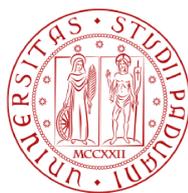


1222·2022
800
ANNI



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

CORSO DI LAUREA IN MEDICINA E CHIRURGIA

DIPARTIMENTO DI NEUROSCIENZE

CLINICA PSICHIATRICA

Direttore: Prof.ssa Angela Favaro

TESI DI LAUREA MAGISTRALE

**MORFOLOGIA DEI SOLCHI,
COMPLESSITÀ CORTICALE E PATTERN DI
GIRIFICAZIONE NELL'ANORESSIA
NERVOSA: UNO STUDIO
LONGITUDINALE**

Relatore:

PROF.SSA ANGELA FAVARO

Laureanda:

GIULIA BEGGIATO

Correlatore:

DOTT. ENRICO COLLANTONI

Anno Accademico 2021-2022

*«Anche le idee della mente si ammalano, talvolta si irrigidiscono. [...] La prima figura d'ordine è la problematizzazione di certe idee che, per ragioni biografiche, culturali, sentimentali o di propaganda, sono così radicate nella nostra mente da agire in noi come dettati ipnotici che non sopportano alcuna critica [...] perchè non le abbiamo mai messe in discussione. Chiamiamo queste idee **miti**, mai attraversati dal vento della de-mitizzazione.»*

U. Galimberti - *I miti del nostro tempo*

Indice

Abstract	1
1 Anoressia Nervosa	7
1.1 Specificatori	8
1.2 Prevalenza	9
1.3 Decorso e Outcome	10
1.4 L'eziologia	11
1.4.1 Una patologia di origine multifattoriale	11
1.4.2 Il ruolo della genetica	15
1.4.3 I fattori di rischio perinatali per l'AN	17
1.5 Comorbidità	18
1.5.1 Comorbidità mediche	19
1.5.2 Comorbidità psichiatriche	21
1.6 Diagnosi differenziale	22
1.7 Markers diagnostici	23
1.8 Prevenzione e DCA	24
1.9 Terapia: il modello "a passi successivi"	24
1.9.1 Trattamento	25
Psicoterapia e Terapia Farmacologica	25
2 Neuroscienze e DCA	27
2.1 Tecniche di neuroimaging: VBM, SBM	29
2.1.1 Voxel-Based Morphometry (VBM)	29
2.1.2 Surface-Based Morphometry (SBM)	30
<i>FreeSurfer</i>	32
2.2 Neuroimaging: strutturale e funzionale	34
2.2.1 La fisiologica evoluzione del tessuto cerebrale	34
2.2.2 Il neuroimaging nell'Anoressia Nervosa (AN)	36
2.2.3 La girificazione	41

3 Solchi e Frattali	45
3.1 I solchi	45
3.2 I Frattali	50
3.2.1 La Dimensione Frattale: D_F	52
3.2.2 La D_F nelle Neuroscienze	53
3.2.3 La D_F nello studio dell'AN	54
3.2.4 La D_F : numerose applicazioni	56
4 Lo studio	59
4.1 Scopo dello studio	59
4.2 Materiali e metodi	60
4.2.1 Partecipanti	60
4.2.2 Valutazione clinica e follow-up	60
4.2.3 Acquisizione dei dati MRI	61
4.2.4 Processamento dei dati	62
4.3 Risultati	65
4.3.1 Pattern di girificazione postero-anteriore	65
4.3.2 Morfologia dei solchi: un'analisi fattoriale	67
4.3.3 Valutazione della D_F	71
4.4 Discussione	79
4.5 Conclusioni	86
A I Frattali	87
A.1 Calcolo della D_F	87
Bibliografia	89

Elenco degli Acronimi

AN	Anoressia Nervosa
BIOVEDA	BIO banca VENeta per lo studio dei Disturbi dell' Alimentazione
BMI	Body Mass Index
BN	Bulimia Nervosa
CBT	Cognitive Behavioral Therapy
CSF	CerebroSpinal Fluid
CT	Cortical Thickness
DCA	Disturbi del Comportamento Alimentare
DSM-5	Diagnostic and Statistical Manual of mental disorders
DTI	Diffusion Tensor Imaging
ED	Eating Disorders
EDNOS	Eating Disorder Not Otherwise Specified
GM	Gray Matter
IGI	local Gyriification Index
MDD	Major Depressive Disorder
RM	Risonanza Magnetica
ROI	Region Of Interest
SBM	Surface-Based Morphometry
VBM	Voxel Based Morphometry
WM	White Matter

Abstract

Presupposti dello studio

L'Anoressia Nervosa ha un impatto rilevante sulla corteccia cerebrale: l'analisi delle alterazioni che comporta presenta numerose sfaccettature, alcune già indagate in letteratura con parametri come lo spessore corticale (CT), la quantità di sostanza grigia (GM) e bianca (WM), l'indice di girificazione (GI). Tra i più innovativi, tre hanno dimostrato di saper cogliere aspetti differenti del medesimo processo patologico: il pattern di girificazione, la morfologia dei solchi, la dimensione frattale (D_F).

Scopo dello studio

Lo studio, con disegno longitudinale, si propone di valutare le modificazioni corticali indotte dall'AN in un campione di pazienti in acuto (AN-baseline), a 3.5 mesi di trattamento (ANflw) e in un campione di donne sane (controlli). L'obiettivo è di rilevare l'impatto corticale della malattia da più punti di vista e di osservarne la potenziale reversibilità, già documentata in letteratura con studi di tipo trasversale, in seguito ad un periodo breve di terapia di recupero del peso.

Materiali e Metodi

Campione: Lo studio è condotto su un campione femminile: 38 pazienti con AN, seguite al follow-up di media 3.5 mesi fino al raggiungimento del 20° percentile di BMI aggiustato per età, e 52 controlli sani. L'età media è 15.25 (± 1.88) anni nelle pazienti, 15.74 (± 1.65) nei controlli. Il BMI medio delle pazienti è 14.96 (± 1.47); l'età d'esordio 14.12 (± 1.60) anni.

Acquisizione e processamento dei dati: I soggetti sono stati sottoposti a RM T1-pesata, 1.5 Tesla, con sequenze echo-planari. L'estrazione della superficie è stata eseguita mediante il pacchetto *FreeSurfer* (Martinos Center for Biomedical Imaging, Boston), versione 7.1.1. La corteccia è stata divisa in aree secondo l'atlante Combinato, derivato dall'atlante di Destrieux.

Il pattern di girificazione, approccio di tipo esplorativo, è stato ottenuto grazie alla rappresentazione dei valori di girificazione per 200 sezioni coronali, ordinate postero-anteriormente. Le indagini di approfondimento hanno previsto la valutazione della morfologia, ossia di larghezza e profondità, dei 16 principali solchi con il toolbox *calcSulc* di MATLAB, singolarmente e con un'analisi fattoriale; il calcolo della D_F totale, per i 4 lobi e per le 42 aree, è stato gestito con il toolbox MATLAB *calcFD*.

Risultati

Il pattern di girificazione postero-anteriore è stato rappresentato secondo tre tracciati: presentano il medesimo andamento, pur avendo ANbaseline valori inferiori, significativi in Solco Centrale, regione Parieto-Temporale e Frontale. Non vi è differenza significativa tra ANflw e controlli.

La valutazione dei solchi è stata eseguita solco per solco e, in seguito, come analisi fattoriale, con 7 fattori per la larghezza e 5 per la profondità. Nel primo caso, 7 solchi hanno presentato morfologia alterata nell'indagine controlli vs. ANbaseline, solo 3 di essi anche per controlli vs. ANfollow-up. La significatività statistica è stata riscontrata nei fattori 2, 4, 6 per la larghezza, con solchi allargati nelle pazienti; in nessuno per la profondità. Non è stata evidenziata alcuna correlazione statisticamente significativa tra variabili cliniche e analisi di morfologia sulcale.

Nello studio della D_F le pazienti ANbaseline presentano D_F ridotta globalmente, per tutti e quattro i lobi principali e in gran parte delle 42 aree rispetto sia ai controlli che alla RM di follow-up, con ampie differenze bilateralmente. Nel confronto ANflw e controlli, la D_F appare notevolmente normalizzata, pur mantenendo valori diminuiti ma con minor scostamento rispetto allo stadio di acuzie. Si sono riscontrate correlazioni significative tra D_F totale e BMI-SDS ($p=0.004$), età di esordio ($p=0.004$), durata di malattia ($p=0.004$), perdita di peso ($p=0.001$).

Conclusioni

Ad oggi, questo è il primo studio che si propone di esaminare pazienti con AN longitudinalmente secondo tre differenti parametri: pattern di girificazione, morfologia dei solchi e complessità corticale (D_F). L'obiettivo è quello di dimostrare il comune riscontro di alterazioni corticali imputabili alla malattia in acuto, con poi una graduale normalizzazione, come

già documentato in letteratura da studi di tipo trasversale o longitudinale con differenti approcci. Si è confermata tale ipotesi: si evidenziano alterazioni notevoli in acuto, rispetto ai controlli, e una loro scomparsa o importante recupero nel confronto ANflw e controlli. Ciò suggerisce, quindi, che tali modificazioni non siano "cicatrici" della patologia e che la malnutrizione possa avere un importante ruolo nella loro genesi. Ne consegue l'evidente importanza di una diagnosi precoce ai fini di impostare un efficace trattamento.

English

Background

Anorexia Nervosa has a significant impact on the cerebral cortex: the analysis of the alterations that involves, presents different points of view, some of them have been already investigated in literature with parameters such as cortical thickness (CT), volume of gray matter (GM) and white matter (WM), gyrification index (GI). Among the most innovative ones, three parameters have shown their ability to catch different aspects of the same pathological process: gyrification pattern, sulcal morphology and fractal dimension (D_F).

Study aim

This study, with a longitudinal design, aims to evaluate the cortical changes induced by AN in a sample of patients in acute condition (ANbaseline), after 3.5 months of treatment (ANflw) and in a sample of healthy women (controls). The main goal is to detect the cortical impact of AN from several points of view and to observe its potential reversibility, already proved in literature with cross-sectional studies, following a short period of weight recovery therapy.

Materials and methods

Sample: The study was conducted on a only female sample: 38 patients with AN, followed by on average 3.5 months until reaching the 20th percentile of age-adjusted BMI, and 52 healthy controls. The mean age was 15.25 (\pm 1.88) years in the patients, 15.74 (\pm 1.65) in the controls. The mean

BMI of the patients is $14.96 (\pm 1.47)$; age of onset $14.12 (\pm 1.60)$ years.

Data acquisition and processing: All subjects underwent T1-weighted MRI, 1.5 Tesla, with echo-planar sequences. The surface extraction was performed using the *FreeSurfer* package (Martinos Center for Biomedical Imaging, Boston), version 7.1.1. The cortex was divided into areas according to the Combined Atlas, derived from Destrieux's Atlas.

The gyrification pattern, an exploratory approach, was obtained with the representation of the gyrification values for 200 coronal sections, ordered postero-anteriorly. Furthermore, investigations included the evaluation of the morphology, width and depth, of the 16 main grooves with the MATLAB *calcSulc* toolbox, first individually and then with a factor analysis; the calculation of the total D_F , for the 4 lobes and for the 42 areas, was managed with the MATLAB *calcFD* toolbox.

Results

The posterior-anterior gyrification pattern was represented with three traces: they have the same trend, despite having lower ANbaseline values, significant in Central Sulcus, Parieto-Temporal and Frontal region. There is no significant difference between ANflw and controls.

The sulcus evaluation was performed sulcus by sulcus and, subsequently, as a factor analysis, with 7 factors for width and 5 for depth. In the first case, 7 sulci showed altered morphology in the controls vs. ANbaseline, only 3 of them also for controls vs. ANfollow-up. Statistical significance was found in the factors 2, 4, 6 for width, enlarged in patients; in none for depth. There was no statistically significant correlation between clinical variables and sulcal morphology analysis.

In the D_F study, ANbaseline patients have reduced D_F globally, for all four main lobes and in most of the 42 areas compared to both controls and follow-up MRI, with large differences bilaterally. In the comparison ANflw and controls, the D_F appears remarkably normalized, while maintaining decreased values but with less deviation compared to the acute stage. Significant correlations were found between total D_F and BMI-SDS ($p = 0.004$), age of onset ($p = 0.004$), duration of illness ($p = 0.004$), weight loss ($p = 0.001$).

Conclusions

To date, this is the first study that aims to examine patients with AN longitudinally according to three different parameters: gyrification pattern, sulcus morphology and cortical complexity (D_F). The main goal is to demonstrate the common finding of cortical alterations attributable to acute disease, with then a gradual normalization, as already documented in literature by cross-sectional or longitudinal studies with different approaches. This hypothesis has been confirmed: significant alterations are highlighted in the acute stage, compared to controls, and also their disappearance or important recovery in the comparison ANflw with controls. This suggests that these modifications are not "scars" of the disease and that malnutrition may have an important role in their genesis. Consequently, the importance of an early diagnosis is evident, in order to set up an effective treatment.

Capitolo 1

Anoressia Nervosa

L'AN è un disturbo psichiatrico caratterizzato dall'alterazione del rapporto con il proprio corpo e il cibo, tale da compromettere l'elementare istinto di sopravvivenza. Si usa "*disturbo dell'immagine corporea*" per definire un costrutto multidimensionale, la cui natura non è ancora del tutto compresa, che include una sovrastima delle dimensioni fisiche, una forte insoddisfazione corporea che condiziona la considerazione di sé, una negazione delle conseguenze della perdita di peso e frequenti comportamenti di controllo del peso (body checking). Il disturbo può avere vari livelli di gravità ed è spesso associato ad una scarsa consapevolezza che rende difficile il trattamento e aumenta il rischio di cronicizzazione.

Secondo il Diagnostic and Statistical Manual of mental disorders (DSM-5) [10], i criteri diagnostici per l'AN sono:

- A Restrizione nell'assunzione di calorie in relazione alle necessità, che porta a un peso corporeo significativamente basso nel contesto di età, sesso, traiettoria di sviluppo e salute fisica. Il peso corporeo significativamente basso è definito come un peso inferiore al minimo normale oppure, per bambini e adolescenti, meno di quello minimo previsto.
- B Intensa paura di aumentare di peso o di diventare grassi, oppure un comportamento persistente che interferisce con l'aumento di peso, anche se significativamente basso.
- C Alterazione del modo in cui vengono vissuti dall'individuo il peso e la forma del proprio corpo, eccessiva influenza del peso o della forma del corpo sui livelli di autostima, oppure persistente mancanza di riconoscimento della gravità dell'attuale condizione di sottopeso.

1.1 Specificatori

Per meglio caratterizzare l'AN si ricorre all'uso degli specificatori [78].

Specificare se:

- *Tipo con restrizioni*: durante gli ultimi 3 mesi, l'individuo non ha presentato ricorrenti episodi di crisi bulimiche o condotte di eliminazione (per es. vomito autoindotto, uso inappropriato di lassativi, diuretici o enteroclistmi). In questo sottotipo, la perdita di peso è ottenuta principalmente attraverso la restrizione calorica, il digiuno e/o l'attività fisica eccessiva.
- *Tipo con crisi bulimiche/condotte di eliminazione*: durante gli ultimi 3 mesi, l'individuo ha presentato ricorrenti episodi di crisi bulimiche e/o condotte di eliminazione (per es. vomito autoindotto, uso inappropriato di lassativi, diuretici o enteroclistmi).

Durante il decorso del disturbo non è raro un crossover dei sottotipi; pertanto, la specificazione del tipo dovrebbe essere usata per descriverne i sintomi attuali anziché il decorso longitudinale.

A questo proposito vi sono scuole di pensiero differenti: secondo alcuni la frequenza di passaggio da un sottotipo all'altro è a tal punto elevata da far perdere di rilevanza tale specificatore [32]. Secondo altri, invece, lo specificatore è un elemento centrale nello stabilire la prognosi: il sottotipo con crisi bulimiche/condotte di eliminazione, infatti, ha una percentuale di abbandono del trattamento ("*drop out*") significativamente maggiore rispetto al sottotipo con restrizioni [34].

Specificare inoltre:

- *In remissione parziale*: successivamente alla precedente piena soddisfazione dei criteri per AN, il criterio A non è stato soddisfatto per un consistente periodo di tempo, ma il criterio B e C sono ancora soddisfatti.
- *In remissione completa*: successivamente alla precedente piena soddisfazione dei criteri per AN, non è stato soddisfatto nessuno di essi per un consistente periodo di tempo.

Specificare la gravità:

il livello minimo di gravità si basa, per gli adulti, sull'attuale BMI oppure, per bambini/adolescenti, sul percentile di BMI. I range sono derivati

dalle categorie dell'OMS per la magrezza. Il livello di gravità può essere aumentato al fine di riflettere i sintomi clinici, il grado di disabilità funzionale e la necessità di una supervisione.

Essi sono:

- *Lieve*: BMI ≥ 17 kg/m²
- *Moderata*: BMI 16 – 16.99 kg/m²
- *Grave*: BMI 15 – 15.99 kg/m²
- *Estrema*: BMI < 15 kg/m²

1.2 Prevalenza

La prevalenza dell'AN tra individui giovani di sesso femminile è dello 0.4%: si sottolinea "sesso femminile" in quanto il 95% dei pazienti con AN sono donne. L'età di esordio ha il picco ai 16 anni, come si nota in Fig. 1.1; la fascia d'età con maggiore incidenza è 15-19 anni [91]. Anche se l'incidenza totale dell'AN è considerabile stabile negli ultimi decenni, l'incidenza tra i soggetti più giovani, < 15 anni, è in aumento: infatti, l'età di esordio mostra una significativa diminuzione, dimostrata essere indipendente da possibili variabili confondenti come stato socio-economico, età del menarca, numero di fratelli [41].

La prevalenza lifetime dell'AN può arrivare al 4% tra le femmine e allo 0.3% tra i maschi. Approssimativamente, quindi, si può delineare un rapporto femmina-maschio di 10:1.

Il passaggio dal DSM-IV [9] al DSM-5 ha determinato una drastica diminuzione del numero di diagnosi di Eating Disorder Not Otherwise Specified (EDNOS), aumentando, di conseguenza, quelle di AN cosiddetta "full-threshold" [90, 100].

In dettaglio, le modifiche che il DSM-5 ha determinato sono:

- abolizione del criterio "amenorrea" previsto dal DSM-IV in quanto non valutabile nei maschi e in età infantile;
- modifica del criterio A, sul peso: il DSM-IV richiedeva "inferiore all'85%", rispetto a quanto previsto (corrispondente ad un BMI $< 17,5$ kg/m²) oppure l'incapacità di raggiungere il peso previsto

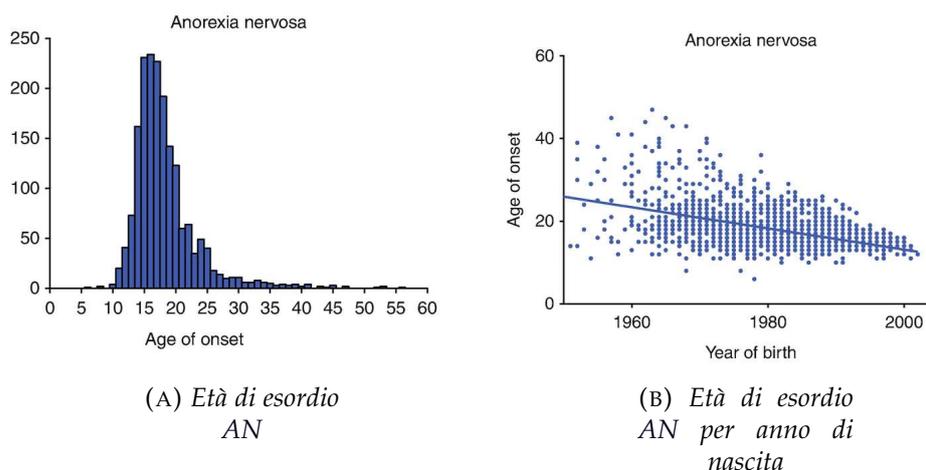


FIGURA 1.1: Età di esordio dell'AN [40]

durante la crescita, mentre il DSM-5 richiede un peso significativamente basso inferiore al minimo normale (BMI <18,5) o, per i bambini e gli adolescenti, inferiore al minimo atteso (< 5° percentile);

- eliminazione di “rifiuto di mantenere il peso corporeo al di sopra o uguale al peso minimo normale per età/statura”, non oggettivabile;
- nel criterio C, aggiunta della frase “comportamento persistente che interferisce con l’aumento di peso, anche in presenza di un peso significativamente basso”;
- introduzione di criteri di gravità attuale sulla base del BMI.

1.3 Decorso e Outcome

Il rate di mortalità per AN è molto elevato: la mortalità per 1000 persone/anno è 5.1 per AN (ampiamente maggiore rispetto all'1.7 della Bulimia Nervosa (BN)). Uno su 5 individui deceduti con diagnosi di AN si è suicidato. La metanalisi di riferimento evidenzia come l'età alla diagnosi sia un predittore importante di mortalità [4]. Condotta un follow-up a 10 e 20 anni, tra coloro che sopravvivono, in media, meno di metà recupera, un terzo migliora e il 20% cronicizza [93].

La presenza di altri disturbi psichiatrici al follow-up è molto frequente.

Una maggior durata del follow-up ed un'età più precoce di riconoscimento della patologia sono associate ad un miglior outcome. La prognosi, infatti, è fortemente influenzata dall'intervallo di tempo che vi è tra insorgenza e riconoscimento: se ristretto, questo implica anche un trattamento precoce; viceversa una diagnosi temporalmente lontana dall'insorgenza della patologia, limita l'efficacia dell'intervento terapeutico. Sono stati individuati numerosi fattori prognostici negativi, ma le evidenze risultano discordanti. Le associazioni statisticamente valide riguardano: il vomito, la comorbilità con BN, l'abuso di purgativi, la cronicizzazione e la comorbilità con disturbi di tipo ossessivo-compulsivo. Quindi, l'AN mantiene una prognosi infausta, anche se la ricerca circa eziologia e trattamento potrebbe garantire notevoli miglioramenti [93]. L'AN ha degli importanti costi personali, famigliari, sociali ed economici.

1.4 L'eziologia

1.4.1 Una patologia di origine multifattoriale

L'eziologia dell'AN rimane ancora oggi sconosciuta, tuttavia vi è accordo nel considerarla una patologia di origine multifattoriale. Come anche per molte altre patologie di interesse psichiatrico, alla base vi è una componente genetica ed epigenetica, su cui si aggiungono fattori di rischio precoci, ossia complicità pre e peri-natali, i quali configurano uno stato di rischio. Quest'ultimo, nella pubertà, precipitato eventualmente da fattori stressanti, dà adito all'*esordio* della malattia. Da tale livello, centrale è l'evidenza della perdita di peso e delle sue ripercussioni. La patologia evolve, poi, nello stadio di *mantenimento* e, successivamente, se non trattata, di *cronicizzazione*. Lo schema classico della patogenesi dei disturbi dell'alimentazione risale al 1993 [45] e include 3 tipologie di fattori, evidenziati in Fig. 1.2:

- *Fattori predisponenti*: genetici, ambientali precoci e tardivi;
- *Fattori precipitanti*: eventi traumatici (malattie somatiche, abusi, ...) a cui segue il configurarsi di un'immagine corporea disfunzionale e di problemi interpersonali, da cui la necessità di ricorrere alla restrizione calorica che aumenta autostima e *self-efficacy*;

- *Fattori di mantenimento*: perdita di peso e/o binge eating e/o condotte di eliminazione, associate a conseguenze fisiche, psicologiche.

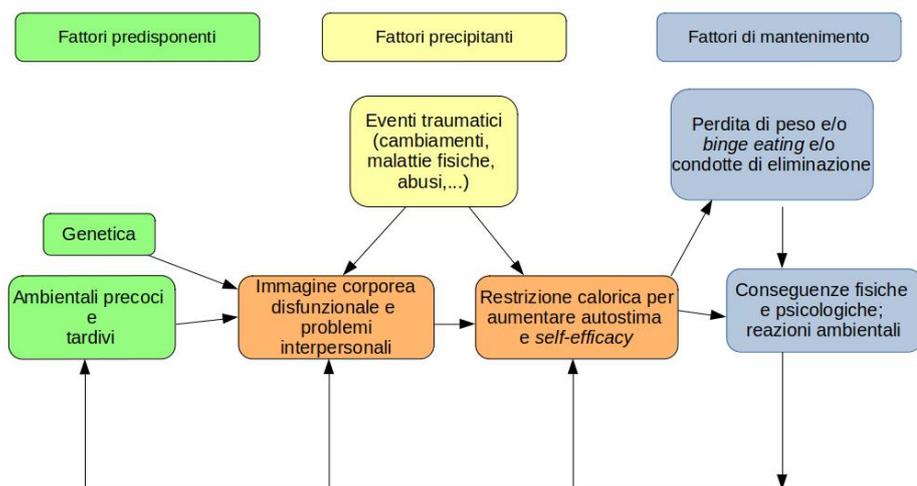


FIGURA 1.2: Schema riassuntivo, da Multifactoral pathogenesis of eating disorders, Gardner [45].

Più recentemente, è stato elaborato un modello patogenetico per AN che distingue due fasi, del rischio e del mantenimento, tenendo conto di un'ipotesi basata sul neurosviluppo [35]. Nello schema di Fig. 1.3, quindi, si evidenziano due parti:

- *fase di rischio*: i fattori ambientali precoci (pre/perinatali) e tardivi (familiari, sociali e individuali) interagiscono con i fattori genetici per influenzare la traiettoria del neurosviluppo e, di conseguenza, lo sviluppo cerebrale e il modellamento dei neurocircuiti. Su quest'ultimo target impattano anche pubertà e stress, favorendo il passaggio alla fase di mantenimento. Si può ipotizzare che tale fase sia adolescenziale. Sono già stati identificati dei fenotipi specifici associati a questo stadio, riscontrabili, di conseguenza, prima dello sviluppo della patologia, tra questi: tendenza all'internalizzazione dell'idea di magrezza, al fenotipo ansioso/evitante, al bias emozionale negativo, al perfezionismo, alla compulsività, all'inflessibilità cognitiva e una ridotta capacità di regolare le emozioni;
- *fase di mantenimento*: la patologia, progredendo, comporta e subisce l'effetto della perdita di peso e dello stress associato alla malattia

stessa. Ne consegue un ulteriore modellamento dei neurocircuiti e un'alterazione della normale traiettoria di sviluppo cerebrale che, tipicamente, si conclude nella prima età adulta. In questo stadio si osservano fenotipi in parte sovrapponibili a quelli della fase di rischio, i più specifici sono: distorsione dell'immagine corporea, alterazione delle abilità visuo-spaziali e sociali, ossessività e rimuginazione, "miglioramento" della regolazione delle emozioni. Quest'ultimo può rendere ragione della resistenza al trattamento.

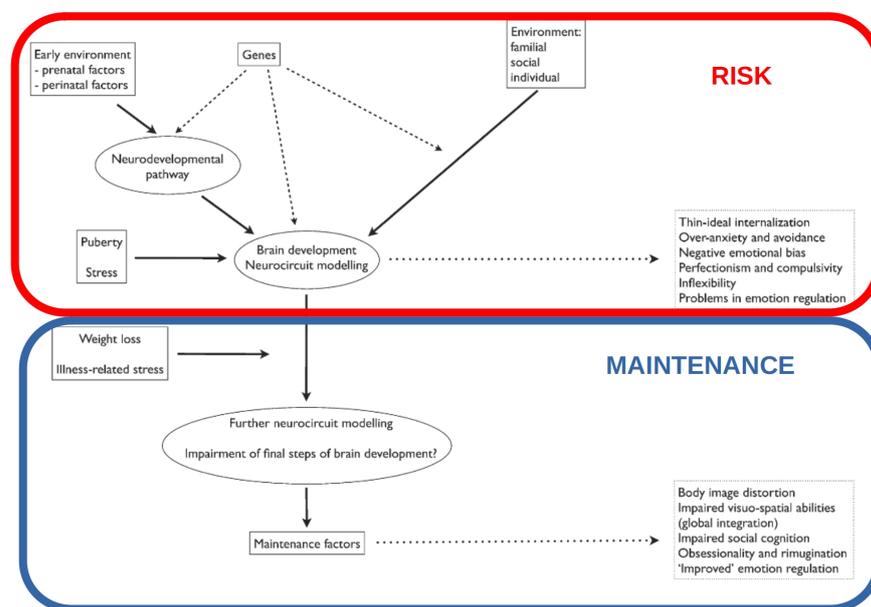


FIGURA 1.3: Lo sviluppo cerebrale e il rimodellamento dei neurocircuiti sono l'interfaccia tra fattori di rischio genetico/ambientali e DCA, modificata da [35].

