patologie.

Esistono differenti sequenze di risonanza magnetica comunemente utilizzate nella pratica clinica, tra queste: T1-pesata (per immagini anatomiche), T2-pesata (nota anche come "mielografica"), Fluid Attenuated Inversion Recovery (FLAIR).

L'impiego di diverse sequenze permette di distinguere meglio le alterazioni strutturali o le lesioni cerebrali, poiché alcune strutture sono più visibili in certe immagini rispetto ad altre.

Le immagini T1-pesate sono le più usate per le immagini anatomiche del cervello, grazie ai diversi tempi di rilassamento T1 specifici per ogni tipo di tessuto. Per le indagini di interesse per questa tesi, sono state utilizzate tutte immagini T1- pesate.

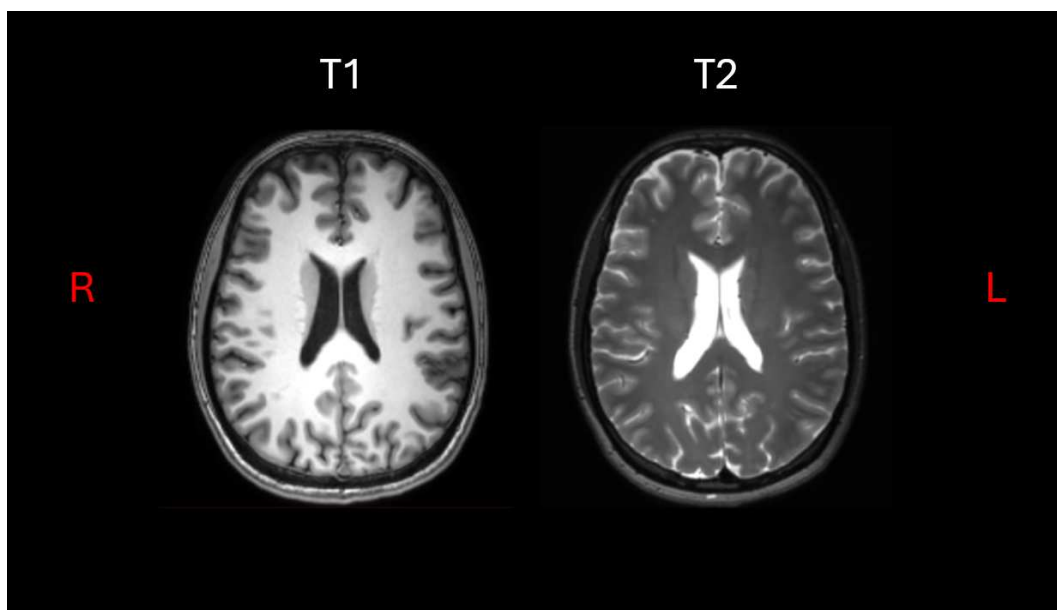


Fig. 2.1- Le diverse costanti di tempo T1 e T2 ci permettono di ottenere un contrasto che rende possibile distinguere i diversi tessuti nelle immagini di risonanza magnetica. L'insieme delle immagini ponderate di T1e T2 fornisce un notevole numero di informazioni sulle strutture cerebrali. Nelle immagini T1-pesate (a destra) , il liquido cerebrospinale (CSF) appare nero, la sostanza grigia (GM) grigio scuro e la sostanza bianca (WM) grigio chiaro. Nelle immagini T2- pesate, il liquido cerebrospinale (CSF) appare bianco, la sostanza grigia (GM) grigio chiaro e la sostanza bianca (WM) grigio scuro.

Abbiamo scelto di utilizzare le immagini di risonanza magnetica strutturale dei due gruppi, per indagare quali fossero i cambiamenti nella materia grigia che occorrono durante un invecchiamento sano.

FSL-VBM (Voxel-Based Morphometry)

La procedura utilizzata nelle analisi che seguono è la FSL-VBM (Voxel-Based Morphometry): un'analisi automatizzata delle immagini di Risonanza Magnetica strutturale (MRI) che consente di esaminare differenze volumetriche della sostanza grigia tra gruppi di soggetti o all'interno di un gruppo stesso. La sua forza risiede nell'automazione del processo e nella capacità di confrontare voxel-by-voxel le immagini cerebrali normalizzate, permettendo di individuare cambiamenti legati a fattori demografici, cognitivi o patologici.

È parte del software FSL (FMRIB Software Library) e prevede diversi passaggi per la segmentazione, normalizzazione e analisi statistica delle immagini:

Pre-elaborazione delle immagini T1-weighted: le immagini T1 strutturali acquisite vengono pre-processate per eliminare rumori e artefatti. Questo include la rimozione dei tessuti non cerebrali (come il cranio e la pelle) attraverso un passaggio noto come *brain extraction*.

Segmentazione della sostanza grigia: le immagini vengono segmentate in diverse categorie di tessuto: sostanza grigia, sostanza bianca e liquido cerebrospinale. Questo processo suddivide il cervello nelle componenti principali, ed è fondamentale per isolare il tessuto d'interesse.

Normalizzazione spaziale: le immagini segmentate vengono poi normalizzate, allineate a uno spazio standard (ad esempio lo spazio MNI – Montreal Neurological Institute). Questo passaggio consente di confrontare le immagini cerebrali tra diversi soggetti, poiché viene corretta la variabilità anatomica individuale.

Smoothing: le immagini della sostanza grigia vengono "smussate" applicando un filtro gaussiano. Questo passaggio riduce il rumore e migliora la possibilità di identificare differenze significative tra i gruppi.

Analisi statistica voxel-wise: confronta ogni voxel (equivalente tridimensionale del pixel) tra gruppi di soggetti (ad esempio giovani vs anziani) o in relazione a una variabile di interesse. L'output è una mappa statistica che mostra le regioni cerebrali dove ci sono differenze significative tra i gruppi (ad esempio nella densità o nel volume della sostanza grigia).

Correzione per confronti multipli: Poiché l'analisi è effettuata su migliaia di voxel, è necessario applicare una correzione per confronti multipli per ridurre il rischio di falsi positivi.

Interpretazione dei risultati: le mappe statistiche risultanti evidenziano le aree del cervello dove ci sono differenze significative nella struttura della sostanza grigia tra i gruppi o in relazione a variabili di interesse (come età, punteggi di test neuropsicologici, ecc.). Le differenze volumetriche osservate possono essere interpretate in termini di cambiamenti legati all'invecchiamento, patologie o altri fattori.

- Risonanza Magnetica di Diffusione

Il cervello umano possiede una complessa rete costituita da fasci assonali che connettono le diverse aree cerebrali tra loro. Questi collegamenti, di natura anatomica, permettono l'integrazione funzionale tra le varie regioni del cervello.

I fasci assonali possono essere descritti in termini di volume: grandi / piccoli, e di integrità. Queste due caratteristiche possono variare principalmente sulla base di malattie neurodegenerative ed età.

Il funzionamento di questa tecnica è basato sulle molecole di acqua, molecole che si muovono in modo casuale all'interno di un fluido, ma che nel cervello seguono precisi pattern di diffusione a seconda del tessuto, riflettendone la microstruttura.

Utilizzare la tecnica della risonanza magnetica per rilevare la diffusione dell'acqua, è un modo per ottenere indirettamente informazioni sulla microstruttura del tessuto.

In particolare, le molecole di acqua possono avere una diffusione isotropica (stessa diffusione in ogni direzione) o anisotropica (diffusione differente a seconda della direzione considerata); queste due proprietà variano lungo un continuum: all'aumentare dell'anisotropia diminuisce l'isotropia e viceversa.

Nella materia grigia, le molecole di acqua nonostante si muovano liberamente, fanno difficoltà a muoversi tra i corpi cellulari e gli astrociti, nel liquido cerebrospinale invece queste si muovono più velocemente e in tutte le direzioni, mostrando un tipo di diffusione prevalentemente isotropico. Nella materia bianca le molecole di acqua si muovono velocemente lungo la direzione dei fasci assonali (data la posizione delle fibre) e fanno difficoltà a muoversi in direzione trasversale. In questo caso le molecole seguono una diffusione anisotropica.

Con la DWI (risonanza magnetica di diffusione), otteniamo informazioni sulla diffusività e sulla velocità delle molecole di acqua, con la DTI (risonanza magnetica con tensore di diffusione) possiamo anche verificare lungo quale orientamento l'acqua si diffonde per indagare la struttura tridimensionale micro-atomica del parenchima cerebrale. La DTI, ricostruisce la struttura dei tessuti cerebrali basandosi sul concetto di tensore: rappresentazione matematica che descrive come le molecole di acqua si diffondono nei tessuti biologici, è una matrice simmetrica 3x3 che contiene informazioni sulle direzioni e sulle intensità della diffusione molecolare in tre dimensioni spaziali, permette di misurare e visualizzare l'anisotropia della diffusione, utile per studiare la microstruttura del cervello e identificare percorsi di fibre neuronali.

Nelle analisi che seguiranno abbiamo utilizzato le immagini di risonanza magnetica con tensore di diffusione per indagare quali fossero i cambiamenti nella materia bianca che occorrono durante un invecchiamento sano, ciò è stato possibile confrontando l'integrità della materia bianca tra il gruppo di giovani e quello degli anziani del nostro campione di interesse.

TBSS (Tract-Based Spatial Statistics)

La procedura utilizzata per le analisi sulle immagini DTI (Diffusion Tensor Imaging) è la TBSS (*Tract-Based Spatial Statistics*), procedura particolarmente utile per confrontare gruppi di soggetti e studiare correlazioni con variabili cliniche o cognitive; le analisi possono evidenziare differenze significative nella microstruttura della sostanza bianca legate a malattie, invecchiamento o altre condizioni. Si compone dei seguenti step:

Preprocessing delle immagini DTI: viene fatta una correzione delle distorsioni che possono essere causate da movimenti del soggetto o gradienti di campo magnetico. Si

genera poi il tensore di diffusione per ciascun voxel, che descrive la direzione e la grandezza della diffusione dell'acqua in ogni punto del cervello.

Calcolo delle mappe di FA (*Fractional Anisotropy*): la FA misura la direzionalità del movimento dell'acqua nei tessuti: valori alti indicano diffusione preferenziale in una direzione (tipica della sostanza bianca ben strutturata), mentre valori bassi indicano una diffusione più isotropica (uniforme in tutte le direzioni).

Allineamento: le mappe di FA di ciascun soggetto vengono allineate in uno spazio standard (tipicamente lo spazio MNI – Montreal Neurological Institute), questo passaggio è essenziale per assicurare che le immagini di tutti i soggetti siano ben allineate, minimizzando la variabilità anatomica tra individui.

Creazione dello scheletro medio della sostanza bianca: viene estratto uno scheletro medio della sostanza bianca da tutte le mappe di FA allineate. Lo scheletro rappresenta le parti centrali delle principali fibre di sostanza bianca comuni a tutti i soggetti, ovvero le regioni dove la FA è massima.

Proiezione dei dati FA sullo scheletro: per ogni soggetto, le sue mappe di FA vengono "proiettate" sullo scheletro medio. Ciò significa che, per ogni punto dello scheletro, viene presa la FA massima lungo la direzione perpendicolare al fascio, per garantire che i valori più rappresentativi della sostanza bianca siano utilizzati per l'analisi.

Analisi statistica voxel-wise: a questo viene eseguita un'analisi statistica voxel-wise. Si utilizza il GLM (*General Linear Model*) per esaminare le differenze tra gruppi (ad esempio, giovani vs anziani) o correlazioni con variabili di interesse (come età, punteggi cognitivi, ecc.).

Interpretazione dei risultati: le mappe risultanti dall'analisi statistica mostrano le aree della sostanza bianca in cui ci sono differenze significative di FA tra i gruppi, queste differenze possono essere interpretate come cambiamenti microstrutturali della sostanza bianca legati a patologie, invecchiamento, sviluppo o altri fattori.

- Risonanza Magnetica Funzionale allo stato di riposo

La risonanza magnetica funzionale è uno strumento non invasivo utile per studiare le funzioni cerebrali e la loro organizzazione in termini di lateralizzazione e localizzazione. Negli ultimi anni, le tecniche di risonanza sono state ampiamente usate, in particolare, la ricerca si è concentrata sullo studio del cervello in stato di riposo, focalizzandosi sull'attività assente di stimoli sensoriali o cognitivi provenienti dall'esterno (Smitha et al.;2017).

La risonanza magnetica funzionale allo stato di riposo è una tecnica che non richiede la partecipazione attiva del soggetto, è quindi facilmente implementabile all'interno di un protocollo di acquisizione di immagini di risonanza. È stato scoperto che i segnali in stato di riposo sono fluttuazioni a bassa frequenza costanti nell'intervallo di 0.01-0.08Hz. Il cervello umano è infatti operativo anche durante lo stato di riposo o rilassamento (Biswal BB.,2012; Raichle et al.;2006).

