

Università degli Studi di Firenze

Dottorato di Ricerca in Neuroscienze (MED 26)

Scuola di

Dottorato in Neuroscienze di base e applicate

XXIII ciclo

Titolo della tesi

**Caratteristiche cliniche, profilo di rischio vascolare
e profilo neuropsicologico dei pazienti affetti da
leucoencefalopatia micro vascolare sporadica (età-correlata)
e geneticamente determinata (CADASIL): risultati
preliminari del Microvascular LEukoencephalopatY Study
(MILES)**

Coordinatore
Prof. Luca Massacesi

Relatore
Prof. Domenico Inzitari

Dottoranda
Dott.ssa Francesca Pescini

INDICE

Premessa	pag. 3
Parte I: Introduzione	pag. 4
1. CADASIL	pag. 4
1.1. Epidemiologia	pag. 4
1.2. Aspetti clinici	pag. 5
1.3. Aspetti patologici	pag. 11
1.4. Aspetti neuro radiologici	pag. 13
1.5. Aspetti genetici	pag. 15
2. Leucoencefalopatia età-correlata	pag. 19
2.1. Definizione ed epidemiologia	pag. 19
2.2. Aspetti clinici	pag. 23
2.2.1. Declino cognitivo e disabilità funzionale	pag. 23
2.2.2. Disturbo della marcia	pag. 27
2.2.3. Disturbi urinari	pag. 29
2.2.4. Disturbi del tono dell'umore	pag. 30
2.3. Aspetti neuroradiologici	pag. 33
2.3.1. Leucoencefalopatia	pag. 33
2.3.2. Infarti lacunari	pag. 39
2.3.3. Microbleeds	pag. 40
2.4. Aspetti patologici e patogenetici	pag. 41
Parte II:	
1. Lo studio MILES	pag. 45
1.1. Razionale dello studio	pag. 45
1.2. Scopo dello studio	pag. 47
1.3. Materiali e metodi	pag. 47
1.3.1. Preparazione degli strumenti	pag. 47
1.3.2. Popolazione in studio	pag. 48
1.3.3. Protocollo dello studio	pag. 49
1.3.3.1. Caratteristiche cliniche	pag. 50
1.3.3.2. Batteria neuropsicologica, motoria e funzionale	pag. 53
1.3.3.3. Esami ematici	pag. 55
1.3.3.4. Studio emodinamica cerebrale	pag. 57

1.3.4. Analisi statistica	pag. 57
2. Risultati	pag. 58
2.1. Pazienti	pag. 58
2.2. Fattori di rischio vascolare	pag. 58
2.3. Caratteristiche cliniche	pag. 60
2.4 Fattori modulanti il fenotipo	pag. 63
2.5. Profilo neuropsicologico	pag. 69
3. Discussione	pag. 72
3.1. Fattori di rischio vascolare	pag. 72
3.2. Profilo neuropsicologico	pag. 73
4. Conclusioni	pag. 75
Bibliografia	pag. 76

PREMESSA

Lo studio oggetto di questa tesi ha previsto l'arruolamento di due coorti di pazienti: un gruppo composto da pazienti affetti da CADASIL e un altro affetto da leucoencefalopatia età correlata. Nella seguente breve introduzione verranno presentati gli aspetti salienti di queste due patologie. Nella seconda parte della tesi verranno presentati i risultati preliminari dello studio, in particolare è stato analizzato il possibile ruolo di fattori di rischio vascolare nel modulare il fenotipo in entrambi i gruppi di pazienti ed è stato studiato il profilo neuropsicologico dei pazienti con CADASIL in confronto con i pazienti con leucoencefalopatia età-correlata valutando anche l'impatto di alterazioni in specifici domini cognitivi sulle performance funzionali.

Parte I

Introduzione

1. CADASIL

1.1 Epidemiologia

La CADASIL (Cerebral Autosomal Dominant Arteriopathy with Subcortical Infarcts and Leukoencephalopathy) è una malattia genetica, trasmessa con modalità autosomica dominante e dovuta a mutazioni a carico del gene Notch3 che mappa sul cromosoma 19. Ad oggi non esistono studi epidemiologici che descrivono la diffusione della CADASIL nella popolazione generale, per cui non è possibile definirne con precisione la reale prevalenza. Essendo inoltre una malattia di scoperta relativamente recente e ancora poco conosciuta, appare verosimile che la sua prevalenza sia sottostimata (Razvi et al., 2005). Il primo ed unico studio in tal senso è stato condotto da Razvi et al. (Razvi et al., 2005), nel tentativo di stimare il più accuratamente possibile la prevalenza della CADASIL nella Scozia occidentale. In questa area geografica la prevalenza dei soggetti residenti con diagnosi accertata in base allo screening degli esoni compresi tra il 3 e il 6 del gene Notch3 è circa 2/100.000 (Razvi et al., 2005). In base al rischio di essere affetti da CADASIL proprio dei parenti di primo, secondo e terzo grado degli individui con diagnosi certa e al numero di soggetti che pure presentano un quadro clinico, neuroradiologico e familiare compatibile con la malattia ma con esame degli esoni 3-6 negativo, Razvi et al. hanno stimato un prevalenza predetta della CADASIL di poco superiore a 4/100.000 (Razvi et al., 2005). Da notare

comunque che questi dati sono basati sullo screening di soli 4 esoni e che tale approccio è da considerarsi ormai obsoleto.