Ancor più recentemente, è stato elaborato un modello patogenetico bio-psico-sociale [74, 26, 55] secondo il quale si suggeriscono dei fattori chiave centrali per comprendere la fase di mantenimento e la resistenza al trattamento nell'AN, tra cui: fattori predisponenti genetici/esperienziali, disfunzionali sistemi di regolazione e gestione delle emozioni, sensazione di eccessiva vulnerabilità, deprivazione calorica come meccanismo di regolazione emotiva, non soddisfacimento dei *core needs* fisici e psicologici. Schematicamente, in Fig. 1.4.

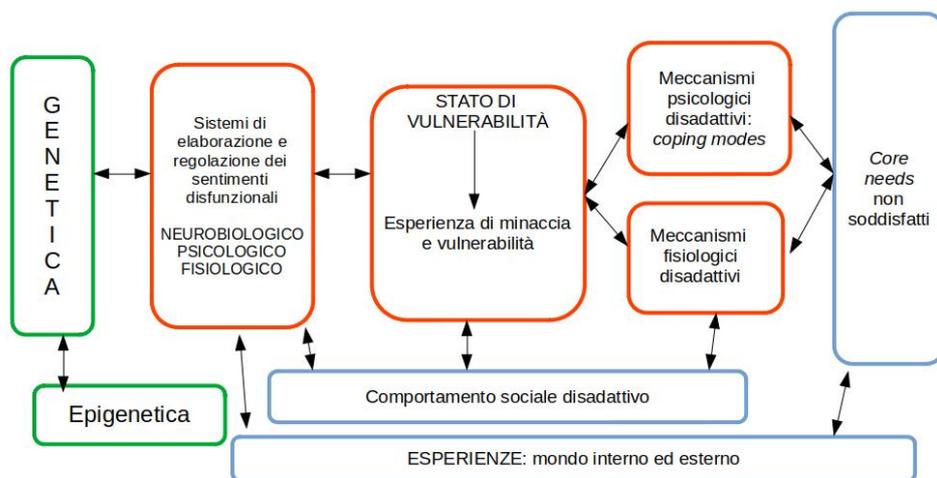


FIGURA 1.4: Teoria bio-psico-sociale dell'eziologia multifattoriale dell'AN, schema da [74].

In conclusione, si può considerare la patogenesi dell'AN in tre fasi:

- *Fase di rischio*: fattori di vulnerabilità e caratteristiche pre-morbose (perfezionismo, difficoltà a gestire emozioni e comunicazione, inflessibilità cognitiva, internalizzazione dell'ideale di magrezza);
- *Fase di esordio*: compaiono i sintomi da malnutrizione, ma non vi sono ancora caratteristiche della malattia da "neuroprogressione" (da intendersi come impatto cognitivo, neurostrutturale e psichico, es. automatismi); il paziente è focalizzato sul controllo del peso, presenta una distorsione dell'immagine corporea, problemi nelle abilità sociali, un miglioramento nella gestione delle emozioni e una sensazione, gradevole, di controllo sul proprio corpo, motivo di dipendenza psicologica dal dimagrimento. Tale fase è detta "luna di miele" in quanto dà origine ad un importante rinforzo positivo;
- *Fase di malattia*: compaiono i fattori di mantenimento veri e propri, sia patofisiologici che ambientali. Tali pazienti sono difficilmente gestibili al trattamento in quanto caratterizzati da inflessibilità cognitiva, difficoltà visuo-spaziali e di concettualizzazione, problemi di cognizione sociale e tendenza al bias cognitivo.

1.4.2 Il ruolo della genetica

L'AN è un disturbo psichiatrico ad eziologia complessa, in cui la genetica interagisce con fattori di rischio ambientali, biologici e psicosociali. Il peso che essa assume è importante, secondo solo a quello che riveste nel disturbo bipolare. Studi di familiarità e concordanza tra gemelli indicano che essa determini oltre il 50% della predisposizione individuale.

L'analisi genetica viene effettuata anche con approccio molecolare: è stato recentemente creato un consorzio di raccolta dati di portata internazionale a cui ha partecipato anche la regione Veneto con la ricerca BIO-banca VEneta per lo studio dei Disturbi dell'Alimentazione (BIOVEDA). Nel 2019 [101], per la prima volta, sono stati identificati otto loci genetici coinvolti nella patogenesi dell' AN, come illustrato in Fig. 1.5, per quanto i geni corrispondenti non siano ancora stati individuati.

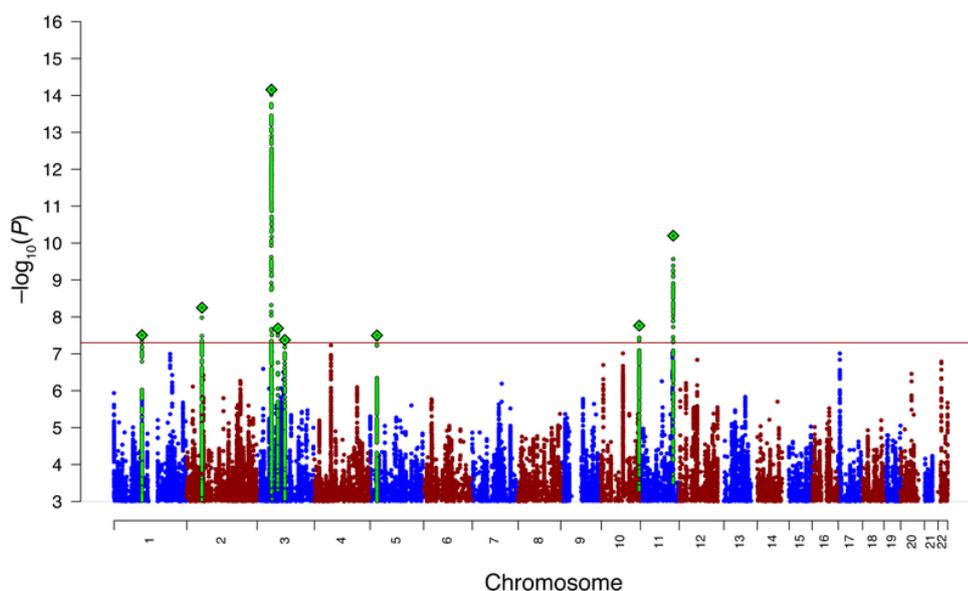


FIGURA 1.5: Asse y: la significatività; asse x: i cromosomi ordinati. Otto loci genetici presentano significatività [101].

Sono state, inoltre, evidenziate correlazioni genetiche tra AN e numerose categorie di fattori: disturbi psichici, tratti di personalità, livello d'istruzione, attività fisica, tratti metabolici, tratti antropometrici. È stata osservata una relazione statisticamente significativa *positiva* tra AN e DOC, depressione maggiore, schizofrenia, disturbi d'ansia e, in generale, con sintomi depressivi e nevroticismo.

Ciò che appare rivoluzionario, a questo proposito, sono invece le relazioni statisticamente significative *negative*, con i fattori metabolici: insulino-resistenza, diabete mellito tipo 2, percentuale di grasso corporeo, peso corporeo, circonferenza vita, sovrappeso e obesità. Questa evidenza permette di sostenere che i soggetti che sviluppano AN non abbiano solo una predisposizione genetica anche per altri disordini di tipo psichiatrico, ma siano geneticamente "predisposti" alla magrezza. Ciò è evidente anche in termini clinici: le pazienti con AN tendono a non avere casi di obesità in famiglia, al contrario, per esempio, delle pazienti con BN.

La struttura genetica dell'AN, perciò, ha significative correlazioni con tratti metabolici e antropometrici: questi risultati incoraggiano a ricategorizzarla come una patologia metabolico-psichiatrica e comporta la necessità di prestare attenzione, nella terapia, ad entrambe le sfaccettature.

Altre analisi genetiche si sono concentrate sulla valutazione di singoli geni noti: una tra queste aveva come obiettivo di valutare se *catechol-O-methyltransferase (COMT)*, nello specifico il polimorfismo *Val158Met*, fosse associato ai Disturbi del Comportamento Alimentare (DCA) [18].

Il rationale di tale indagine risiede nel ruolo centrale che il signaling dopaminergico assume per il comportamento dell'uomo: la variante *Val158Met* è una delle più studiate in psichiatria proprio per la sua capacità di influenzare la condotta esecutiva e cognitiva [36]. Posta la rilevanza del metabolismo della dopamina nel lobo limbico, nei pathways esecutivi-associativi e, dall'altro lato, posto il noto coinvolgimento dei circuiti striatali e prefrontali nella patofisiologia dei DCA, era necessario eseguire una metanalisi che dimostrasse se il polimorfismo *Val158Met* differisse in frequenza tra pazienti con DCA e controlli. Ciò, se confermato, avrebbe chiarito ulteriori aspetti della patogenesi e aperto la strada a nuovi approcci terapeutici. Tuttavia non vi sono differenze significative tra pazienti e controlli rispetto agli alleli *COMT Val158Met* e al genotipo.

Anche in "*Clinical and genetic correlates of decision making in anorexia nervosa*" [96], nell'analizzare il substrato genetico del processo di *decision making* nell'AN, si evidenzia che non vi è alcuna significatività nella relazione tra alterazione neuropsicologica e genotipo *Val158Met* di *COMT*. Ciononostante, si è esplorato anche un secondo gene: il polimorfismo nel promotore del gene Trasportatore della Serotonina (5-HTTLPR).

Già dagli anni '90, con "*Serotonin transporter linked polymorphic region in anorexia nervosa and bulimia nervosa*" [28], era emerso un possibile coinvolgimento, in merito alle basi biologiche dei DCA, della serotonina (5-HT), verosimile responsabile della modulazione del comportamento alimentare. In precedenza si era dimostrata l'alterazione di attività nei pazienti con tali disturbi, l'efficacia degli inibitori del reuptake della 5-HT nel trattamento, la possibile persistenza di disregolazione dopo la guarigione. Nello specifico, vi sono due principali varianti di interesse, site all'interno della regione del promotore (5-HTTLPR):

- *s*: short variant, con delezione;
- *l*: long variant, con inserzione.

Studi in vitro hanno dimostrato che hanno differenti proprietà: la variante *l* ha attività trascrizionale più che doppia rispetto ad *s*. Osservando la distribuzione delle frequenze di genotipo e alleli [68], si nota un'associazione positiva tra 5-HTTLPR e AN, indipendentemente dal sottotipo.

Nel 2016, tuttavia, la metanalisi "*Serotonin transporter gene polymorphism in eating disorders: Data from a new biobank and META-analysis of previous studies*" [92] indaga ulteriormente l'associazione tra 5-HTTLPR e DCA: con l'ausilio della biobanca italiana BIOVEDA, si è costituito un campo di analisi di 3736 pazienti e 2707 controlli totali, concludendo che 5-HTTLPR non sembra associarsi ai DCA, nè a AN o BN nello specifico.

1.4.3 I fattori di rischio perinatali per l'AN

Numerose complicanze ostetriche e perinatali sono predittori indipendenti di sviluppo di AN: anemia materna, diabete mellito, preeclampsia, infarto placentare, problemi cardiaci e iporeattività neonatale [39]. Inoltre, il rischio di sviluppo di AN aumenta all'aumentare del numero di complicanze ostetriche così come la precocità di esordio ($p = 0.03$).

Si ipotizza che il meccanismo sia da riferirsi non soltanto ad una ovvia vulnerabilità dello sviluppo cerebrale in caso di ritardo di crescita: quest'ultimo, infatti, è segno di una possibile alterazione del neurosviluppo, come ipotizzato per altre patologie psichiatriche, ma anche di compromissione metabolica durante un periodo critico di accrescimento. Da qui, potrebbe derivare un'alterazione nella programmazione di importanti funzioni fisiologiche ed endocrinologiche, tra cui l'aumentato rischio, in

soggetti vulnerabili, di obesità e sintomi depressivi. Quindi, le evidenze emerse nello studio di riferimento, *"Perinatal factors and the risk of developing anorexia nervosa and bulimia nervosa"* [39], fanno presupporre che effettivamente sia presente un rischio significativamente elevato di sviluppare un DCA per i soggetti con specifici tipi di complicanze ostetriche e che nella patogenesi sia centrale la compromissione del neurosviluppo.

1.5 Comorbilità

"Un disturbo del comportamento alimentare può essere considerato come una canoa diretta alle cascate del Niagara. L'entrata nella canoa può essere volontaria, ma dopo un po' è il fiume a prenderne il controllo" [2].

In medicina la comorbilità è definita come "ogni distinta entità clinica aggiuntiva, che c'è stata o che può comparire durante il decorso clinico di un paziente che ha la malattia indice sotto osservazione". Diversamente da altri disturbi psichiatrici, i DCA hanno un'alta prevalenza di concomitanti complicanze mediche: in particolare, nei pazienti con AN, esse sono parte integrante della patologia e interessano ogni apparato, seguendo lo stato di progressiva malnutrizione. Alcune di esse hanno effetti avversi permanenti anche dopo un adeguato programma di riabilitazione nutrizionale e recupero del peso.

Nell'AN spesso vi sono anche affezioni fisiologiche "generali" come ipotensione, bradicardia e ipotermia. Le comorbilità mediche rendono ragione di più della metà delle morti: è noto, infatti, che il rate di mortalità standardizzato nell'AN è da 10 a 12 volte maggiore rispetto a quello della popolazione generale, tanto che si configura come il disturbo psichiatrico con la più alta mortalità per complicanze [70].

Si tratta di conseguenze dirette della perdita di peso e della malnutrizione: il catabolismo proteico e lipidico comporta una perdita di volume e funzione cellulare, dando origine agli effetti avversi e alla degenerazione atrofica di cuore, cervello, fegato, intestino e muscoli. I fattori di rischio primari per lo sviluppo di complicanze mediche sono la severità e cronicità della malattia. Sembrano essere implicati anche fattori socio-demografici non noti. In generale, le comorbilità dell'AN possono essere divise in due grandi gruppi: mediche e psichiatriche.

1.5.1 Comorbidità mediche

L'AN comporta nei pazienti una serie di complicanze mediche di grande impatto, alcune delle quali, a volte, nemmeno reversibili con il trattamento. Già dal 1993 [12], molte di queste erano state individuate e categorizzate secondo l'apparato coinvolto. Come si nota in Tabella I, l'interessamento è di tutto l'organismo, nessun apparato viene risparmiato.

Tra le complicanze più rilevanti si sottolineano [102]:

- *Complicanze cardiache*: la morte improvvisa può giustificare fino al 60% delle morti nei pazienti con AN, si ipotizza che si tratti di alterazioni della conduzione e della ripolarizzazione. L'AN severa è in grado di determinare anche modificazioni strutturali del miocardio: atrofia del ventricolo sinistro con conseguente dilatazione dell'anulus e prollasso della mitrale. In termini funzionali, comunque, non vi è riduzione della frazione di eiezione. Tali condizioni si sono dimostrate reversibili con la rialimentazione.
- *Osteoporosi*: complicanza muscoloscheletrica tanto grave quanto precoce: la riduzione di densità minerale ossea è evidente già dopo un anno dall'esordio dell'AN con notevole rischio di fratture patologiche. A differenza dell'osteoporosi post-menopausale, quella in corso di AN è dovuta sia all'aumento di riassorbimento osseo che alla riduzione della sua sintesi. In termini ormonali, ciò è da imputarsi alla combinazione di: ipogonadismo, ipercortisolismo, resistenza all'ormone della crescita, età adolescenziale (tipica di esordio).
- *Sindrome da refeeding*: complicanza più temuta e potenzialmente mortale che compare quando vi è il passaggio da uno stato catabolico prolungato/severo ad uno anabolico; può essere definita come lo spostamento (shift) di fluidi ed elettroliti in caso di nutrizione artificiale in un paziente gravemente malnutrito. Tale shift dipende da cambiamenti ormonali e metabolici e, solitamente, si presenta a 8-10 giorni dall'inizio della rialimentazione. Il principale marker di questa sindrome è l'ipofosfatemia. Quindi, è fondamentale che vi sia un graduale aumento dell'apporto calorico accompagnato da un attento monitoraggio del peso, dei segni vitali e del bilancio idro-elettrolitico [69].

Tabella I: Tabella delle comorbidità mediche dell'AN, tratta da [12] modificato e integrato con [70].

Apparato	Segni e Sintomi
Orofacciale	Carie dentali, ipertrofia parotidea
Cardiovascolare	Ipotensione, sincope, anormalità all'ECG (bassi voltaggi, QT allungato), bradicardia sinusale, aritmie atrio-ventricolari, morte improvvisa aritmica, sindrome da refeeding, modificazioni del ventricolo sinistro (diminuzione di massa e dimensioni cavitare), prollasso mitralico, alterazioni ecocardiografiche
Gastrointestinale	Esofagiti, ematemesi (inclusa la sindrome di Mallory-Weiss), pancreatite da refeeding, disfagia, ritardato svuotamento gastrico, diminuita motilità intestinale, costipazione, prollasso rettale, dilatazione e rottura gastrica, alterazioni ai test di funzionamento epatico, elevata amilasi sierica, sindrome della mesenterica superiore
Endocrino e Metabolico	Ipokaliemia, iponatriemia, ipomagnesemia, iperfosfatemia, ipoglicemia, ipotermia, sindrome del "malato eutiroideo" (con TSH normale e T3-T4 ridotti), ipercortisolismo e cortisoloria, bassi livelli di estradiolo sierico, diminuito testosterone sierico, amenorrea/oligomenorrea, pubertà ritardata, arresto di crescita, osteoporosi, alterazione lipidica, anormalità tiroidee, diabete insipido neurogenico [86]
Renale	Calcoli renali
Riproduttivo	Infertilità, insufficiente aumento di peso in gravidanza, neonato sottopeso alla nascita
Dermatologico	Pelle e capelli secchi, alopecia, ipercarotemia, abrasioni delle mani, prurito associato all'inedia (" <i>starvation-associated</i> ")
Neurologico	Neuropatia periferica, atrofia corticale reversibile, ingrandimento ventricolare
Ematologico	Anemia, leucopenia, neutropenia, trombocitopenia, VES diminuita
Polmonare	Polmonite ab ingestis, insufficienza respiratoria, pneumotorace spontaneo, enfisema polmonare

1.5.2 Comorbidità psichiatriche

Nei pazienti con AN emergono anche comorbidità psichiatriche, risultato di un alterato metabolismo dei neurotrasmettitori o di cambiamenti endocrini da deprivazione calorica: si stima che il 50% dei pazienti adolescenti soddisfi i criteri per almeno un'ulteriore patologia psichiatrica. I DCA sono strettamente associati ai disturbi d'umore e d'ansia: tipo e severità sono direttamente proporzionali alla gravità dell'AN stessa [70].

Nel dettaglio:

- *Disturbi dell'umore, Disturbo depressivo maggiore (MDD)*: i pazienti con AN hanno disturbi dell'umore nel 60.4% [82]. Studi specifici per MDD quantificano la sua prevalenza al 72.9% (34.5% riportano un esordio di MDD precedente al DCA) [42]. La presentazione clinica è sotto forma di agitazione psicomotoria e pensieri di morte;
- *Disturbi d'ansia*: maggiormente frequenti nei soggetti con DCA rispetto alla popolazione generale; spesso precedono l'esordio dell'AN e si ipotizza che tanto più precoce sia, tanto maggiore sarà il rischio di sviluppo del DCA. La prevalenza è del 23%-75% [95]. La comorbidità maggiore è stata osservata per fobia sociale (16-88.2% nell'AN) e DOC (si noti che attualmente, secondo il DSM-5, il DOC non rientra più nella categoria dei disturbi d'ansia);
- *Disturbo Ossessivo-Compulsivo (DOC)*: solitamente il DOC precede l'esordio di DCA, configurandosi come possibile fattore di rischio. L'overlap di questi due disturbi è imputabile ad elementi neurobiologici, genetici e psicologici comuni. Alcune indagini quantificano fino al 50-100% i pazienti con AN che hanno caratteristiche ossessive o compulsive. In termini funzionali, i comportamenti compulsivi riducono i livelli d'ansia: si ipotizza che la medesima funzione sia ricoperta nei DCA, anche se ciò non giustifica la differenza tra egodistonicità del DOC e la natura egosintonica del DCA [95];
- *Disturbi da uso di sostanze*: nei pazienti con AN sono stimati all'8.9%, le principali sostanze sono psicostimolanti e alcol [82];
- *Rischio di Suicidio*: in uno studio di 432 pazienti con AN, il 16.9% ha tentato il suicidio [16];

- *Schizofrenia*: l'AN interessa 1-4% dei pazienti con schizofrenia, e quest'ultima è presente nel 13% dei pazienti con DCA. L'AN, solitamente, precede la psicosi o si manifesta nella sua fase attiva.

1.6 Diagnosi differenziale

Nella valutazione di un paziente per sospetta AN, è necessario prendere in considerazione altre cause potenzialmente responsabili di un peso corporeo significativamente basso o della significativa perdita di peso, soprattutto per quadri atipici [78].

Le principali diagnosi differenziali sono:

- Condizioni mediche: tra cui malattie gastroenteriche, ipertiroidismo, neoplasie, AIDS. In tali individui non si verifica uno squilibrio nel modo in cui percepiscono il peso o la forma del proprio corpo;
- Disturbo depressivo maggiore: il basso peso non si associa al desiderio eccessivo di perderne né alla paura che aumenti;
- Schizofrenia: può essere caratterizzata da bizzarri comportamenti alimentari e da un'importante perdita di peso ma mancano sia la paura di prendere peso sia la distorsione dell'immagine corporea;
- Disturbi da uso di sostanze: possono determinare scarso apporto nutrizionale con perdita di peso ma non vi è la paura di aumentarlo né alcuna distorsione dell'immagine corporea. È utile prestare attenzione alle sostanze d'abuso che riducono l'appetito (es. cocaina o stimolanti) e a coloro che manifestano la paura di aumento di peso, dato che l'AN è in comorbilità, significativamente, con il disturbo da uso di sostanze e che quest'ultimo può rappresentare un comportamento persistente che interferisce con l'aumento di peso;
- Disturbo d'ansia sociale (fobia sociale), DOC e disturbo da dismorfismo corporeo: alcune caratteristiche diagnostiche per AN possono confondersi con i criteri per i disturbi d'ansia; ad esempio la fobia del mangiare in pubblico, le ossessioni e le compulsioni legate agli alimenti, l'eccessiva preoccupazione per difetti del proprio aspetto fisico. La diagnostica differenziale si fonda sull'individuazione del contesto in cui tali disturbi si presentano;

- **Bulimia nervosa:** i pazienti con BN manifestano episodi ricorrenti di abbuffata seguiti da inappropriate condotte per contrastare l'aumento di peso, oltre a preoccupazioni per la forma e il peso del corpo. Contrariamente ai pazienti con AN sottotipo abbuffate/condotte di eliminazione, nella BN essi mantengono un peso corporeo maggiore o uguale a quello minimo normale;
- **Disturbo evitante/restrittivo dell'assunzione di cibo:** i pazienti con tale condizione possono avere una rilevante perdita di peso o deficit nutrizionali ma non temono di diventare grassi nè hanno distorsioni della propria immagine corporea.

1.7 Markers diagnostici

Come evidenziato anche nella Sezione 1.5, vi sono alcune anomalie nei dati di laboratorio, osservabili nei pazienti con AN, la cui presenza aumenta l'affidabilità diagnostica [78]. Gli esempi principali sono:

- **Ematici:** la leucopenia è comune, spesso associata a lieve anemia;
- **Biochimici:** la disidratazione può determinare un aumento dell'azoto ureico ematico e ipercolesterolemia. In caso di vomito autodotato, anche alcalosi metabolica da aumento dei bicarbonati plasmatici, ipocloremia e ipopotassiemia; l'abuso di lassativi, al contrario, può dare acidosi metabolica lieve;
- **Endocrini:** i livelli ematici di T4 e T3 sono bassi. Nelle femmine vi sono basse concentrazioni di estrogeni, nei maschi di testosterone;
- **ECG:** la bradicardia sinusale è comune, raramente vi sono aritmie;
- **Massa ossea:** bassa densità minerale ossea, con aree di osteopatia o osteoporosi e rischio di frattura patologica elevato;
- **Segni e sintomi fisici:** amenorrea, stipsi, dolori addominali, intolleranza al freddo, letargia. All'esame obiettivo la caratteristica più evidente è l'emaciazione, associata a ipotensione, bradicardia e ipotermia. Possono svilupparsi edemi periferici con il recupero di peso

o alla sospensione dell'abuso di lassativi o diuretici. In caso di vomito autoindotto, si osservano ipertrofia delle parotidi ed erosione dello smalto dentario [78].

1.8 Prevenzione e DCA

Vi è un grande dibattito sull'utilità della prevenzione primaria nel campo dei DCA, in particolare nelle scuole: infatti, alcune osservazioni fanno pensare che tale pratica possa persino risultare dannosa [47]. Tuttavia, vi sono delle indicazioni generali:

- 1: devono essere svolti da personale esperto nel campo della prevenzione;
- 2: la prevenzione primaria non ha un buon rapporto costo/beneficio a meno che non venga effettuata su popolazioni a rischio.



FIGURA 1.6

Ad oggi, gli unici protocolli validi si basano sulla *dissonanza cognitiva* nei confronti degli ideali di magrezza veicolati dai mass-media. Nelle altre occasioni è più opportuno investire nella prevenzione secondaria: sensibilizzazione, iniziative contro lo stigma, diagnosi e trattamento precoce. Al fine di sensibilizzare la popolazione, posto che la prevenzione non può esistere senza "conoscere", nel 2012 in Italia è stata istituita la Giornata Nazionale del Fiocchetto Lilla, dedicata ai DCA, che ricorre ogni 15 marzo, Fig. 1.6.

1.9 Terapia: il modello "a passi successivi"

Il luogo ideale per il trattamento dei DCA è il contesto ambulatoriale, in quanto non interferisce con la quotidianità del paziente e favorisce il mantenimento degli obiettivi raggiunti. Il TOuCAN trial, infatti, ha dimostrato quanto maggiore sia l'aderenza alla terapia dei pazienti trattati nel territorio rispetto ai ricoverati [49].

Il 30% dei pazienti, tuttavia, non risponde al trattamento ambulatoriale. I livelli di intervento per progressiva gravità sono: medico di medicina

generale o pediatra; terapia ambulatoriale specialistica; terapia ambulatoriale intensiva; riabilitazione intensiva residenziale; ricovero.

Il principio, quindi, è che i pazienti debbano iniziare il percorso terapeutico dal livello meno intensivo e accedere ai trattamenti più intensivi in caso di mancato miglioramento, secondo un modello "a passi successivi". Tali servizi sono parte di una rete assistenziale, articolata sia longitudinalmente che trasversalmente: l'organizzazione di tali iter, centrati sul paziente, si deve basare sul principio di continuità terapeutica.

1.9.1 Trattamento

All'inizio del percorso diagnostico-terapeutico si effettuano [83]:

- (1) anamnesi personale e familiare;
- (2) valutazione delle condizioni organiche con esami di laboratorio;
- (3) esame psichico circa il rischio di suicidio e comportamenti autolesivi;
- (4) valutazione della famiglia e suo coinvolgimento nel percorso di cura.

La base della terapia dei DCA è la multidisciplinarietà, necessaria perché tali disturbi richiedono un ampio spettro di interventi. La diagnosi tempestiva migliora la prognosi agendo prima che i fattori di mantenimento e la neuroprogressione rendano difficile la guarigione, ostacolando la cronicizzazione. L'approccio psichiatrico è il cardine del trattamento e la sua base è la creazione di un'alleanza terapeutica [8]; diviene poi centro di coordinazione di tutte le altre modalità di cura.

Psicoterapia e Terapia Farmacologica

Si raccomanda una gestione psicoterapica durante la fase acuta, nella rialimentazione e nel recupero del peso, ma anche in seguito. La tecnica più utilizzata è la Cognitive Behavioral Therapy (CBT).