Per riassumere le principali caratteristiche e i principi su cui si basa la risonanza magnetica allo stato di riposo, ritengo che possa essere utile al lettore la tabella che segue (Smitha et al.;2017):

rfMRI (risonanza magnetica a riposo)
Analisi del segnale BOLD spontaneo in assenza di compiti espliciti o input.
Il 60-80% dell'energia cerebrale viene consumata durante lo stato di riposo
In termini di funzione cerebrale complessiva, l'attività cerebrale a riposo è molto più significativa rispetto all'attività legata ai compiti.
I segnali scartati come rumore nella fMRI basata su compiti sono considerati segnali nella rs-fMRI poiché sono fluttuazioni spontanee a bassa frequenza del segnale BOLD.
La rs-fMRI ha un rapporto segnale-rumore (SNR) migliorato poiché considera le fluttuazioni spontanee complessive a bassa frequenza.
Non è necessario un numero maggiore di prove come nella fMRI basata su compiti.
I pazienti pediatrici, i pazienti con basso QI e persino i pazienti in stato vegetativo e di coma possono fare la rs-fMRI.
Anche se vengono effettuate diverse sessioni, grazie all'assenza di compiti, si possono evitare le confusioni e le incertezze legate ai compiti che si affrontano nella fMRI basata su compiti.
Nella rs-fMRI, i dati acquisiti possono essere utilizzati per analizzare una o più funzioni.

Tab.2.1 - Principali caratteristiche della risonanza allo stato di riposo (Smitha et al.;2017).

Il segnale BOLD (Blood Oxygenation Level Dependent), rappresenta il segnale che viene estratto dalla risonanza magnetica funzionale (fMRI), sia che questa sia basata sui compiti che quella a riposo. Il contrasto BOLD dipende interamente dai livelli di ossigeno nel sangue (Ogawa et al.;1998), e nel caso della risonanza magnetica funzionale allo stato di riposo aumenta in base a fluttuazioni spontanee a bassa frequenza. I distretti cerebrali che in un certo momento sono attivi richiedono ossigeno e glucosio, l'ossigeno in particolare viene trasportato da una proteina presente nel sangue: l'emoglobina, quando questa si lega all'ossigeno diventa ossiemoglobina con effetto diamagnetico, quando invece è isolata dall'ossigeno diventa deossiemoglobina con effetto paramagnetico. I voxel con una bassa concentrazione di deossiemoglobina aumentano il segnale BOLD, quelli con un'alta concentrazione lo diminuiscono (Ogawa et al.;1998).

La connettività funzionale va oltre a quella anatomica che possiamo indagare con tecniche di risonanza magnetica di diffusione. Studiare questo tipo di connettività significa concentrarsi sulle connessioni esistenti tra aree cerebrali in correlazione allo scorrere del tempo lineare. La tecnica di analisi di connettività funzionale utilizzata in questo studio è l'analisi delle componenti indipendenti (ICA) cui segue un'analisi di Dual Regression.

Independent Component Analysis (ICA) e Dual Regression:

L'analisi delle componenti indipendenti (ICA) è una tecnica utilizzata per analizzare le immagini di risonanza magnetica funzionale in stato di riposo al fine di identificare networks cerebrali funzionali. Il vantaggio principale di questo approccio risiede nel fatto che non richiede ipotesi a priori sui networks da analizzare (data-driven).

La *Dual Regression* è una procedura utilizzata *dopo* la ICA che ci consente di personalizzare l'analisi dei networks per ciascun soggetto e di confrontare le differenze di connettività funzionale tra gruppi, rendendola uno strumento potente per studi neuropsicologici, come la ricerca sulle malattie neurodegenerative, disturbi psichiatrici o l'invecchiamento cerebrale.

Introduciamo brevemente entrambe le procedure.

Independent Component Analysis (ICA): Questa tecnica è specificamente utilizzata per identificare e separare le reti funzionali cerebrali che mostrano fluttuazioni a bassa frequenza (<0.1 Hz) durante il riposo. Queste fluttuazioni emergono da aree anatomiche spazialmente separate ma funzionalmente collegate.

L'ICA ha la funzione di selezionare il segnale di interesse e separare da questo gli artefatti che vengono normalmente e costantemente raccolti con protocolli di rfMRI, in

particolare, faciliterebbe l'estrazione efficace di reti distinte utilizzando algoritmi matematici per decomporre il segnale dei voxel cerebrali in componenti spazialmente e temporalmente indipendenti. Descrive le caratteristiche temporali e spaziali delle componenti o reti nascoste sottostanti e indaga molteplici interazioni simultanee voxel a voxel di reti distinte nel cervello. (Smitha et al.;2017).

Prima dell'applicazione di questa tecnica occorre pre-processare le immagini funzionali: correggere il movimento del soggetto, normalizzare le immagini nello spazio standard, effettuare uno smussamento spaziale, filtrare i segnali per eliminare il rumore.

Una volta portati a termine questi step, viene fatta l'ICA con l'obiettivo di scomporre i dati di risonanza magnetica funzionale 4D in un insieme di componenti indipendenti, ognuno dei quali rappresenta un network funzionale del cervello. Ogni componente ha una mappa *spaziale* (che indica le regioni cerebrali coinvolte nel network) e una serie *temporale* (che rappresenta l'attività temporale del network). Le componenti sono identificate in modo da essere statisticamente indipendenti tra loro. Le componenti identificate dall'analisi includono sia segnali neurali che artefatti, una parte importante del processo ICA consiste nel selezionare le componenti rilevanti che rappresentano i networks funzionali, escludendo quelle non correlate all'attività cerebrale.

Le analisi condotte hanno identificato diverse reti funzionali nel gruppo selezionato, ognuna con funzioni specifiche e topologie spaziali variabili, i risultati verranno presentati e discussi nel capitolo successivo.

Dual Regression: è una procedura utilizzata per esaminare come questi networks si esprimano a livello di singolo soggetto, e per confrontare le differenze nei networks tra

gruppi (ad esempio, tra giovani e anziani). Il nome: *Dual Regression*, suggerisce come durante questa procedura vengano effettuate due analisi di regressione:

1. Prima regressione: *Estrazione delle serie temporali soggetto-specifiche*, Si utilizzano le mappe spaziali ottenute dall'ICA per ogni componente indipendente come "modello" per il singolo soggetto. Per ciascun soggetto, viene effettuata una regressione dei dati fMRI del soggetto utilizzando le mappe ICA di gruppo. L'obiettivo è determinare come i networks individuati dall'ICA di gruppo si manifestano temporalmente nel singolo soggetto.
2. Seconda regressione: *Estrazione delle mappe spaziali soggetto-specifiche*. Le serie ottenute dalla prima regressione vengono utilizzate per eseguire una seconda regressione sui dati fMRI del soggetto. Questo passaggio permette di mappare a livello di ogni soggetto dove e con quale intensità si manifestano i networks funzionali identificati dall'ICA.

Confronto statistico tra gruppi: Le mappe spaziali soggetto-specifiche generate dal secondo passo della regressione vengono utilizzate per effettuare confronti statistici tra gruppi di soggetti (ad esempio, giovani vs anziani). Questo può essere fatto utilizzando modelli statistici lineari (GLM) e applicando correzioni per i confronti multipli. Si possono esplorare differenze nella connettività funzionale tra i gruppi, identificando potenziali cambiamenti nei networks cerebrali associati a malattie, età o altre variabili cliniche.

Capitolo 3 – RISULTATI

L'obiettivo principale di questo studio è stato quello di esplorare, attraverso immagini di risonanza magnetica strutturale e funzionale allo stato di riposo, i cambiamenti che si possono osservare tra un gruppo di giovani e un gruppo di anziani sani, con particolare attenzione alla correlazione tra immagini di risonanza magnetica funzionale allo stato di riposo e performance al test di Stroop.

In questo capitolo verranno presentati i risultati relativi alle performance ottenute ai test neuropsicologici dai due gruppi di partecipanti, alle analisi comparative tra i due gruppi effettuate sulle immagini strutturali, i networks comuni trovati nei due gruppi e le differenze osservate nei networks funzionali allo stato di riposo in correlazione alle performance allo Stroop test e non. A fine capitolo viene proposto un ulteriore confronto tra i due gruppi correggendo le analisi per il Trail Making Test part A, seguendo il razionale riportato nel capitolo due di questo elaborato. I dati sono stati raccolti tramite somministrazione di test neuropsicologici di comune utilizzo nella pratica clinica e risonanza magnetica, sono stati successivamente analizzati utilizzando metodi statistici con il supporto di programmi quali Excel per le analisi sui dati socio demografici e neuropsicologici, e programmi come FSL (FMRIB Software Library) per le analisi sulle immagini di risonanza.

3.1 Partecipanti

I partecipanti al presente studio sono stati suddivisi in due gruppi distinti in base all'età: il gruppo dei "Giovani", composto da individui di età compresa tra i 20 e i 50 anni ($N=46$; età media= 32.67; deviazione standard (DS)= ± 7.34), e il gruppo degli "Anziani", formato da soggetti di età compresa tra i 60 e i 90 anni ($N=44$; età media= 70.11; DS= ± 4.06). Questa distinzione è stata operata al fine di esplorare le differenze cognitive che potrebbero emergere tra le due fasce d'età, con particolare attenzione ai processi di invecchiamento cognitivo.

I risultati ottenuti ai test neuropsicologici di interesse, in particolare il MMSE (Mini Mental State Examination), confermano che tutti i partecipanti godono di un buon funzionamento cognitivo globale.

Tuttavia, le prestazioni ottenute nei test di Stroop e nel Trail Making Test parte A (TMT-A) hanno rivelato una differenza significativa nei punteggi tra il gruppo dei giovani e quello degli anziani. In particolare, i risultati suggeriscono l'esistenza di un declino delle performance cognitive nei partecipanti più anziani, principalmente in compiti legati all'attenzione e alla velocità di elaborazione delle informazioni. Questo declino, come previsto, risulta essere in linea con quanto descritto nella letteratura scientifica sull'invecchiamento cognitivo, già trattato nel primo capitolo. L'invecchiamento, infatti, è spesso associato a una diminuzione della velocità di esecuzione e a una maggiore difficoltà nell'inibire le risposte automatiche, come evidenziato dal test di Stroop.

Per quanto riguarda le analisi statistiche, queste sono state condotte utilizzando il software Excel (pacchetto Office), scelto per la sua versatilità nell'analisi dei dati. Le

variabili continue, come l'età, gli anni di scolarità, la manualità, il punteggio MMSE, i risultati del TMT-A e dello Stroop, sono state analizzate utilizzando il test t per campioni indipendenti (two independent sample t test), calcolando per ciascuna variabile il valore di p (*p-value*) per verificare la significatività delle differenze tra i due gruppi. Le variabili dicotomiche, come il genere, sono state invece analizzate mediante il test del chi quadrato, uno strumento particolarmente utile per valutare eventuali associazioni tra variabili categoriche. Infine, le caratteristiche socio-demografiche dei partecipanti e le statistiche descrittive relative ai punteggi ottenuti nei vari test neuropsicologici per entrambi i gruppi sono state sintetizzate e riportate nella tabella seguente (tabella 3.1), che fornisce una visione d'insieme completa dei dati raccolti e delle differenze osservate tra i due campioni.

	Giovani N=46	Anziani N=44	<i>p-value</i>
Socio demografica			
Età	32.67 (±7.34)	70.11 (±5.48)	0.0001
Anni di scolarità	17.17 (±2.89)	15.39 (±4.06)	0.02
Genere (M/F)	19/27	20/24	0.58
Manualità	0.69 (±0.45)	0.75 (±0.49)	0.57
Neuropsicologia			
MMSE	30 (±0)	29.66 (±0.53)	0.0001
TMT-A (s)	22.23 (±7.97)	40.34 (±15.61)	0.0001
STROOP (s)	10.95 (±4.71)	22.71 (±8.18)	0.0001
(effetto interferenza)			

Tab. 3.1 - Dati socio-demografici e risultati ai test neuropsicologici, la manualità è stata misurata con l'Edinburgh Handedness Inventory (Oldfield, 1970).

3.2 Risonanza magnetica strutturale e DTI

Dal confronto effettuato tra immagini di risonanza di giovani e quelle degli anziani (fig. 3.1), vediamo chiaramente come l'invecchiamento influenzi sia la materia grigia che la materia bianca, con un declino generalizzato della densità della materia grigia e una compromissione dell'integrità della materia bianca nelle persone anziane rispetto ai giovani.

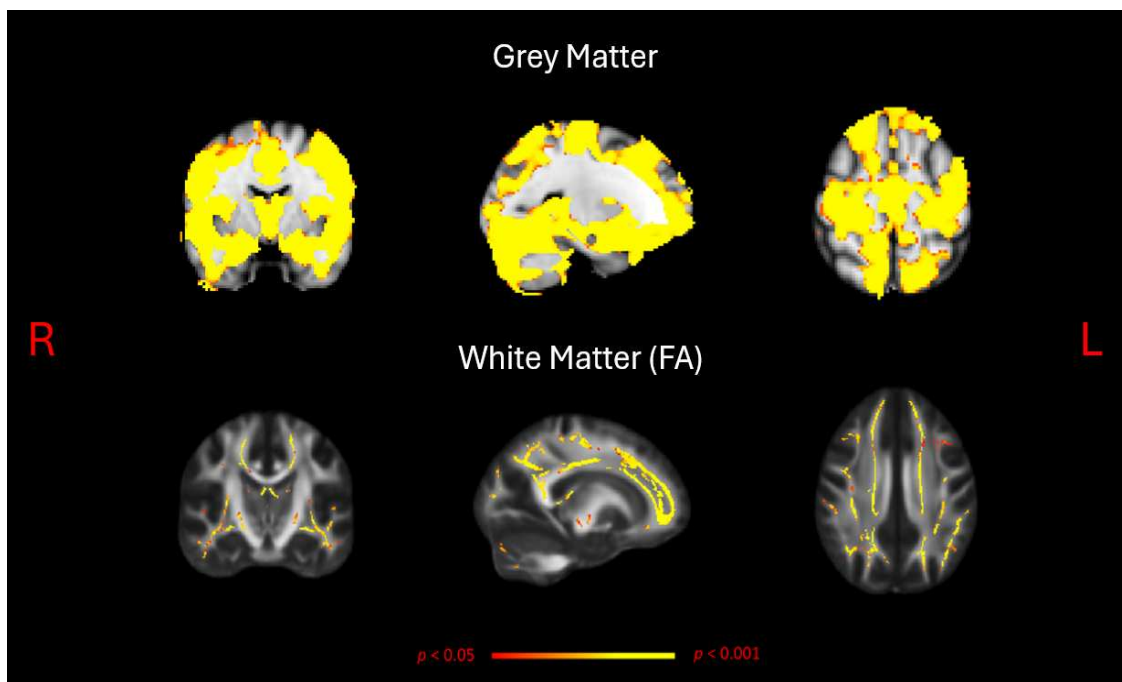


Fig. 3.1- L'immagine rappresenta i risultati del confronto, focalizzato sulla materia grigia e la materia bianca del cervello, tra immagini di risonanza magnetica strutturale tra il gruppo di giovani e quello degli anziani. Viene utilizzata una mappa statistica a colori per evidenziare le differenze significative tra i due gruppi, con una codifica cromatica che va dal giallo al rosso, dove il giallo indica livelli di significatività più elevati ($p < 0.001$) e il rosso livelli di significatività più bassi ($p < 0.05$).