1.2 Aspetti clinici

La CADASIL è una malattia caratterizzata da un'estrema variabilità fenotipica, che si riscontra anche tra individui appartenenti alla stessa famiglia. Non esistono invece differenze significative d'incidenza nei due sessi. Clinicamente è caratterizzata da quattro principali manifestazioni: emicrania con aura, eventi acuti cerebrovascolari (attacchi ischemici transitori (TIA) o ictus), disturbi psichiatrici (prevalentemente alterazioni del tono dell'umore) e deterioramento cognitivo fino ad un quadro conclamato di demenza.

Gli studi volti a determinare se l'espressione fenotipica della CADASIL sia influenzata dalla presenza dei comuni fattori di rischio cardiovascolare non hanno mostrato risultati univoci. In uno studio su un'ampia coorte di pazienti affetti da CADASIL condotto da Singhal et al. nel 2004, sono state analizzate le correlazioni tra fenotipo della malattia e fattori di rischio cardiovascolare (ipertensione arteriosa, diabete mellito, ipercolesterolemia, tabagismo, iperomocisteinemia). I pazienti fumatori al momento della diagnosi presentavano una più precoce comparsa di ictus o TIA e i soggetti con elevati livelli sierici di omocisteina avevano un più precoce esordio di emicrania. Nessuna associazione è stata invece documentata tra fenotipo clinico della malattia e gli altri fattori di rischio vascolare (Singhal et al., 2004).

Uno studio condotto nel 2009 in Inghilterra su 200 soggetti appartenenti a 124 famiglie ha dimostrato una significativa correlazione tra l'insorgenza di ictus cerebrale e la presenza di ipertensione arteriosa; il dato rimaneva significativo anche dopo correzione per età e per la presenza di altri fattori di rischio (Adib-Samii et al, 2009).

La più comune modalità d'esordio della CADASIL è rappresentata dall'emicrania, che compare nella maggior parte dei casi in giovane età. Attacchi cefalalgici, prevalentemente a tipo emicrania con aura, sono riportati in una percentuale di individui affetti dalla malattia variabile dal 22 al 38% con età media d'esordio compresa tra i 26 e i 38 anni (Chabriat et al., 1995; Dichgans et al., 1998). L'età media di comparsa dell'emicrania senza aura è in generale più precoce, intorno ai 17 anni (Vahedi et al., 2004). L'aura è più comunemente sensitiva o visiva, ma può essere anche motoria o costituita da un disturbo del linguaggio di tipo afasico (Chabriat et al., 1995); inoltre, risulta spesso atipica, di lunga durata o particolarmente grave (Vahedi et al., 2004). Nelle varie casistiche di pazienti affetti da CADASIL sono riportati anche alcuni casi di emicrania di tipo basilare, emicrania emiplegica ed emicrania con aura senza cefalea (Chabriat et al., 1995; Vahedi et al., 2004). Alcuni soggetti, nel corso della loro vita, sperimentano una variabile combinazione di attacchi di emicrania: con e senza aura, con aura tipica e atipica (Vahedi et al., 2004). A causa della sua elevata prevalenza nella popolazione generale, il valore dell'emicrania quale elemento diagnostico della CADASIL è limitato e l'inizio della malattia viene di solito datato in base all'epoca d'insorgenza degli altri disturbi, più frequentemente un

evento acuto cerebrovascolare (Dichgans et al., 1998; Kalimo et al., 2002). Nella più comune evoluzione della malattia, il primo attacco di emicrania precede di circa 15 anni il primo ictus (Dichgans et al., 1998; Vahedi et al., 2004).

Nella CADASIL, l'età tipica di comparsa di ictus o TIA è giovanile, in media attorno ai 50 anni (Chabriat et al., 1995; Dichgans et al., 1998), senza alcuna differenza statisticamente significativa tra sesso maschile e femminile. Sono riportati casi di ictus in età più precoce (2^a decade di vita) (Opherk et al., 2004) e più avanzata (nel nostro centro, abbiamo osservato un paziente asintomatico fino all'età di 78 anni, quando ha manifestato il primo episodio ictale (Pescini et al., 2008). Nella casistica di Chabriat et al., l'incidenza di eventi ischemici tra gli individui affetti è pari all'84% (Chabriat et al., 1995). Nella netta maggioranza dei casi le manifestazioni cliniche degli eventi cerebrovascolari tipici della malattia sono compatibili con infarti sottocorticali di tipo lacunare, prevalentemente localizzati nei gangli della base, nella sostanza bianca o nel tronco encefalico, come riportato dallo stesso Chabriat (Chabriat et al., 1995) e da Dichgans et al (Dichgans et al., 1998). Sebbene si tratti prevalentemente di eventi cerebrovascolari di tipo ischemico, in letteratura sono riportati anche casi di emorragia (Choi et al., 2006).

Un aspetto particolarmente importante dello spettro fenotipico della CADASIL è rappresentato dalla compromissione delle capacità cognitive, talora presente già all'esordio, ma che costituisce un elemento essenziale dell'evoluzione della malattia ed esita nella maggior parte dei casi in una demenza conclamata. La CADASIL è, infatti, ritenuta il prototipo di demenza vascolare sottocorticale pura