Vi è evidenza limitata in merito all'uso di farmaci per il recupero del peso, la prevenzione delle recidive o il trattamento dell'AN cronicizzata. Si sono dimostrate utili, invece, supplementazioni ormonali e vitaminiche [8]. Si raccomandano terapie mirate alle complicanze mediche, con particolare attenzione all'apparato muscolo-scheletrico, per il quale le linee guida sottolineano l'importanza di garantire un'adeguata quota di proteine, calcio e vitamina D.

Capitolo 2

Neuroscienze e DCA

L'AN interessa maggiormente l'età adolescenziale, periodo caratterizzato dal raggiungimento di tappe fondamentali per lo sviluppo cerebrale. Quindi, che tipo di ripercussioni ha sul neurosviluppo? È possibile ricostruire il percorso con cui la corteccia si forma e aumenta il suo grado di complessità dal concepimento all'età adulta, Fig. 2.1. Lo sviluppo corticale implica processi di proliferazione, migrazione, arborizzazione e mielinizzazione: i primi due tipici della vita prenatale, gli altri in continuo attraverso le prime due decadi. L'effetto combinato di *pruning* neuronale e deposizione di mielina, sembra essere causa della progressiva riduzione di volume della sostanza grigia osservata con studi longitudinali. Tuttavia, le modificazioni locali sono più complesse: durante l'adolescenza tende ad aumentare la quota di sinapsi inibitorie e diminuire quella di sinapsi eccitatorie.

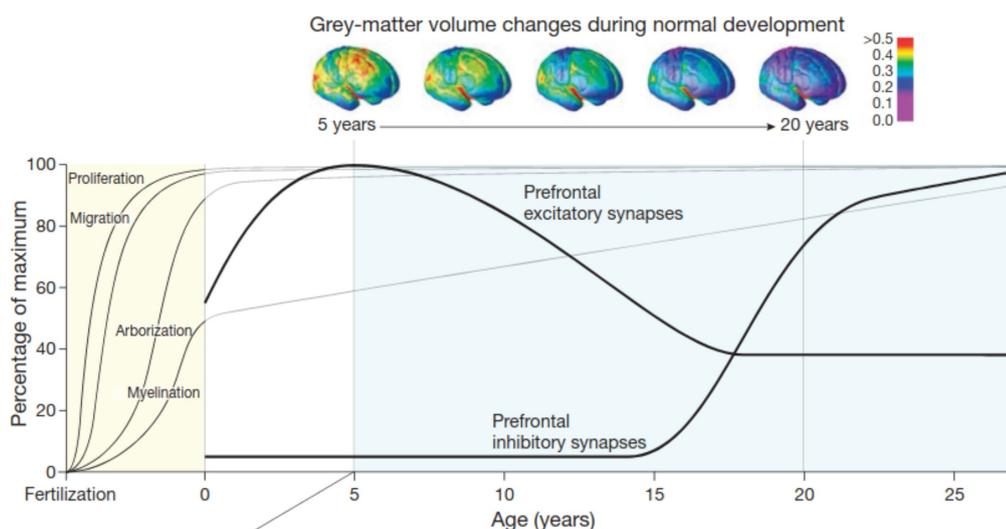


FIGURA 2.1: Il normale sviluppo corticale [52].

Il neurosviluppo è stato esplorato con studi di neuroimaging, condotti dal feto al bambino, con Risonanza Magnetica (RM) [11]. Tali rilevazioni sono utili per ripercorrere ab initio il percorso di configurazione di un sistema, quello cerebrale, di altissima complessità, al fine di cogliere, per contrasto, su quali aspetti la malattia vada ad impattare.

Nell'analisi si è rilevato che, per settimane di gestazione:

- 16-18 settimane: la corteccia è liscia, la sostanza bianca è sottile;
- 18-20 settimane: la sostanza bianca si espande ed è evidenziabile come banda iperintensa;
- 22-24 settimane: la scissura Silviana è ben riconoscibile; la "germinal matrix", regione da cui le cellule germinali migrano, diminuisce di dimensioni e si colloca nelle pareti dei ventricoli laterali. Dalla 24esima settimana sono visibili i solchi: parietoccipitale, calcarino, cingolato, ippocampale; i restanti dalla 28esima settimana;
- 28 settimane in poi: le scissure Silviiane sono facilmente riconoscibili; sono presenti multiple circonvoluzioni e solchi, Fig. 2.2. Da qui al termine, si formeranno altri solchi che andranno estendendosi in profondità all'interno della sostanza bianca.

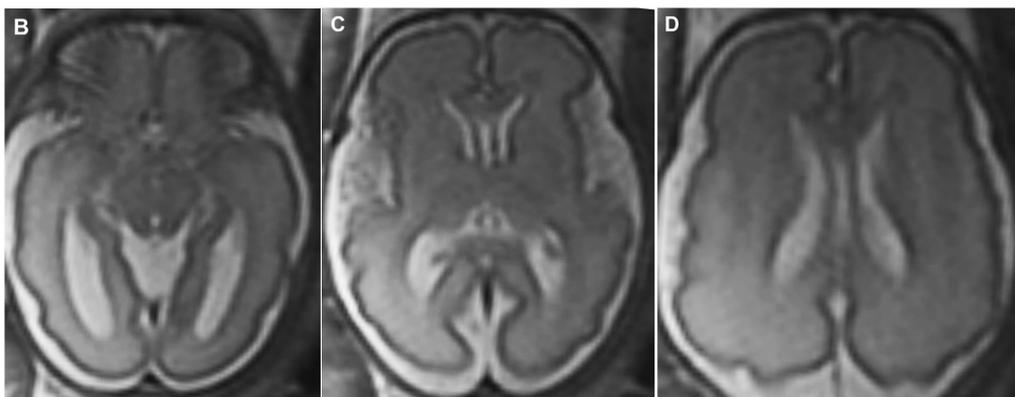


FIGURA 2.2: RM cerebrale, 28 settimane di gestazione: numerose ampie circonvoluzioni, solchi poco profondi [11].

Nella vita post-natale i processi di mielinizzazione, formazione dei solchi e creazione della sostanza grigia, proseguono: intorno ai 2 anni di età, il cervello ha raggiunto una conformazione da adulto in RM.

Come rilevare quanto l'AN interferisce con le normali traiettorie di sviluppo cerebrale?

Ambito poco esplorato è quello di ricerca di metodi in grado di rilevare oggettivamente quanto l'AN vada ad interferire con le normali traiettorie di neurosviluppo, misurandole. Vi sono due macro settori di studio:

- *Strutturale*: indagini di imaging, ossia Voxel-Based Morphometry (VBM), Surface-Based Morphometry (SBM), Diffusion Tensor Imaging (DTI);
- *Funzionale*: indagini sulle funzioni esecutive e coerenza centrale.

2.1 Tecniche di neuroimaging: VBM, SBM

Il neuroimaging è lo strumento chiave per indagare le potenziali alterazioni corticali imputabili all'AN: la RM permette di disporre di immagini ad elevata risoluzione poi processate da analizzatori automatizzati sempre più raffinati. Le caratteristiche morfo-strutturali principalmente indagabili sono: volume, spessore corticale, girificazione.

L'obiettivo di queste analisi non è puramente descrittivo: il dato strutturale emerso è punto di partenza anatomico che, integrato con dati clinici, neuropsicologici e funzionali, può portare alla comprensione dei meccanismi neurobiologici della patologia.

Più specificamente, le tecniche di RM-T1 pesata utilizzate per la valutazione dei pazienti con AN sono: Voxel-Based Morphometry (VBM), Surface-Based Morphometry (SBM), Diffusion Tensor Imaging (DTI).

2.1.1 Voxel-Based Morphometry (VBM)

La VBM esegue test statistici attraverso tutti i voxel in cui l'immagine in RM viene suddivisa per identificare differenze di volume tra gruppi in analisi. Con "voxel" (volumetric picture element) si intende un'unità di misura del volume, la controparte tridimensionale del pixel, Fig. 2.3.

La tecnica ha contribuito alla comprensione dei cambiamenti cerebrali nel contesto di patologie di interesse neurologico e psichiatrico. Le informazioni che la VBM fornisce, sono l'esito della quantificazione automatizzata di densità e volume dei tre principali compartimenti tissutali

cerebrali, Gray Matter (GM), White Matter (WM) e Cerebrospinal Fluid (CSF), a partire dai gradienti di intensità di segnale registrati. Le immagini ad alta risoluzione ottenute con RM-T1 pesata, vengono normalizzate secondo un modello, template, poi segmentate in GM e WM e confrontate con gli altri gruppi in studio. Si tratta, perciò, della misura di differenze volumetriche basate su un confronto statistico tra gruppi, al fine di rilevare se uno specifico voxel possieda o meno un'intensità differente in un gruppo rispetto ad un altro. Ne consegue che le informazioni ottenibili abbiano valenza non per il singolo ma a livello di una categoria di pazienti o per una patologia in generale.

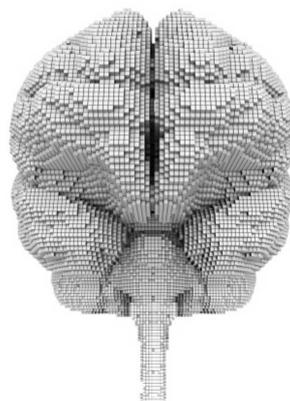


FIGURA 2.3: Encefalo in voxel.

La VBM è una tecnica whole-brain che restituisce una fotografia completa delle differenze neuroanatomiche senza privilegiarne una regione [7].

I suoi limiti sono: possibile presenza di diversi tipi di intensità di segnale di RM, eterogeneità dei campioni e loro esiguità, modalità differenti di raccolta e normalizzazione delle immagini. È intuibile, inoltre, il rischio che si operi un'eccessiva semplificazione dell'estrema complessità corticale dovuta alla limitata risoluzione della griglia di voxel.

In sintesi, la VBM è una metodica più semplice metodologicamente e più tradizionale. Ecco che, le indagini di neuroimaging si sono orientate sempre più verso la SBM, la quale fa uso di modelli geometrici da cui ricavare due componenti bidimensionali indipendenti, geneticamente e fenotipicamente: la Cortical Thickness (CT) e l'area superficiale [3].

2.1.2 Surface-Based Morphometry (SBM)

La tecnica di SBM ha l'obiettivo di ricreare fedelmente la corteccia cerebrale, tridimensionale, secondo un modello bidimensionale: implica un maggior carico di data processing, affidato a software.

I principali dati ottenibili sono: spessore corticale (CT), area della superficie piale, curvatura corticale, indice di girificazione (IGI).

Tra i software più utilizzati vi è *FreeSurfer* [43, 17], che fornisce algoritmi per quantificare le proprietà funzionali, di connettività e strutturali

del cervello umano. Nato con il fine di generare rappresentazioni corticali di superficie, recentemente è evoluto al punto di riuscire a generare automaticamente modelli di gran parte delle strutture cerebrali macroscopicamente visibili, a partire da un'immagine RM T1-pesata. È open source e disponibile gratuitamente.

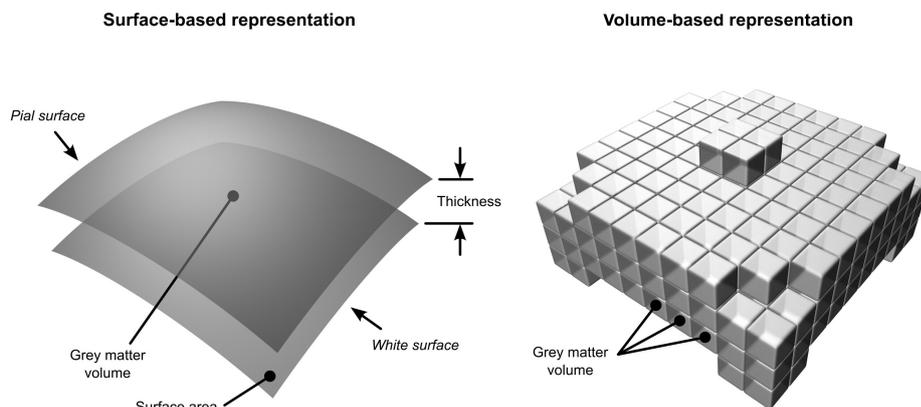


FIGURA 2.4: Confronto grafico tra cardini di elaborazione di SBM, a sinistra, e VBM, a destra [3].

Dalle immagini RM-T1 ottenute, come per la VBM, viene eseguita una normalizzazione con un template di riferimento, seguita dalla segmentazione in GM, WM e CSF dopo aver rimosso tutte le immagini artefattuali (processo di *Skull Strip*). Poi viene praticata l'insufflazione della superficie piaie, *Surface Inflation*, facendo scomparire scissure e solchi, Fig. 2.7. Da qui, numerosi sono gli indici ottenibili, nello specifico:

- **CT:** Cortical Thickness, rappresenta la distanza tra il limite di divisione tra WM/GM e tra GM/superficie piaie;
- **CSA:** l'area totale della superficie che comprende una regione cerebrale. Può essere suddivisa in giri e solchi:
 - giro:** area della superficie corticale esposta;
 - solco:** area della superficie corticale non esposta;
- **GI:** Girification Index, il grado di *foldings* corticale, che è ottenuto come rapporto tra il profilo corticale totale e quello esterno, Fig. 2.14.

La girificazione è un indice di organizzazione cerebrale, infatti il Gyrification Index (GI) correla con la dimensione cerebrale totale e la quantità di circonvoluzioni è rilevante per lo sviluppo dei networks neuronali. La CT rappresenta l'arborizzazione dendritica e il pruning di GM, la CSA è relata al mantenimento e alla divisione delle cellule progenitrici [61].

FreeSurfer

Il software *FreeSurfer* suddivide e rappresenta la corteccia come una rete di piccoli triangoli, in Fig. 2.6A, i cui vertici corrispondono a coordinate cartesiane: così è possibile definire matematicamente la posizione di ogni punto nell'intera superficie corticale. Geometricamente, l'area della superficie corticale corrisponde alla somma delle aree dei triangoli [44]. Il calcolo del volume di GM è il prodotto tra area di superficie e CT, sapendo che la CT, a sua volta e come detto in precedenza, è la distanza tra i vertici della superficie piale e quelli della sostanza bianca sottostante. Il GI viene calcolato per una precisa Region Of Interest (ROI), come rapporto tra il profilo esterno ed interno della corteccia in visione coronale; tale metodo permette di approssimare il grado globale di girificazione. Recentemente, il medesimo principio è stato esteso alla tridimensionalità, ed è quindi definito come rapporto tra area di superficie piale ed esterna, "enclosing area", in Fig. 2.14 e Fig. 4.2 [73].

Altro parametro in grado di esprimere informazioni circa la girificazione è il folding pattern, ossia il modello di convoluzione, che codificato in senso bidimensionale, può essere rappresentato come un alternarsi di giri e solchi, quindi di "altezze" e "profondità" rispetto ad un asse centrale, come in Fig. 2.6B [89]. Al fine di localizzare in termini neuroanatomici ogni ROI, si esegue un'associazione automatica che crea corrispondenze tra ogni vertice individuato nella trama di triangoli e una specifica regione tratta da un atlante, disponibile sotto forma di dataset [57, 27], Fig. 2.5.

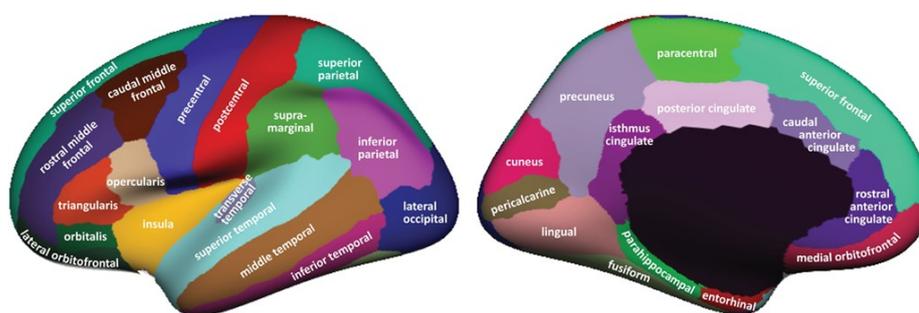


FIGURA 2.5: Utilizzo di un probabilistic atlas per mappare le ROI [57].

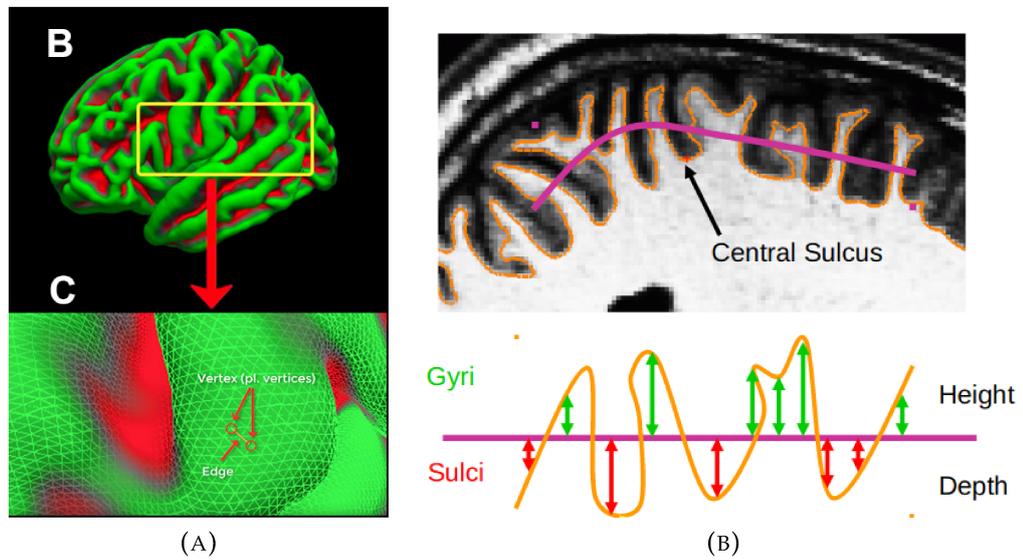


FIGURA 2.6: (A) Corteccia come una rete di triangoli [44]. In rosso i solchi, in verde le circonvoluzioni; (B) folding pattern: altezza e profondità rispetto al solco centrale [89].

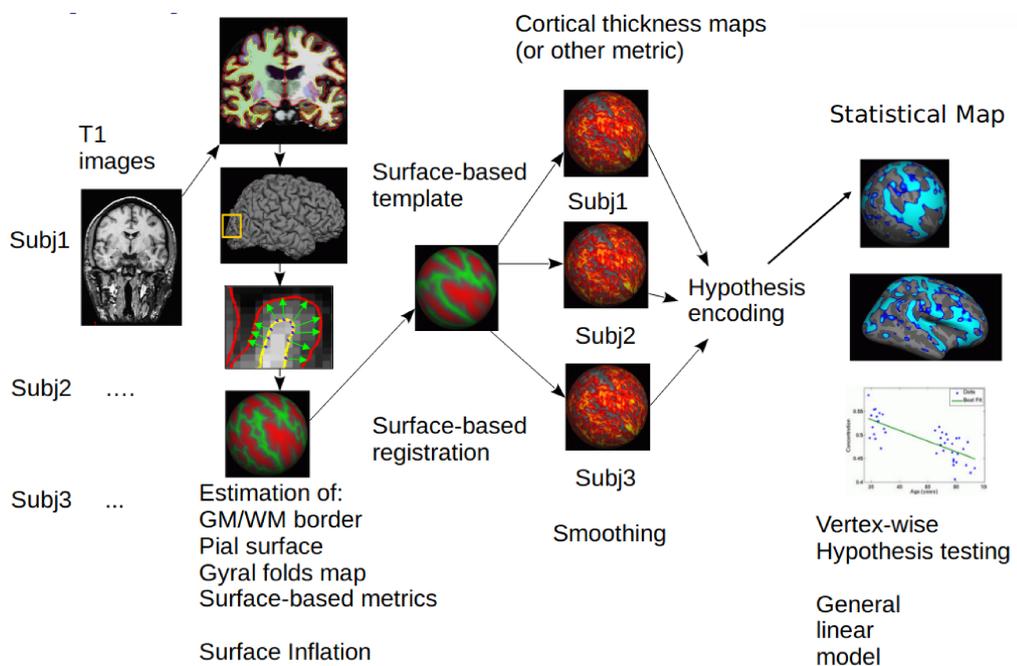


FIGURA 2.7: Rappresentazione schematica delle varie fasi di elaborazione dell'immagine RM-T1 nella SBM [89].

2.2 Neuroimaging: strutturale e funzionale

2.2.1 La fisiologica evoluzione del tessuto cerebrale

Grazie agli studi di neuroimaging, è stato possibile valutare l'evoluzione delle varie componenti del tessuto cerebrale nel corso della vita [62].

Utilizzando la tecnica DTI è stato possibile costruire quattro curve di volume, Fig. 2.8, una per ogni macro-componente cerebrale.

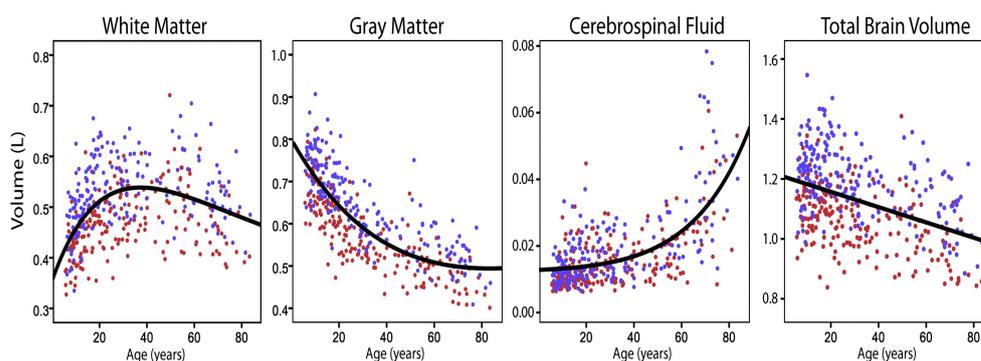


FIGURA 2.8: Modificazioni del volume del tessuto cerebrale nel corso della vita. I colori differenti indicano sesso maschile e femminile. Da sinistra: WM, GM, CSF, TBV [62].

Si notino le cinetiche delle quattro rappresentazioni: la sostanza bianca raggiunge il suo picco intorno ai 37 anni; la sostanza grigia si colloca al massimo del suo declino intorno ai 50 anni, poi rimane stabile; il volume del liquor aumenta all'aumentare dell'età; il *Total Brain Volume* diminuisce progressivamente con l'età [62].

Grazie alle tecniche di neuroimaging, è stato possibile osservare anche l'evoluzione della corteccia, la quale comprende regioni con crescita differente, matematicamente riassumibili in tre categorie di traiettoria di sviluppo: cubica, quadratica, lineare [88]. Regioni corticali con struttura laminare semplice, tra cui le aree limbiche, hanno traiettorie di sviluppo più lineari; al contrario, aree corticali ad alto grado di associazione, le più complesse per architettura laminare, hanno traiettorie di sviluppo più articolate. La variabile che viene messa in relazione con l'età [81] è lo spessore corticale, *Cortical Thickness*.

Come rappresentato in Fig. 2.9, la traiettoria di sviluppo corticale è:

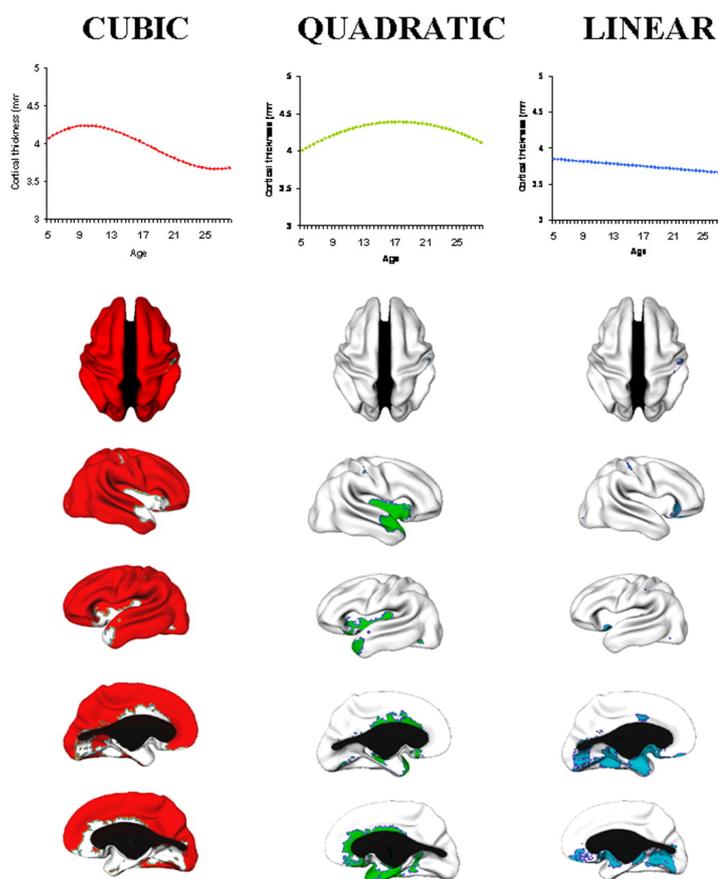


FIGURA 2.9: Evoluzione differenziale della corteccia secondo tre modelli: cubico, quadratico, lineare. Il corpo calloso è evidenziato in nero [88].

- **Cubica:** gran parte della corteccia frontale laterale, temporale laterale, parietale e occipitale, tutte regioni caratterizzate dalla neocorteccia (*isocortex*, ossia completa di tutti i sei strati) seguono uno sviluppo con traiettoria cubica dello spessore corticale, ovvero un periodo di iniziale aumento nell'infanzia, seguito da un declino in adolescenza e una stabilizzazione nell'età adulta;
- **Quadratica:** la cinetica di sviluppo con soltanto una fase di aumento e una di diminuzione, mancante della stabilizzazione, si ritrova nell'insula e nel cingolato anteriore;
- **Lineare:** la traiettoria lineare è stata osservata nell'opercolo orbito-frontale posteriore e frontale, porzioni della corteccia piriforme, la corteccia temporale mediale, le aree del cingolato subgenuale e la corteccia occipito-temporale mediale.

2.2.2 Il neuroimaging nell'AN

Numerosi studi hanno dimostrato l'impatto che l'AN ha a livello cerebrale, in particolare sulla corteccia: si rileva una generale diminuzione di trofismo corticale che è più propriamente definibile "pseudoatrofia", data la sua rapida reversibilità post-trattamento [87, 14, 6, 1, 80].

Lo studio *"Brain morphological changes in adolescent and adult patients with anorexia nervosa"* [87] del 2016 conferma che nell'AN acuta, sia GM che WM sono ridotte, più nell'adolescente rispetto all'adulto. Il recupero per la WM è molto più rapido rispetto a quello della GM ed entrambi paiono essere completi, Fig. 2.10.



FIGURA 2.10: RM-T1: AN acuta (con allargamento cavità liquorali), post-recupero del peso, controlli [87].

Anche lo studio *"Weight restoration therapy rapidly reverses cortical thinning in anorexia nervosa: A longitudinal study"* [14] sostiene che nei pazienti con AN acuta vi è una riduzione della GM reversibile al successivo recupero del peso; i meccanismi di tale processo rimangono ancora ignoti. L'analisi comprendeva tre tipologie di soggetti valutati: pazienti con malattia acuta, pazienti *long-term recovered* e controlli sani.

Il primo gruppo è stato indagato longitudinalmente, ossia all'inizio della terapia di recupero del peso, e nuovamente dopo una parziale normalizzazione, intesa come incremento di almeno il 10% di BMI. Le immagini RM sono state elaborate con *FreeSurfer*: è emerso che nella malattia acuta vi è una riduzione globale di spessore corticale, il quale aumenta rapidamente (0.06 mm/mese) in seguito ad un breve periodo di trattamento di recupero del peso (3 mesi) e che tale andamento non è imputabile a nessun'altra variabile se non il peso; si escludono, quindi, la durata di malattia, lo stato di idratazione o il miglioramento della sintomatologia.