I risultati ottenuti dal confronto delle immagini di risonanza magnetica tra i due gruppi mostrano risultati coerenti con quelle che sono le numerose evidenze in letteratura già analizzate nel primo capitolo di questo elaborato.

Materia Grigia (Gray Matter)

Le tre immagini nella parte superiore della figura (fig. 3.1) rappresentano le sezioni del cervello: coronale, sagittale e assiale; tutte e tre mostrano variazioni nella densità o nel volume della materia grigia, è infatti possibile osservare un declino generalizzato della materia grigia a livello cerebrale, che si manifesta attraverso una riduzione visibile nelle diverse regioni del cervello. Questo declino è particolarmente evidente negli anziani rispetto ai giovani, e riflette una perdita progressiva della densità neuronale con l'avanzare dell'età. L'aumento dell'atrofia è maggiormente osservabile in quelle che sono le aree prefrontali della corteccia (Harada,2013).

Come atteso, la corteccia cerebrale, che costituisce una parte significativa della materia grigia, tende a ridursi con l'invecchiamento, influenzando negativamente le funzioni cognitive e comportamentali. Questo fenomeno è rappresentato nelle immagini in alto, dove le aree colorate indicano un deterioramento più marcato in specifiche regioni corticali e sottocorticali, confermando che l'invecchiamento comporta una perdita di volume cerebrale diffusa in aree come il cingolo anteriore, il precuneo, i giri frontali superiore, medio e inferiore, il giro sopramarginale, la corteccia dell'insula, le regioni temporali, parietali e occipitali lateralmente. Le aree sottocorticali, come il caudato, il talamo e l'ippocampo, mostrano una riduzione della materia grigia legata all'età. Non si osservano particolari regioni cerebrali in cui i soggetti più anziani presentassero un volume di densità della materia grigia maggiore rispetto ai partecipanti più giovani.

Materia Bianca (White Matter)

Nella parte inferiore dell'immagine (fig.3.1), vediamo invece i risultati di un confronto tra immagini di Diffusion Tensor Imaging (DTI), una tecnica di risonanza magnetica che permette di valutare la materia bianca, che costituisce le connessioni tra diverse aree del cervello, in particolare viene confrontata quella che è l'integrità delle fibre della sostanza bianca (FA).

In questo caso, si osserva una diminuzione dell'integrità della materia bianca negli anziani rispetto ai giovani, evidenziata da una riduzione dell'anisotropia frazionaria (FA, dall'inglese *Fractional Anisotropy*). La materia bianca è costituita da fasci di fibre nervose mielinizzate, che sono responsabili della trasmissione rapida e efficiente dei segnali tra neuroni e regioni cerebrali distanti. Con l'avanzare dell'età, queste connessioni diventano meno forti e più lente, un fenomeno che si riflette nella compromissione della connettività cerebrale.

Il declino della materia bianca appare generalizzato, con un coinvolgimento di diverse vie di comunicazione cerebrali, come il corpo calloso e altri fasci principali, contribuendo a una ridotta capacità di integrazione e coordinazione delle informazioni nel cervello anziano.

Queste alterazioni strutturali sia nella materia grigia che nella materia bianca evidenziano il naturale processo di invecchiamento cerebrale e spiegano, almeno in parte, il declino cognitivo associato all'età, come una diminuzione delle capacità cognitive complesse e un rallentamento della velocità di elaborazione delle informazioni.

3.3 Risonanza magnetica funzionale a riposo

Le analisi condotte sulle immagini di risonanza magnetica in stato di riposo hanno seguito i seguenti step principali:

- Identificazione dei networks funzionali nel campione;
- Confronto nei networks funzionali tra i due gruppi;
- Confronto tra i networks funzionali in correlazione alle performance al test di Stroop;
- Confronto tra i networks funzionali in correlazione alle performance al test di Stroop, corretto in base ai risultati ottenuti al TMT-A.

Ogni sezione sarà discussa in dettaglio, con l'ausilio di immagini, grafici esplicativi e commenti critici sui risultati.

Networks funzionali nel campione

Attraverso un'analisi condotta con il metodo ICA (*Independent Component Analysis*), all'interno del nostro campione (N=90) sono stati identificati undici networks funzionali. Questi networks, emersi dalla separazione statistica delle componenti funzionali indipendenti, rappresentano le connessioni neurali a riposo presenti nel cervello. La figura seguente (fig. 3.2) riporta una visualizzazione dettagliata dei risultati ottenuti.

I networks individuati nel campione di riferimento sono stati i seguenti: *Auditory Network*, *Cerebellum Network*, *Dorsal Attention Network*, *Default Mode Network*, *Executive Function Network*, *Language Network*, *Left / Right Frontal Parietal Network*, *Motor network*, *Medial / Lateral Visual network*.

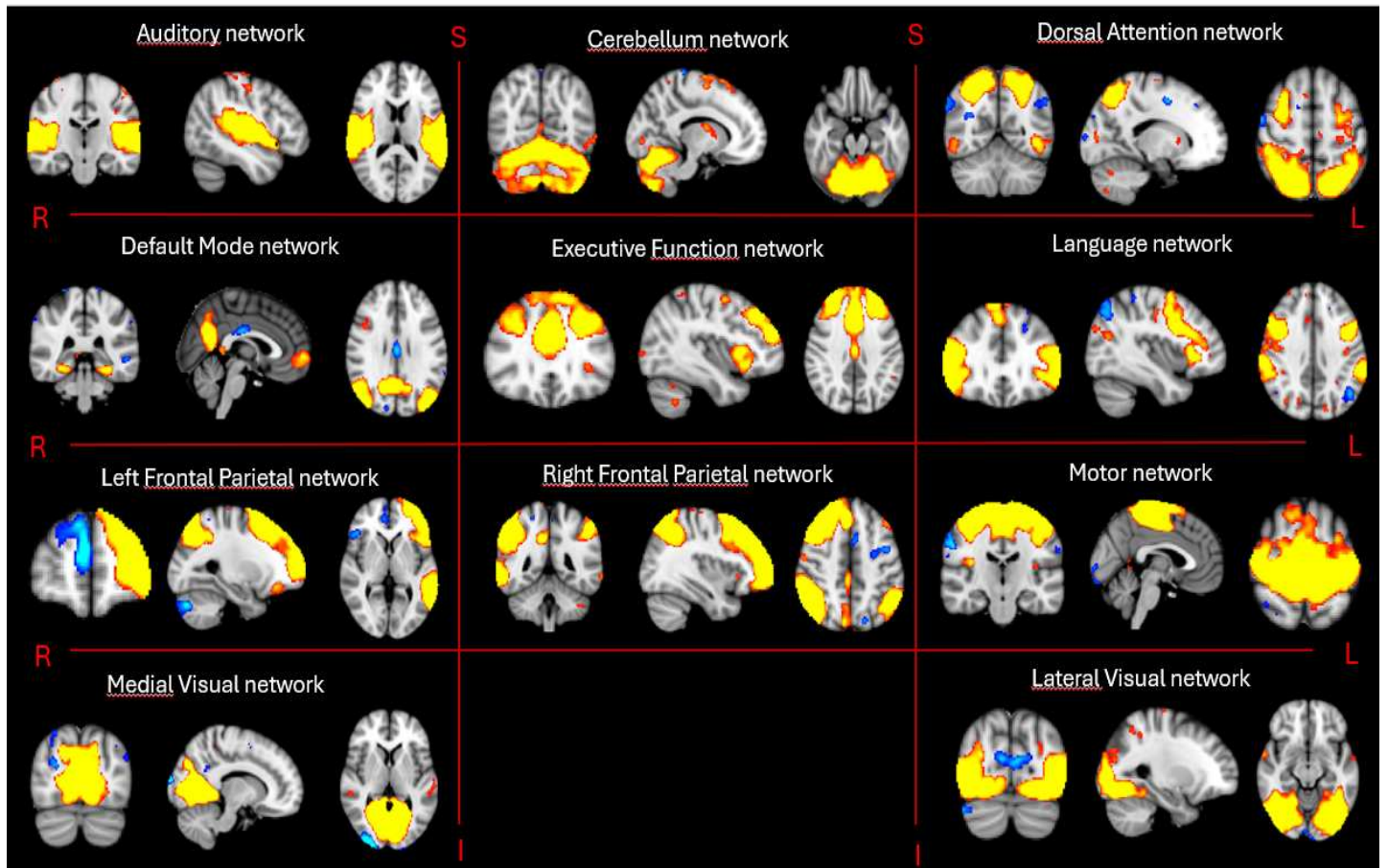


Fig.- 3.2 Networks funzionali trovati all'interno del campione attraverso analisi ICA, visione coronale, sagittale e assiale, delle mappe spaziali delle fluttuazioni a bassa frequenza a resting state di un gruppo di 90 soggetti. Il colore rosso indica le aree del cervello in cui la fluttuazione del segnale BOLD è simile nel tempo (correlato), mentre il colore blu indica quelle regioni in cui il cambiamento del segnale BOLD ha un andamento simile a quello rosso, ma di segno opposto (anticorrelato). In entrambi i casi, il livello di significatività statistica è $p < 0.05$, corretto per confronti multipli.

Nell'ordine:

Auditory Network, supporta il processo uditivo e include regioni al di là delle cortecce uditive primarie (Seitzman et al.;2019), comprende aree quali: cortecce uditive, planum temporale, giro temporale laterale superiore, giro di Heschl, corteccia dell'insula posteriore (Beckmann et al.;2005; De Luca et al.;2006).

Cerebellum Network, comprende aree posteriori come il cervelletto e zone vicine al solco centrale.

Dorsal Attention Network, guida processi top-down e processi attentivi diretti ad uno scopo, lesioni a questo portano al Neglect (Seitzman et al.;2019), è composto dai giri adiacenti al solco intraparietale, da aree corticali temporo mediali, e sia dal campo visivo frontale che da quello oculare secondario (Seitzman et al.;2019).

Default Mode Network, molto attivo allo stato di riposo, inattivo durante compiti che hanno uno scopo (Seitzman et al.;2019); comprende aree di attivazione quali le aree prefrontali, il cingolo anteriore e posteriore, il giro temporale laterale parietale, il giro temporale medio ed inferiore, le aree cerebellari, i nuclei del talamo e regioni temporo mediali (Beckmann et al.;2005; De Luca et al.;2006).

Executive Function Network, comprende aree di attivazione quali la corteccia prefrontale superiore e media, il giro cingolato anteriore e il giro paracingolato, la corteccia prefrontale ventrolaterale (Beckmann et al.;2005; De Luca et al.;2006).

Language Network, questo network comprende diverse regioni cerebrali coinvolte nei processi linguistici: il giro frontale inferiore, la parte triangolare e l'opercolare; il giro temporale superiore posteriore; e il giro temporale medio posteriore (Branco et al.;2019).

Left / Right Frontal Parietal Network, guida i processi top down, controlla le azioni dirette ad uno scopo, è un sistema rapido, capace di produrre risposte adattive (Seitzman et al.;2019); fanno parte di questo un insieme di aree cerebrali nella corteccia prefrontale dorsolaterale, nel lobulo parietale inferiore, nella parte centrale del giro temporale medio e in una regione prefrontale dorsomediale anteriore e superiore alla corteccia cingolata anteriore (Seitzman et al.;2019).

Motor Network, comprende aree di attivazione collocate nel giro pre e post centrale, l'attivazione si estende poi anche alle aree motorie supplementari (Beckmann et al.;2005; De Luca et al.;2006).

Medial Visual Network, supporta il processo della visione e comprende le aree visive primarie bilaterali, collocate nella scissura calcarina ed aree mediali del giro linguale. Si osserva un'attivazione anche nei nuclei genicolati laterali del talamo, responsabili della trasmissione delle info visive alle cortecce visive primarie (Beckmann et al.,2005).

Lateral Visual Network, include aree del polo occipitale che si estendono lateralmente verso la giunzione occipito-temporale, a queste si aggiunge un'attivazione di aree nelle regioni parietali superiori (Beckmann et al.,2005).