(Peters et al., 2005). Il declino cognitivo è inizialmente evidente a carico delle funzioni del lobo frontale, con alterazione delle funzioni esecutive, di pianificazione, di elaborazione di strategie, di attenzione e concentrazione (Dichgans et al., 1998; Kalimo et al., 2002; Amberla et al., 2004). Possono essere compromesse anche le funzioni visuo-spaziali (Dichgans et al., 1998; Kalimo et al., 2002), in particolare dopo il primo ictus (Amberla et al., 2004; Buffon et al., 2006). In fase post-ictus, risulta compromessa anche la fluenza verbale (Charlton et al., 2006). Amberla et al. riportano uno spiccato rallentamento cognitivo soprattutto in fase post-ictus (Amberla et al., 2004), mentre i risultati di uno studio più ampio, condotto su 65 pazienti da Peters et al., suggeriscono che tale alterazione sia presente fin dagli stadi iniziali, in associazione ad una sindrome disesecutiva (Peters et al., 2005). Con l'avanzare della malattia si rendono maggiormente evidenti anche un deterioramento della memoria episodica (che nelle fasi iniziali è tipicamente risparmiata) (Amberla et al., 2004) e una restrizione degli interessi (Dichgans et al., 1998), oltre ad un rallentamento motorio, fino a delineare un quadro di demenza che interessa circa l'80% dei pazienti affetti da CADASIL di età superiore a 65 anni (Kalimo et al., 2002). Inoltre, il 90% dei soggetti dementi sviluppa disturbi della marcia, circa l'85% incontinenza urinaria e circa il 50% una sindrome pseudobulbare (Dichgans et al., 1998). L'età media dei soggetti dementi con CADASIL è piuttosto omogenea nelle diverse casistiche, con valori variabili entro un ristretto intervallo, compreso circa tra 54 (Amberla et al., 2004; Peters et al., 2005) e 58 anni (Chabriat et al., 1995). Al momento della diagnosi non sempre i disturbi cognitivi sono

clinicamente manifesti, ma talora un'accurata valutazione neuropsicologica mette in evidenza lievi e precoci alterazioni, anche in fase pre-ictus (Kalimo et al., 2002; Amberla et al., 2004). Inoltre, i pazienti affetti da CADASIL possono sviluppare demenza anche in assenza di una storia di eventi cerebrovascolari acuti, quale esito dunque dell'accumulo di insulti ischemici cronici sottocorticali che si ripercuotono estesamente sulle funzioni corticali e sulle capacità cognitive (Buffon et al., 2006).

Altra possibile manifestazione di malattia sono i disturbi psichiatrici, presenti in una percentuale di pazienti variabile dal 20% al 40% (Valenti et al., 2008) e riconducibili a depressione del tono dell'umore e solo più raramente a distimia, dipendenze da sostanze quali l'alcol etilico, sindromi allucinatorie e disturbo bipolare (Dichgans et al., 1998). Rari sono i casi di suicidio (Davous, 1998; Opherk et al., 2004).

Un'ulteriore possibile manifestazione clinica della CADASIL è rappresentata da crisi epilettiche che interessano circa il 10% dei pazienti (Dichgans et al., 1998; Kalimo et al., 2002). Le crisi possono essere generalizzate (più frequentemente) o focali. Sono più comuni in fase avanzata di malattia: la maggior parte dei pazienti che mostra crisi epilettiche ha infatti una storia di ictus ed è demente (Dichgans et al., 1998).

In accordo con la spiccata eterogeneità fenotipica della CADASIL, l'età media di esordio dei sintomi è molto variabile, da circa 37 anni (Dichgans et al., 1998; Desmond et al., 1999) a circa 45 (Chabriat et al., 1995), senza differenze significative tra i due sessi.

Anche per quanto riguarda l'età media del decesso esiste una marcata variabilità: in letteratura sono infatti pubblicate casistiche in cui la morte sopraggiunge in media all'età di 55 anni (Desmond et al., 1999; Davous, 1998), ma altri studi indicano età più avanzate: 61 anni (Dichgans et al., 1998) e circa 65 (Chabriat et al., 1995).

La durata media della malattia dal momento in cui diventa clinicamente manifesta varia da 10 a 20 anni (Davous, 1998; Kalimo et al., 2002). Sebbene esista comunque una certa variabilità nel tempo che intercorre tra la comparsa dei sintomi e la morte, la CADASIL comporta, nella maggior parte dei casi, una ridotta sopravvivenza rispetto alla popolazione generale (Desmond et al., 1999). In particolare, questa differenza risulta statisticamente significativa per il sesso maschile (Opherk et al., 2004).

Questi dati prognostici spiccatamente negativi, ma basati su poche casistiche potrebbero essere mitigati da dati provenienti da altre esperienze, particolarmente adesso che casi "benigni" sono sempre più frequentemente riportati.

1.3 Aspetti patologici

La CADASIL, a livello cerebrale, sono affette le arterie leptomeningeali e le arteriole penetranti, il cui calibro varia da 100 a 400 μm e le cui pareti risultano marcatamente ispessite (Davous e Fallet-Bianco, 1991; Baudrimont et al., 1993). Tale ispessimento, concentrico, è associato ad una stenosi di grado variabile del lume vascolare (Baudrimont et al., 1993). La totale occlusione del vaso sarebbe, peraltro, relativamente rara e riconducibile, almeno in parte, ad anomala proliferazione della tunica intima (Ruchoux e Maurage, 1997). Riscontro pressoché costante sono fibrosi e degenerazione ialina della tunica media e frammentazione della lamina elastica interna (Davous e Fallet-Bianco, 1991; Baudrimont et al., 1993; Ruchoux e Maurage, 1997; Kalimo et al., 2002). All'ispessimento della parete dei vasi di piccolo calibro concorre anche l'abnorme accumulo di proteine normalmente costituenti la matrice extracellulare, quali fibrinogeno, fibronectina, vimentina, collagene IV e laminina (Ruchoux et al., 1995; Kalimo et al., 2002).