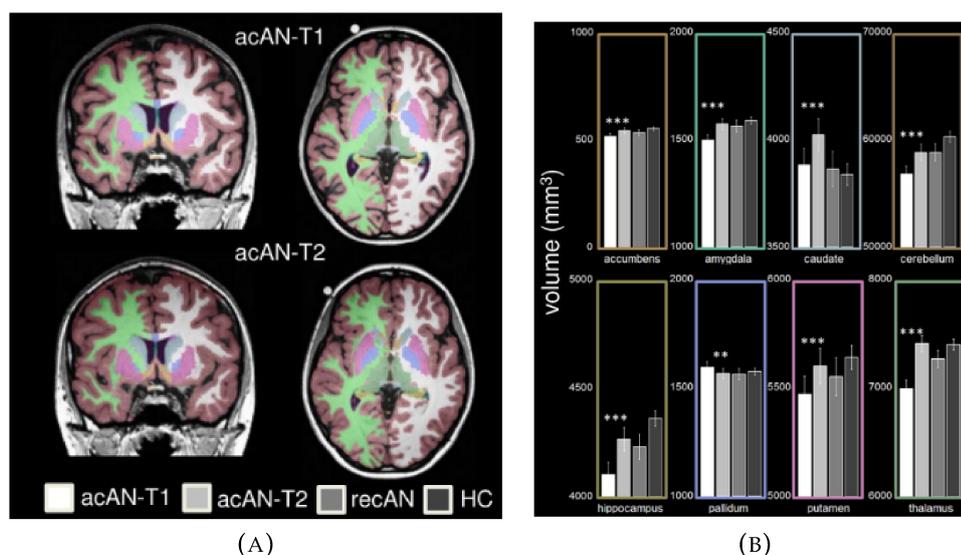


FIGURA 2.11: **(A)** La riduzione di volume di GM nell'AN si normalizza dopo parziale recupero del peso; **(B)** volumi medi stimati di 8 regioni subcorticali di interesse. Colonne: ANacuta-T1, ANacuta-T2, guariti, controlli sani [14].

Nella comparazione della CT tra pazienti con recupero parziale del peso e controlli sani, si conferma la sua normalizzazione già al follow-up, pattern che si ritrova anche nel recupero dei volumi subcorticali, Fig. 2.11. Tali aspetti orientano verso la necessità di trattare il più precocemente possibile l'AN, prima che cronicizzi, al fine di garantire la reversibilità completa delle alterazioni cerebrali. I meccanismi sottostanti tale pseudoatrofia non sono noti, sebbene vi siano numerose ipotesi:

- **stato di idratazione [94] e nutrizione [15]:** dall'osservazione clinica che i pazienti con AN minimizzano l'assunzione di liquidi per evitare la sensazione di "pienezza". Lo studio ne esclude il ruolo valutando lo stato di idratazione pre-RM con l'esame urine, risultato nella norma [54];
- **diminuita pressione osmotica colloidale:** ipotesi esclusa in quanto i valori di albumina nei pazienti con AN acuta sono nella norma;
- **perdita di cellule gliali o neuronali:** ipotesi esclusa data la normalità dei valori di S100B e GFAP, markers di danno e attivazione gliale. Tuttavia, anche ipotizzando che agiscano dei meccanismi di apoptosi, essi non risulterebbero compatibili con la rapidità del processo di recupero: si stima, infatti, che la velocità di neurogenesi

dopo la nascita sia di massimo 2% l'anno, contro un 4% in 3 mesi evidenziato nello studio;

- **sviluppo cerebrale:** è complicato distinguere tra effetti di sviluppo e insulti da malnutrizione o disregolazione neuroendocrina. Rimane vero che gli effetti della malnutrizione sono più rapidi [54];
- **alterazioni ormonali e di citochinesi,** che inibiscono la biosintesi proteica cerebrale e risultano nella perdita di dendriti, secondo studi su animali-modello. L'asse ipotalamo-ipofisi-surrene è iperattivo nell'AN; l'asse ipotalamo-ipofisi-tiroide è soppresso, così come quello ipotalamo-ipofisi-gonadi e la produzione di leptina derivata dagli adipociti. Gli steroidi gonadici, al di là delle funzioni sessuali, hanno un importante ruolo nello sviluppo cerebrale, soprattutto in adolescenza: l'estradiolo protegge i neuroni dall'eccitotossicità e stress ossidativo, oltre a promuovere la crescita dei dendriti, la sintesi dei neurotrasmettitori e la depolarizzazione neuronale [54];
- **cambiamenti dei neurotrasmettitori:** in particolare di serotonina e dopamina, che non soltanto influenzano il comportamento in relazione alla auto-consapevolezza e al reward direttamente, ma anche, indirettamente, la plasticità e la crescita neuronale e sinaptica [87];
- **fattori neurotrofici:** Neurotrophin brain-derived neurotrophic factor (BDNF), nerve growth factor e il fattore neurotrofico derivato dalla glia modulano lo sviluppo e la rigenerazione neuro-gliale. È noto che nell'AN acuta i livelli di BDNF sono ridotti [54];
- **perdita di spine dendritiche** o cambiamenti nella loro morfologia;
- **riorganizzazione delle fibre:** aspetto suggestivo di plasticità neuronale legata al riparo/recupero dopo un insulto biologico;
- **sinaptogenesi ritardata.**

Il rimodellamento neuronale e gliale, insieme, sembrano la spiegazione più ragionevole alla rapida normalizzazione della CT e del volume della GM [14, 54]. Infatti il rimodellamento può giustificare le alterazioni agendo sulla dimensione e sulla forma dei neuroni e della glia: studi su ratti-modello sembrano confermarlo.

È importante prestare attenzione, inoltre, ad alcune variabili nel effettuare studi di neuroimaging dell'AN, in Tabella II tratti da [54].

Tabella II: Variabili da considerare nell'eseguire uno studio di imaging dell'AN [54].

Categoria	Variabile
Variabili demografiche	dimensioni del campione, età, stadio puberale negli adolescenti
Variabili cliniche	sottotipo AN, durata di malattia, comorbidità psichiatriche/mediche, terapia, intervallo di tempo e peso recuperato tra inizio della rialimentazione e RM, idratazione, attività fisica, ciclo mestruale
Disegno dello studio e Tecnologia	acquisizione RM in un momento standardizzato della giornata, analisi e controllo dei movimenti della testa, utilizzo di sequenze aggiornate
Analisi statistica	uso di software di analisi dei dati aggiornati, controllo di qualità dei dati, uso di analisi appropriate per i confondenti, controllo per comparazioni multiple

Si è dimostrato che nei pazienti con AN acuta vi è una significativa riduzione di Fractional Anisotropy (FA) della WM nei tratti dei gangli della base e nelle proiezioni che li attraversano. Nei soggetti in trattamento, invece, non emerge alcuna differenza significativa rispetto ai controlli, grazie alla reversibilità che le alterazioni della FA hanno in seguito alla rialimentazione [71]. Alcune ipotesi collegano il maggior impatto negativo a livello delle aree mediane nelle connessioni tra strutture limbiche e corteccia, all'alterato processamento delle informazioni somatosensoriali, aspetto chiave nella comprensione della psicopatologia del disturbo.

In generale, l'integrità della WM è diminuita nelle regioni cerebrali mediali. È stato dimostrato anche che la FA della WM correla con il BMI nelle pazienti con AN: le correlazioni più forti sono relative all'area del corpo calloso, che sembra, così, configurarsi, insieme alle regioni

mediane, come quella che risente di più della malnutrizione. Analizzando il legame tra FA ed età, si nota come tutte le aree di sostanza bianca esprimano una relazione di inversa proporzionalità, ma il suo andamento differisce tra pazienti con AN, pazienti guariti da AN e controlli sani: i primi presentano una retta di pendenza significativamente maggiore. Tali analisi sottolineano un importante aspetto: l'AN impatta in modo particolare anche sulla WM.

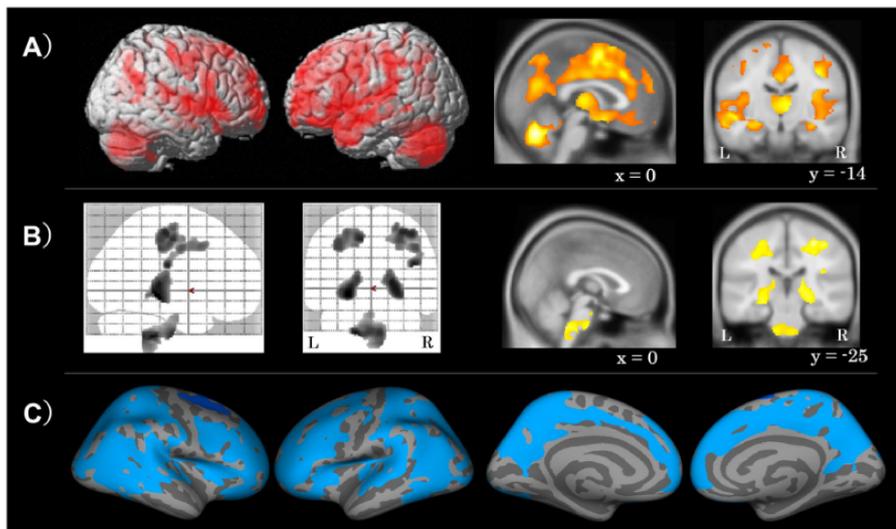


FIGURA 2.12: Significativa riduzione del volume: (A) della GM, (B) della WM, (C) della CT nei pazienti con AN acuta rispetto ai controlli sani [6].

Tali studi permettono di sottolineare l'importanza della diagnosi precoce con altrettanto precoce impostazione della terapia e la possibilità di ottenere elementi utili ad una comprensione dei meccanismi neurobiologici sottostanti e della neuropsicologia della patologia [99].

In *"Hippocampal volumes in anorexia nervosa at different stages of the disorder"* [21], l'interesse è focalizzato sull'ippocampo, organo il cui volume è ridotto in vari disturbi psichici tra cui la depressione maggiore, il disturbo bipolare e la schizofrenia. Si tratta di una delle strutture cerebrali più studiate dopo il noto caso di H.M., paziente che nel 1957 divenne famoso per aver perso la capacità di formare nuovi contenuti di memoria dichiarativa in seguito alla rimozione chirurgica di ippocampo e lobi temporali adiacenti, ai fini di gestire una forma intrattabile di epilessia. Da lì, emerse chiaramente la sua centralità in ambito di indagini sulla

neuroanatomia della memoria [58], dimostrando come esso fornisca una cornice spazio-temporale all'interno della quale le componenti sensoriali, emotive e cognitive dell'esperienza, vengono unite e poi rievocate.

Rispetto ai controlli, le pazienti con AN presentano volume dell'ippocampo significativamente ridotto bilateralmente, mentre le pazienti guarite presentano valori intermedi. Solamente il BMI correla con tale riscontro, bilateralmente. In termini fisiopatologici, la riduzione di volume riscontrata si ipotizza essere legata all'eccessiva esposizione al cortisolo e alla disfunzionale risposta stress-indotta secondo l'asse ipotalamo-ipofisi-surrene. Inoltre, è considerata un possibile fattore predittivo negativo.

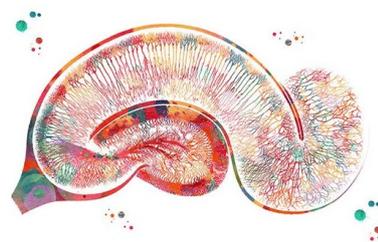


FIGURA 2.13: Ippocampo, rappresentazione artistica.

2.2.3 La girificazione

Aspetto evidente anche all'osservazione macroscopica del cervello, è la sua struttura convoluta. Vi sono molte ipotesi circa il meccanismo della sua genesi: l'effetto della tensione assonale, la crescita differenziale, l'espressione genica differente spazio-temporalmente, l'evoluzione di nuovi geni, diversi tipi di cellule progenitrici [73, 5].

Partendo dall'assunto che variazioni di intelligenza dipendono da variazioni nella struttura e funzione del cervello, le abilità cognitive generali sono legate ad un maggior GI; quindi, una possibile funzione del folding corticale è garantire la separazione tra aree, così da permetterne la corretta connessione e funzionalità. Non è appropriato sostenere, però, che l'intelligenza sia direttamente proporzionale al GI: i neonati con polimicrogiria presentano un'importante riduzione delle abilità cognitive.

Il GI aumenta moltissimo durante il III trimestre di gravidanza e rimane poi relativamente costante, con una lieve riduzione con l'età: da qui, si deduce che alterazioni della girificazione siano in relazione con alterazioni del neurosviluppo, legate ad agenti prenatali.

Alterazioni della girificazione sono presenti in numerosi disturbi psichici, tra cui schizofrenia e autismo [75, 84]; si associano a complicanze perinatali [51]; nelle psicosi, la diminuzione di GI correla con una peggior

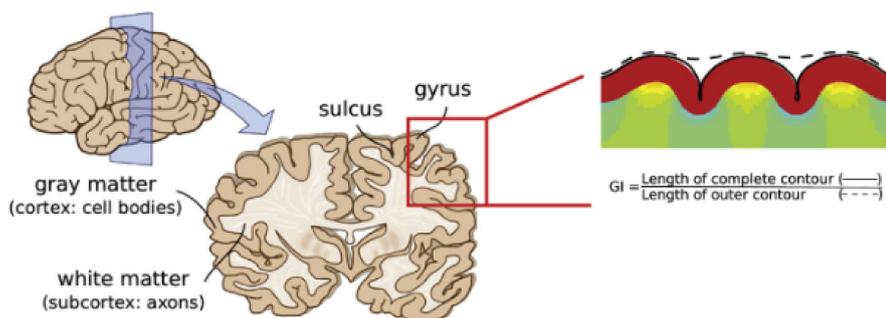
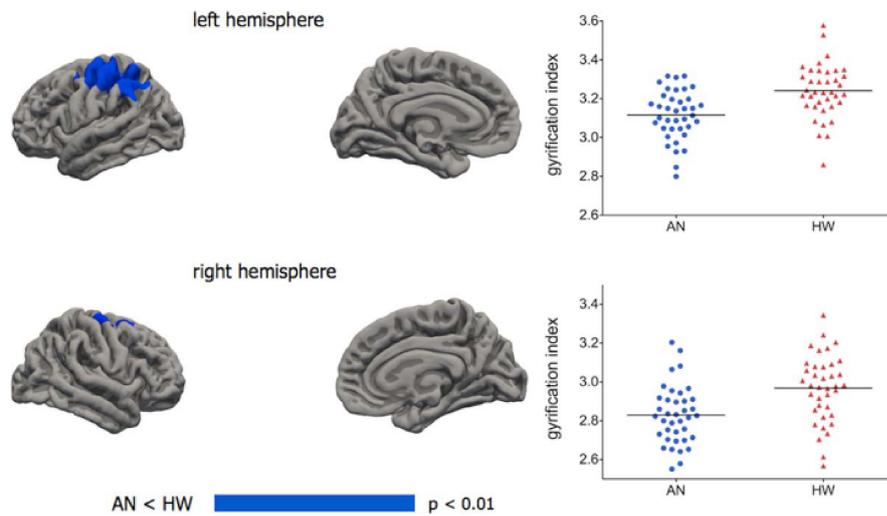


FIGURA 2.14: Rappresentazione schematica della girificazione e del calcolo del GI [73].

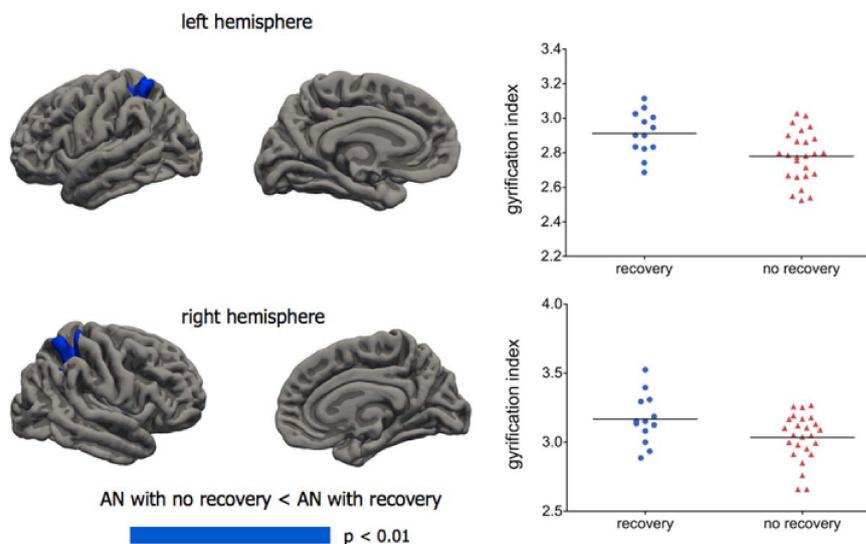
risposta al trattamento [76, 77]; il GI diminuisce con l'età ma non correla con la CT. Noto, quindi, che le anomalie di girificazione sono un marker precoce di deviazione dalle normali traiettorie di sviluppo e, perciò, potenziale fattore prognostico negativo nelle patologie psichiatriche, si è esplorata la morfologia corticale nei pazienti con AN [38].

È emerso che presentano una girificazione significativamente ridotta rispetto ai controlli e che le pazienti con peggior outcome a 3 anni di follow-up hanno un livello basale di girificazione più basso rispetto alle donne sane e alle pazienti con recupero completo, Fig. 2.15. Non vi sono correlazioni tra girificazione e BMI, peso perso, età di esordio, durata di malattia. Nelle pazienti guarite non c'è differenza di GI rispetto ai controlli. La girificazione cerebrale si è dimostrata, perciò, fattore predittivo al follow-up, indipendente dalla durata di malattia e da altri fattori prognostici clinici, classificando correttamente 84% dei soggetti nello studio rispetto all'esito della malattia. Rimane da indagare la causa di tali anomalie: sono indice di alterazioni precoci del neurosviluppo, la conseguenza della denutrizione o l'interazione di entrambi i fattori [13]?

Il medesimo studio è stato condotto su un campione di adolescenti: le loro alterazioni di GI sono maggiori rispetto agli adulti e più significative dei cambiamenti della CT. Quindi, si nota una discrepanza tra l'idea che si ha della girificazione, di essere poco impattata da fattori ambientali, e l'evidenza dell'enorme sensibilità che invece la corteccia dimostra di avere per la malnutrizione, soprattutto nei più giovani.



(A) Confronto tra AN acuta e controlli.
Aree evidenziate: a sinistra il giro post-centrale, a destra il giro frontale superiore.



(B) Follow-up di 3 anni: confronto tra non guariti e guariti.
Aree evidenziate: corteccia parietale superiore a sinistra, giro post-centrale a destra.

FIGURA 2.15: Confronto di local Gyrfication Index (IGI): (A) tra AN e controlli; (B) tra pazienti non guariti e guariti al follow-up di 3 anni. In blu le aree corticali con differenza a maggior significatività tra i due gruppi. A lato rappresentazione grafica dei valori di IGI per paziente [38].

Capitolo 3

Solchi e Frattali

3.1 I solchi

Altro aspetto anatomico di interesse nello studio delle ripercussioni cerebrali dell'AN sono i solchi: con "solco" si intende una depressione corticale che divide tra loro due circonvoluzioni differenti.

In "*Robust estimation of sulcal morphology*" [65], è stato sviluppato un toolbox per MATLAB, disponibile gratuitamente <https://cmadan.github.io/calcsulc>, in grado di stimare larghezza e profondità dei solchi, a partire dalla ricostruzione della superficie corticale effettuata da *FreeSurfer*. È noto, infatti, come lo spessore corticale generalmente si riduca con l'età, tuttavia una modificazione più visivamente evidente è proprio quella dell'allargamento dei solchi, denominato anche "*sulcal prominence*". La profondità dei solchi è considerata una misura indice di atrofia corticale, dimostrata diminuire con l'età.

In letteratura sono emerse molte correlazioni significative con l'aumento della larghezza dei solchi, tra cui quelle, rispetto ai controlli, dei pazienti con: diminuzione delle abilità cognitive, demenza, schizofrenia e disturbi dell'umore.

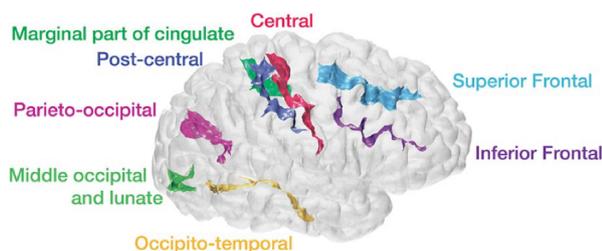


FIGURA 3.1: Posizione anatomica degli 8 solchi di interesse [65].

Per l'analisi, sono stati selezionati 8 solchi specifici, ad ognuno dei

quali è stato attribuito un nome: Centrale, Post-Centrale, Frontale Superiore, Frontale Inferiore, Parieto-Occipitale, Occipito-Temporale, Occipitale Mediano e Lunato, Parte Marginale del Cingolato, Fig. 3.1.

Nel dettaglio, le fasi di studio sono illustrate in Fig. 3.2:

- i dati ottenuti dall'elaborazione di *FreeSurfer* vengono caricati su MATLAB attraverso un apposito toolbox;
- **Larghezza del solco:** determinando quali vertici della rete tridimensionale importata si collocano nel confine tra il solco e il giro adiacente, si è calcolata la larghezza per ogni solco. Nello specifico:
 1. si è ricostruita la catena di "bordi" che costituisce un bordo continuo ad isolare la regione del solco;
 2. così facendo, si è ottenuta una lista di tutti i vertici che si trovano nel punto medio tra il picco del rispettivo giro adiacente e la profondità del solco stesso;
 3. per ogni vertice si è individuato il più vicino punto nello spazio tridimensionale che non è "di confine", al fine di selezionare il vertice più vicino nel bordo dalla parte opposta del solco: in questo modo, quindi, se si tracciasse una linea tra tali due vertici, questa attraverserebbe il solco da una parte all'altra;
 4. posto che i vertici più vicini del margine di confine non sono necessariamente i più vicini lungo la parete opposta del solco, si esegue una ricerca più articolata, dalla quale si ottengono fino a 4 punti a partire dal più vicino vertice inizialmente individuato;
 5. la larghezza del solco è ottenuta come mediana delle distanze che attraversano il solco, tese tra i punti selezionati da una parte all'altra di esso.
- **Profondità del solco,** nel dettaglio:
 1. i punti più profondi del solco, ovvero il fondo, sono selezionati come i 100 vertici all'interno di esso con i valori più bassi di coordinata nella "mappa dei solchi", ricostruita da *FreeSurfer*;

2. per tali 100 punti viene calcolata la distanza dalla superficie esterna, prendendo in considerazione il valore più basso per ciascuno;
 3. la mediana di questi valori è tenuta come profondità del solco.
- Gli aspetti di morfologia del solco, ossia la sua profondità e larghezza, sono calcolati per gli 8 solchi di interesse, bilateralmente.

Tali parametri vengono messi in relazione, solco per solco, con l'età.

Larghezza e profondità dei solchi Centrale e Post-Centrale sembrano essere particolarmente correlate con l'età, con solchi più ampi e meno profondi nei soggetti più anziani. Sono altresì rilevabili correlazioni anche per altre regioni, ma meno rilevanti.

Come parametro sintetico di larghezza, si è scelto di calcolare la media dei 16 solchi per soggetto ed esaminarne la relazione con l'età. Da qui, è emerso che la larghezza media rappresenta un miglior indicatore età-dipendente di differenza nella morfologia dei solchi rispetto ai dati per singolo solco. Lo stesso vale per la profondità media.

In letteratura, è già consolidata la relazione con l'età per lo spessore corticale (CT) e il volume del terzo ventricolo: per tale motivo, si è provveduto a verificare se la relazione con i parametri medi dei solchi potesse dipendere, in realtà, da tali due aspetti. Si è dimostrato che le due misure medie, profondità e larghezza, dei solchi permettono di registrare aspetti del processo di aging cerebrale che non erano stati visualizzati in precedenza con nessun altro indicatore; sono, perciò, indipendenti.

In "*Sulcal characteristics patterns and gyrfication gradient at different stages of Anorexia Nervosa: A structural MRI evaluation*" [23] l'obiettivo di indagine era andare, per la prima volta, a valutare larghezza e profondità dei 16 principali solchi corticali nei pazienti con AN, a diversi stadi di malattia, e caratterizzarne la relazione con il gradiente di girificazione antero-posteriore. I campioni studiati sono due: il primo con 38 pazienti con AN acuta, 20 guariti, 38 controlli sani; il secondo con 16 pazienti con AN acuta e 16 controlli. I pazienti con AN sono distinguibili in 3 gruppi: esordio recente (meno di un anno), maggior durata di malattia (più di un anno), guarigione completa.

Tale suddivisione risulta necessaria, posto che in letteratura si è già dimostrata l'assenza di alterazioni di morfologia corticale nei pazienti con

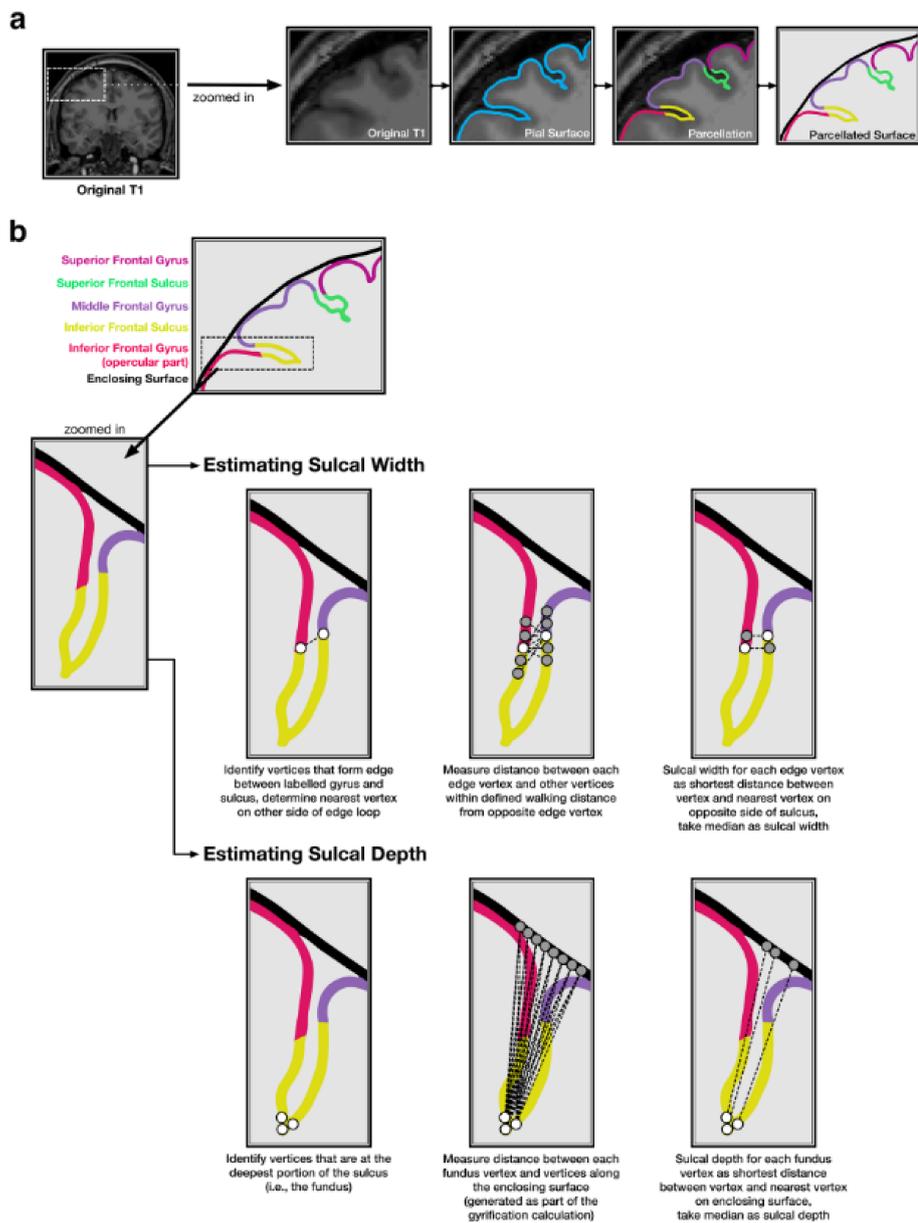


FIGURA 3.2: Metodo di analisi della morfologia dei solchi [65].

AN di breve durata.