Confronto nei networks funzionali tra i due gruppi

Dopo aver individuato i networks funzionali all'interno del campione (fig. 3.2), è stata eseguita un'analisi comparativa tra i due gruppi di studio, costituiti da giovani e anziani. Il confronto ha permesso di evidenziare eventuali differenze nelle reti funzionali tra le diverse fasce d'età, offrendo così una comprensione più approfondita delle variazioni neurali legate all'invecchiamento. I risultati dettagliati di questa analisi, che mettono in luce le principali discrepanze o similitudini rilevate tra i due gruppi, sono riportati nella figura successiva (fig. 3.3), dove è possibile apprezzare visivamente le differenze statisticamente significative.

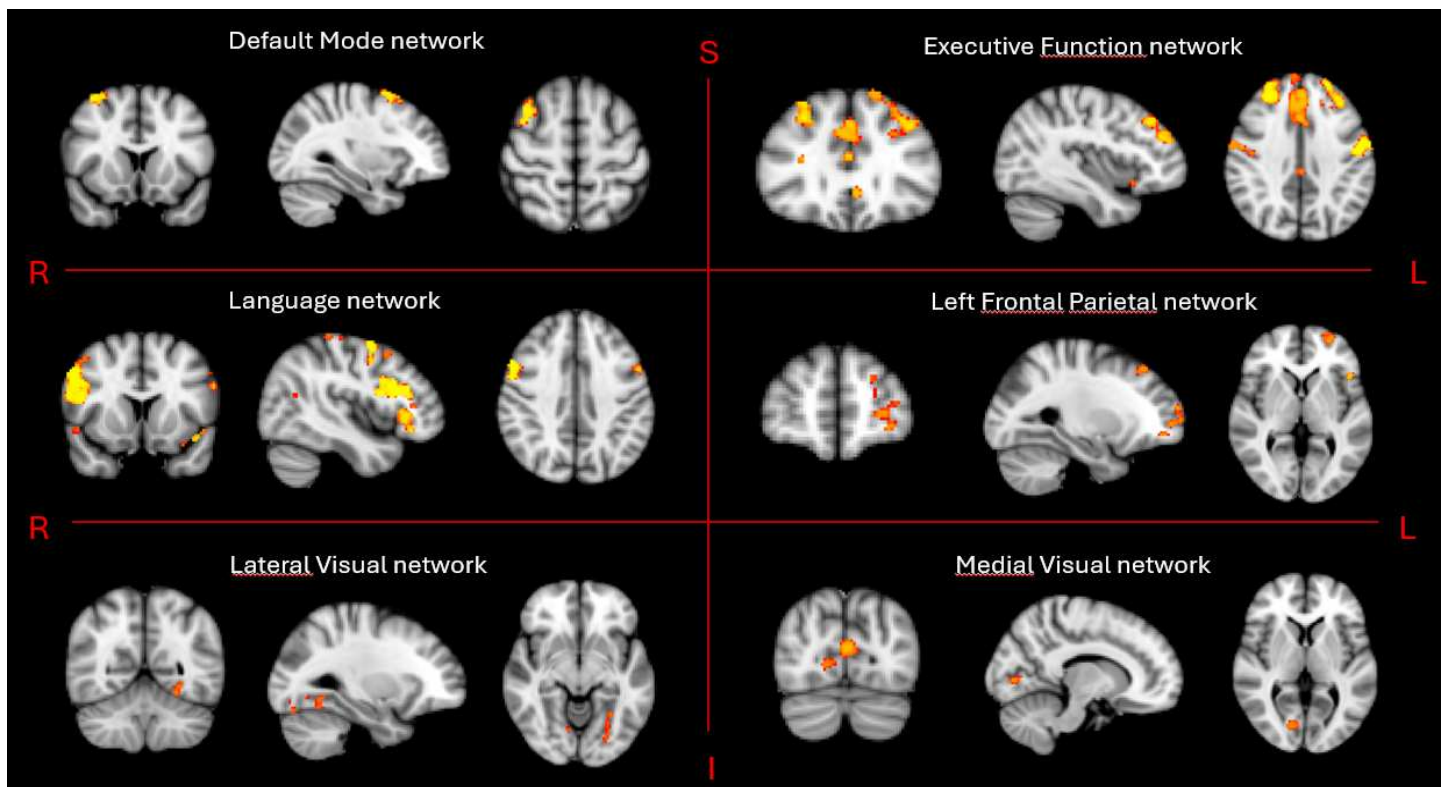


Fig. 3.3- risultati del confronto tra il gruppo di giovani e quello degli anziani, emergono significative differenze nella connettività funzionale cerebrale tra le due fasce d'età. Nello specifico, le aree cerebrali all'interno di uno specifico network, in cui gli anziani

mostrano una ridotta connettività rispetto ai giovani sono rappresentate nelle immagini con colori che variano dal giallo al rosso, a indicare una diminuzione di connettività funzionale statisticamente significativa ($p < .05$).

Differenze significative nella connettività funzionale tra giovani e anziani sono state trovate nei seguenti networks: *Default Mode Network*, *Executive Function Network*, *Language Network*, *Left Frontal Parietal Network*, *Lateral Visual Network*, *Medial Visual Network*.

I risultati ottenuti nello studio risultano essere coerenti con quanto riportato nella letteratura scientifica (si veda il Capitolo 1 per ulteriori dettagli). È ampiamente riconosciuto che, durante il processo di invecchiamento, il cervello vada incontro a una complessa riorganizzazione funzionale, riorganizzazione che è stata studiata e documentata attraverso l'uso di avanzate tecniche di neuroimaging, in particolare la risonanza magnetica funzionale (fMRI), sia durante lo svolgimento di compiti specifici che in condizioni di riposo. Nel Capitolo 1 sono state approfondite le principali teorie relative all'invecchiamento cerebrale, che offrono una cornice teorica utile per comprendere questi fenomeni.

Tuttavia, quando si analizzano le differenze legate all'età nella connettività funzionale del cervello a riposo, i risultati degli studi presenti in letteratura sono spesso eterogenei e talvolta contraddittori a causa delle differenze nei metodi di analisi, nelle reti studiate o nelle caratteristiche del campione tra gli studi. Per commentare i risultati ottenuti dalle analisi svolte, viene presa in considerazione una metanalisi recente (2021) di Jockwitz e colleghi.

Le analisi condotte hanno rivelato che il *Default Mode Network (DMN)* presenta una connettività funzionale significativamente ridotta nella popolazione anziana rispetto ai soggetti adulti che fanno parte del gruppo “giovani”.

Il DMN, una rete cerebrale cruciale per molte funzioni cognitive, tra cui la memoria autobiografica, la riflessione sul sé e la pianificazione futura, è una delle aree più intensamente studiate in relazione agli effetti dell'invecchiamento sul cervello. La connettività di questa rete è particolarmente sensibile ai cambiamenti legati all'età, ed è stata oggetto di numerose ricerche per comprendere come l'invecchiamento influisca sulle dinamiche funzionali cerebrali.

Dai dati presenti in letteratura e dai risultati emersi nelle nostre analisi, si osserva un consenso crescente sul fatto che il Default Mode Network subisca una progressiva riduzione della connettività funzionale nel corso della vita adulta, con un declino che appare evidente dall'inizio alla fine dell'età adulta (Jockwitz et al.;2021). Emerge che all'interno della popolazione adulta più anziana questa rimane relativamente stabile (nel contesto dell'invecchiamento normale), solo le parti anteriori subirebbero un ulteriore deterioramento, per età più avanzate, la variabilità tra soggetti ostacola l'estrazione di quelli che sono i cambiamenti principali. Nelle età più avanzate, gli stati patologici, come ad esempio l'Alzheimer, sembrano essere di particolare importanza (Sheline et al.;2013).

Nel caso dell'indagine qui condotta osserviamo che il DMN mostra una ridotta connettività funzionale particolarmente evidente a livello del lobo frontale destro.

Per quanto riguarda lo studio dei cambiamenti nelle reti di ordine superiore come *Executive Function Network* e *Left Frontal Parietal Network*, le evidenze risultano essere fra loro eterogenee e sfaccettate. Alla luce delle numerose evidenze (vedi

metanalisi di Jockwitz, 2020) è possibile però affermare che la connettività funzionale all'interno delle reti, in particolar modo nelle reti di ordine superiore, tende a diminuire con l'aumentare dell'età.

Nel caso delle analisi qui condotte osserviamo che l' *Executive Function Network* presenta una ridotta connettività funzionale a livello frontale bilaterale e a livello parietale nei soggetti anziani rispetto a quelli giovani. Il *Left Frontal Parietal Network* invece mostrerebbe una ridotta connettività funzionale localizzata a livello del lobo frontale sinistro.

Anche nel caso dello studio delle reti di elaborazione primaria, i risultati degli studi sono eterogenei anche a causa della variabilità individuale nella senilità e dei deficit cognitivi ad essa connessi.

Nel caso delle analisi condotte sui networks di elaborazione primaria come il *Lateral Visual Network* e il *Medial Visual Network*, si osserva una possibile riduzione di connettività a livello occipitale associata al processo di invecchiamento.

In conclusione, i dati raccolti e quelli presenti in letteratura indicano che, con il progredire dell'età, si assiste a una riduzione della coerenza funzionale all'interno dei networks cerebrali. Questo declino nella connettività intra-rete è particolarmente rilevante per i networks funzionali specifici, come il Default Mode Network (DMN), che svolgono un ruolo cruciale in vari processi cognitivi.

Tale processo di dedifferenziazione, descritto in dettaglio nel Capitolo 1, contribuisce a spiegare come il cervello cambi la sua organizzazione funzionale con l'avanzare dell'età. In altre parole, le reti che in età giovanile operano in modo relativamente indipendente,

diventano più collegate tra loro con il passare degli anni, probabilmente a causa di una diminuzione dell'efficienza dei processi neurali.

Questo fenomeno potrebbe rappresentare un meccanismo che il cervello adotta per far fronte alla riduzione delle risorse cognitive disponibili, cercando di sfruttare una cooperazione più estesa tra diverse aree funzionali.

Confronto tra i networks funzionali in correlazione alle performance al test di Stroop

In queste analisi sono state esaminate le differenze tra i networks cerebrali del gruppo di giovani e quello degli anziani, correlando tali differenze con le performance ottenute nel test di Stroop.

In particolare, è stato preso in considerazione l'effetto interferenza, secondo cui punteggi più bassi indicano una maggiore capacità di inibire risposte automatiche, e quindi una migliore prestazione cognitiva. Questo effetto è cruciale poiché misura l'abilità di controllo cognitivo e le capacità di inibire una risposta automatica, abilità che possono variare significativamente tra individui di diverse età.

A seguire viene illustrato lo schema del disegno sperimentale adottato (fig. 3.4). Un aspetto importante da sottolineare riguarda l'uso della variabile 'educazione' come fattore di correzione in quanto i due gruppi risultavano significativamente diversi.

Correggere per il livello di scolarità significa tenere conto delle differenze nel livello di istruzione dei partecipanti, al fine di isolare l'influenza di tale variabile sui risultati. La scolarità può infatti avere un impatto significativo sulle performance cognitive, in quanto un'istruzione più elevata è spesso associata a migliori abilità cognitive. Utilizzando la scolarità come variabile di controllo, si garantisce che le differenze osservate nelle prestazioni tra giovani e anziani siano effettivamente attribuibili all'età o alle differenze nei networks cerebrali, piuttosto che a dissimili livelli educativi.

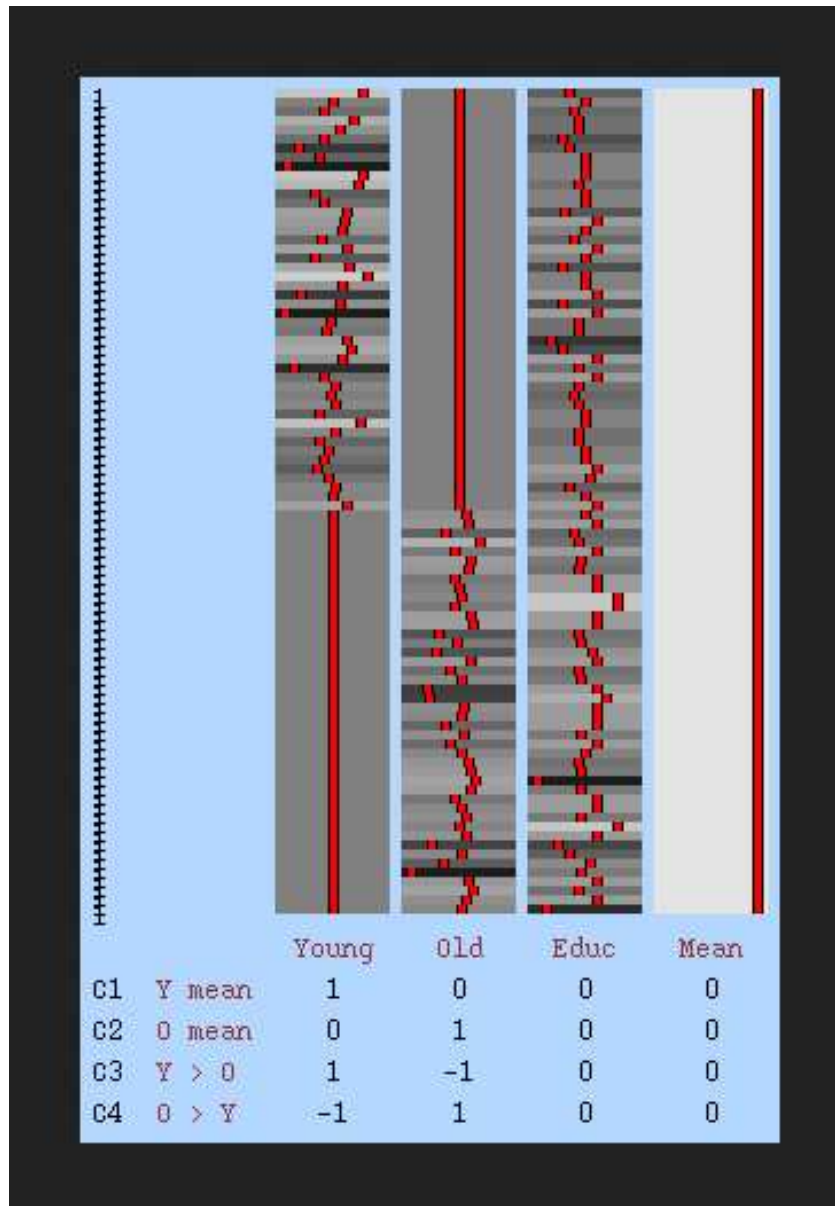


Fig. 3.4- Disegno sperimentale delle analisi svolte per confrontare i networks funzionali in correlazione alle performance ottenute al test di Stroop dal campione.