Un'ulteriore costante alterazione è rappresentata da una diffusa distruzione delle cellule muscolari lisce della parete vascolare (Ruchoux e Maurage, 1997; Kalimo et al., 2002), facilmente dimostrabile con immunocolorazione per l' α -actina normalmente presente in tali cellule (Baudrimont et al., 1993; Kalimo et al., 2002).

Patognomonicamente della malattia sono i depositi extracellulari di materiale granulare osmiofilico (Granular Osmiophilic Material, GOM) localizzati prevalentemente all'interno della tunica media della parete vascolare, in stretta

vicinanza con le cellule muscolari lisce, e per la prima volta osservati grazie alla microscopia elettronica da Estes et al. nelle arterie della sostanza bianca e leptomeningeali di tre giovani affetti da un quadro clinico-neuroradiologico simile alla malattia di Binswanger (Estes et al., 1991). Analoghi reperti furono riscontrati da Baudrimont et al. (Baudrimont et al., 1993) nella parete delle arteriole penetranti della sostanza bianca e dei gangli della base in un paziente appartenente alla prima famiglia affetta da CADASIL descritta da Tournier-Lasserre et al. (Tournier-Lasserre et al., 1991). I GOM sono intensamente positivi all'immunoreazione con anticorpi rivolti contro il dominio extracellulare del recettore codificato dal gene Notch3 (Joutel et al., 2001; Kalimo et al., 2002), suggerendo dunque che essi derivino da un anomalo clivaggio e da una deficitaria clearance della proteina Notch3 (Ishiko et al., 2006).

A livello del parenchima cerebrale, da un punto di vista istologico, appare costante nella CADASIL, in età medio-avanzata, il riscontro di una diffusa rarefazione della mielina a livello encefalico, con parziale risparmio delle fibre ad U sottocorticali (Davous e Fallet-Bianco, 1991; Baudrimont et al., 1993). Proporzionalmente al grado di demielinizzazione, si verifica anche una progressiva degenerazione assonale (Ruchoux e Maurage, 1997). Nel complesso, tali lesioni risultano simmetriche e interessano entrambi gli emisferi cerebrali (Ruchoux e Maurage, 1997). Nelle aree più profonde della sostanza bianca e a livello della capsula interna ed esterna, si osservano infarti multipli a diversi stadi di sviluppo, caratterizzati in varia misura da reazione macrofagica, cavitazione, gliosi di grado lieve o moderato. Può essere coinvolto anche il corpo calloso

(Davous e Fallet-Bianco, 1991; Ruchoux e Maurage, 1997). Inoltre, sono invariabilmente riportati inoltre infarti lacunari a livello della sostanza grigia sottocorticale in corrispondenza dei gangli della base e del talamo (Ruchoux e Maurage, 1997).

1.4 Aspetti neuroradiologici

Uno degli aspetti fenotipici principali della CADASIL è rappresentato dalle alterazioni neuroradiologiche, ben evidenti in risonanza magnetica. Data la precocità della loro comparsa, tali reperti possono essere di notevole aiuto ai fini della diagnosi della malattia anche in soggetti completamente asintomatici o di giovane età (Chabriat et al., 1998; O'Sullivan et al., 2001A; Singhal et al., 2005). La risonanza magnetica mostra anomalie di segnale localizzate prevalentemente nelle aree sottocorticali, con relativo risparmio della corteccia cerebrale e del cervelletto (Chabriat et al., 1998). Tali anomalie consistono in infarti multipli lacunari sottocorticali, che appaiono come ipointensità focali nelle immagini T1-pesate, ed estesa leucoencefalopatia, che si presenta con aree di segnale iperintenso in quelle T2-pesate (Chabriat et al., 1998; O'Sullivan et al., 2001; Singhal et al., 2005).

Tutti i pazienti che mostrano alterazioni di segnale alla risonanza presentano una leucoencefalopatia di estensione variabile che, nell'85% dei casi, risulta bilaterale e simmetrica (Chabriat et al., 1998). Le sedi in cui essa è maggiormente rappresentata sono le regioni periventricolari (in più del 95% dei pazienti), la sostanza bianca profonda, la capsula esterna ed il tronco encefalico (in particolare a livello del ponte) (Chabriat et al., 1998; Singhal et al., 2005).

Numerosi sforzi sono stati compiuti nel tentativo di identificare elementi neuroradiologici che rappresentassero un pattern di espressione tipico della CADASIL e che fossero utili ai fini della diagnosi. A tal proposito, da uno studio eseguito da O'Sullivan et al. sono emersi dati estremamente significativi (O'Sullivan et al., 2001A). Un marcatore neuroradiologico altamente suggestivo della malattia è risultato essere l'interessamento del polo anteriore (e non di altre parti) del lobo temporale, riscontrato nel 90% dei pazienti CADASIL e in nessuno dei controlli, sebbene anch'essi affetti da una leucoencefalopatia di grado variabile (O'Sullivan et al., 2001A).