Rispetto ai controlli, i pazienti in fase acuta mostrano: valori maggiori di larghezza per i solchi Centrale, Post-Centrale, Parieto-Occipitale e Parte Marginale del solco Cingolato, sia a destra che a sinistra; valori maggiori di profondità nella Parte Marginale del solco Cingolato di sinistra. Nessuna differenza statisticamente significativa è emersa nel confronto tra pazienti guariti e controlli, ad indicare una normalizzazione completa per questi parametri.

Il gradiente di girificazione, invece, segue un pattern simile in AN acuta, pazienti guariti e controlli, dimostrando che la distribuzione generale di girificazione non cambia nell'AN, risultando soltanto diminuita. La riduzione è particolarmente importante nelle aree del solco Centrale e dei lobi Parieto-Temporale e Frontale, rispetto ai controlli, Fig. 3.3.

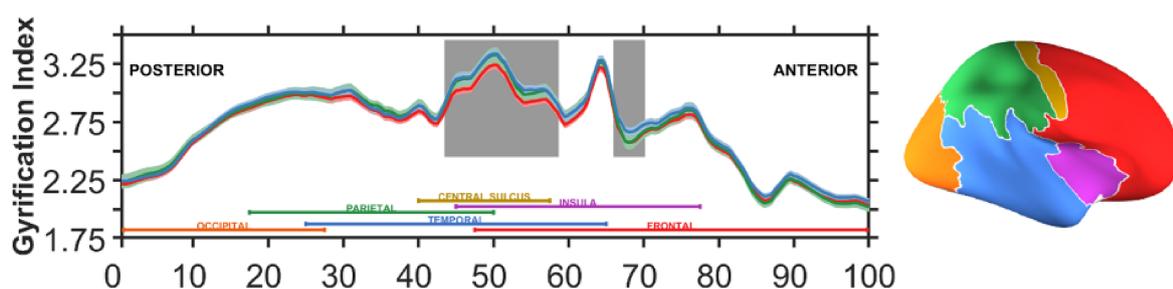


FIGURA 3.3: Indice di girificazione antero-posteriore [23]. Codice-colore della linea: rosso = AN acuta; verde = pazienti guariti; blu = controlli. I box grigi indicano le aree di maggior differenza AN acuta/controlli.

Nel suddividere i pazienti con AN acuta nei gruppi Short-AN e Long-AN (cut-off un anno dall'esordio), ciò che emerge è soltanto che si dimostrano, rispetto ai controlli, due clusters di alterazioni nel Long-AN e un singolo cluster, più limitato, nel Short-AN. Tali risultati suggeriscono, però, l'assenza di un chiaro effetto di "durata di malattia" sulle modificazioni strutturali dei solchi.

Curioso è constatare che se la larghezza dei solchi aumentasse più di quanto aumenti la loro profondità, come sembra emergere dallo studio, la superficie corticale esposta sarebbe più ampia di conseguenza e l'indice di girificazione maggiore, con essa, contrariamente a quanto emerso.

Quindi, si può ipotizzare che l'allargamento dei solchi principali coincida con altre modificazioni, tra cui, probabilmente, quelle dovute all'appiattimento di solchi minori, non indagati.

In conclusione, la valutazione morfologica dei solchi è in grado di rilevare correttamente la presenza di alterazioni corticali nelle fasi acute di AN. L'assenza di significative differenze tra pazienti guariti e controlli conferma che esse non sono considerabili una "cicatrice" della malattia.

3.2 I Frattali

La naturale complessità del cervello, la sua struttura gerarchica e la sofisticata architettura dei neuroni, organizzati secondo micro e macro-networks, sono fattori che contribuiscono a rendere eccessivamente limitata l'applicazione della geometria Euclidea nelle neuroscienze [31, 25, 56]. L'introduzione della geometria frattale per l'analisi quantitativa e la descrizione della geometrica complessità dei sistemi naturali, è stato il più grande cambio di paradigma degli ultimi decenni. Attualmente, le neuroscienze ammettono la superiorità delle proprietà frattali, tra cui l'auto-similarità, applicabile a vari livelli di osservazione del cervello: macro/microscopici, molecolari, anatomici, funzionali e patologici. La geometria frattale è un modello matematico che offre un linguaggio universale per la descrizione quantitativa dei neuroni e delle cellule gliali, così come del cervello nella sua interezza, considerandone la struttura complessa tridimensionale e l'intero spettro di modificazioni fisio-patologiche.

Già nel 1987, con il libro "*Chaos: Making A New Science*" [46], James Gleick sottolinea la genialità dell'idea di *dimensione* secondo Mandelbrot [67], "inventore" e promotore della dimensione frattale, adatta a descrivere la realtà nella sua vera consistenza, senza semplificazioni. Il termine "frattale", secondo Gleick, deriverebbe dal latino "*fractus*", rotto, che sembrava appropriato ad una rivoluzione concettuale di tale livello.

Una delle caratteristiche principali dell'intero universo è la tendenza a costituirsi secondo strutture multilivello di "sistemi nei sistemi", ognuno dei quali forma un tutto in relazione alle sue parti ed è, contemporaneamente, parte di un più esteso tutto [50], Fig. 3.4.

I frattali naturali sono caratterizzati da 4 proprietà:

- (1) irregolarità della forma;
- (2) auto-similarità delle strutture (Self-similarity e Change in detail – N);
- (3) dimensione non-intera o frazionale, frattale (Fractal dimension – D_F);
- (4) *scaling*, le proprietà dipendono dalla scala (Change in scale – S).

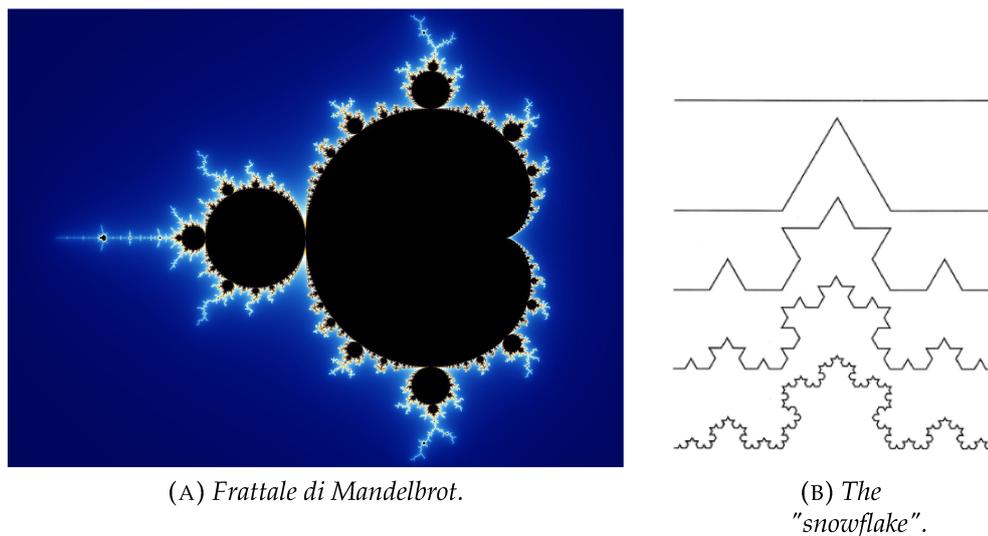


FIGURA 3.4: Esempi di frattali con self-similarity [31].

La peculiarità più importante è in riferimento al punto (2): lo schema della struttura di tali oggetti si ritrova continuamente diminuendo di ordine di grandezza, per cui ogni componente, anche della più piccola misura, ha forma simile all'intero [67].

Esempi anatomici di auto-similarità sono: il sistema circolatorio, l'albero bronchiale, le vie biliari, le strutture dendritiche neuronali, il sistema urinario e vascolare renale. Ciò che emerge è che raramente si tratta di copie identiche dell'organo complessivo, ma piuttosto di rappresentazioni della medesima complessità strutturale: i sistemi biologici sono detti "statisticamente" auto-similari [63], come in Fig. 3.5. Tale dicitura implica il mantenimento della medesima D_F del corrispettivo geometrico, pur non essendo necessariamente infinito o esatto o entrambi gli attributi [30].

Altro parametro importante è la lacunosità (Lacunosity), che corrisponde all'omogeneità del riempimento dello spazio ed è un indice dell'eterogeneità della struttura.

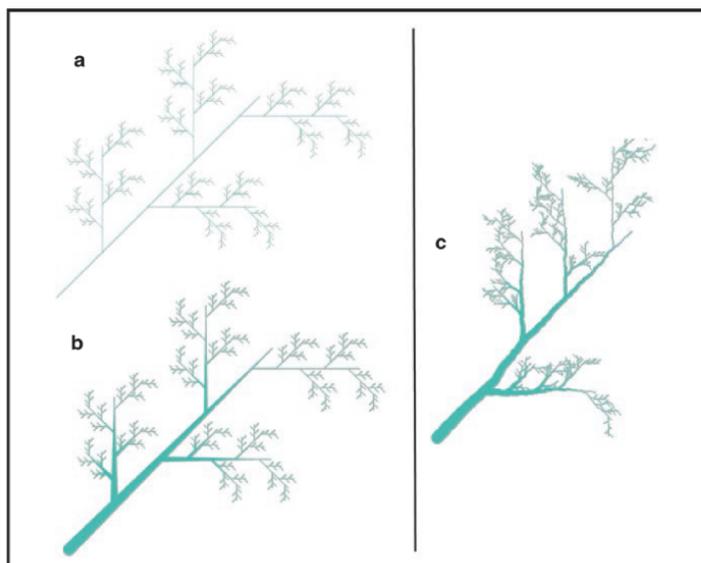


FIGURA 3.5: Auto-similarità in geometria (A) e (B); auto-similarità statistica nei sistemi biologici (C). In entrambi i casi la D_F è la medesima [30].

3.2.1 La Dimensione Frattale: D_F

Rimane però centrale il concetto di "dimensione", valore caratteristico di un sistema. La sua classica e nota definizione è relativa alla "dimensione topologica", secondo la quale è possibile assegnare un numero intero ad ogni punto dello spazio euclideo (E3): valore 0 al punto, valore 1 alla retta, valore 2 al piano e valore 3 al volume.

Mandelbrot introduce, invece, l'idea della Dimensione Frattale (D_F): per le figure euclidee E3 e D_F risultano coincidenti; per gli oggetti frattali, invece, la misura euclidea sarebbe soltanto approssimativa a differenza di quella frattale.

La D_F rappresenta una stima quantitativa della complessità morfologica di un oggetto attraverso una procedura di copertura dello spazio riempito dall'oggetto stesso. Si tratta, quindi, di un numero assoluto, direttamente proporzionale all'irregolarità della misura da effettuare o al grado di riempimento dello spazio in cui l'ente di interesse è inserito.

Il metodo di calcolo della D_F più utilizzato è l'algoritmo del *Box-counting*, ossia "conteggio delle caselle", in grado di misurare il livello di occupazione dello spazio da parte dell'oggetto: esso viene ricoperto da una rete di caselle, progressivamente di misura inferiore, fino a raggiungere il miglior grado di approssimazione della sua superficie e, di

conseguenza, la sua unità di base ripetuta, detta *unit of detail*. Si prosegue andando a contare il numero di quadrati occupati dall'oggetto (Change in detail – N o Count) in una precisa scala (Change in scale – S o Size). Utilizzando tali valori, trasformati in scala logaritmica, il grafico del loro rapporto corrisponde ad una retta la cui pendenza è la D_F [66], come in Eq. (3.1). Si veda un esempio di calcolo della D_F in Appendice A.

$$FD_f = - \frac{\Delta \log_2(\text{Count})}{\Delta \log_2(\text{Size})} \quad (3.1)$$

3.2.2 La D_F nelle Neuroscienze

Numerose sono le applicazioni della geometria frattale in ambito neuroscientifico, data la sua capacità di descrivere con accuratezza qualsiasi sistema neuronale, dalle singole cellule ai macro-networks complessi. Grazie al neuroimaging è stato possibile apprezzare che la complessità del sistema nervoso centrale si struttura secondo aree di GM organizzate gerarchicamente e tra loro connesse, aspetto particolarmente studiato anche dalla connettomica. Le applicazioni della D_F risultano, quindi, trasversali tanto alla fisiologia quanto alla patologia.

Alcune delle aree di applicazione in ambito di patologie neurologiche sono: sclerosi laterale amiotrofica, sclerosi multipla, epilessia, quadri cerebrali emorragici, malattia di Alzheimer, neoplasie cerebrali [29, 72].

In "*Cortical complexity as a measure of age-related brain atrophy*" [66] si è indagata la complessità corticale, grazie alla D_F , in un campione di più di 400 soggetti le cui età coprono l'intero spettro dell'età adulta (20-86 anni). In letteratura erano già state esaminate le differenze età-relate di CT e GI: si è riscontrato che la D_F è la più sensibile nel cogliere le differenze età-relate, divenendo la metodica più utile e interessante, Fig. 3.6.

Nello specifico, vi sono due tipi di D_F misurabili: D_{Fs} , "s" sta per "surface" e D_{Ff} , "f" sta per "filled"; il primo approccio applica il box-counting soltanto sulla superficie/bordo corticale, il secondo anche nello spazio al suo interno. Ne consegue che D_{Ff} , incorporando il volume di GM, coglie più variabilità inter-individuale, quindi è una misura più sensibile di atrofia età-relata. Si ipotizza che tale efficienza, rispetto a CT e GI, sia dovuta alla miglior capacità di registrare alterazioni nell'organizzazione

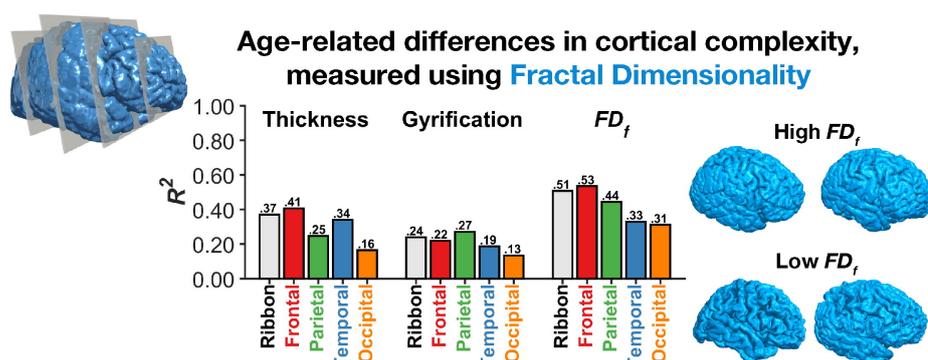


FIGURA 3.6: Uso della D_F per rilevare differenze età-relate di complessità corticale [66]: la D_F è la misura più sensibile, a confronto con GI e CT.

delle regioni corticali oppure alla possibilità di risentire meno degli artefatti, tra cui l'idratazione e i movimenti del capo.

Nelle analisi regionali i risultati dei diversi parametri divergono: secondo la CT i lobi più interessati dall'atrofia corticale sono frontale e temporale; secondo l'GI lo è il lobo parietale; per entrambi CT e GI il lobo occipitale è il meno coinvolto. Con la D_F , invece, è il lobo temporale a risultare il meno caratterizzato da differenze età-relate. Questa è la prova della "individualità" di rilevazione della misura di D_F . Si è dimostrato, inoltre, che la D_F correla anche con la variabilità inter-individuale di misure di abilità cognitive.

Per effettuare l'analisi è stato utilizzato un toolbox MATLAB disponibile gratuitamente online, <http://cmadan.github.io/calCFD/>.

3.2.3 La D_F nello studio dell'AN

In "Cortical Complexity in Anorexia Nervosa: A Fractal Dimension Analysis" [19] è stata indagata la morfologia di diverse aree corticali, con la D_F , in 58 pazienti donne con AN, di cui 20 guarite, e 38 controlli sani. È stata riscontrata una diminuzione della D_F media, quindi di complessità corticale, per l'intera corteccia nelle pazienti rispetto ai controlli, localizzata in numerose regioni cerebrali, in Fig. 3.8; nelle pazienti guarite, invece, permanevano delle aree con D_F diminuita, ma ne emergevano altre con D_F aumentata. Nel complesso, la D_F nell'AN è significativamente più bassa rispetto ai controlli e ai guariti, mostrando una tendenza alla normalizzazione, quindi, con la terapia.

Interessante è la conferma che non soltanto la D_F correla con l'età in tutti

e tre i gruppi (AN, guariti, controlli), aspetto visibile in Fig. 3.7, come affermato in precedenza, ma anche con il BMI e, soprattutto, con la durata di malattia nel caso delle pazienti con AN acuta: è l'unica delle metodiche di misurazione che ha tale caratteristica (non è presente, infatti, in volume GM, volume WM, integrità WM, CT, GI). Ad una D_F più ridotta corrisponde una malattia più lunga. Nelle pazienti guarite, in più, la D_F correla negativamente con l'età di esordio.

In conclusione, la D_F sembra rappresentare il metodo più accurato per esplorare la complessità corticale nelle pazienti con AN, dimostrata la sua sensibilità per gli effetti sia di durata di malnutrizione che di severità di malattia.

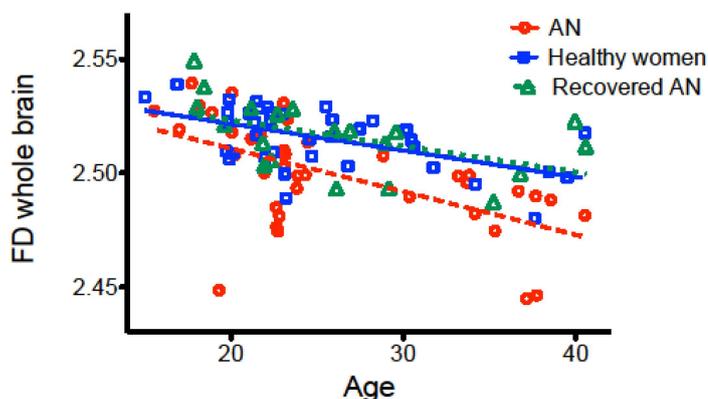


FIGURA 3.7: Valori di D_F per l'intera corteccia in AN, guariti, controlli [19].

Nell'analisi regionale, la riduzione di D_F nelle regioni parietali evidenziata, si colloca in siti cruciali per l'integrazione delle percezioni e la costruzione dell'immagine corporea, sia nell'AN acuta che nelle pazienti guarite. Tali aree, quindi, sembrano essere particolarmente suscettibili ad alterazioni disordine-specifiche e richiedono ulteriori approfondimenti. Le aree con aumento della D_F nelle pazienti guarite, rappresentano verosimilmente sedi di *re-shaping* da rinutrizione, confermando ulteriormente la sensibilità di tale approccio nel rilevare alterazioni nutrizione-relate. Dopo tale aumento iniziale da processi riparativi, sembra che i valori tendano alla normalizzazione. A questo proposito, data una correlazione tra D_F ed età di esordio, pare che tali meccanismi siano più evidenti quando l'esordio è più precoce.

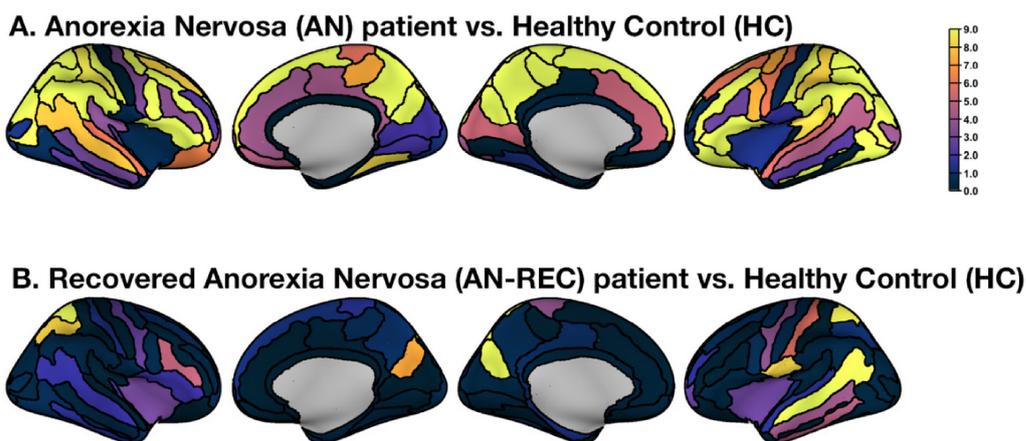


FIGURA 3.8: Confronto di D_F : **(A)** AN e controlli, con diminuzione significativa di D_F in 22 aree; **(B)** guarite e controlli, normalizzazione della D_F e suo aumento nelle regioni del solco temporale superiore sinistro e nel giro e solco subcentrale sinistro [19].

3.2.4 La D_F : numerose applicazioni

In "Cortical complexity estimation using fractal dimension: A systematic review of the literature on clinical and nonclinical samples" [72], sono stati presi in considerazione 62 studi il cui metodo si basa sulla D_F e le cui principali linee di indagine sono: neurosviluppo, invecchiamento, basi neurobiologiche di specifiche patologie neurologiche e psichiatriche.

Nel confronto con altre misure corticali, si è studiata l'associazione tra D_F e CT e tra D_F e GI, ottenendo per entrambi risultati contrastanti, alcuni con associazione positiva altri negativa. Più concordi le evidenze in merito alla relazione con CSF, negativa; volume e densità della GM, positiva. Altri aspetti emersi riguardano:

- **Soggetti sani, sviluppo:** nello sviluppo prenatale la D_F tende ad aumentare secondo l'età gestazionale, presentandosi ridotta in caso di ritardo nella traiettoria di maturazione cerebrale. Dopo la nascita: la D_F correla negativamente con l'età per l'emisfero sinistro nei bambini, per entrambi negli adolescenti, per il destro negli adulti. Verso la vecchiaia, la D_F va diminuendo per tutto l'encefalo.
- **Cognizione:** si è rilevata una diretta proporzionalità tra valore di D_F e performance cognitiva, anni di istruzione e QI in soggetti giovani e sani. Nel caso della fascia 70-90 anni, la D_F correla positivamente con la capacità di problem-solving e negativamente con il

declino cognitivo stimato e il rischio di sviluppo di demenza.

- **Patologie psichiatriche:** nel caso della *schizofrenia*, sono emersi risultati contrastanti, alcuni rilevano un aumento di D_F nei pazienti rispetto ai controlli, altri nessuna differenza significativa; nel *disturbo bipolare* vi è un aumento della D_F rispetto ai controlli; nella *depressione*, vi è una riduzione di D_F nei pazienti resistenti al trattamento a livello del giro frontale medio caudale destro; nel *DOC* si nota una riduzione generale della D_F rispetto ai controlli; per i *DCA*, nello specifico per l'AN, si veda Sezione 3.2.3.
- **Patologie neurologiche:** nel caso della *malattia di Alzheimer (AD)*, la D_F risulta diminuita rispetto ai controlli; nel caso di soggetti a rischio di sviluppo di demenza ma non ancora presentanti declino cognitivo, non vi era variazione di D_F ; valori bassi di D_F correlano con maggiori difficoltà cognitive. Nella *demenza fronto-temporale (FTD)* la D_F è ridotta rispetto ai controlli. È dimostrata la relazione tra D_F ridotta e alterazioni della memoria, della fluenza e del linguaggio. La riduzione di D_F , rappresentando una minor complessità corticale, si associa ad una clinica peggiore. Nell'*epilessia* è bene distinguere la forma del lobo frontale (FLE), per la quale è emersa una riduzione di D_F nei pazienti, dalla forma del lobo temporale (TLE) per cui essa non è risultata alterata. Nel *Parkinson* la D_F è ridotta in numerose aree rispetto ai controlli.
- **Altre condizioni:** nel caso di *prematurità grave*, si è osservata, studiando i soggetti retrospettivamente, una significativa riduzione della D_F nella corteccia parietale mediale e temporale laterale bilateralmente, nella giunzione occipito-temporale e nell'opercolo frontale destro. Inoltre, la D_F correla positivamente con il QI.

Capitolo 4

Lo studio

4.1 Scopo dello studio

L'obiettivo di questo studio è andare ad indagare tre parametri descrittivi della corteccia cerebrale con un approccio di tipo longitudinale, in un campione di pazienti con AN acuta, seguite e rivalutate, in media, a 3.5 mesi dalla prima acquisizione RM, rispetto ai controlli sani.

I tre aspetti oggetto di indagine possono essere considerati secondo due momenti differenti: un approccio esplorativo di valutazione del pattern di girificazione longitudinalmente, fornendo una rappresentazione grafica, sintetica e immediata alla visione, dell'indice di girificazione con gradiente postero-anteriore. In seguito, le indagini di approfondimento esaminano due rilevanti ambiti di interesse: la morfologia dei solchi, secondo le due caratteristiche peculiari di profondità e larghezza (Sezione 3.1); la complessità corticale grazie all'utilizzo della dimensione frattale (D_F), indice specificatamente progettato per quantificare e analizzare gli schemi morfologici complessi (Sezione 3.2.1).

Si valuterà, quindi, se quanto emerso sia coerente con ciò che già la letteratura ha dimostrato, facendo riferimento in particolare ai dati già pubblicati circa le caratteristiche dei solchi e il gradiente di girificazione secondo studi di tipo trasversale su pazienti con AN e pazienti guarite.

L'ipotesi è che ognuno dei tre parametri possa dimostrarsi in partenza alterato, nello stadio di acuzie della malattia, rispetto ai controlli per poi raggiungere un valore pressochè normale alla valutazione del follow-up. Tale risulterebbe un'ulteriore prova della reversibilità delle alterazioni corticali nei pazienti con AN trattati.

4.2 Materiali e metodi

4.2.1 Partecipanti

Sono stati inclusi nello studio 90 soggetti di sesso femminile, valutati con RM: 38 pazienti con AN acuta, valutate con RM alla diagnosi (*AN baseline*) e poi, nuovamente, post-recupero di peso (*AN follow-up*); 52 controlli sani (*HC*). Pazienti e controlli sono in linea per età. Nel dettaglio, il disegno longitudinale si esplica in un breve periodo, con media 3.5 mesi, di recupero del peso, con target da raggiungere del 20° percentile di BMI aggiustato per età. Le pazienti sono state reclutate e indagate dall'unità dedicata ai DCA del Dipartimento di Psichiatria del Bambino e dell'Adolescente dell'Ospedale Universitario di Aachen RWTH, in Germania.

La diagnosi di AN si è basata sui criteri del DSM-5 [10] e la severità della sintomatologia è stata valutata utilizzando la Eating Disorder Inventory II (EDI-II, [98]). I criteri di esclusione per i soggetti sono stati: 1) sesso maschile; 2) storia di traumi cranici o incidenti con perdita di coscienza; 3) anamnesi positiva per gravi patologie organiche o neurologiche; 4) uso sistematico di steroidi; 5) gravidanza; 6) diagnosi di depressione maggiore o un'ideazione suicidaria attiva; 7) abuso o dipendenza da alcol o sostanze attivo o pregresso; 8) diagnosi di disturbo dello spettro schizofrenico o bipolare; 9) QI inferiore a 60 o disabilità nell'apprendimento; 10) utilizzo di farmaci diversi dagli antidepressivi; 11) presenza di controindicazioni note all'esecuzione di RM.

Per il gruppo di controllo altri criteri di esclusione sono stati: la presenza di familiari di primo grado con un disturbo del comportamento alimentare, la presenza di un disturbo psichiatrico in anamnesi.

Lo studio è stato approvato dal comitato etico dell'Ospedale Universitario di Aachen. Dopo aver descritto l'indagine ai soggetti, è stato acquisito il loro consenso informato scritto per la partecipazione.

4.2.2 Valutazione clinica e follow-up

Tutti i soggetti sono stati sottoposti ad un'intervista semi-strutturata per raccogliere i dati circa le variabili socio-demografiche e cliniche, visibili in Tabella III e Tabella IV. Per tutte le pazienti è stato calcolato il Body Mass

Tabella III: Caratteristiche cliniche e demografiche del campione in studio.