Sono state esaminate le differenze nella connettività funzionale correlata alle performance nel test di Stroop tra soggetti anziani e giovani, l'obiettivo era identificare come e dove queste connessioni cerebrali, misurate attraverso la connettività funzionale, si associano alle prestazioni cognitive nei due gruppi.

Nello specifico, abbiamo osservato che le slopes delle correlazioni tra connettività funzionale e prestazioni al test di Stroop differiscono tra giovani e anziani in tre principali networks cerebrali (fig. 3.5). Le differenze nelle slopes di correlazione tra connettività funzionale e prestazione possono quindi essere interpretate come indice di cambiamenti specifici nei networks cerebrali associati all'età, fornendo un quadro più dettagliato dei meccanismi neurali alla base del declino cognitivo in età avanzata.

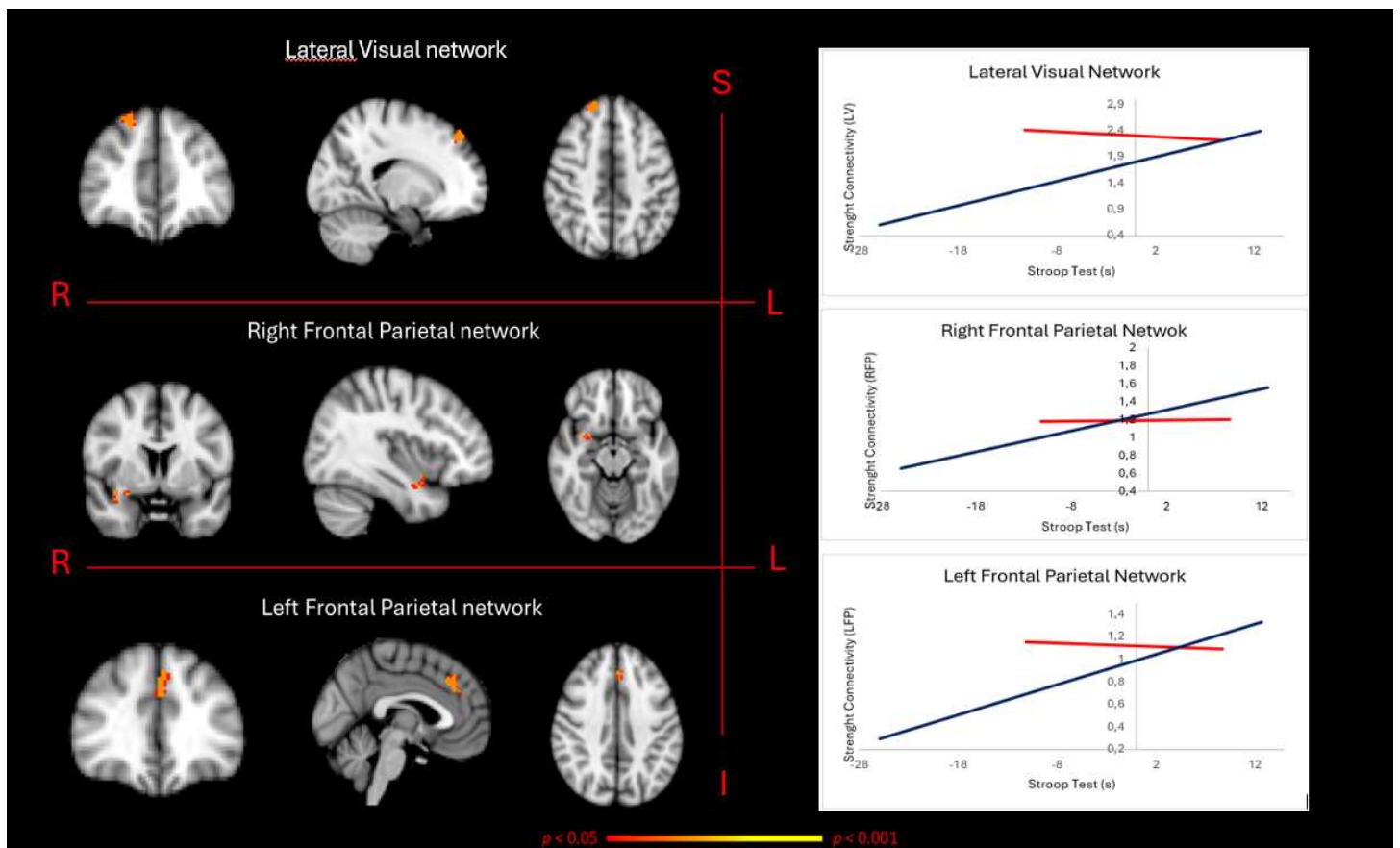


Fig. 3.5- Le immagini mostrano le differenze di gruppo nelle correlazioni voxel-wise tra il punteggio in secondi relativo all'effetto interferenza del test di Stroop (Stroop test) e le immagini di risonanza magnetica funzionale a riposo (rfMRI). A destra: Tutte le immagini visualizzate riportano risultati con una soglia di significatività statistica pari a $p < .001$ e un cluster minimo di 50 voxel, sebbene i risultati non siano stati corretti per

confronti multipli. In queste immagini, si possono osservare le regioni cerebrali in cui la correlazione tra connettività funzionale e prestazioni cognitive (misurate con il test di Stroop) è diversa tra i due gruppi. L'emisfero destro è indicato con la lettera 'R' e l'emisfero sinistro con la lettera 'L', come consuetudine. A sinistra: I grafici a dispersione mostrano la relazione tra la forza di connessione all'interno del network cerebrale (Strength Connectivity intra network, sull'asse delle ordinate) e i punteggi ottenuti al test di Stroop espressi in secondi (Stroop test, sull'asse delle ascisse). Le linee blu rappresentano i partecipanti anziani, mentre le linee rosse rappresentano i partecipanti più giovani. Poiché nel test di Stroop punteggi più bassi (tempi di risposta più brevi) indicano una migliore performance, questo grafico consente di visualizzare chiaramente la distribuzione delle prestazioni in base alla connettività funzionale nei due gruppi. I punteggi al test di Stroop sono stati riportati come valori 'demeaned', ovvero dati che sono stati centrati attorno alla media, per ogni partecipante è stato sottratto il valore medio del campione per normalizzare i risultati. Tale trasformazione consente una migliore rappresentazione grafica dei dati, rendendo più evidenti le differenze tra i gruppi, è infatti possibile ottenere una visualizzazione più chiara e comparabile dei risultati tra giovani e anziani, evidenziando in maniera efficace l'influenza dell'età sulla connettività funzionale e sulle capacità cognitive misurate con il test di Stroop.

I risultati ottenuti indicano una possibile associazione significativa tra i punteggi ottenuti al test di Stroop e la forza della connettività funzionale all'interno di tre network cerebrali, con differenze evidenti tra il gruppo di giovani e quello di anziani. In particolare, l'associazione si manifesta nei seguenti networks: *Lateral Visual Network*, *Left Frontal Parietal Network* e *Right Frontal Parietal Network*.

In tutti e tre i casi analizzati, è emerso che, nel gruppo di anziani, una maggiore forza di connettività funzionale di ciascun network esaminato è associata a performance peggiori nei test cognitivi.

Questa correlazione inversa suggerisce che una connettività più forte non sempre corrisponde a un miglior funzionamento cognitivo in età avanzata. Inoltre, si osservano differenze significative nella connettività funzionale tra i gruppi di giovani e anziani, con specifiche alterazioni nei networks coinvolti.

Nello specifico:

- Nel *Lateral Visual Network* (LV), è stata rilevata una diversa connettività funzionale nella regione frontale, in particolare nel *giro frontale superiore destro*. Questa area, pur non appartenendo tradizionalmente al network visivo, sembra essere reclutata nel gruppo di anziani.
- Nel *Right Frontal Parietal Network* (RFP), è stata osservata una variazione della connettività funzionale nella *corteccia dell'insula*, una regione associata a funzioni interocettive e di regolazione emotiva, ma che generalmente non è parte integrante del network fronto-parietale.
- Nel *Left Frontal Parietal Network* (LFP), la connettività funzionale si distingue a livello del *giro cingolato anteriore*, un'area coinvolta nel monitoraggio dei conflitti cognitivi e nell'elaborazione delle emozioni, ma anch'essa estranea alla configurazione tipica del LFP.

In tutti e tre i casi, le regioni identificate non fanno tradizionalmente parte dei networks di riferimento, come illustrato nella figura 3.2.

Questo suggerisce che, con l'avanzare dell'età, non solo si verificano cambiamenti nella forza della connettività all'interno dei networks cognitivi principali, ma vi è anche un reclutamento di aree cerebrali esterne ai networks stessi.

In sintesi, questi risultati indicano che le performance cognitive migliori sembrano essere associate a una diminuzione della forza della connettività funzionale tra networks e regioni cerebrali esterne a questo; ancora una volta, i risultati sembrano sostenere l'ipotesi della dedifferenziazione neurale secondo la quale, con l'avanzare dell'età, il cervello perde la sua specializzazione funzionale e tende a reclutare aree che non fanno parte dei networks tradizionalmente coinvolti in determinati compiti cognitivi. In questo studio, infatti, un aumento della connettività funzionale tra un determinato network ed aree esterne a questo, non è associato a una migliore performance, ma piuttosto a risultati peggiori nei test cognitivi.

Ulteriori analisi:

Secondo il razionale già discusso nel capitolo due, sono state svolte ulteriori analisi aggiungendo i punteggi ottenuti dal campione al Trail Making Test part A (TMT-A) come covariata, considerandoli come una variabile di controllo.

In pratica, l'aggiunta del TMT-A come covariata consente di controllare l'eventuale influenza che la velocità psicomotoria e le abilità cognitive di base (misurate dal TMT-A) potrebbero avere sugli altri risultati di interesse. Questo è utile perché permette di distinguere se i cambiamenti osservati nelle variabili principali siano indipendenti dalla velocità con cui i soggetti eseguono compiti semplici, o se quest'ultima contribuisca in qualche modo alle differenze osservate.

Le analisi condotte includendo i punteggi del TMT-A come covariata suggeriscono che i risultati siano più legati a differenze nell'inibizione cognitiva (misurata attraverso lo Stroop test) piuttosto che a un semplice rallentamento della performance dovuto all'età. In altre parole, l'aggiunta del TMT-A ha permesso di escludere che le differenze osservate fossero attribuibili a un declino nella velocità psicomotoria tipicamente associato all'invecchiamento.

I risultati, infatti, rimangono coerenti con quanto già dimostrato in precedenza (fig. 3.6), suggerendo che i risultati osservati riguardano il controllo inibitorio piuttosto che un rallentamento globale delle prestazioni.

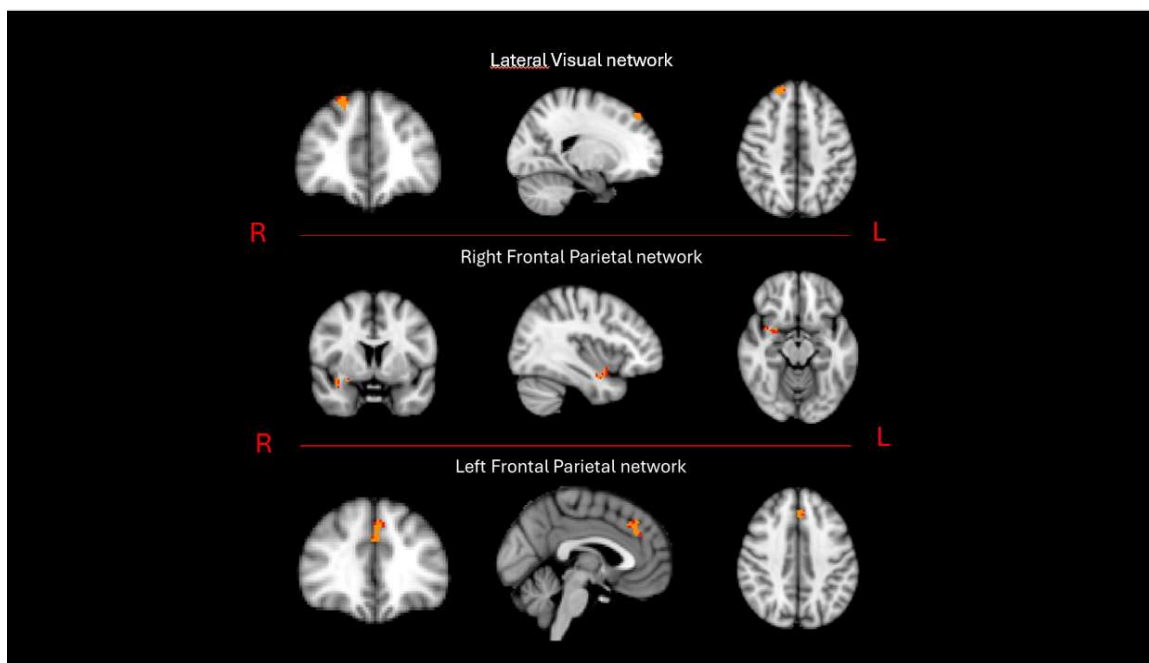


Fig. 3.6- Dalla figura emerge visivamente che i risultati non cambiano rispetto a quello che è stato già trovato in precedenza (fig. 3.5) se aggiungiamo i punteggi ottenuti al Trail Making Test (TMT-A) come covariata.