Un'ulteriore differenza statisticamente significativa tra pazienti e controlli è stata riscontrata in termini di frequenza di coinvolgimento della capsula esterna (O'Sullivan et al., 2001A). Negli individui affetti, le immagini di risonanza magnetica T2-pesate mostrano in questa sede una spiccata iperintensità, presente anche in soggetti con un basso carico totale di lesioni ad una scala di valutazione visiva (scala di Scheltens)(O'Sullivan et al., 2001A). In generale, la sensibilità di tale reperto neuroradiologico è elevata, superiore al 90%, a fronte però di una bassa specificità, pari soltanto al 45% (Markus et al., 2002). Nella fascia di età più giovanile (20-29 anni), l'interessamento della capsula esterna risulta addirittura più comune del coinvolgimento della porzione anteriore del lobo temporale (O'Sullivan et al., 2001; Singhal et al., 2005). Sebbene dunque l'interessamento del polo temporale sia ritenuto l'alterazione neuroradiologica più tipica della CADASIL (O'Sullivan et al., 2001; Markus et al., 2002), quello della capsula

esterna, essendo più precoce, sembra risultare maggiormente utile ai fini diagnostici in età giovanile (O'Sullivan et al., 2001; Singhal et al., 2005).

Un altro aspetto degno di nota nell'ambito delle possibili alterazioni neuroradiologiche della CADASIL è la presenza di microsanguinamenti (microbleeds). Immagini di risonanza magnetica T2-pesate ottenute con tecnica gradient echo hanno evidenziato la presenza di queste lesioni in una percentuale di soggetti affetti da CADASIL variabile dal 25% a quasi il 70% (Lesnik Oberstein et al., 2001; Dichgans et al., 2002). Tali anomalie sono rappresentate da depositi di emosiderina che nelle immagini gradient echo appaiono sotto forma di piccole aree rotondeggianti di ridotto segnale (Lesnik Oberstein et al., 2001; Dichgans et al., 2002). Il loro numero aumenta all'aumentare dell'età (Lesnik Oberstein et al., 2001; Dichgans et al., 2002).

1.5 Aspetti genetici

I primi ad identificare con certezza le basi genetiche della CADASIL sono stati Tournier-Lasserre et al., i quali, nel 1993, pubblicarono un importante studio di linkage genetico condotto su due famiglie non correlate tra loro e sospettate di essere affette dalla stessa sindrome (Tournier-Lasserre et al., 1993). Per mezzo di tale indagine, gli Autori scoprirono che il gene mutato mappava sul braccio lungo del cromosoma 19 (Tournier-Lasserre et al., 1993).

La CADASIL è una malattia genetica trasmessa con modalità autosomica dominante (Tournier-Lasserre et al., 1993), sebbene siano possibili casi di mutazioni de novo a carico del gene Notch3 (Joutel et al., 2000A).

Il gene interessato è un membro della famiglia Notch, che, nei mammiferi, è costituita da 4 isotipi e riveste un importante ruolo durante lo sviluppo embrionale (Artavanis-Tsakonas et al., 1995). Si tratta di un gene altamente conservato nel corso dell'evoluzione e presenta dunque una elevata omologia di sequenza nelle varie specie animali (Artavanis-Tsakonas et al., 1995).

Il gene Notch3 dell'uomo è composto da 33 esoni e codifica per una proteina recettoriale costituita da 2321 aminoacidi e dotata di un singolo dominio transmembrana (Joutel et al., 1996), espressa sulla superficie delle cellule muscolari lisce dei vasi dell'intero organismo (Peters et al., 2005B). La sua porzione extracellulare, corrispondente all'estremità N-terminale, contiene 34 ripetizioni di una sequenza sovrapponibile a quella del fattore di crescita epidermico (Epidermal Growth Factor, EGF), seguite da 3 domini Notch/Lin-12 (Joutel et al., 1996). Ciascun dominio EGF-like contiene 6 residui cisteinici altamente conservati e verosimilmente implicati nella formazione di 3 legami disolfuro (Joutel et al., 1996). Sul versante citoplasmatico si trovano 6 domini, anch'essi altamente conservati, cdc10 di sequenza simile a quella dell'ankirina (Joutel et al., 1996).

La prima ampia casistica di individui sottoposti ad indagine genetica per CADASIL è stata pubblicata da Joutel et al. (Joutel et al., 1997), che hanno studiato 50 soggetti, di cui 42 europei, 7 provenienti dagli Stati Uniti d'America e 1 nordafricano, estraendo il genoma dai leucociti presenti nel sangue periferico. Alterazioni a carico del gene Notch3 sono state riscontrate in 45 casi, rappresentate tutte da mutazioni eterozigote non-senso localizzate entro i domini

EGF-like della porzione extracellulare e coinvolgenti i residui di cisteina. Le mutazioni consistevano nella sostituzione di un amminoacido con una cisteina o viceversa, esitando in delezione o creazione di un residuo cisteinico (Joutel et al., 1997). Si tratta di mutazioni puntiformi altamente stereotipate e nessuna di queste è stata riscontrata nei soggetti testati come controlli, in alcuni dei quali, invece, è stata rilevata la presenza di sostituzioni nucleotidiche prive di conseguenze clinico-patologiche, verosimilmente riconducibili a polimorfismi genetici (Joutel et al., 1997).

In generale, riguardo gli esoni più comunemente sede di mutazione, esistono alcune differenze tra le varie casistiche riportate in letteratura, sebbene gli esoni 3 e 4 risultano sempre i più colpiti (Joutel et al., 1997; Markus et al., 2002; Razvi et al., 2003; Peters et al., 2005B). In particolare, in Italia, la prima analisi dello spettro delle mutazioni del gene Notch3 condotta su un significativo numero di famiglie affette da CADASIL provenienti dal Centro-Sud (Dotti et al., 2005) ha permesso di osservare dati interessanti. Contrariamente a quanto riportato nelle precedenti casistiche, la più comune sede di mutazione nelle famiglie italiane è l'esone 11 e, presi nell'insieme, gli esoni 3 e 4 rendono conto soltanto di circa un terzo dei casi di CADASIL (Dotti et al., 2005). Un numero significativo di alterazioni è stato riscontrato anche a carico degli esoni 8 e 6. Mutazioni a carico dell'esone 4 sono state trovate esclusivamente in famiglie provenienti dall'Italia centrale, mentre alterazioni degli esoni 3 ed 8 soltanto in famiglie del sud (Dotti et al., 2005). Da ciò emerge una discreta variabilità inerente la frequenza e la distribuzione geografica delle più comuni sedi di mutazione del gene Notch3.