	AN baseline (n=38)	HC (n=52)	AN flw (n=38)
Età (anni)	15.25 (1.88)	15.74 (1.65)	15.54 (1.91)
BMI-SDS	-2.74 (1.14)	0.16 (0.87)	-1.01 (0.49)
Body Mass Index	14.96 (1.47)	21.38 (3.21)	17.95 (1.14)
Durata di malattia (mesi)	12.55 (9.49)	-	16.24 (9.88)
Follow-up (mesi)	3.45 (1.26)	-	-
Età di esordio (anni)	14.12 (1.60)	-	-
BMI-SDS esordio	0.00 (0.88)	-	-
BMI-SDS (Baseline - esordio)	-2.77 (1.11)	-	-
BMI-SDS (Follow/up - Baseline)	1.77 (0.97)	-	-

Tabella IV: Analisi della varianza, ANOVA.

	ANOVA		
	ANbase vs ANflw	ANbase vs HC	ANflw vs HC
	F (1,37) (p)	F (1,89) (p)	F (1,89) (p)
Età (anni)	281.88(0.00)	1.73(0.19)	0.28(0.59)
BMI-SDS	116.94(0.00)	187.86(0.00)	56.68(0.00)

Index standardizzato e aggiustato per età (BMI-SDS), sia al baseline che al follow-up, utilizzando il Kromeyer-Hausschild dataset [60]. È stata misurata, inoltre, la perdita di peso tra esordio di malattia e momento di ammissione allo studio e il peso recuperato tra l'ammissione allo studio e il termine del follow-up, secondo BMI-SDS.

4.2.3 Acquisizione dei dati MRI

L'imaging strutturale è stato eseguito tramite uno scanner di Risonanza Magnetica, T1 pesata, Siemens TrioTim con campo magnetico pari a 1.5 Tesla equipaggiato per l'imaging echo-planare. Sono state acquisite anche immagini anatomiche 3D pesate in T1 in sequenza Gradient-echo (tempo di ripetizione = 2.25 ms; echo time = 3.03 ms; inversion time = 900 ms; flip angle = 9°, 176; 176 slice sagittali; dimensione del voxel acquisito = 1 x 1 x 1 mm; campo di vista 256x256 mm).

4.2.4 Processamento dei dati

L'estrazione dei dati di superficie è stata eseguita mediante il pacchetto *FreeSurfer* (Martinos Center for Biomedical Imaging, Massachusetts General Hospital, Boston), versione 7.1.1, seguendo i protocolli standard e le linee guida del software [43].

Inizialmente i volumi T1 sono stati convertiti nel formato specifico di *FreeSurfer* e normalizzati per intensità. Successivamente è stata effettuata la procedura di *skull-stripping* con un algoritmo specifico; i voxel dell'immagine, poi, sono stati classificati come appartenenti o meno alla WM in base alla loro intensità ed i vincoli imposti dalle strutture vicine: così facendo è stato individuato il confine GM-WM per entrambi gli emisferi. Quindi, sono stati selezionati i piani per la separazione degli emisferi e per la rimozione di cervelletto e tronco encefalico; la loro localizzazione è stata definita in base ad algoritmi in grado di stimare la forma attesa di strutture encefaliche di interesse. Dal volume della WM è stata derivata una superficie tassellata che rappresenta il confine tra la GM e la WM, corretta per seguire i diversi gradienti di intensità e per eventuali difetti topologici; da qui, si è proceduto all'espansione, *surface inflation*, per modellare la superficie piaie in una seconda superficie reticolata collegata. A questo punto la corteccia è stata parcellizzata in base all'anatomia dei giri e dei solchi secondo l'atlante Combinato [57, 19]. Tale parcellizzazione deriva dalla rimodulazione di quella secondo Destrieux [27], andando ad aggregare per sede le aree più piccole tra loro, per poter garantire maggiore validità alle valutazioni in ambito di complessità corticale, considerata la loro sostanziale assenza di complessità. La rappresentazione grafica di tale suddivisione e il confronto con la versione di Destrieux è presente in Fig. 4.1.

L'elaborazione effettuata da *FreeSurfer* permette di ottenere una rappresentazione della corteccia come fitta trama di triangoli (Sezione 2.1.2): i parametri del modello ottenuto sono rappresentati dalle coordinate di ogni vertice e la loro determinazione consente l'applicazione di algoritmi e, di conseguenza, il calcolo di misure morfometriche. L'area di superficie, per esempio, corrisponde geometricamente alla somma delle aree dei triangoli, mentre la distanza tra la superficie piaie e quella della WM rappresenta la CT, misura diretta della quantità di GM presente in ogni punto della superficie corticale.

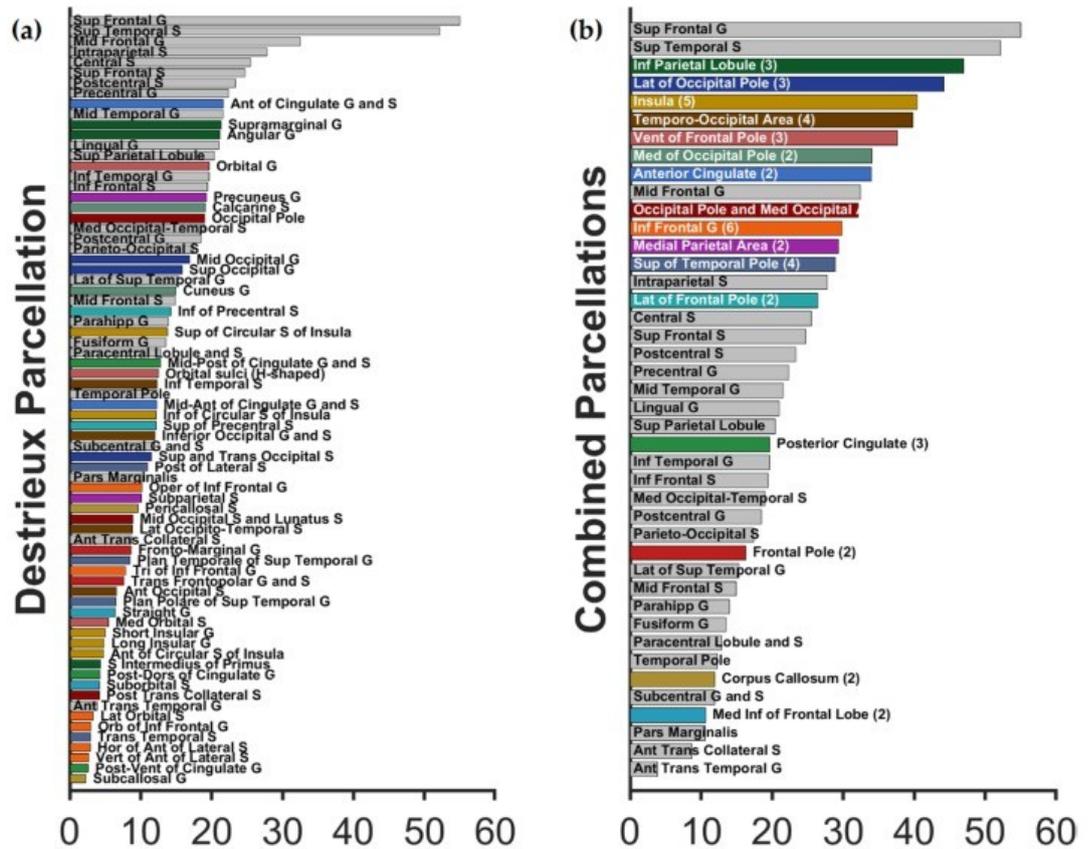


FIGURA 4.1: **a)** Parcellizzazione di Destrieux; **b)** forma Combinata con aggregazione delle aree minori, prive di complessità [19]. In grigio, le aree mantenute non aggregate. In ascissa l'area di superficie.

Pattern di girificazione

Per valutare la distribuzione topografica della girificazione corticale è stato estratto il valore di pattern di girificazione postero-anteriore, poi rappresentato graficamente, secondo componenti indipendenti, per ANbaseline, ANfollow-up, HC.

Il metodo per ricavare tali parametri è automatizzato [85] e si basa sull'individuazione del contorno esterno della GM che viene circondato da una superficie liscia che la include. Vi sono quindi due componenti: la superficie piale e la superficie che la racchiude dall'esterno [64]. Il GI è il rapporto tra l'area della superficie piale e l'area più esterna, Fig. 4.2. Si tratta di un metodo che rappresenta l'evoluzione del precedente, classico, basato sul rapporto tra lunghezza del contorno completo (che segue giri e solchi) e lunghezza di quello esterno (Fig. 2.14). I valori di girificazione

media sono stati rappresentati con codice-colore differente, ottenuti da 200 sezioni coronali ordinate. I dati sono stati aggiustati per età e sito di acquisizione.

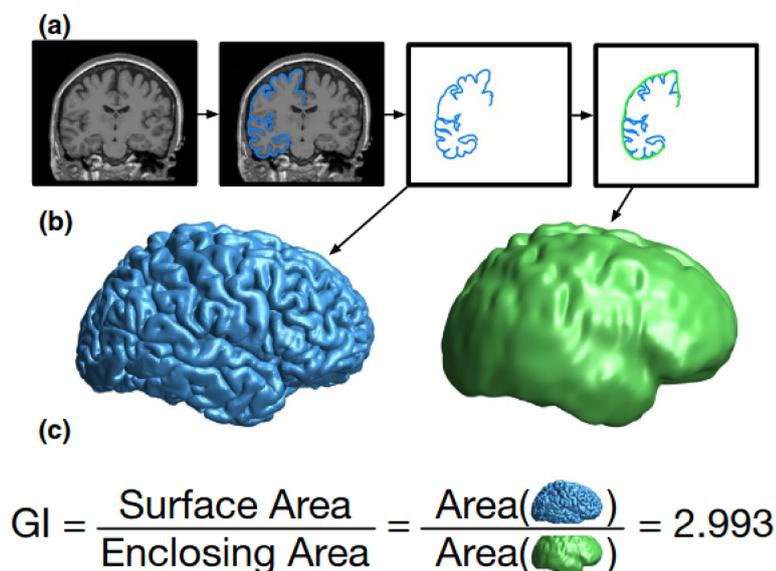


FIGURA 4.2: Calcolo del GI con le superfici [64].

Morfologia dei solchi

Larghezza e profondità sono state stimate per i 16 principali solchi utilizzando il *calcSulc toolbox*, si veda Sezione 3.1 [65].

I solchi valutati per emisfero sono: Centrale, Post-Centrale, Frontale Inferiore, Frontale Superiore, Parieto-Occipitale, Occipito-Temporale, Occipitale Mediano e Lunato, Parte Marginale del Cingolato, visibili in Fig. 3.1.

È stato condotto uno studio delle misure solco per solco, individualmente, per poi poter effettuare un'analisi fattoriale, in cui i fattori raggruppano solchi per caratteristiche omogenee. Tale processo ha il fine di eseguire comparazioni tra gruppi, quindi tra fattori, che evidenzino meglio le variazioni. Sono stati individuati 7 fattori per la larghezza (*W*, *width*) e 5 per la profondità (*D*, *depth*), la cui suddivisione è visibile in Tabella V e Tabella VI.

Si sono, in aggiunta, valutate possibili correlazioni tra variabili cliniche (in particolare BMI) e analisi fattoriale di morfologia strutturale.

Calcolo della D_F

La D_F della corteccia cerebrale viene calcolata mediante un toolbox di MATLAB che utilizza un file intermedio generato come parte del processo di analisi standard di *FreeSurfer*. Il toolbox viene poi implementato per poter utilizzare sia l'algoritmo Box-counting che un ulteriore algoritmo, basato sul metodo *Dilation*.

Nel dettaglio, i due metodi (si veda anche Appendice A):

- metodo *Box-counting*: richiede la determinazione del numero di caselle che meglio si adattano alla superficie della struttura utilizzando riquadri di diverse dimensioni, si veda Sezione 3.2.1;
- metodo *Dilation*: presuppone la sostituzione di ogni voxel con un cubo di dimensione stabilita (chiamato "dilated"); in questo modo si può ottenere una griglia di scansione mobile, al contrario di quella dell'algoritmo Box-counting che è fissa. Tale procedura richiede un'operazione di convoluzione tridimensionale e appare migliore del metodo Box-counting classico perché più rapida e meno impegnativa in termini computazionali [66].

4.3 Risultati

4.3.1 Pattern di girificazione postero-anteriore

L'indagine di primo livello ha condotto alla genesi del grafico in Fig. 4.3. Come è chiaro già dalla visione immediata, le tre tracce seguono il medesimo andamento, dimostrando che la distribuzione generale della girificazione non cambia tra AN-baseline, AN-follow up e controlli sani, ma è soltanto diminuita di valore per il primo gruppo.

In realtà, infatti, per quanto visivamente posto nel mezzo e, quindi, intuitivamente con valori intermedi, il pattern di girificazione nei pazienti AN al follow-up, non differisce con significatività statistica da quello dei controlli sani. Le porzioni di curva all'interno dei riquadri grigi identificano le aree in cui le differenze nel gradiente di girificazione sono statisticamente significative, nel confronto tra AN-baseline e controlli sani. Si tratta, in particolare, delle regioni: Solco Centrale, Parieto-Temporale, Insulo-Frontale.

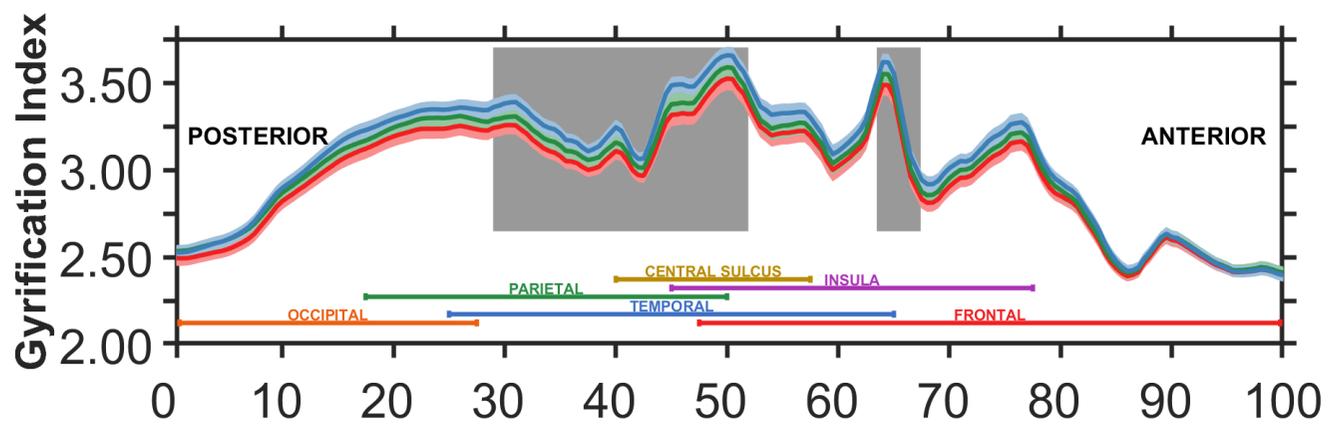


FIGURA 4.3: Pattern di girificazione postero-anteriore, dal percentile 0 (caudale) al percentile 100 (rostrale). In rosso: AN-baseline; in verde: ANflw; in blu: HC. In basso, nomi delle regioni corticali relative alla posizione.

4.3.2 Morfologia dei solchi: un'analisi fattoriale

La morfologia dei solchi è stata valutata secondo i parametri di larghezza e profondità. Dapprima, si sono raccolti i dati per singolo solco, effettuando i seguenti confronti: Controlli vs ANbaseline (Analisi A) e Controlli vs ANfollow-up (Analisi B), entrambi secondo emisfero sinistro (L) e destro (R) e per larghezza (W) e profondità (D). La numerosità del campione valutato è di 48 per i controlli e 38 pazienti. Sono riportati di seguito i valori statisticamente significativi, divisi nelle due analisi.

- **Analisi A: Controlli vs. ANbaseline**

- L_S_central Width: F 12.231 ($p = 0.001$)
- L_S_middle_and_Lunatus Width: F 15.022 ($p = 0.000$)
- L_S_cingul_Marginalis Width: F 13.112 ($p = 0.001$)
- R_S_postcentral Width: F 6.504 ($p = 0.013$)
- R_S_oc_middle_and_Lunatus Width: F 9.009 ($p = 0.004$)
- R_S_cingul_Marginalis Width: F 35.373 ($p = 0.000$)
- L_S_parieto_occipital Depth: F 4.623 ($p = 0.034$)

- **Analisi B: Controlli vs. ANflw**

- L_S_oc_middle_and_Lunatus Width: F 5.721 ($p = 0.019$)
- R_S_cingul_Marginalis Width: F 6.734 ($p = 0.011$)
- L_S_parieto_occipital Depth: F 4.177 ($p = 0.044$)

È stata, poi, effettuata una valutazione della morfologia dei solchi per tutti e 3 i gruppi (ANbase, ANflw e Controlli), completata dall'analisi Post-hoc di Bonferroni. I valori statisticamente significativi sono:

- L_S_central Width: F 7.938 ($p = 0.001$)
con ANbase > Controlli ($p = 0.000$) e ANbase > ANflw ($p = 0.019$)
- L_S_postcentral Width: F 5.110 ($p = 0.007$)
con ANbase > ANflw ($p = 0.005$)
- L_S_oc_middle_and_Lunatus Width: F 8.478 ($p = 0.000$)
con ANbase > Controlli ($p = 0.000$) e ANflw > Controlli ($p = 0.032$)

- L_S_oc_cingul_Marginalis Width: F 9.321 ($p = 0.000$)
con ANbase > Controlli ($p = 0.000$)
- R_S_postcentral Width: F 4.430 ($p = 0.014$)
con ANbase > Controlli ($p = 0.025$) e ANbase > ANflw ($p = 0.040$)
- R_S_oc_middle_and_Lunatus Width: F 3.437 ($p = 0.035$)
con ANbase > Controlli ($p = 0.031$)
- R_S_cingul_Marginalis Width: F 15.734 ($p = 0.000$)
con ANbase > Controlli ($p = 0.000$); ANflw > Controlli ($p = 0.028$) e
ANbase > ANflw ($p = 0.017$)

Nessuna significatività è stata riscontrata per le valutazioni di profondità.

Si è, in seguito, privilegiata un'analisi di tipo fattoriale dei valori di profondità e larghezza dei solchi, al fine di riassumere i dati di tutte le misurazioni sulcali e far emergere fattori latenti in grado di influenzarle, oltre che massimizzare le associazioni tra morfologia sulcale e variabili cliniche.

La suddivisione in fattori è stata così determinata, per:

- **Width, larghezza:** i fattori individuati sono 7, in Tabella V.
 - Fattore 1: include il solco Centrale bilateralmente, Frontale Superiore di sinistra e parte Marginale del Cingolato di sinistra;
 - Fattore 2: include la parte Marginale del Cingolato bilateralmente, solco Occipitale mediano e Lunato bilateralmente;
 - Fattore 3: include il solco Post-Centrale bilateralmente, solco Frontale Superiore di destra;
 - Fattore 4: include il solco Occipito-Temporale mediale e Linguale, Occipitale mediano e Lunato e il Frontale Inferiore di sinistra;
 - Fattore 5: include il solco Frontale Inferiore bilateralmente e Parieto-Occipitale di sinistra;
 - Fattore 6: include la parte Marginale del Cingolato e Parieto-Occipitale di destra, il Frontale Inferiore di sinistra;
 - Fattore 7: include il solco Frontale Superiore di sinistra, Occipito-Temporale mediale e Linguale e Post-Centrale di destra.

Tabella V: 7 fattori per larghezza, $W = width$.

Base_L/R_S_position_width	Component						
	1	2	3	4	5	6	7
L_central_W	.769						
R_central_W	.764						
L_front_sup_W	.562						.371
L_cingul_Marginalis_W	.455	.400					
R_oc_mid_and_Lunatus_W		.836					
R_cingul_Marginalis_W		.587				.308	
L_postcentral_W			.805				
R_front_sup_W			.688				
L_octemp_med_and_Ling_W				.830			
L_oc_mid_and_Lunatus_W		.376		.650			
R_front_inf_W					.769		
L_parieto_occipital_W					.582		
R_parieto_occipital_W						.814	
L_front_inf_W				.309	.392	.525	
R_octemp_med_and_Ling_W							.879
R_postcentral_W			.432				.475

Tabella VI: 5 fattori per profondità, $D = depth$.

Base_L/R_S_position_depth	Component				
	1	2	3	4	5
L_S_front_inf_D	.759				
L_S_central_D	.724				
R_S_postcentral_D	.722				
R_S_central_D	.671				
R_S_front_inf_D	.650				
L_S_cingul_Marginalis_D		.774			
R_S_parieto_occipital_D		.765			
L_S_parieto_occipital_D		.685	.398		
R_S_cingul_Marginalis_D		.643			
L_S_front_sup_D			.835		
R_S_front_sup_D			.789		
R_S_oc_middle_and_Lunatus_D				.812	
L_S_oc_middle_and_Lunatus_D				.740	
L_S_postcentral_D			.325	.632	
R_S_octemp_med_and_Lingual_D					.835
L_S_octemp_med_and_Lingual_D					.770

- **Depth, profondità:** i fattori individuati sono 5, in Tabella VI.
 - Fattore 1: include i solchi Frontale-Inferiore e Centrale bilateralmente, il solco Post-Centrale di destra;
 - Fattore 2: include la parte Marginale del Cingolato e Parieto-Occipitale bilateralmente;
 - Fattore 3: include il Frontale-Superiore bilateralmente, il Post-Centrale e Parieto-Occipitale di sinistra;
 - Fattore 4: include il Post-Centrale di sinistra e il solco Occipitale mediano e Lunato bilateralmente;
 - Fattore 5: include l'Occipito-Temporale mediale e Linguale bilateralmente.

Sono stati condotti i test per fattori, in Tabella VII, ponendo la seguente corrispondenza di codice-gruppo:

0 per controlli sani, 1 per pazienti ANbaseline, 3 per pazienti ANflw.

Si riportano F e *p* per ciascuna valutazione. La numerosità campionaria per ogni gruppo è di 48 controlli (0) e 38 pazienti ANbase (1) e ANflw (3).

I valori statisticamente significativi sono evidenziati in grassetto.

Tabella VII: Analisi fattoriali; 7 fattori per Width, 5 fattori per Depth.
Codice gruppo: 0 = controlli, 1 = ANbaseline, 3 = ANflw.

ANALISI 1 (0 vs. 1) W	F	<i>p</i>	ANALISI 3 (0 vs. 3) W	F	<i>p</i>
Fattore 1	3.740	.057	Fattore 1	0.645	.424
Fattore 2	23.321	.000	Fattore 2	9.065	.004
Fattore 3	0.013	.908	Fattore 3	3.092	.083
Fattore 4	5.885	.018	Fattore 4	1.743	.191
Fattore 5	0.003	.956	Fattore 5	0.071	.791
Fattore 6	6.499	.013	Fattore 6	0.410	.524
Fattore 7	1.949	.167	Fattore 7	0.908	.344
ANALISI 2 (0 vs. 1) D	F	<i>p</i>	ANALISI 4 (0 vs. 3) D	F	<i>p</i>
Fattore 1	0.418	.520	Fattore 1	0.186	.667
Fattore 2	0.670	.415	Fattore 2	0.806	.372
Fattore 3	0.001	.970	Fattore 3	0.025	.874
Fattore 4	0.014	.905	Fattore 4	0.209	.649
Fattore 5	0.016	.899	Fattore 5	0.847	.360

Si rilevano differenze statisticamente significative per: fattore 2 (F 23.321, $p=.000$), fattore 4 (F 5.885, $p=.018$), fattore 6 (F 6.499, $p=.013$) nel caso della larghezza del solco, nel confronto tra ANbaseline e controlli; fattore 2 (F 9.065, $p=.004$) per la larghezza del solco nel confronto ANflw e controlli; nessun valore statisticamente significativo nella valutazione della profondità nè per ANbaseline nè ANflw verso controlli.

Si sono, infine, valutate possibili correlazioni tra variabili cliniche e analisi fattoriale di morfologia sulcale: non è emerso alcun dato significativo.

4.3.3 Valutazione della D_F

La D_F è stata valutata inizialmente a livello "macroscopico", secondo un confronto tra ANbaseline e ANfollow-up, in Tabella VIII: *whole brain*, ossia per la corteccia nella sua interezza, e per i 4 lobi, bilateralmente, cioè lobo Frontale, lobo Parietale, lobo Temporale e lobo Occipitale.

Tutti i valori ottenuti sono risultati statisticamente significativi, con complessità corticale diminuita bilateralmente per le pazienti ANbaseline.

Sono stati confrontati, poi, i valori medi di D_F per 42 aree corticali, ognuna con componente di destra (R, right) e di sinistra (L, left) secondo la parcellizzazione Combinata, derivata dalla versione di Destrieux, tra le pazienti con ANbaseline e ANfollow-up, tra ANbaseline e controlli sani e tra ANfollow-up e controlli sani. I dati per area sono presenti in Tabella IX e Tabella X. In grassetto sono evidenziati i valori per cui risulta soddisfatta la significatività statistica (p).

Tabella VIII: Valutazione D_F totale e secondo i 4 lobi, bilateralmente.

	Hem	AN-base	AN-flw	F	p
Whole brain		2.52 (0.02)	2.53 (0.01)	53.353	<.001
Frontal lobe	L	2.41 (0.03)	2.43 (0.02)	33.955	<.001
	R	2.41 (0.02)	2.42 (0.02)	21.221	<.001
Parietal lobe	L	2.31 (0.03)	2.34 (0.02)	41.805	<.001
	R	2.32 (0.03)	2.34 (0.02)	20.651	<.001
Temporal lobe	L	2.42 (0.03)	2.44 (0.02)	33.612	<.001
	R	2.42 (0.02)	2.44 (0.01)	36.987	<.001
Occipital lobe	L	2.29 (0.03)	2.32 (0.02)	61.403	<.001
	R	2.30 (0.03)	2.33 (0.03)	47.578	<.001

Tabella IX: Confronto D_F tra ANbaseline e ANflw.

	Hem	F	<i>p</i>
Frontal pole	L	23.862	<.001
	R	0.728	.399
Paracentral lobule and S	L	3.170	.083
	R	2.284	.139
Subcentral G and S	L	19.173	<.001
	R	20.875	<.001
Anterior cingulate G and S	L	4.104	.050
	R	6.325	.017
Posterior cingulate G and S	L	21.037	<.001
	R	7.703	.009
Medial aspect of occipital pole	L	15.096	<.001
	R	12.278	<.001
Inferior frontal G	L	33.305	<.001
	R	21.794	<.001
Middle frontal G	L	9.897	.003
	R	1.891	<.001
Superior frontal G	L	12.297	<.001
	R	0.234	.632
Fusiform G	L	1.943	.172
	R	6.340	.016
Lingual G	L	14.969	<.001
	R	0.035	.853
Parahippocampal G	L	1.519	.226
	R	20.875	<.001
Superior parietal lobule	L	25.511	<.001
	R	20.187	<.001
Postcentral G	L	9.515	.004
	R	19.050	<.001
Precentral G	L	7.319	.010

	R	29.674	<.001
Medial parietal area	L	35.300	<.001
	R	20.989	<.001
Anterior transverse temporal G	L	8.393	.006
	R	2.839	.001
Lateral aspect of sup. temporal G	L	11.430	.002
	R	1.224	.276
Inferior temporal G	L	3.868	.057
	R	5.135	.029
Middle temporal G	L	16.487	<.001
	R	5.265	.028
Occipital pole and med. occipital area	L	21.550	<.001
	R	19.674	<.001
Temporal pole	L	0.556	.461
	R	0.072	.791
Central sulcus	L	11.952	.001
	R	31.791	<.001
Pars marginalis	L	21.014	<.001
	R	48.469	<.001
Insula	L	15.583	<.001
	R	11.203	.002
Anterior transverse collateral S	L	2.535	.120
	R	4.387	.043
Inferior frontal S	L	23.134	<.001
	R	19.749	<.001
Middle frontal S	L	14.494	.001
	R	0.141	.710
Superior frontal S	L	2.099	.156
	R	5.957	.020
Inferior parietal lobule	L	18.469	<.001
	R	25.108	<.001

Intraparietal S	L	31.907	<.001
	R	51.942	<.001
Lateral aspect of occipital pole	L	51.886	<.001
	R	52.682	<.001
Temporal-occipital area	L	31.413	<.001
	R	19.133	<.001
Medial occipital-temporal S	L	40.801	<.001
	R	31.256	<.001
Ventral aspect of frontal pole	L	45.465	<.001
	R	10.799	.002
Parieto-occipital S	L	38.906	<.001
	R	22.699	<.001
Corpus Callosum	L	3.565	.067
	R	0.008	.927
Postcentral S	L	39.008	<.001
	R	27.375	<.001
Lateral aspect of frontal pole	L	13.229	.001
	R	18.685	<.001
Med. inferior aspect of frontal pole	L	0.206	.652
	R	3.297	.078
Superior temporal S	L	39.236	<.001
	R	13.703	.001
Superior aspect of temporal pole	L	13.309	.001
	R	30.436	<.001

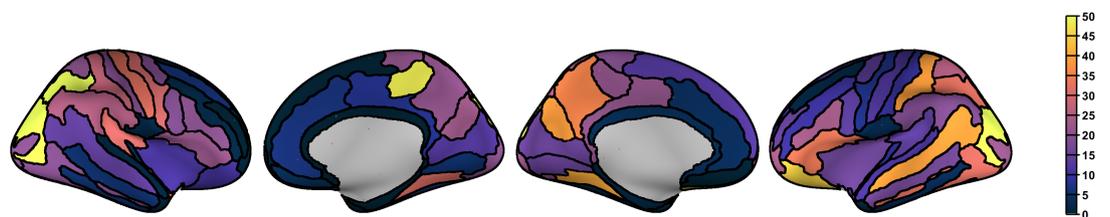
Tabella X: Confronto D_F : ANbaseline e Controlli; ANflw e Controlli.