3.4 Discussione

L'aspetto interessante delle indagini riportate è stato il collegamento tra i cambiamenti nei networks funzionali e gli aspetti comportamentali, per studiare quando tali cambiamenti risultano funzionali o meno alle prestazioni cognitive.

Ad oggi, la correlazione tra i punteggi ottenuti al test di Stroop e le misure funzionali, così come il ruolo dell'età nella modulazione di questa associazione, non è stata pienamente indagata.

Studi precedenti, che hanno utilizzato dati di risonanza magnetica funzionale a riposo e li hanno correlati con i punteggi comportamentali lungo l'intero arco della vita adulta, hanno evidenziato una riduzione complessiva della specificità intra-network associata a un calo delle prestazioni (Deery et al.;2023). Gli autori sottolineano, tra l'altro, che il cervello degli anziani è meno modulare e più integrato.

I nostri risultati sembrano confermare il processo di dedifferenziazione (Goh, 2011), almeno per quanto riguarda le capacità cognitive misurate dal test di Stroop, come l'inibizione cognitiva, la velocità di elaborazione, la flessibilità cognitiva e il controllo esecutivo. Infatti, l'aumento della connettività funzionale a riposo nei networks precedentemente menzionati (fig. 3.5) negli anziani potrebbe riflettere una riduzione complessiva delle prestazioni nel test di Stroop.

Emerge un aspetto interessante dall'analisi dei tre networks esaminati: si osserva un reclutamento di aree anteriori esterne alla rete principale, fenomeno che richiama il modello PASA (Posterior-Anterior Shift in Aging), che illustra come l'invecchiamento comporti una riduzione dell'attività nelle regioni posteriori del cervello (come le aree occipitali e parietali) e un aumento dell'attivazione nelle regioni anteriori.

In questo caso, il reclutamento di queste aree sarebbe, come abbiamo visto, disfunzionale alle prestazioni al test di Stroop.

Interessante notare come nonostante le aree anteriori siano quelle che si sviluppano più tardi e che tendono ad atrofizzarsi per prime, secondo la “regola” del “last in, first out” (Raz, 2005) , esse vengono reclutate in misura maggiore avanzando con l’età.

3.5 Limiti

Uno dei principali limiti dello studio è il campione relativamente ridotto. Un numero limitato di partecipanti può ridurre la potenza statistica delle analisi e la capacità di generalizzare i risultati all'intera popolazione. Con un campione più ampio, sarebbe possibile ottenere stime più robuste e affidabili, riducendo il rischio che le differenze osservate siano il frutto del caso o di variazioni individuali non rappresentative.

Lo studio ha focalizzato l'attenzione su test specifici, come lo Stroop test e il TMT-A, per valutare il controllo inibitorio e la velocità psicomotoria. Tuttavia, rimane incerto se le ipotesi formulate si applichino in modo coerente anche con altri strumenti di valutazione cognitiva. Future ricerche dovrebbero replicare questi risultati utilizzando una gamma più ampia di test cognitivi per verificare se le associazioni trovate siano valide e generalizzabili anche in contesti diversi e con strumenti differenti.

Lo studio si configura principalmente come un'indagine esplorativa, il che implica che i risultati devono essere interpretati con cautela. Non essendo state eseguite correzioni per confronti multipli, c'è un rischio maggiore di falsi positivi (ossia risultati che sembrano significativi, ma che potrebbero non esserlo). In altre parole, le associazioni trovate potrebbero essere il frutto di coincidenze statistiche piuttosto che di relazioni reali e

significative tra le variabili analizzate. In studi futuri, sarebbe opportuno applicare correzioni statistiche più rigorose.

In sintesi, sebbene lo studio offra spunti interessanti sul funzionamento delle reti cognitive in diverse fasce di età, i limiti relativi al numero ridotto di partecipanti, alla generalizzabilità con altri test cognitivi e alla mancanza di correzioni per confronti multipli ne riducono la robustezza. Tali aspetti devono essere considerati con attenzione nella valutazione delle conclusioni, e rappresentano un punto di partenza per ulteriori ricerche volte a consolidare e ampliare i risultati emersi.

Capitolo 4 - CONCLUSIONI

I risultati ottenuti indicano, fra le altre cose, l'esistenza un declino significativo sia nel volume della materia grigia che nell'integrità della sostanza bianca con l'avanzare dell'età. Le analisi condotte attraverso la somministrazione di una batteria di test neuropsicologici, hanno evidenziato, in particolare, un peggioramento delle performance cognitive nei partecipanti anziani rispetto ai giovani al test di Stroop. Questi risultati si correlano con una riduzione della connettività funzionale all'interno di diversi network neurali, tra cui il *Lateral Visual Network*, il *Left Frontal Parietal Network* e il *Right Frontal Parietal Network*.

Questi cambiamenti strutturali e funzionali trovano supporto nella teoria della dedifferenziazione. Secondo questa teoria, con l'invecchiamento, il cervello perde la sua specializzazione funzionale, reclutando aree non tradizionalmente coinvolte in specifici compiti cognitivi. I dati raccolti supportano questa ipotesi, mostrando che negli anziani si osserva un aumento della connettività tra regioni esterne ai network coinvolti nel compito specifico, senza che questo incremento conduca a un miglioramento delle performance cognitive.

Al contrario, una maggiore connettività in aree esterne ai networks principali sembra essere associata a prestazioni peggiori, come rilevato nei punteggi peggiorativi del test di Stroop. Questo fenomeno è in linea con l'ipotesi della dedifferenziazione, che suggerisce che con l'età il cervello diventi meno efficiente nell'allocare risorse specializzate per compiti cognitivi complessi.

Dedifferenziazione e Performance Cognitive

Il declino della specializzazione funzionale osservato nei partecipanti anziani è stato ulteriormente confermato dall'analisi della risonanza magnetica funzionale allo stato di riposo (rfMRI). I dati suggeriscono che il peggioramento delle prestazioni cognitive, come l'aumento del tempo di risposta e la riduzione dell'accuratezza al test di Stroop, è correlato a una riduzione della forza della connettività intra-network e a un reclutamento di regioni cerebrali esterne ai networks.

Questo risultato, secondo le indagini condotte, è particolarmente evidente nei networks fronto-parietali di destra e sinistra e nel network visivo laterale, dove la connettività tra le aree corticali si riduce con l'età, portando a una maggiore dispersione delle risorse cognitive.

Questo conferma che, con l'avanzare dell'età, il cervello tende a compensare la perdita di efficienza funzionale aumentando il coinvolgimento di aree non specializzate. Tuttavia, tale compensazione non sembra migliorare le prestazioni cognitive, suggerendo che la dedifferenziazione possa rappresentare un meccanismo adattativo che riflette un declino della capacità del cervello di rispondere efficacemente alle richieste cognitive.

La variabilità dell'Invecchiamento e le sue Implicazioni

Va sottolineato che lo studio dell'invecchiamento presenta delle sfide significative a causa della vasta variabilità osservabile nella qualità dell'invecchiamento stesso. Non tutti gli individui invecchiano allo stesso modo: fattori quali le abitudini di vita, il livello di istruzione, l'attività fisica e mentale, così come la riserva cognitiva, giocano un ruolo fondamentale nel determinare la traiettoria di invecchiamento di ciascuna persona.

Questo significa che mentre alcuni individui mostrano un declino cognitivo pronunciato anche in assenza di patologie neurodegenerative, altri riescono a mantenere una buona funzionalità cognitiva nonostante l'età avanzata.

Tale variabilità rende complesso isolare i meccanismi neurali generali alla base dell'invecchiamento e richiede studi più ampi e longitudinali per esplorare come fattori ambientali e genetici influenzino la resilienza del cervello.

L'eterogeneità dell'invecchiamento rappresenta una sfida per la ricerca, ma al tempo stesso offre opportunità per comprendere meglio le differenze individuali e sviluppare interventi personalizzati.

Implicazioni per la Ricerca e l'Intervento

L'importanza di questi risultati risiede nella loro capacità di contribuire alla comprensione approfondita dei processi di invecchiamento cerebrale, un campo di studio fondamentale sia per la ricerca neuroscientifica che per l'applicazione clinica. L'analisi dettagliata delle alterazioni strutturali e funzionali del cervello che si verificano con l'avanzare dell'età offre una finestra preziosa dei meccanismi sottostanti il declino cognitivo. Attraverso una comprensione più accurata di tali processi, è possibile identificare non solo i fattori che accelerano l'invecchiamento cerebrale, ma anche quelli che potrebbero rallentarlo o prevenirlo.

Il fenomeno osservabile della dedifferenziazione potrebbe essere potenzialmente mitigato attraverso interventi mirati; ad esempio, l'utilizzo di tecniche di neuromodulazione non invasiva come la TMS (Stimolazione Magnetica Transcranica) e la tDCS (Stimolazione Transcranica a Corrente Diretta), potrebbe contrastare il declino funzionale attraverso la

stimolazione dei network cerebrali migliorando la connettività intra-network e, di conseguenza, le prestazioni cognitive.

Future ricerche dovrebbero esplorare ulteriormente queste possibilità, concentrandosi su come l'allenamento cognitivo e la stimolazione cerebrale possano influenzare positivamente la connettività funzionale.

Considerazioni Finali

In conclusione, i risultati di questo studio forniscono un contributo importante alla comprensione delle dinamiche cerebrali legate all'invecchiamento.

Il supporto alla teoria della dedifferenziazione è evidente nelle analisi delle immagini di risonanza magnetica funzionale e nelle correlazioni tra connettività funzionale e performance cognitive. Questi risultati, pur essendo frutto di un'analisi esplorativa, offrono spunti per la futura ricerca nell'ambito dell'invecchiamento cerebrale e delle strategie volte a mitigare il declino cognitivo.

Comprendere come il cervello di una persona anziana cambi, sia dal punto di vista anatomico che funzionale, rappresenta una sfida cruciale e una priorità nella ricerca neuroscientifica moderna, acquisire tali conoscenze può essere la chiave per sviluppare terapie innovative e mirate che possano non solo contrastare il declino cognitivo, ma anche migliorare la qualità della vita durante l'invecchiamento. La sfida principale consiste nel tradurre le nuove conoscenze che abbiamo in questo campo in interventi pratici volti a migliorare la qualità di vita e l'autonomia della popolazione anziana.

Bibliografia

Bailey, H., Dunlosky, J., and Hertzog, C. (2009). Does differential strategy use account for age-related deficits in working-memory performance? *Psychol. Aging* 24, 82–92. doi: 10.1037/a0014078

Beckmann, C. F., DeLuca, M., Devlin, J. T., & Smith, S. M. (2005). Investigations into resting-state connectivity using independent component analysis. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 360(1457), 1001–1013. <https://doi.org/10.1098/rstb.2005.1634>

Biswal BB. Resting state fMRI: a personal history. *Neuroimage* 2012; 62: 938–944.

Branco, P., Seixas, D., & Castro, S. L. (2019). Mapping language with resting-state functional magnetic resonance imaging: A study on the functional profile of the language network. *Human Brain Mapping*, 41(2), 545–560. <https://doi.org/10.1002/hbm.24821>

Cabeza, R. (2002). Hemispheric asymmetry reduction in older adults: The HAROLD model. *Psychology and Aging*, 17(1), 85–100. <https://doi.org/10.1037/0882-7974.17.1.85>

Cabeza, R., Nyberg, L., and Park, D. C. (2004). “Cognitive neuroscience of aging: emergence of a new discipline” in *Cognitive Neuroscience Of Aging: Linking Cognitive And Cerebral Aging* (New York: Oxford Academic).

Cafarra, P. (2002). Una versione abbreviata del test di stroop: dati normativi nella popolazione italiana. *rivista di neurologia*, 12(4).

Cole, MW , Bassett, DS , Power, JD , Braver, TS , & Petersen, SE (2014). Architetture di rete intrinseche ed evocate da task del cervello umano . *Neuron* , 83 (1), 238 – 251.
<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.05.014>

Darowski ES, Helder E, Zacks RT, et al. Age-related differences in cognition: the role of distraction control. *Neuropsychology* 2008;22:638–44.

Davis HP, Klebe KJ, Guinther PM, et al. Subjective organization, verbal learning, and forgetting across the life span: from 5 to 89. *Exp Aging Res* 2013;39:1–26.