Pertanto, la iniziale indicazione di ricercare le mutazioni dapprima solo sugli esoni 3 e 4 non appare più applicabile, mentre sembra necessaria una indagine genetica su tutti gli esoni al fine di ridurre al minimo i falsi negativi.

2. Leucoencefalopatia vascolare sporadica età-correlata

2.1 Definizione ed epidemiologia

L'attenzione sulla leucoencefalopatia vascolare è stata inizialmente portata da Hachinski e collaboratori che nel 1986 (Hachinski et al, 1986) proponevano il termine di *leucoaraiosi* (dal greco leuko= bianco e araios= rarefazione) per indicare le alterazioni della sostanza bianca periventricolare e del centro semiovale osservabili alla tomografia computerizzata (TC) cranio. Con il termine leucoencefalopatia vascolare (LV) o leucoaraiosi si intende quindi l'insieme delle alterazioni della sostanza bianca cerebrale, focali o diffuse, rilevabili al neuroimaging, caratterizzate da ipodensità alle immagini TC o iperintensità alle immagini di risonanza magnetica (RM) nelle sequenze T2-pesate e FLAIR e tenue ipointensità nelle sequenze T1-pesate, nelle zone peri-ventricolari o profonde degli emisferi cerebrali.

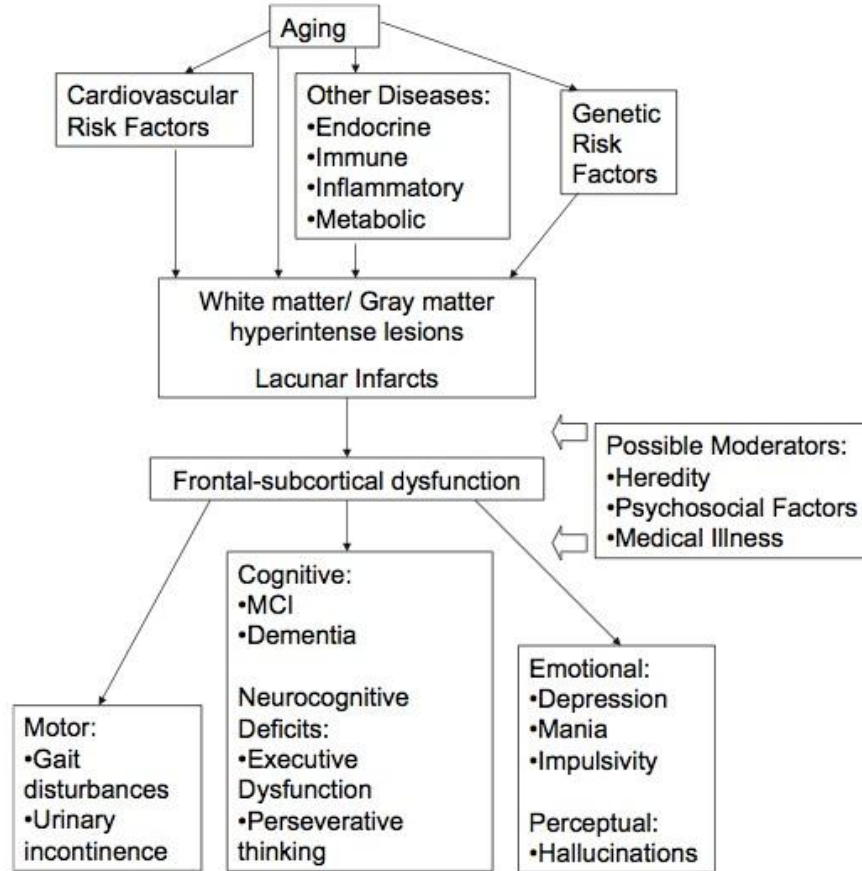
Riguardo la frequenza della LV, in un'ampia serie clinica quale quella del Lausanne Stroke Registry è stato rilevato come il 7% di 2289 pazienti con ictus cerebrale ischemico presentasse vari gradi di leucoaraiosi alla TC cranio (Wiszniewska et al, 2000). I risultati del Rotterdam Scan Study pubblicati l'anno seguente hanno invece mostrato come alla RM encefalo di 1077 soggetti sani di età compresa tra 60 e 90 anni solo il 5% non presentasse alcuna alterazione della sostanza bianca nè a sede periventricolare nè sottocorticale (de Leeuw et al, 2001). Una recente revisione della letteratura sull'argomento ha evidenziato come nella popolazione generale la prevalenza delle alterazioni della sostanza bianca vari dall'11-21% nei soggetti dell'età media di 64 anni al 94% nei soggetti di 82 anni

(Debette et al, 2010). Questa elevata frequenza nella popolazione anziana ha fatto sì che si parli di leucoencefalopatia età-correlata. E' inoltre noto come queste alterazioni siano di riscontro più frequente nei soggetti con fattori di rischio cardiovascolare e/o affetti da patologie cerebrovascolari (Pantoni e Garcia, 1995; Launer, 2004).