	Hem	AN-base vs HC F (<i>p</i>)	AN-flw vs HC F (<i>p</i>)
Frontal pole	L	80.698 (<.001)	25.860 (<.001)
	R	20.754 (<.001)	7.184 (.009)

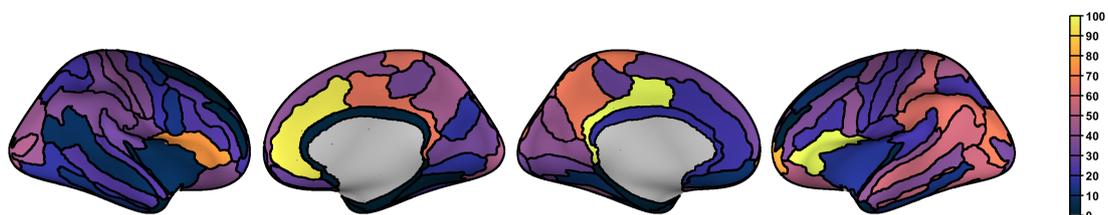
Paracentral lobule and S	L	67.081 (<.001)	33.973 (<.001)
	R	63.754 (<.001)	18.118 (<.001)
Subcentral G and S	L	23.386 (<.001)	10.394 (.002)
	R	34.919 (<.001)	24.511 (<.001)
Anterior cingulate G and S	L	19.668 (<.001)	6.615 (.012)
	R	96.337 (<.001)	32.297 (<.001)
Posterior cingulate G and S	L	144.015 (<.001)	82.848 (<.001)
	R	65.007 (<.001)	44.828 (<.001)
Medial aspect of occipital pole	L	39.264 (<.001)	15.270 (<.001)
	R	33.051 (<.001)	11.126 (.001)
Inferior frontal G	L	101.942 (<.001)	41.090 (<.001)
	R	76.282 (<.001)	27.838 (<.001)
Middle frontal G	L	33.954 (<.001)	13.023 (.001)
	R	24.912 (<.001)	12.733 (.001)
Superior frontal G	L	31.568 (<.001)	12.574 (.001)
	R	39.121 (<.001)	27.114 (<.001)
Fusiform G	L	43.231 (<.001)	44.340 (<.001)
	R	21.368 (<.001)	13.281 (<.001)
Lingual G	L	32.011 (<.001)	13.881 (<.001)
	R	17.033 (<.001)	6.368 (.014)
Parahippocampal G	L	0.239 (.626)	1.183 (.280)
	R	0.012 (.913)	0.015 (.903)
Superior parietal lobule	L	47.225 (<.001)	8.180 (.005)
	R	20.586 (<.001)	5.682 (.019)
Postcentral G	L	30.317 (<.001)	16.780 (<.001)
	R	39.575 (<.001)	15.802 (<.001)
Precentral G	L	22.969 (<.001)	6.711 (.011)
	R	19.158 (<.001)	3.060 (.084)
Medial parietal area	L	65.916 (<.001)	27.633 (<.001)
	R	44.792 (<.001)	17.929 (<.001)
Ant. transverse temporal G	L	5.400 (.023)	19.236 (<.001)
	R	3.312 (.072)	7.185 (.009)
Lat. aspect of sup. temporal G	L	39.806 (<.001)	19.889 (<.001)
	R	23.985 (<.001)	17.587 (<.001)
Inferior temporal G	L	12.602 (.001)	4.400 (.039)

	R	11.515 (.001)	3.376 (.070)
Middle temporal G	L	36.201 (<.001)	12.084 (.001)
	R	23.952 (<.001)	14.480 (<.001)
Occipital pole and medial area	L	31.926 (<.001)	2.975 (.088)
	R	47.499 (<.001)	16.059 (<.001)
Temporal pole	L	1.873 (.175)	2.853 (.095)
	R	0.005 (.942)	0.019 (.890)
Central sulcus	L	23.892 (<.001)	7.056 (.009)
	R	35.873 (<.001)	6.154 (.015)
Pars marginalis	L	29.841 (<.001)	2.856 (.095)
	R	33.102 (<.001)	3.071 (.083)
Insula	L	15.285 (<.001)	0.394 (.532)
	R	7.097 (.009)	0.123 (.726)
Anterior transverse collateral S	L	0.256 (.614)	3.164 (.079)
	R	0.001 (.975)	1.195 (.277)
Inferior frontal S	L	21.061 (<.001)	2.337 (.130)
	R	23.219 (<.001)	5.054 (.027)
Middle frontal S	L	1.651 (.202)	2.379 (.127)
	R	2.974 (.088)	1.718 (.194)
Superior frontal S	L	10.310 (.002)	4.152 (.045)
	R	0.136 (.713)	0.489 (.486)
Inferior parietal lobule	L	62.252 (<.001)	24.114 (<.001)
	R	35.872 (<.001)	8.517 (.005)
Intraparietal S	L	21.503 (<.001)	1.242 (.268)
	R	20.646 (<.001)	1.006 (.319)
Lateral aspect of occipital pole	L	66.501 (<.001)	15.666 (<.001)
	R	42.494 (<.001)	5.197 (.025)
Temporal-occipital area	L	54.877 (<.001)	12.003 (.001)
	R	17.361 (<.001)	1.622 (.206)
Medial occipital-temporal S	L	8.944 (<.004)	0.637 (.427)
	R	0.151 (.699)	5.531 (.021)
Ventral aspect of frontal pole	L	50.503 (<.001)	8.126 (.006)
	R	38.752 (<.001)	6.536 (.012)
Parieto-occipital S	L	42.484 (<.001)	9.700 (.003)
	R	17.321 (<.001)	4.607 (.035)
Corpus Callosum	L	18.477 (<.001)	28.731 (<.001)

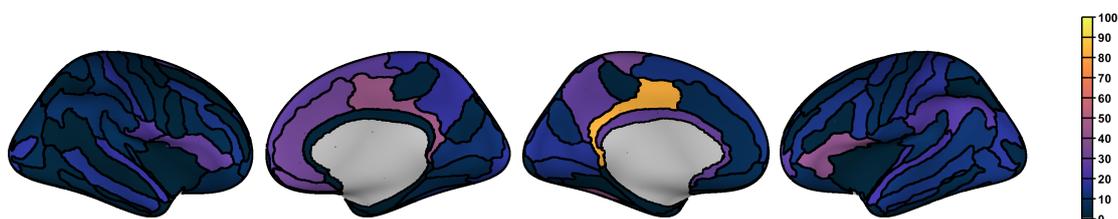
	R	2.391 (.126)	1.908 (.171)
Postcentral S	L	58.138 (<.001)	15.860 (<.001)
	R	33.146 (<.001)	7.467 (.008)
Lateral aspect of frontal pole	L	39.763 (<.001)	14.234 (<.001)
	R	12.436 (.001)	1.209 (.275)
Med. inferior aspect of frontal pole	L	9.518 (.003)	5.277 (.024)
	R	29.415 (<.001)	32.282 (<.001)
Superior temporal S	L	55.918 (<.001)	10.269 (.002)
	R	7.340 (.008)	0.039 (.843)
Superior aspect of temporal pole	L	20.271 (<.001)	7.997 (.006)
	R	30.832 (<.001)	5.612 (.020)



(A) AN baseline vs. AN follow-up



(B) AN baseline vs. Controlli sani



(C) AN follow-up vs. Controlli sani

FIGURA 4.4: Rappresentazione grafica di comparazioni per D_F dopo insufflazione della superficie piaie.

A. AN baseline vs. ANflw; B. AN baseline vs. HC;

C. ANflw vs. HC.

AN baseline vs. AN follow-up

Le pazienti con AN alla prima acquisizione con RM presentano D_F ridotta in gran parte delle aree rispetto all'acquisizione di follow-up.

In particolare, le differenze statisticamente significative riguardano: giro e solco subcentrale, giro e solco del cingolato anteriore e posteriore, componente mediale del polo occipitale, giro frontale inferiore e medio, lobulo parietale superiore, giro post-centrale, giro pre-centrale, area parietale mediale, giro temporale trasverso anteriore, componente laterale del giro temporale superiore, giro temporale medio, polo occipitale e area occipitale mediale, solco centrale, pars marginalis, insula, solco frontale inferiore, lobulo parietale inferiore, solco intraparietale, componente laterale del polo occipitale, area temporo-occipitale, solco temporo-occipitale mediale, aspetto ventrale del polo frontale, solco parieto-occipitale, solco post-centrale, componente laterale del polo frontale, solco temporale superiore, componente superiore del polo temporale *bilateralmente*; polo frontale, giro superiore, giro linguale, solco frontale medio di *sinistra*; giro paraippocampale, giro temporale inferiore, solco frontale superiore di *destra*.

AN baseline vs. HC

Analogamente alla valutazione ANbaseline vs. ANfollow-up, le pazienti con AN alla prima acquisizione con RM presentano D_F ridotta in gran parte delle aree rispetto ai controlli sani. La significatività statistica, anche in questo caso, è soddisfatta per la maggior parte delle regioni, bilateralmente.

AN follow-up vs. HC

Le pazienti al follow-up presentano differenze di D_F in alcune aree rispetto ai controlli, con gradiente meno marcato rispetto alle pazienti AN baseline. In generale, si riscontra una tendenza alla normalizzazione dei valori di D_F .

In Fig. 4.4 sono visibili graficamente tali risultati.

D_F totale e variabili cliniche

È stata eseguita un'analisi volta a rilevare se vi fossero correlazioni statisticamente significative tra D_F totale e variabili cliniche, Tabella XI.

In grassetto sono segnalate le relazioni statisticamente significative.

Tabella XI: Correlazioni tra D_F totale e variabili cliniche.

	Baseline D_F totale (<i>p</i>)
BMI_SDS_A	0.457 (0.004)
BMI_A	0.209 (0.208)
Età di esordio	0.490 (0.004)
Durata di malattia (mesi)	0.496 (0.004)
Perdita di peso (BMI)	0.331 (0.048)
Perdita di peso (BMI_SDS)	0.518 (0.001)
Rapidità di perdita di peso (BMI_SDS per mese)	0.208 (0.262)

In particolare si sottolinea la correlazione positiva con il BMI standardizzato: nelle pazienti con AN acuta, baseline, il valore di D_F è tanto più ridotto quanto minore è il BMI, ossia quanto più severa è la patologia. Allo stesso modo, correla anche con l'età di esordio (tanto più precoce, tanto minore D_F), la durata di malattia in mesi (tanto maggiore, tanto minore D_F) e la perdita di peso.

La D_F di ciascun lobo, correla con il medesimo andamento con le stesse variabili cliniche.

4.4 Discussione

Nel presente studio si indagano le alterazioni corticali nei pazienti con AN seguendoli longitudinalmente e confrontando i dati ottenuti tra le due scansioni, ANbaseline con ANfollow-up, e con i controlli sani. Si utilizzano tre parametri: una prima indagine esplorativa con cui si valuta il pattern di girificazione postero-anteriore, rappresentando i valori in forma grafica sintetica attraverso tre curve; ulteriori due indagini, che mirano ad approfondire i riscontri iniziali, prevedendo l'analisi della morfologia dei solchi, di tipo fattoriale, e la valutazione della complessità corticale grazie alla dimensione frattale. Quest'ultima rappresenta un metodo particolarmente innovativo di esame delle strutture biologiche,

adatto a descrivere la reale complessità, senza eccessive semplificazioni, della corteccia cerebrale.

Ad oggi, in letteratura, non sono presenti studi di tipo longitudinale che mirino ad esplorare, con tali tre differenti metodiche, le alterazioni corticali dell'AN e possano, grazie alla progettazione di follow-up, rilevare scientificamente la loro reversibilità da più punti di vista, già documentata da numerosi studi. Infatti, già nel 2016 erano emerse evidenze circa l'impatto dell'AN acuta in termini neuroradiologici, come perdita di GM e WM e riduzione, quindi, di spessore corticale. Tale condizione recupera molto rapidamente, 0.06 mm/mese, con un breve periodo di trattamento di recupero del peso, 3 mesi [87, 14]. Il meccanismo sottostante non è noto ma sono state formulate numerose ipotesi [54]: la più verosimile sembra essere la combinazione di rimodellamento neuronale e gliale. Altri studi si sono interessati alle alterazioni della WM, nello specifico alla riduzione di FA nei tratti dei gangli della base e nelle proiezioni che li attraversano, riscontrandone una significativa riduzione in acuto e una normalizzazione nei soggetti in trattamento [71].

Alcune ricerche si sono concentrate su target più specifici, per esempio sull'ippocampo, rilevato essere ridotto in termini volumetrici, bilateralmente, nelle pazienti con AN acuta, correlando con il BMI. Si ipotizza che la motivazione sia da ricercarsi nell'intrinseca sensibilità di questo organo verso il cortisolo, derivato dall'iperattività della risposta stress-indotta secondo l'asse ipotalamo-ipofisi-surrene.

Anche la girificazione è uno dei target di analisi già in parte esplorato in letteratura: alterazioni di girificazione sono presenti in numerosi disturbi psichiatrici, con una rilevanza tale per cui la riduzione di GI è considerata, ad esempio, fattore prognostico negativo nelle psicosi. Nel caso dell'AN la girificazione cerebrale si è dimostrata fattore predittivo al follow-up, indipendente dalla durata di malattia, classificando correttamente per esito l'84% dei pazienti in studio [38]. Negli adolescenti le alterazioni di girificazione si sono rivelate essere maggiori rispetto agli adulti: la corteccia cerebrale pare essere più sensibile alla malnutrizione in questa fascia d'età.

Proprio da qui parte l'indagine di questo studio, scelta come valutazione iniziale, esplorativa: la rilevazione del gradiente di girificazione postero-anteriore in un campione di pazienti seguite longitudinalmente,

ANbaseline al tempo 0 e ANfollow-up al tempo medio di 3.5 mesi, e in un campione di donne sane, controlli. Questi tre dati sono stati rappresentati in forma grafica sintetica, secondo tre tracciati che ripercorrono postero-anteriormente tutte le regioni corticali, in 200 sezioni coronali ordinate. Tale approccio era già stato utilizzato per uno studio sull'AN di tipo trasversale [23], che aveva dimostrato come il GI di pazienti in acuto, pazienti guariti e controlli seguisse la medesima distribuzione, presentando soltanto valori più bassi nello stadio di acuzie. Le aree con maggior significatività in termini di differenziale AN acuta-controlli, sono: Solco Centrale e lobi Parieto-Temporale e Frontale. In quest'analisi, longitudinale, si conferma la presenza di traiettorie con andamento identico nel grafico di girificazione postero-anteriore, tra ANbaseline, ANflw e controlli sani. Si rileva inoltre che non vi è alcuna differenza statisticamente significativa tra valori di ANflw e controlli, confermando la reversibilità completa delle alterazioni corticali con il trattamento, già nel breve termine; i valori nell'ANbaseline sono ridotti significativamente in particolare nelle regioni del Solco Centrale, lobi Parieto-Temporale e Frontale, proprio le medesime aree rilevate dallo studio trasversale.

Tenuto conto di tali aspetti, la prima indagine di approfondimento mira a valutare la morfologia dei solchi nei due parametri che li contraddistinguono: larghezza e profondità. Nello specifico, si sono valutati 8 principali solchi per emisfero, quindi 16 in totale, dapprima singolarmente nel confronto Controlli vs ANbaseline (Analisi A) e Controlli vs ANflw (Analisi B), in seguito attraverso un'analisi fattoriale, individuando 7 fattori per la larghezza e 5 per la profondità. I fattori permettono valutazioni statistiche più efficaci andando a raggruppare i solchi per caratteristiche omogenee.

Lo studio dei singoli solchi ha individuato come significativi i valori relativi a 7 solchi, 4 di sinistra e 3 di destra, nel confronto Controlli vs. ANbaseline, di cui soltanto uno per profondità (solco parieto-occipitale di sinistra). Nell'analisi Controlli vs. ANflw, più di metà di essi si sono normalizzati e la significatività è emersa per 3 solchi, di cui uno per profondità. Alla valutazione morfologica che compara tutti e tre i gruppi (ANbase, ANflw e Controlli), completata dall'analisi Post-hoc di Bonferroni, emerge l'evidenza del tipo di andamento della larghezza, aumentata nelle pazienti, maggiormente nello stadio di acuzie, rispetto ai

controlli. Non vi è significatività per le alterazioni di profondità.

Anche alla valutazione fattoriale è risultata una completa mancanza di significatività nelle analisi di profondità, sia per ANbaseline vs. controlli che ANflw vs. controlli. Per quanto riguarda la larghezza, al contrario, sono emerse differenze rilevanti nei fattori 2, 4 e 6 per ANbaseline vs. controlli e nel fattore 2 per ANflw vs. controlli. Tali fattori corrispondono ai solchi: (2) parte Marginale del Cingolato bilateralmente, solco Occipitale mediano e Lunato bilateralmente; (4) solco Occipito-Temporale mediale e Linguale, solco Occipitale mediano e Lunato e solco Frontale Inferiore di sinistra; (6) parte Marginale del Cingolato e Parieto-Occipitale di destra, Frontale Inferiore di sinistra.

Queste evidenze rappresentano una conferma che tali alterazioni corticali nell'AN non sono diffuse all'intera corteccia [23]. Supporta, inoltre, l'utilità di investigare le alterazioni complesse che sottostanno alla neurobiologia della malattia utilizzando diversi indici, in grado di fotografare aspetti differenti della morfologia corticale, verosimilmente sottendenti il medesimo processo patogenetico [54]. Appare chiaro, tuttavia, che la rapida reversibilità di gran parte delle alterazioni vada a conferire grandi responsabilità al ruolo della malnutrizione. La relazione tra morfologia dei solchi e pattern di girificazione necessita di ulteriori studi.

Curioso il logico ragionamento che consegue queste evidenze: sinteticamente, si è rilevata una riduzione del gradiente di girificazione, la presenza di un allargamento dei solchi in numerose aree e, praticamente, nessuna alterazione significativa di profondità; si ricordi brevemente che il GI è il rapporto tra area della superficie piale e area che racchiude esternamente la corteccia. L'allargamento dei solchi, in realtà, andrebbe ad impattare sulla superficie piale, aumentandola; ciò implica un aumento del numeratore che porterebbe ad un aumento del GI, all'opposto delle evidenze. Si ipotizza, perciò, che all'allargamento dei solchi corrisponda una generale modificazione corticale con appiattimento dei solchi minori, non indagati [59].

In merito alla durata di malattia, si può notare che il campione di pazienti in analisi, seguite poi al follow-up, presenta un periodo di malattia di 12.4 mesi (DS= 9.27), quindi sostanzialmente si tratta di una casistica che include sia LongAN che ShortAN, ricordando che usualmente il cut-off è ad un anno. Emerge una comune tendenza alla reversibilità delle alterazioni corticali e già in precedenza era stato rilevato che non vi fosse

alcun effetto evidente della durata di malattia nelle modificazioni strutturali dei solchi [23].

Altra indagine è quella relativa alla D_F , calcolata dapprima a livello "macroscopico" come D_F totale (*whole brain*) e per i 4 principali lobi (Frontale, Parietale, Temporale e Occipitale) nel confronto tra ANbaseline e AN-flw; in seguito per 42 aree cerebrali, secondo la parcellizzazione Combinata, al fine di valutare la complessità corticale nei pazienti ANbaseline vs. ANfollow-up, ANbaseline vs. controlli e ANfollow-up vs. controlli. Si è, infine, valutata la relazione tra D_F e variabili cliniche.

I risultati mostrano la presenza di una D_F globalmente ridotta tra ANbaseline e ANfollow-up, confermata anche lobo per lobo bilateralmente, con valori tutti statisticamente significativi. Nella valutazione per singole aree, gran parte di esse risultano con D_F ridotta nei pazienti ANbaseline, in stadio di acuzie, e dimostrano una notevole tendenza verso la normalizzazione nei pazienti ANflw rispetto ai controlli. Permangono, però, delle minime differenze.

In letteratura, le prime pubblicazioni in ambito neuroscientifico, consideravano la D_F come un sensibile metodo di misura per la descrizione dell'atrofia corticale dovuta all'aging [66]. In seguito, essa si è dimostrata in grado di descrivere i complessi pattern di morfologia corticale secondari alla malnutrizione nell'AN [19]. È ancora aperta all'approfondimento di studi futuri la questione circa il peso dei differenti fattori su tali alterazioni: malnutrizione, disidratazione, fattori endocrinologici e, non per ultimo, alterazioni delle traiettorie di neurosviluppo, ipotizzate poter precedere l'esordio della patologia [24]. Quest'ultima ipotesi richiede un'attenta valutazione della relazione di ogni alterazione corticale con la durata di malattia, l'età del paziente e l'età di esordio, rispetto alle evidenze neuroradiologiche. I dati in letteratura indicano che entrambi, età e durata di malattia, correlano inversamente con la D_F , suggerendo un impatto dell'AN sulla riduzione di complessità corticale [19]. Posto inoltre che, data la relazione nota con l'aging, la D_F si riduce fisiologicamente dall'adolescenza all'età adulta per rimodellamento corticale, si ipotizza che l'AN sia sostanzialmente in grado di accelerare tale processo. La correlazione tra D_F e girificazione valida nei controlli e non nei pazienti con AN suggerisce la sensibilità della D_F alla malnutrizione [19].

È noto, inoltre, che la girificazione sia determinata precocemente durante le fasi del neurosviluppo, in particolare si configura durante il III trimestre di gravidanza per poi rimanere relativamente costante, con una lieve riduzione con l'età. Le alterazioni della girificazione, di conseguenza, sono in relazione con alterazioni del neurosviluppo e con l'impatto di agenti prenatali. Già per numerosi altri disturbi psichici tale relazione è stata confermata, perciò si rendono opportuni ulteriori studi in merito per i DCA.

Anatomicamente, una regione particolarmente interessata dalla riduzione di D_F è quella del solco e giro cingolato posteriore e, più in generale, numerose regioni parietali, alcune permanenti anche nelle pazienti ANflw. Queste ultime sedi, nello specifico, sono rilevanti, in termini neuropsicologici, per l'integrazione delle abilità di percezione della propria immagine corporea [37]. Si suggerisce, perciò, che esse possano essere particolarmente suscettibili ad un impatto malattia-specifico e richiedano ulteriori approfondimenti mirati.

Grazie agli studi di connettomica, è stato dimostrato che i pazienti con AN presentano una clusterizzazione diminuita significativamente rispetto ai controlli sani e una differente distribuzione dei nodi *hub*: interessante è l'emergere di un hub nuovo, proprio a livello del Cingolato anteriore, la cui connettività correla negativamente con la flessibilità cognitiva [20]. Tale sede è anche rilevante per la regolazione dello stimolo dell'appetito. Appare chiaro che questi correlati neuropsicologici siano uno degli aspetti dai quali la psicoterapia non può prescindere. Sempre grazie alla connettomica, si è potuto rilevare che il nodo hub parietale, in tema di regioni interessate dalla riduzione di D_F , presenta un andamento differente rispetto agli altri nell'AN: a maggior atrofia, corrisponde maggior importanza, quindi più attività di integrazione [20].

Nella valutazione della relazione tra D_F e variabili cliniche, si rileva una correlazione statisticamente significativa tra D_F e BMI-SDS: ciò consente di ipotizzare che una riduzione globale della complessità corticale possa essere un effetto acuto della malnutrizione e che possa migliorare con il recupero del peso; rafforza, quindi, l'ipotesi di un ruolo chiave della malnutrizione. Tale andamento è già noto, in letteratura, per altri parametri corticali: per la CT, riscontrata normalizzarsi in seguito ad un recupero di almeno 10% di BMI secondo uno studio longitudinale [14]; per la

FA della WM, anch'essa reversibile con il trattamento [71]; per il volume dell'ippocampo bilateralmente [21]. Anche in ambito di connettomica, sono emerse correlazioni di interesse con la malnutrizione: tanto minor BMI, tanta minor integrazione corticale, come forma compensatoria per minimizzare l'impatto della denutrizione (ricordando che il medesimo andamento si riscontra anche nell'obesità, quindi per BMI aumentati eccessivamente) [20]; in ambito di WM, si è dimostrata la presenza di uno squilibrio tra integrazione e segregazione, quindi riduzione dell'indice Small World, e la perdita di alcuni dei più importanti nodi hub [22]. La relazione con il BMI, invece, non è significativa per il GI [38].

Altra correlazione di interesse è quella tra D_F e durata di malattia: la D_F è l'unica metodica di indagine corticale ad avere tale caratteristica, assente, infatti, per volume di GM, CT e GI [66]; ad una D_F più ridotta corrisponde una malattia più lunga. In aggiunta, la D_F correla significativamente con l'età di esordio.

Questo studio presenta alcuni punti di forza e di debolezza.

L'utilizzo di tre parametri in grado di cogliere le ripercussioni corticali dell'AN permette di esplorare il processo da tre punti di vista differenti e ottenere, perciò, un inquadramento più completo. Si tratta, inoltre, di tipologie di approccio assolutamente innovative, in particolare la D_F , una delle grandi novità nel panorama delle Neuroscienze.

La possibilità di tradurre i dati in rappresentazioni grafiche sintetiche, come per esempio nel caso del pattern di girificazione postero-anteriore, consente una comprensione immediata e una facile descrizione dell'andamento della variabile.

Altro aspetto di interesse è il disegno longitudinale: vi sono già, in letteratura, studi che riprendono, in parte, queste valutazioni con un disegno di tipo trasversale ma, come è noto, l'utilizzo del follow-up consente di cogliere il reale andamento, che lo studio trasversale ipotizza esserci, delle alterazioni corticali dallo stato di acuzie al recupero post-trattamento nel medesimo paziente. La presenza di un follow-up a breve durata, 3.5 mesi in media secondo l'obiettivo di peso di almeno il 20° percentile di BMI, consente di avanzare l'idea che la malnutrizione rivesta davvero un ruolo essenziale nella determinazione di tali alterazioni.

Uno dei punti di debolezza, spesso presente negli studi sull'AN, è la

presenza di un campione esclusivamente femminile: l'AN è una patologia prevalentemente ma non esclusivamente femminile; sarebbe bene, al fine di ricavare informazioni più complete circa la sua fisiopatologia, includere nelle indagini anche soggetti di sesso maschile, per i quali non è possibile fare inferenze in questo studio [48].

La numerosità campionaria, inoltre, appare limitata anche se comunque in linea con quella degli studi presenti ad oggi in letteratura (si veda ad esempio [14]) che, analogamente a questo, si propongono di valutare l'AN con tecniche di imaging strutturale. Il principale limite rimane, infatti, la difficoltà di condurre indagini longitudinali con le pazienti di interesse.

Altro punto di debolezza, non trascurabile, è la mancanza di estrazione dell'indice di lateralizzazione interemisferica sia per le pazienti che per i controlli.