Davis, S. W., Dennis, N. A., Daselaar, S. M., Fleck, M. S., & Cabeza, R. (2007). Que PASA? The Posterior-Anterior shift in aging. *Cerebral Cortex*, 18(5), 1201–1209.
<https://doi.org/10.1093/cercor/bhm155>

De Luca, M., Beckmann, C. F., De Stefano, N., Matthews, P. M., & Smith, S. M. (2006). fMRI resting state networks define distinct modes of long-distance interactions in the human brain. *NeuroImage*, 29(4), 1359–1367.
<https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2005.08.035>

Deery, H. A., Di Paolo, R., Moran, C., Egan, G. F., & Jamadar, S. D. (2022). The older adult brain is less modular, more integrated, and less efficient at rest: A systematic review of large-scale resting-state functional brain networks in aging. *Psychophysiology*.
<https://doi.org/10.1111/psyp.14159>

Deery, H. A., Di Paolo, R., Moran, C., Egan, G. F., & Jamadar, S. D. (2022b). The older adult brain is less modular, more integrated, and less efficient at rest: A systematic review of large-scale resting-state functional brain networks in aging. *Psychophysiology*.
<https://doi.org/10.1111/psyp.14159>

Engle, R. W. (2002). Working memory capacity as executive attention. *Curr. Dir. Psychol. Sci.* 11, 19–23. doi: 10.1111/1467-8721.00160

Giovagnoli, A. R., Del Pesce, M., Mascheroni, S., Simoncelli, M., Laiacona, M., & Capitani, E. (1996). Trail making test: normative values from 287 normal adult controls. *The Italian Journal of Neurological Sciences*, 17(4), 305–309. <https://doi.org/10.1007/bf01997792>

Goh, J. O. (2011). Functional dedifferentiation and altered connectivity in older adults: Neural accounts of cognitive aging. *Aging and Disease*, 2(1), 30–48.

Harada, C. N., Natelson Love, M. C., & Triebel, K. L. (2013). Normal Cognitive Aging. *Clinics in Geriatric Medicine*, 29(4), 737–752. <https://doi.org/10.1016/j.cger.2013.07.002>.

Hausman, H. K., O’Shea, A., Kraft, J. N., Boutzoukas, E. M., Evangelista, N. D., Van Etten, E. J., Bharadwaj, P. K., Smith, S. G., Porges, E., Hishaw, G. A., Wu, S., DeKosky, S., Alexander, G. E., Marsiske, M., Cohen, R., & Woods, A. J. (2020). The role of Resting-State Network functional connectivity in cognitive aging. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 12. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2020.00177>

Head D, Buckner RL, Shimony JS, Williams LE, Akbudak E, et al. Differential vulnerability of anterior white matter in nondemented aging with minimal acceleration in dementia of the Alzheimer type: evidence from diffusion tensor imaging. *Cereb Cortex*. 2004;14(4):410–23.

Hasher, L., and Zacks, R. (1988). “Working memory, comprehension, and aging: a review and a new view” in *The Psychology of Learning* (Cambridge, MA: Academic Press), 193–225.

Idowu, M. I., & Szameitat, A. J. (2023). Executive function abilities in cognitively healthy young and older adults—A cross-sectional study. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 15. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2023.976915>

Jockwitz C, Caspers S, Lux S, Eickhoff SB, Juetten K, Lenzen S, Moebus S, Pundt N, Reid A, Hoffstaedter F (2017) Influenza dell'età e delle prestazioni cognitive sulle reti cerebrali a riposo degli anziani in una coorte basata sulla popolazione. *Cortex* 89:28–44

Jockwitz, C., & Caspers, S. (2021). Resting-state networks in the course of aging—differential insights from studies across the lifespan vs. amongst the old. *Pflügers Archiv - European Journal of Physiology*, 473(5), 793–803. <https://doi.org/10.1007/s00424-021-02520-7>

Knecht, S. (2000). Handedness and hemispheric language dominance in healthy humans. *Brain*, 123(12), 2512–2518. <https://doi.org/10.1093/brain/123.12.2512>

Li, S.-C., & Lindenberger, U. (1999). Cross-level unification: A computational exploration of the link between deterioration of neurotransmitter systems and dedifferentiation of cognitive abilities in old age. In L. G. Nilsson, & H. Markowitsch (Eds.), *Cognitive neuroscience of memory* (pp. 103-146). Seattle: Hogrefe & Huber

Luszcz MA, Bryan J. Toward understanding age-related memory loss in late adulthood. *Gerontology* 1999;45:2–9.

Measso, G., Cavarzeran, F., Zappalà, G., Lebowitz, B. D., Crook, T. H., Pirozzolo, F. J., Amaducci, L. A., Massari, D., & Grigoletto, F. (1993). The mini-mental state examination: Normative study of an Italian random sample. *Developmental Neuropsychology*, 9(2), 77–85. <https://doi.org/10.1080/87565649109540545>

Ogawa S, Menon RS, Kim SG, et al. On the characteristics of functional magnetic resonance imaging of the brain. *Annu Rev Biophys Biomol Struct* 1998; 27: 447–474.

Oldfield, R. C. (1971). The assessment and analysis of handedness: The Edinburgh inventory. *Neuropsychologia*, 9(1), 97–113. [https://doi.org/10.1016/0028-3932\(71\)90067-4](https://doi.org/10.1016/0028-3932(71)90067-4)

Raichle ME and Mintun MA. Brain work and brain imaging. *Annu Rev Neurosci* 2006; 29: 449–476.

Raz, N. (2003). Ageing and the Brain. *ENCYCLOPEDIA OF LIFE SCIENCES*. <https://doi.org/10.1038/npg.els.0003375>

Raz N, Rodrigue KM, Head D, Kennedy KM, Acker JD. Differential aging of the medial temporal lobe: a study of a five-year change. *Neurology*. 2004;62(3):433–38.

Reuter-Lorenz, P. A., & Cappell, K. A. (2008). Neurocognitive aging and the compensation hypothesis. *Current Directions in Psychological Science*, 17(3), 177–182. <https://doi.org/10.1111/j.1467-8721.2008.00570.x>

Salthouse TA. Consequences of age-related cognitive declines. *Annu Rev Psychol* 2012;63:201–26.

Salthouse TA, Fristoe NM, Lineweaver TT, et al. Aging of attention: does the ability to divide decline? *Mem Cognit* 1995;23:59–71.

Salthouse TA, Mitchell DR, Skovronek E, et al. Effects of adult age and working memory on reasoning and spatial abilities. *J Exp Psychol Learn Mem Cogn* 1989;15:507–16.

SALTHOUSE, T. A. (2010). Selective review of cognitive aging. *Journal of the International Neuropsychological Society*, 16(5), 754–760.
<https://doi.org/10.1017/s1355617710000706>

Salthouse, T. A. (1996). The processing-speed theory of adult age differences in cognition. *Psychol. Rev.* 103, 403–428. doi: 10.1037/0033-295X.103.3.403

Scarpina, F., & Tagini, S. (2017). The Stroop Color and Word Test. *Frontiers in Psychology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2017.00557>

Seitzman, B. A., Snyder, A. Z., Leuthardt, E. C., & Shimony, J. S. (2019). The State of Resting State Networks. *Topics in Magnetic Resonance Imaging*, 28(4), 189–196.
<https://doi.org/10.1097/rmr.0000000000000214>

Sheline, Y. I., & Raichle, M. E. (2013). Resting State Functional Connectivity in Preclinical Alzheimer's Disease. *Biological Psychiatry*, 74(5), 340–347.
<https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2012.11.028>

Shen, HH (2015). Concetto fondamentale : connettività a riposo . *Atti della National Academy of Sciences degli Stati Uniti d'America* , 112 (46), 14115 – 14116.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1518785112>

Smitha, K., Akhil Raja, K., Arun, K., Rajesh, P., Thomas, B., Kapilamoorthy, T., & Kesavadas, C. (2017). Resting state fMRI: A review on methods in resting state connectivity analysis and resting state networks. *The Neuroradiology Journal*, 30(4), 305–317. <https://doi.org/10.1177/1971400917697342>

United Nations, Department of Economic and Social Affairs, Population Division (2019).
World population ageing. United Nations. ISBN: 978-92-1-148325-3.
<https://www.unpopulation.org>

Wen W, Sachdev P. The topography of white matter hyperintensities on brain MRI in healthy 60- to 64-year-old individuals. *Neuroimage*. 2004;22(1):144–54.

West, R. L. (1996). An application of prefrontal cortex function theory to cognitive aging. *Psychol. Bull.* 120, 272–292. doi: 10.1037/0033-2909.120.2.272

Wolf, D., Zschutschke, L., Scheurich, A., Schmitz, F., Lieb, K., Tüscher, O., & Fellgiebel, A. (2013). Age-related increases in stroop interference: Delineation of general slowing based on behavioral and white matter analyses. *Human Brain Mapping*, 35(5), 2448–2458. <https://doi.org/10.1002/hbm.22340>

Zonneveld HI, Pruim RH, Bos D, Vrooman HA, Muetzel RL, Hofman A, Rombouts SA, van der Lugt A, Niessen WJ, Ikram MA, Vernooij MW (2019) Modelli di connettività funzionale in una popolazione che invecchia: lo studio di Rotterdam. *Neuroimmagine* 189:432–444. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2019.01.041>

Sitografia

https://it.wikipedia.org/wiki/Intelligenza_fluida_e_cristallizzata#:~:text=L'intelligenza%20cristallizzata%20%C3%A8%20rappresentata,costante%20interazione%20con%20l'intelligenza.

Appendice

MMSE - MINI MENTAL STATE EXAMINATION

Vers. Moasso et al., 1993

1. Orientamento

/10

Temporale "Mi dica che ... è?"

Risp. Sog. Punteg

Data/Giorno del mese		
Mese		
Anno		
Giorno della Settimana		
Stagione		

Spaziale "In che ... ci troviamo?"

Luogo (Ospedale/Casa)		
Piano		
Città		
Regione		
Stato/Nazione		

2. Memoria

/3

2.a Registrazione Annunciare al paziente che si farà un test di memoria.
Consegna: "Le dirò il nome di tre oggetti. Lei dovrà ripeterli dopo che io li avrò detti tutti e tre. Si ricordi quali sono perché glieli chiederò di nuovo tra qualche minuto. Adesso mi ripeta questi tre oggetti: CASA, PANE, GATTO".
Assegnare **1** punto per ogni risposta esatta al **primo tentativo**, altrimenti **0**.
Nel caso in cui il paziente non sia in grado di rievocarli tutti e tre al primo tentativo, ripeterli, finché il soggetto non li abbia appresi tutti e tre, fino a un **massimo di 6 volte**, e comunque, non verranno assegnati punti.

Risp. Sog. Punteg

Casa		
Pane		
Gatto		

N. Tentativi di apprendimento oltre al primo:

3. Attenzione e Calcolo

/5

Fare entrambe le prove (3.a./3.b.) ed assegnare il migliore tra i due punteggi

3.a. Serie di 7 Chiedere al paziente di sottrarre la cifra **7** da **100** per **5** volte.
Trascrivere negli appositi spazi qui sotto le 5 risposte date dal paziente: **in caso di errore fornire al soggetto il valore corretto da cui sottrarre 7. [93, 86, 79, 72, 65]** Assegnare **1** punto per ogni risposta esatta.

Risp. Sog.

Punteg

--	--	--	--	--	--

2. Memoria

/3

2.b Rievocazione "Quali erano i nomi dei tre oggetti che le ho chiesto di ricordare prima?".
Assegnare **1** punto per ogni risposta esatta.

Risp. Sog. Punteg

Casa		
Pane		
Gatto		

3. Attenzione e Calcolo

3.b. Prova all'indietro Consegna: "Ora le dirò una parola e le chiederò di scandirla lettera per lettera prima in avanti e poi all'indietro. La parola è **CARNE**. Può scandirla lettera per lettera in avanti? ... Ora la scandisca lettera per lettera all'indietro". **[E-N-R-A-C]** Assegnare **1** punto per ogni risposta esatta.

Risp. Sog.

Punteg

--	--	--	--	--	--

4. Linguaggio

/8

4.a. Denominazione *Mostrare al paziente prima un **orologio da polso** e chiedere: "Che cos'è questo?"; fare lo stesso con una **matita**.*

Assegnare **1** punto per ogni risposta esatta al **primo tentativo**, altrimenti **0**.

	Risp.	Sog.	Punteg
Orologio			
Matita			

4.b. Ripetizione Frase *"Ripeta per favore questa espressione: **SOPRA LA PANCA LA CAPRA CAMPA**" (leggere molto lentamente).*

Assegnare **1** punto per ogni risposta esatta al **primo tentativo**, altrimenti **0**. Se la risposta non è corretta, scrivere la risposta data.

Risp.	Sog.	Punteg

4.c. Lettura *"Legga quello che è scritto qui (mostrare il cartoncino contenente il comando **CHIUDA GLI OCCHI**) e lo faccia".*

Assegnare **1** punto se il paziente esegue correttamente.

Risp.	Sog.	Punteg

4.d. Esecuzione Comando a tre stadi. *"Adesso le darò un foglio di carta. Lo prenda con la mano destra, lo pieghi a metà usando entrambe le mani e lo butti per terra". Non dare suggerimenti, al limite dire: "faccia quello che le ho detto!"*

Assegnare **1** punto per ogni comando eseguito correttamente.

	Risp.	Sog.	Punteg
Prende il foglio con la mano destra			
Lo piega a metà			
Lo butta per terra			

4.e Scrittura *"Scriva una frase o un piccolo pensiero che le viene in mente".*

Assegnare **1** punto se la frase è sensata e contiene almeno un soggetto e un verbo; Errori di ortografia o di grammatica sono accettabili.