Nel proporre il termine di leucoaraiosi Hachinski e collaboratori (Hachinski et al, 1986) hanno fatto riferimento ai soli aspetti morfologici in TC cranio senza suggerire una chiara correlazione con modificazioni cliniche. Fu ben presto chiaro, però, come questa condizione fosse di frequente riscontro in pazienti con vari gradi di declino cognitivo. Tale reperto venne dapprima da alcuni messo in relazione con la cosiddetta malattia di Binswanger, una forma di demenza vascolare descritta per la prima volta nel 1894 (Biswanger, 1984), caratterizzata da alterazione della sostanza bianca sottocorticale e, dal punto di vista clinico, da rallentamento psicomotorio, quadro pseudobulbare, alterazioni comportamentali, segni piramidali ed extrapiramidali, incontinenza urinaria, disturbo della marcia (Pullicino et al 1983; Roman CG, 1988). Tuttavia, la mancanza di descrizioni dettagliate e di studi di anatomia patologica non ha mai chiarito la vera natura della malattia descritta da Biswanger. Il significato clinico delle alterazioni della sostanza bianca cerebrale è ormai da diversi anni oggetto di interesse da parte della comunità scientifica. Nel 1995 una review (Pantoni et al, 1995) puntualizzava come, sebbene il significato clinico della leucoaraiosi non fosse ancora completamente definito, stessero emergendo dalla letteratura una quantità crescente di dati a conferma della stretta relazione tra i gradi più elevati delle

alterazioni della sostanza bianca e la presenza di alterazioni cognitive. Negli ultimi 15 anni sono stati pubblicati numerosi lavori che hanno studiato il significato clinico e prognostico della leucoencefalopatia vascolare. Nella recente revisione della letteratura effettuata da Debette e collaboratori (Debette et al, 2010) viene analizzata la relazione tra la progressione delle alterazioni della sostanza bianca e le modificazioni cliniche dei soggetti. L'incidenza di ictus cerebrale, demenza, declino cognitivo globale e declino in domini neuropsicologici specifici (p.es. funzioni esecutive) risulta essere significativamente correlata con la progressione delle alterazioni della sostanza bianca; tuttavia gli studi disponibili su questo argomento sono ancora pochi (Yamauchi et al, 2002; Longstreth et al, 2001, Jokinen et al, 2009). Le caratteristiche cliniche descritte in modo consistente in relazione alla leucoencefalopatia sono: declino cognitivo, disabilità, disturbo della marcia, disturbi urinari e disturbo del tono dell'umore (figura 1). Prenderemo quindi, brevemente, in esame ciascuna di queste caratteristiche.

Figura 1: modello concettuale delle cause e della presentazione clinica delle patologie possibilmente correlate con la leucoaraiosi (Taylor et al, 2006).



2.2 Aspetti clinici

2.2.1 Declino cognitivo e disabilità funzionale

Molti studi effettuati dalla definizione diagnostica della leucoencefalopatia vascolare hanno indagato la relazione tra questa e la presenza di declino cognitivo mostrando, inizialmente, risultati discordanti.

I primi lavori, infatti, tendevano ad escludere una correlazione con i deficit cognitivi (Fein G, 1990; Kobari et al, 1990; Boone et al, 1992). Questo dato è stato valutato criticamente in una review (Ferro et al, 2002) dove è stato ipotizzato che la discordanza fra i vari lavori potesse dipendere da diverse problematiche metodologiche: bias di selezione della popolazione in esame, campioni troppo piccoli, follow-up troppo brevi negli studi longitudinali (anche in considerazione del fatto che in alcuni di questi lavori erano stati scelti soggetti asintomatici) e una selezione non omogenea e inadeguata dei test neuropsicologici. Negli anni successivi è stato pubblicato un numero rilevante di studi che hanno dimostrato come la leucoencefalopatia sia strettamente correlata a diversi gradi di declino cognitivo. In particolare, lavori in cui sono stati utilizzati test neuropsicologici ad hoc hanno evidenziato in pazienti con leucoencefalopatia una chiara alterazione di specifici domini cognitivi quali le funzioni esecutive, l'attenzione e la velocità di processamento delle informazioni (Schmidt et al 1993; Ylikoski R et al, 1993; O'Sullivan et al 2004; Prins et al, 2005).

Risultati discordanti sono emersi inizialmente anche in studi longitudinali che valutavano la progressione dei deficit cognitivi in pazienti con leucoaraiosi.

L'Austrian Stroke Prevention Study (Schmidt et al, 1999), ad esempio, ha analizzato una popolazione di 273 persone sane, di cui 176 (64,5%) con leucoencefalopatia alla RM basale, utilizzando un'estesa batteria neuropsicologica ed un follow-up di tre anni, senza ottenere risultati statisticamente significativi alla ricerca di un'associazione fra LV e progressione dei deficit cognitivi. Una successiva revisione critica effettuata dallo stesso gruppo (Schmidt et al, 2002) ha evidenziato come l'analisi statistica dei risultati dei test neuropsicologici fosse dotata di scarso peso statistico probabilmente a causa di un follow-up troppo breve per una popolazione senza alterazioni cognitive alla baseline. Gli autori (Schmidt et al, 2005) hanno quindi prolungato il follow-up a sei anni. L'analisi dei nuovi dati ha evidenziato una correlazione significativa tra il volume della alterazioni della sostanza bianca cerebrale e le performances a test neuropsicologici che indagano la memoria, la capacità di concettualizzazione e le abilità visuo-spaziali. Correggendo il dato per il volume cerebrale, tuttavia, la significatività statistica veniva meno suggerendo che le alterazioni alla valutazione neuropsicologica fossero da correlare all'entità della perdita neuronale.