4.5 Conclusioni

In conclusione, questo studio rappresenta, ad oggi, il primo approccio longitudinale all'AN attraverso l'utilizzo di tre parametri differenti, pattern di girificazione, morfologia sulcale e D_F , in grado di cogliere le alterazioni corticali imputabili alla malattia. La già nota reversibilità delle modificazioni della corteccia in seguito al trattamento, per studi precedenti, viene riconfermata da tutte e tre le variabili indagate. La tendenza alla reversibilità delle alterazioni discusse, quindi la non significatività statistica di differenze tra ANflw e controlli sani o la riduzione di differenza significativa, suggerisce che tali modificazioni non siano da considerarsi delle "cicatrici" dell'AN e che la malnutrizione abbia un importante ruolo nella loro genesi. Tali tre metodiche di studio risultano validi strumenti per la ricerca neuroscientifica, tra loro indipendenti e in grado di fornire informazioni non ridondanti. Le sedi anatomicamente identificate perchè maggiormente impattate dall'AN, trovano riscontro anche in correlati neuropsicologici noti.

Appendice A

I Frattali

A.1 Calcolo della D_F

Il calcolo della D_F può essere eseguito utilizzando 2 metodi [66]:

- **1. Box-counting:** in Fig. A.1, vi è la valutazione della superficie e dell'estensione del profilo della stato della Germania con l'uso di caselle di dimensione variabile. La struttura tridimensionale è considerata inserita all'interno di una griglia fissa: si procede contando quante caselle della griglia contengono porzioni della superficie della struttura. La grandezza della griglia viene poi aumentata e rieffettuato il conteggio. Con l'utilizzo di differenti misure di caselle e i rispettivi conteggi, si calcola la relazione tra essi, ossia il rapporto, da cui la complessità. Il grafico del logaritmo di tale rapporto corrisponde ad una retta, la cui pendenza è la D_F ;
- **2. Dilation Algorithm:** in Fig. A.2, la valutazione della corteccia cerebrale è eseguita sostituendo le caselle bidimensionali con strutture cubiche, tridimensionali, di dimensione variabile, dette "dilated". Alcuni studi precedentemente avevano impiegato delle sfere, ma l'impiego del cubo rende il calcolo notevolmente più preciso. A differenza del Box-counting, in questo caso si utilizza una griglia mobile. Tale processo implica la necessità di operazioni di convoluzione tridimensionale ma il calcolo, poi, risulta più rapido e richiede minori risorse computazionali.

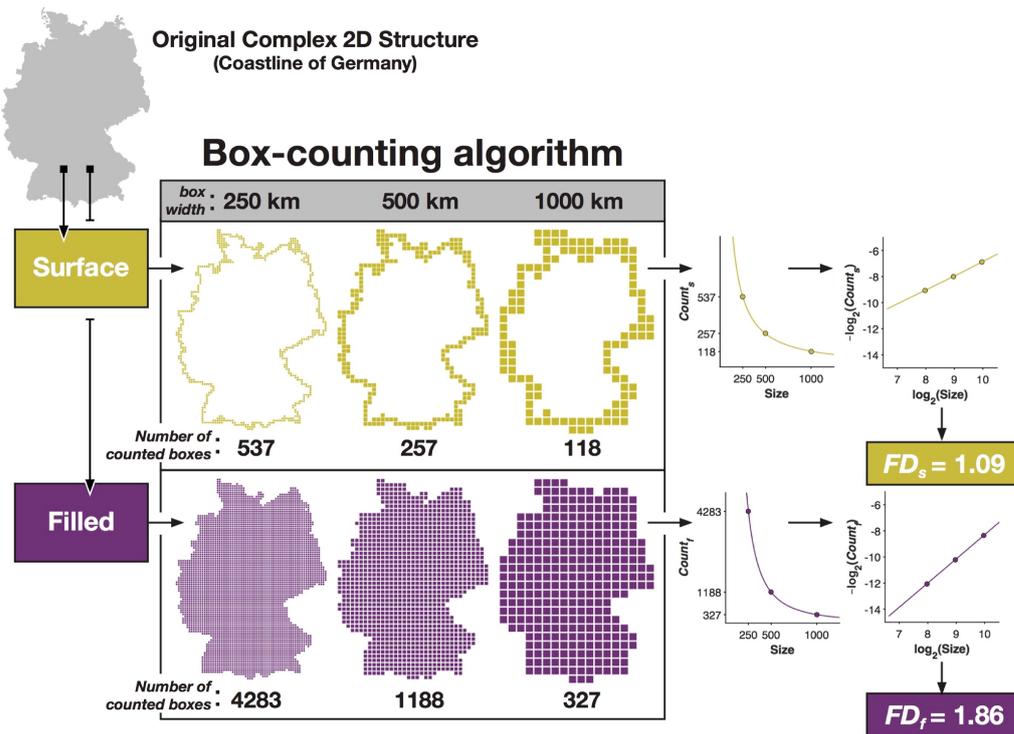


FIGURA A.1: Calcolo della D_F , algoritmo Box-counting [66].

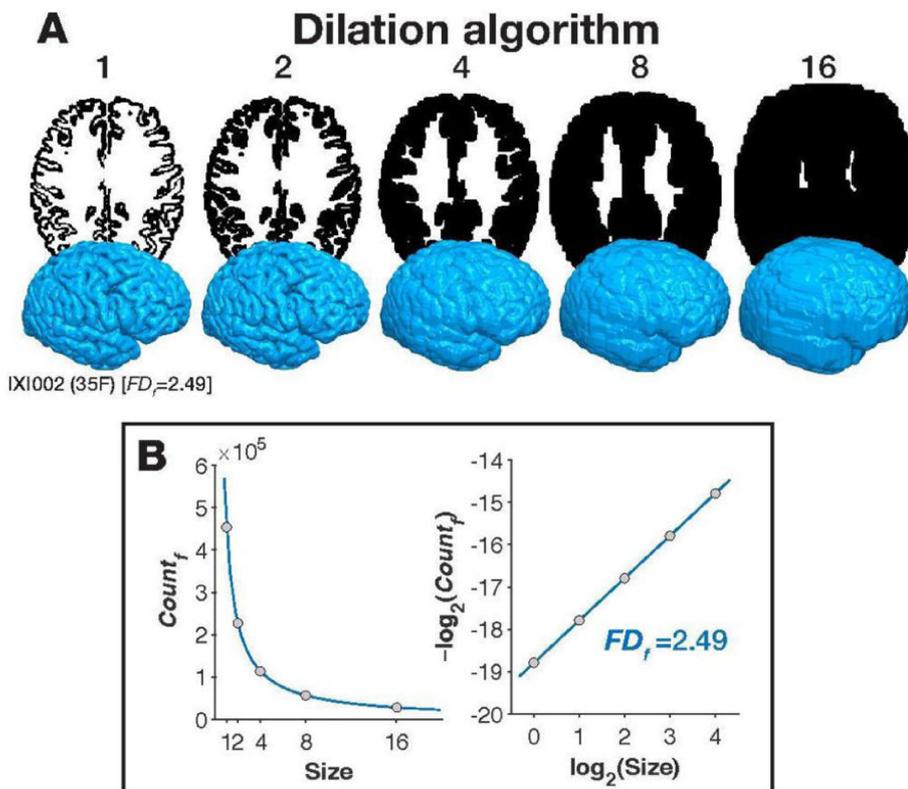


FIGURA A.2: Calcolo della D_F , algoritmo Dilation [66].

Bibliografia

- [1] Amianto et al. «Brain volumetric abnormalities in patients with anorexia and bulimia nervosa: A Voxel-based morphometry study». In: *Psychiatry Research: Neuroimaging* 213.3 (2013), pp. 210–216. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0925492713000899>.
- [2] Andersen. «Book Review». In: *New England Journal of Medicine* 329.26 (1993), pp. 1974–75. URL: <https://doi.org/10.1056/NEJM199312233292627>.
- [3] Anderson et al. «Cortical thickness or grey matter volume? The importance of selecting the phenotype for imaging genetics studies». In: *NeuroImage* 53.3 (2010), pp. 1135–1146. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1053811909013160>.
- [4] Arcelus et al. «Mortality rates in patients with anorexia nervosa and other eating disorders. A meta-analysis of 36 studies.» In: *Arch Gen Psychiatry*. 68 (7) (2011), pp. 724–31.
- [5] Armstrong et al. «The Ontogeny of Human Gyrfication». In: *Cerebral Cortex* 5.1 (1995), pp. 56–63. URL: <https://doi.org/10.1093/cercor/5.1.56>.
- [6] Asami et al. «Structural brain abnormalities in adolescent patients with anorexia nervosa at both the acute and weight-recovered phase». In: *Brain Imaging Behav.* (2022).
- [7] Ashburner et al. «Voxel-Based Morphometry—The Methods». In: *NeuroImage* 11.6 (2000), pp. 805–821. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1053811900905822>.
- [8] American Psychiatric Association. «APA practice guidelines for the treatment of patients with eating disorders - 3rd edition». In: *APA* (2012).
- [9] American Psychiatric Association. «Manuale diagnostico e statistico dei disturbi mentali, Quarta edizione, DSM-IV, 2000». In: *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fourth Edition, DSM-IV* (2000).
- [10] American Psychiatric Association. «Manuale diagnostico e statistico dei disturbi mentali, Quinta edizione, DSM-5, Raffaello Cortina Editore, Milano, 2014». In: *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fifth Edition, DSM-5* (2013).

- [11] Barkovich et al. «MR Imaging of Normal Brain Development.» In: *Neuroimaging Clin N Am.* 29(3) (2019), pp. 325–337.
- [12] Becker et al. «Eating Disorders». In: *New England Journal of Medicine* 340.14 (1999), pp. 1092–98. URL: <https://doi.org/10.1056/NEJM199904083401407>.
- [13] Bernardoni et al. «Nutritional Status Affects Cortical Folding: Lessons Learned From Anorexia Nervosa». In: *Biological Psychiatry* 84.9 (2018), pp. 692–701. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2018.05.008>.
- [14] Bernardoni et al. «Weight restoration therapy rapidly reverses cortical thinning in anorexia nervosa: A longitudinal study». In: *NeuroImage* 130 (2016), pp. 214–222. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1053811916001014>.
- [15] Bourre et al. «Effects of nutrients (in food) on the structure and function of the nervous system: update on dietary requirements for brain. Part 1: micronutrients.» In: *The journal of nutrition, health & aging* 10 (2006), pp. 377–85.
- [16] Bulik et al. «Suicide attempts in anorexia nervosa.» In: *Psychosom Med.* 70 (3) (2008), pp. 378–83.
- [17] Clarkson et al. «A comparison of voxel and surface based cortical thickness estimation methods». In: *NeuroImage* 57.3 (2011), pp. 856–865. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1053811911005611>.
- [18] Collantoni et al. «Catechol-O-Methyltransferase (COMT) Val158Met Polymorphism and Eating Disorders: Data From a New Biobank and Meta-Analysis of Previously Published Studies.» In: *Eur Eat Disord Rev.* 25(6) (2017), pp. 524–532.
- [19] Collantoni et al. «Cortical Complexity in Anorexia Nervosa: A Fractal Dimension Analysis». In: *Journal of Clinical Medicine* 9.3 (2020). URL: <https://www.mdpi.com/2077-0383/9/3/833>.
- [20] Collantoni et al. «Functional Connectivity Patterns and the Role of 5-HTTLPR Polymorphism on Network Architecture in Female Patients With Anorexia Nervosa». In: *Frontiers in Neuroscience* 13 (2019). URL: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fnins.2019.01056>.
- [21] Collantoni et al. «Hippocampal volumes in anorexia nervosa at different stages of the disorder». In: *European Eating Disorders Review* 29.1 (2021), pp. 112–122. URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/erv.2806>.

- [22] Collantoni et al. «Shift Toward Randomness in Brain Networks of Patients With Anorexia Nervosa: The Role of Malnutrition». In: *Frontiers in Neuroscience* 15 (2021). URL: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fnins.2021.645139>.
- [23] Collantoni et al. «Sulcal characteristics patterns and gyrification gradient at different stages of Anorexia Nervosa: A structural MRI evaluation». In: *Psychiatry Research: Neuroimaging* 316 (2021), p. 111350. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0925492721001025>.
- [24] Connan et al. «A neurodevelopmental model for anorexia nervosa». In: *Physiology & Behavior* 79.1 (2003), pp. 13–24. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S003193840300101X>.
- [25] Cross et al. «Fractals in pathology». In: *The Journal of Pathology* 182.1 (1997), pp. 1–8. URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/%28SICI%291096-9896%28199705%29182%3A1%3C1%3A%3AAID-PATH808%3E3.O.CO%3B2-B>.
- [26] Culbert et al. «Research Review: What we have learned about the causes of eating disorders – a synthesis of sociocultural, psychological, and biological research». In: *Journal of Child Psychology and Psychiatry* 56.11 (2015), pp. 1141–1164. URL: <https://acamh.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/jcpp.12441>.
- [27] Destrieux et al. «Automatic parcellation of human cortical gyri and sulci using standard anatomical nomenclature». In: *NeuroImage* 53.1 (2010), pp. 1–15. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1053811910008542>.
- [28] D. Di Bella et al. «Serotonin transporter linked polymorphic region in anorexia nervosa and bulimia nervosa.» In: *Mol Psychiatry*. 5(3) (2000), pp. 233–4.
- [29] A. Di Ieva. «Fractals in the neurosciences, Part II: clinical applications and future perspectives.» In: *Neuroscientist* 21 (1) (2015).
- [30] A. Di Ieva. *The Fractal Geometry of the Brain*. Springer, New York, NY, 2016, pp. 15–18.
- [31] A. Di Ieva et al. «Fractals in the Neurosciences, Part I: General Principles and Basic Neurosciences». In: *The Neuroscientist* 20.4 (2014), pp. 403–417. URL: <https://doi.org/10.1177/1073858413513927>.
- [32] Eddy et al. «Diagnostic crossover in anorexia nervosa and bulimia nervosa: implications for DSM-V.» In: *Am J Psychiatry*. 165 (2) (2008), pp. 245–50.
- [33] James M. Edlin, Marcus L. Leppanen et al. «On the use (and misuse?) of the Edinburgh Handedness Inventory». In: *Brain and Cognition* 94 (2015), pp. 44–51. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bandc.2015.01.003>.

- [34] Fassino et al. «Factors associated with dropout from treatment for eating disorders: a comprehensive literature review.» In: *BMC Psychiatry*. 9 (67) (2009).
- [35] Favaro. «Brain development and neurocircuit modeling are the interface between genetic/environmental risk factors and eating disorders. A commentary on Keel & Forney and Friederich et al.» In: *Int J Eat Disord*. 46 (5) (2013), pp. 443–6.
- [36] Favaro et al. «Catechol-O-methyltransferase genotype modifies executive functioning and prefrontal functional connectivity in women with anorexia nervosa.» In: *J Psychiatry Neurosci*. 38(4) (2013), pp. 241–8.
- [37] Favaro et al. «Disruption of Visuospatial and Somatosensory Functional Connectivity in Anorexia Nervosa». In: *Biological Psychiatry* 72 (2012). URL: <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2012.04.025>.
- [38] Favaro et al. «Gyrification brain abnormalities as predictors of outcome in anorexia nervosa». In: *Human Brain Mapping* 36.12 (2015), pp. 5113–5122. URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/hbm.22998>.
- [39] Favaro et al. «Perinatal factors and the risk of developing anorexia nervosa and bulimia nervosa.» In: *Arch Gen Psychiatry*. 63(1) (2006), pp. 82–8.
- [40] Favaro et al. «The Age of Onset of Eating Disorders». In: *Age of Onset of Mental Disorders: Etiopathogenetic and Treatment Implications* (2019), pp. 203–16.
- [41] Favaro et al. «Time trends in age at onset of anorexia nervosa and bulimia nervosa.» In: *J Clin Psychiatry*. 70 (12) (2009).
- [42] Fernandez-Aranda et al. «Symptom Profile of Major Depressive Disorder in Women with Eating Disorders». In: *The Australian and New Zealand journal of psychiatry* 41 (2007), pp. 24–31.
- [43] Fischl. «FreeSurfer». In: *NeuroImage* 62.2 (2012), pp. 774–781. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1053811912000389>.
- [44] *FreeSurfer Guide*. 2019. URL: https://andysbrainbook.readthedocs.io/en/latest/FreeSurfer/FS_ShortCourse/FS_01_BasicTerms.html.
- [45] Garner. «Pathogenesis of anorexia nervosa.» In: *Lancet*. 341 (1993).
- [46] Gleick. *Chaos: Making A New Science*. 1987, pp. 96–118.
- [47] Committee on Nutrition; Committee on Adolescence; Section on Obesity. Golden. «Preventing Obesity and Eating Disorders in Adolescents.» In: *Pediatrics*. 138 (3) (2016).

- [48] Sasha Gorrell e Stuart B. Murray. «Eating Disorders in Males». In: *Child and Adolescent Psychiatric Clinics of North America* 28.4 (2019), pp. 641–651. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chc.2019.05.012>.
- [49] Gowers et al. «A randomised controlled multicentre trial of treatments for adolescent anorexia nervosa including assessment of cost-effectiveness and patient acceptability—The TOuCAN trial». In: *Health technology assessment (Winchester, England)* 14 (2010), pp. 1–98.
- [50] Grizzi et al. «The complexity of anatomical systems». In: *Theoretical Biology and Medical Modelling* 2 (2005). URL: <https://doi.org/10.1186/1742-4682-2-26>.
- [51] Haukvik et al. «Cortical folding in Broca’s area relates to obstetric complications in schizophrenia patients and healthy controls.» In: *Psychol Med.* 42 (6) (2012), pp. 1329–1337.
- [52] Thomas R. Insel. «Rethinking schizophrenia». In: *Nature.* (2010). DOI: [10.1038/nature09552](https://doi.org/10.1038/nature09552).
- [53] Han Jang, Jae Youn Lee et al. «Are there differences in brain morphology according to handedness?» In: *Brain and Behavior* 7.7 (2017). DOI: <https://doi.org/10.1002/brb3.730>.
- [54] Joseph et al. «Structural Neuroimaging of Anorexia Nervosa: Future Directions in the Quest for Mechanisms Underlying Dynamic Alterations». In: *Biological Psychiatry* 83.3 (2018), pp. 224–234. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2017.08.011>.
- [55] Keel et al. «Psychosocial risk factors for eating disorders». In: *International Journal of Eating Disorders* 46.5 (2013), pp. 433–439. URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/eat.22094>.
- [56] Kiselev et al. «Is the brain cortex a fractal?» In: *NeuroImage* 20.3 (2003), pp. 1765–1774. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S105381190300380X>.
- [57] Klein et al. «101 Labeled Brain Images and a Consistent Human Cortical Labeling Protocol». In: *Frontiers in Neuroscience* 6 (2012). URL: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fnins.2012.00171>.
- [58] Knierim. «The hippocampus». In: *Current Biology* 25.23 (2015), R1116–R1121. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960982215013123>.
- [59] Peter Kochunov et al. «Age-related morphology trends of cortical sulci». In: *Human Brain Mapping* 26.3 (2005), pp. 210–220. DOI: <https://doi.org/10.1002/hbm.20198>.

- [60] K. Kromeyer-Hauschild. «Perzentile für den Body-mass-Index für das Kindes- und Jugendalter unter Heranziehung verschiedener deutscher Stichproben». In: *Monatsschrift Kinderheilkunde* 149 (2001), 807–818. URL: <https://doi.org/10.1007/s001120170107>.
- [61] Lauren et al. «Surface-based morphometry of the cortical architecture of autism spectrum disorders: volume, thickness, area, and gyrification». In: *Neuropsychologia* 62 (2014), pp. 1–10. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0028393214002139>.
- [62] Lebel et al. «Diffusion tensor imaging of white matter tract evolution over the lifespan». In: *NeuroImage* 60.1 (2012), pp. 340–352. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1053811911013760>.
- [63] Gabriele A. Losa. «The fractal geometry of life.» In: *Rivista di biologia* (2009), pp. 29–59.
- [64] Madan. «Age-related decrements in cortical gyrification: Evidence from an accelerated longitudinal dataset». In: *European Journal of Neuroscience* 53.5 (2021), pp. 1661–1671. URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/ejn.15039>.
- [65] Madan. «Robust estimation of sulcal morphology». In: *Brain Informatics* 6 (5) (2019). URL: <https://doi.org/10.1186/s40708-019-0098-1>.
- [66] Madan et al. «Cortical complexity as a measure of age-related brain atrophy». In: *NeuroImage* 134 (2016), pp. 617–629. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1053811916300519>.
- [67] Mandelbrot. «How Long Is the Coast of Britain? Statistical Self-Similarity and Fractional Dimension». In: *Science* 156.3775 (1967), pp. 636–638. URL: <https://www.science.org/doi/abs/10.1126/science.156.3775.636>.
- [68] Matsushita et al. «Serotonin transporter regulatory region polymorphism is associated with anorexia nervosa.» In: *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 128B(1) (2004), pp. 114–7.
- [69] Mehanna et al. «Refeeding syndrome: what it is, and how to prevent and treat it.» In: *BMJ.* 336(7659) (2008), pp. 1495–1498.
- [70] Mehler et al. «Anorexia nervosa - medical complications.» In: *J Eat Disord.* (2015).
- [71] Meneguzzo et al. «Anorexia nervosa and diffusion weighted imaging: An open methodological question raised by a systematic review and a fractional anisotropy anatomical likelihood estimation meta-analysis». In: *International Journal of Eating Disorders* 52.11 (2019), pp. 1237–1250. URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/eat.23160>.

- [72] Meregalli et al. «Cortical complexity estimation using fractal dimension: A systematic review of the literature on clinical and non-clinical samples». In: *European Journal of Neuroscience* 55.6 (2022), pp. 1547–1583. URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/ejn.15631>.
- [73] Mietchen et al. «Computational Morphometry for Detecting Changes in Brain Structure Due to Development, Aging, Learning, Disease and Evolution». In: *Frontiers in neuroinformatics* 3 (feb. 2009), p. 25.
- [74] Munro et al. «An Integrative Bio-Psycho-Social Theory of Anorexia Nervosa.» In: *Clin Psychol Psychother.* 24 (1) (2017), pp. 1–21.
- [75] Narr et al. «Abnormal gyral complexity in first-episode schizophrenia». In: *Biological Psychiatry* 55.8 (2004), pp. 859–867. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006322304000964>.
- [76] Palaniyappan et al. «Aberrant cortical gyrification in schizophrenia: a surface-based morphometry study». In: *Journal of Psychiatry and Neuroscience* 37.6 (2012), pp. 399–406. URL: <https://www.jpn.ca/content/37/6/399>.
- [77] Palaniyappan et al. «Cortical Folding Defects as Markers of Poor Treatment Response in First-Episode Psychosis». In: *JAMA Psychiatry* 70.10 (ott. 2013), pp. 1031–1040. URL: <https://doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2013.203>.
- [78] Pavan. *Clinica Psichiatrica*. 2006, pp. 379–398.
- [79] Oldfield R.C. «The assessment and analysis of handedness: The Edinburgh inventory». In: *Neuropsychologia* 9.1 (1971), pp. 97–113. ISSN: 0028-3932. DOI: [https://doi.org/10.1016/0028-3932\(71\)90067-4](https://doi.org/10.1016/0028-3932(71)90067-4).
- [80] Roberto et al. «Brain tissue volume changes following weight gain in adults with anorexia nervosa». In: *International Journal of Eating Disorders* 44.5 (2011), pp. 406–411. URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/eat.20840>.
- [81] Salat et al. «Thinning of the Cerebral Cortex in Aging». In: *Cerebral Cortex* 14.7 (2004), pp. 721–730. URL: <https://doi.org/10.1093/cercor/bhh032>.
- [82] Salbach-Andrae et al. «Psychiatric comorbidities among female adolescents with anorexia nervosa.» In: *Child Psychiatry Hum Dev.* 39 (3) (2008), pp. 261–72.

- [83] Ministero della Salute. «Linee di indirizzo nazionali per la riabilitazione nutrizionale nei disturbi dell'alimentazione». In: *Quaderni del Ministero della Salute* (2017). URL: <http://www.quadernidellasalute.it/portale/quaderni/dettaglioQuaderni.jsp?lingua=italiano&id=2636>.
- [84] Schaer et al. «Decreased frontal gyrification correlates with altered connectivity in children with autism». In: *Frontiers in Human Neuroscience* 7 (2013). URL: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fnhum.2013.00750>.
- [85] Schaer et al. «How to measure cortical folding from MR images: a step-by-step tutorial to compute local gyrification index». In: *J Vis Exp.* (2012). URL: <https://www.jove.com/it/t/3417/how-to-measure-cortical-folding-from-mr-images-step-step-tutorial-to>.
- [86] Schorr et al. «The endocrine manifestations of anorexia nervosa: mechanisms and management.» In: *Nat Rev Endocrinol.* 13.3 (2017), pp. 174–186. DOI: [10.1038/nrendo.2016.175](https://doi.org/10.1038/nrendo.2016.175).
- [87] Seitz et al. «Brain morphological changes in adolescent and adult patients with anorexia nervosa». In: *Journal of Neural Transmission* (2016), pp. 949–959. URL: <https://doi.org/10.1007/s00702-016-1567-9>.
- [88] Shaw et al. «Neurodevelopmental Trajectories of the Human Cerebral Cortex». In: *Journal of Neuroscience* 28.14 (2008), pp. 3586–3594. DOI: [10.1523/JNEUROSCI.5309-07.2008](https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5309-07.2008). URL: <https://www.jneurosci.org/content/28/14/3586>.
- [89] Skoch. «Surface-based morphometry and its applications». In: *ESO conference, Klecany 29.06.2017 National Institute of Mental Health (NIMH)* (2017).
- [90] Smink et al. «Epidemiology, course, and outcome of eating disorders.» In: *Curr Opin Psychiatry.* 26 (6) (2013), pp. 543–8. URL: <https://doi.org/10.1097/YCO.0b013e328365a24f>.
- [91] Smink et al. «Epidemiology of Eating Disorders: Incidence, Prevalence and Mortality Rates». In: *Current Psychiatry Reports* 14 (2012). URL: <https://doi.org/10.1007/s11920-012-0282-y>.
- [92] Solmi et al. «Serotonin transporter gene polymorphism in eating disorders: Data from a new biobank and META-analysis of previous studies.» In: *World J Biol Psychiatry.* 17(4) (2016), pp. 244–57.
- [93] Steinhausen. «The outcome of anorexia nervosa in the 20th century.» In: *Am J Psychiatry.* 159(8) (2002).

- [94] Streitbürger et al. «Investigating Structural Brain Changes of Dehydration Using Voxel-Based Morphometry». In: *PLOS ONE* 7.8 (ago. 2012), pp. 1–8. URL: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0044195>.
- [95] Swinbourne et al. «The co-morbidity of eating disorders and anxiety disorders: a review.» In: *Eur Eat Disord Rev.* 15(4) (2007), pp. 253–74.
- [96] Tenconi et al. «Clinical and genetic correlates of decision making in anorexia nervosa.» In: *J Clin Exp Neuropsychol.* 38(3) (2016), pp. 327–37.
- [97] Tenconi et al. «Set-shifting abilities, central coherence, and handedness in anorexia nervosa patients, their unaffected siblings and healthy controls: Exploring putative endophenotypes». In: *The World Journal of Biological Psychiatry* 11.6 (2010), pp. 813–823. URL: [10.3109/15622975.2010.483250](https://doi.org/10.3109/15622975.2010.483250).
- [98] A. Thiel. «Eine deutschsprachige Version des Eating Disorder Inventory EDI-2 - A German version of the Eating Disorder Inventory EDI-2». In: *Psychother Psychosom Med Psychol.* 47 (1997), pp. 365–376.
- [99] Vidal et al. «Volumetric Alterations of the Cerebral Cortex in Eating Disorders». In: *Journal of Clinical Medicine* 10.23 (2021). URL: <https://www.mdpi.com/2077-0383/10/23/5480>.
- [100] Vo et al. «The Impact of DSM-5 on Eating Disorder Diagnoses». In: *International Journal of Eating Disorders* 50.5 (2017), pp. 578–581. URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/eat.22628>.
- [101] Watson et al. «Genome-wide association study identifies eight risk loci and implicates metabo-psychiatric origins for anorexia nervosa.» In: *Nat Genet.* 51 (8) (2019), pp. 1207–14.
- [102] Westmoreland et al. «Medical Complications of Anorexia Nervosa and Bulimia.» In: *Am J Med.* 129 (1) (2016), pp. 30–7.