Risp.	Sog.	Punteg

5. Prassia Costruttiva

/1

*"Copi questo disegno (presentare il foglio del disegno dei due pentagoni incrociati)". Assegnare **1** punto solo se sono presenti tutti i 10 angoli, e due di questi si intersecano formando una figura a quattro lati. Tremore e rotazione vanno ignorati.*

MMSE – Scheda Riassuntiva dei Punteggi

Punteggio MMSE	PG	/30
Punteggio MMSE	PC	/30
Cut-Off: 23,8		
Totale Orientamento Spazio-Temporale		/10

TEST DI STROOP – Versione breve

Taratura Caffarra et al., 2002

NOME:

DATA:

1. Lettura (W)		2. Denominazione (C)		3. Interferenza (CW)	
Item	Errore	Item	Errore	Item	Errore
VERDE		BLU		ROSSO (verde)	
ROSSO		ROSSO		BLU (rosso)	
BLU		BLU		ROSSO (blu)	
ROSSO		VERDE		VERDE (rosso)	
VERDE		ROSSO		ROSSO (verde)	
BLU		BLU		VERDE (blu)	
ROSSO		VERDE		BLU (rosso)	
VERDE		ROSSO		VERDE (rosso)	
ROSSO		BLU		ROSSO (verde)	
BLU		ROSSO		VERDE (blu)	
BLU		ROSSO		ROSSO (blu)	
ROSSO		VERDE		BLU (rosso)	
BLU		BLU		ROSSO (blu)	
VERDE		ROSSO		BLU (verde)	
ROSSO		VERDE		VERDE (rosso)	
BLU		ROSSO		ROSSO (blu)	
VERDE		BLU		BLU (verde)	
ROSSO		VERDE		VERDE (rosso)	
BLU		BLU		ROSSO (blu)	
ROSSO		VERDE		BLU (rosso)	
VERDE		BLU		BLU (verde)	
BLU		VERDE		VERDE (blu)	
VERDE		ROSSO		BLU (verde)	
BLU		BLU		ROSSO (blu)	
ROSSO		ROSSO		BLU (rosso)	
VERDE		VERDE		ROSSO (verde)	
ROSSO		ROSSO		BLU (rosso)	
BLU		BLU		VERDE (blu)	
VERDE		ROSSO		ROSSO (verde)	
ROSSO		VERDE		VERDE (rosso)	

TOTALE ERRORI	/30	/30	/30
TEMPO IMPIEGATO	sec.	sec.	sec.

EFFETTO INTERFERENZA ERRORI $E3 - [(E1 + E2)/2]$		EFFETTO INTERFERENZA TEMPO $T3 - [(T1 + T2)/2]$	
PUNTEGGIO CORRETTO		PUNTEGGIO CORRETTO	
PUNTEGGIO EQUIVALENTE		PUNTEGGIO EQUIVALENTE	

TRAIL MAKING TEST A-B

Versione Giovagnoli A. R. et al. (1996)

Istruzioni per la parte A: "Sul foglio sono stampati 25 numeri in ordine sparso e devono essere uniti nella sequenza corretta con una matita".

Istruzioni per la parte B: "Sul foglio sono stampati 13 numeri e le lettere dalla A alla N in ordine sparso e devono essere uniti nella sequenza corretta alternando un numero ad una lettera".

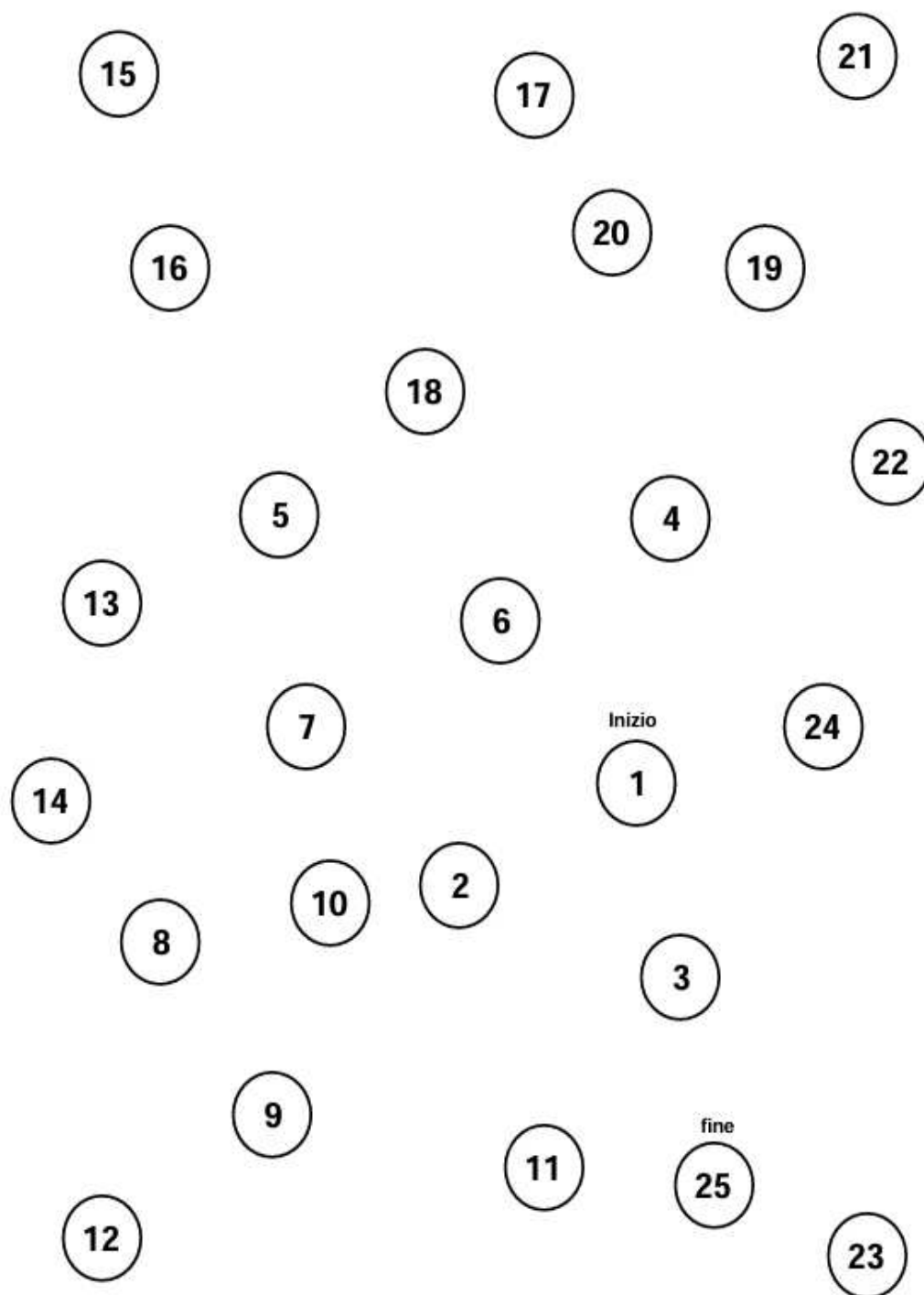
Il soggetto deve eseguire il test il più velocemente possibile. Per accertarsi che il soggetto abbia compreso le istruzioni viene fatto eseguire un test di prova, in cui l'esaminatore fa vedere al paziente come eseguire il compito con i primi item e poi fa continuare al soggetto spiegandogli eventuali errori.

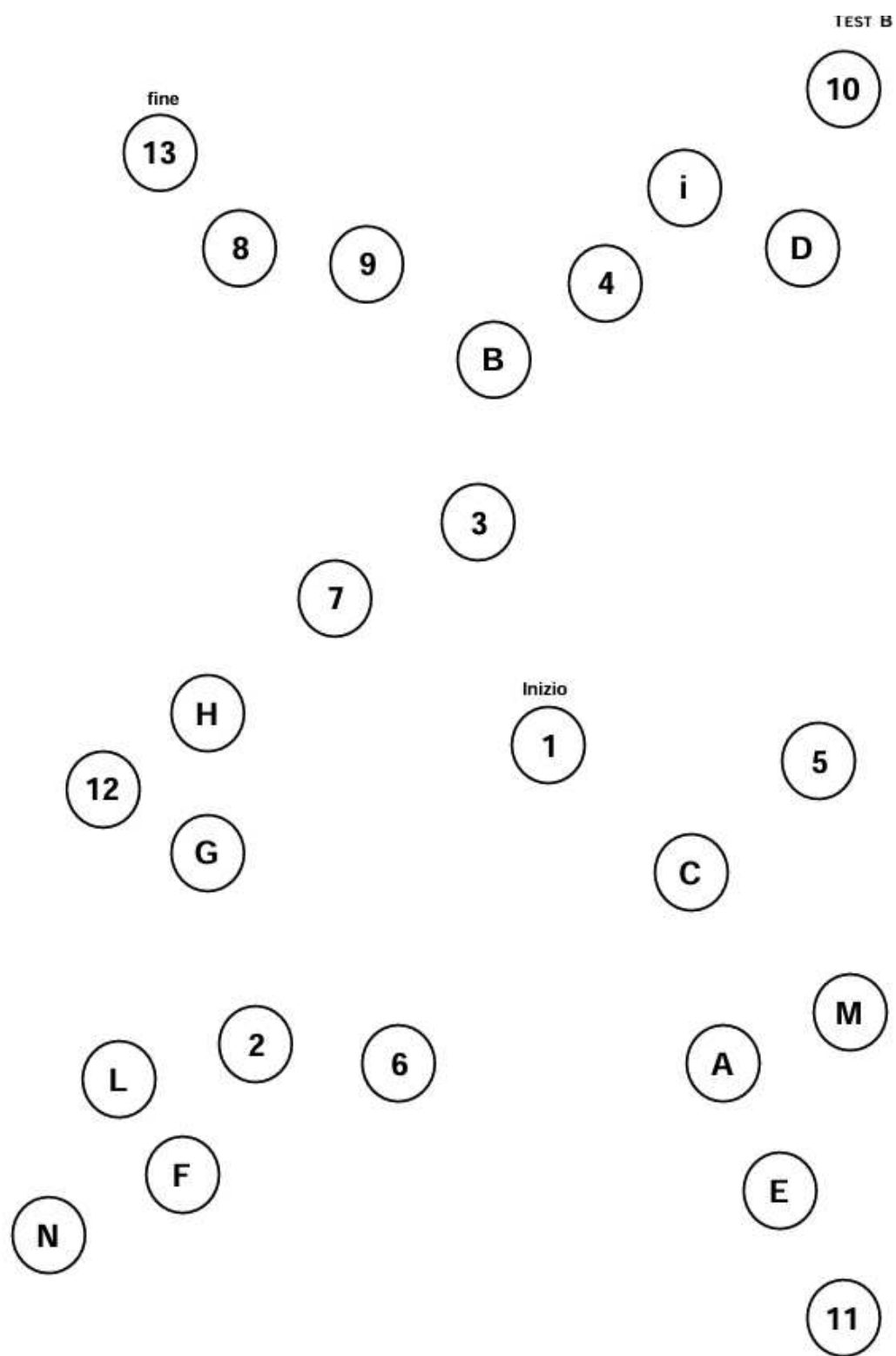
Il punteggio consiste nel numero di secondi utilizzati per completare il test.

Se il soggetto durante l'esecuzione del test commette un errore immediatamente si richiama la sua attenzione sull'errore per correggerlo e lo si fa procedere senza interrompere il tempo. Gli errori, in tal modo, contano in quanto aumentano il tempo di prestazione.

	Parte A	Parte B	B - A
TOTALE TEMPO IMPIEGATO in sec.			
TOTALE PUNTEGGIO CORRETTO			
PUNTEGGI EQUIVALENTI			

Cut Off: 94	Cut Off: 283	Cut Off: 187
--------------------	---------------------	---------------------





EDINBURGH HANDEDNESS INVENTORY (Oldfield, 1970)

DATA CODICE PARTECIPANTE

Per favore indichi quale mano preferisce utilizzare nelle seguenti attività inserendo un + nella colonna appropriata.

Quando la preferenza è così decisa che non userebbe mai l'altra mano, a meno che non sia assolutamente costretto a farlo, inserisca un ++.

Se l'utilizzo di una mano piuttosto che l'altra per lei è indifferente, inserisca un + sotto entrambe le colonne.

Alcune attività richiedono l'utilizzo di entrambe le mani. In questi casi tra parentesi sono segnalate le parti dell'attività, o dell'oggetto, per i quali si richiede la preferenza.

Per favore cerchi di rispondere a tutte le domande, lasci in bianco solo quando non ha assolutamente nessuna esperienza dell'attività o dell'oggetto in questione.

		Sinistra	Destra
1	Con quale mano scrive?		
2	Con quale mano disegna?		
3	Con quale mano lancia un oggetto?		
4	Con quale mano usa le forbici?		
5	Con quale mano usa lo spazzolino da denti?		
6	Con quale mano usa il coltello (senza la forchetta)?		
7	Con quale mano usa il cucchiaino?		
8	Con quale mano accende un fiammifero (mano che tiene il fiammifero)?		
9	Con quale mano impugna la scopa (mano superiore)?		
10	Con quale mano apre un barattolo (mano che svita il coperchio)?		
I.	Con quale piede preferisce calciare un pallone?		
II.	Quale occhio userebbe se dovesse usarne uno solo (per esempio, guardare nel buco della serratura)?		
III.	Ha parenti prossimi mancini (genitori, fratelli, nonni)?		
IV.	È stato corretto al mancino? Da piccolo lo hanno forzato ad usare la mano destra?		