Altri lavori hanno confermato come le alterazioni della sostanza bianca si associno a progressione del declino delle performances cognitive soprattutto in alcuni specifici domini quali le funzioni esecutive e la velocità di processamento delle informazioni (Prins et al, 2005; van Dijk et al, 2008). Lo studio PROSPER (van der Heuvel et al, 2006A) ha analizzato le RM encefalo di 554 soggetti non dementi mediante studi di volumetria e cercato una relazione con i risultati ai test NPS dopo un follow-up di tre anni, trovando una correlazione statisticamente

significativa tra gravità delle alterazioni della sostanza bianca e la velocità di processamento delle informazioni sia al basale che al follow-up.

Studiando la relazione tra progressione della leucoencefalopatia e alterazioni cognitive (sia considerando misure di funzionalità cognitiva globali che domini cognitivi specifici), risultati significativi sono stati trovati negli ultimi anni in vari lavori.

Il Cardiovascular Health Study group (Longstreth et al, 2005) ha riportato i risultati di uno studio di popolazione effettuato su 1900 soggetti, con un follow-up di 5 anni. La progressione della leucoencefalopatia valutata con scale visive era presente nel 28% dei casi ed era correlata con l'insorgenza di declino cognitivo e con la presenza di fattori quali età, sesso, fumo, spessore della parete della carotide interna, fumo e claudicatio. Uno studio di popolazione coevo ha mostrato una correlazione tra la progressione della leucoencefalopatia (valutata con studio di volumetria alla RM encefalo) e la riduzione significativa del punteggio alla scala WAIS (Garde et al, 2005).

Un aspetto importante è infine l'impatto della leucoencefalopatia sulla disabilità funzionale. Il LADIS (Leukoaraiosis And DISability), uno studio europeo, longitudinale, multicentrico, iniziato nel 2005, aveva come obiettivo primario quello di stabilire l'eventuale ruolo della leucoencefalopatia età-correlata e della sua progressione nel tempo nel determinare la transizione da indipendenza funzionale a disabilità. La popolazione studiata era una coorte di 639 soggetti anziani, autonomi dal punto di vista funzionale al momento

dell'arruolamento e diversi gradi di leucoencefalopatia valutata tramite RM e misurata con la scala visiva di Fazekas (Fazekas et al, 1987).

Nel 2006 sono stati pubblicati i primi dati che hanno dimostrato la presenza di un'alterazione significativa del punteggio alla scala DAD (Disability Assessment for Dementia), che valuta l'autonomia funzionale di base della vita quotidiana, in soggetti con più elevato grado di leucoaraiosi al basale (Pantoni et al, 2006A). I dati di follow-up hanno confermato il dato per quanto riguarda la progressione. Infatti al follow-up di un anno (Inzitari et al, 2007) è stato evidenziato come il tasso di transizione a disabilità fosse proporzionale alla gravità della leucoaraiosi; 9% nel gruppo con leucoencefalopatia vascolare lieve, 15% nel moderato e 26% nel gruppo con leucoencefalopatia vascolare severa. I successivi dati relativi al follow-up di tre anni (Inzitari et al, 2009) hanno nuovamente confermato il dato: la conversione a disabilità infatti era stata del 10,5% nel gruppo con LA lieve, del 15,1% nel gruppo con LA moderata e 29,5% nel gruppo con LA grave. Tale perdita di autonomia funzionale, sembra essere correlata con alterazioni cognitive e motorie.

Recentemente è stato pubblicato (Madureira et al, 2010) il risultato dell'analisi effettuata sulle performances cognitive di un sottogruppo di 480 soggetti al follow-up di tre anni. Dei soggetti arruolati, 90 hanno presentato una conversione a demenza. Inoltre, sono risultati predittori di progressione dal punto di vista cognitivo i punteggi al Mini Mental State Examination e alla Scala VADAS (Vascular Dementia Assessment Scale).

2.2.2. Disturbo della marcia

Le alterazioni della marcia e dell'equilibrio sono una importante causa di caduta nell'anziano, eventi con un grave impatto negativo in ambito fisico, psico-sociale e sulla qualità della vita (Bloem et al, 2003). Che la leucoaraiosi sia legata alla presenza di disturbi della marcia, indipendentemente dalle modificazioni connesse con il normale invecchiamento (Baloh et al, 2003) quali le alterazioni ortopediche, vestibolari, visive o uditive, è un concetto noto da molti anni (Baloh et al, 1995).

Già nel 1997 era stato condotto uno studio su 130 pazienti, il cui scopo era quello di valutare se la leucoencefalopatia vascolare avesse un ruolo indipendente nel determinare i disturbi della marcia. L'80% dei soggetti con leucoencefalopatia vascolare alla TC cranio presentava disturbi della marcia; il dato rimaneva statisticamente significativo anche dopo correzione per la presenza di fattori di rischio vascolare e storia di ictus cerebrale.

Nel 2001 sono stati pubblicati i risultati del primo studio prospettico sull'argomento, condotto presso l'Università della California (Whitman et al, 2001). Sono stati arruolati 70 soggetti anziani senza deficit neurologici al basale, di età media 79 anni che sono stati quindi sottoposti a RM encefalo; la marcia è stata valutata mediante la scala di Tinetti; è stata quindi effettuato un follow-up di 4 anni. Lo studio ha dimostrato una relazione tra la progressione della leucoencefalopatia vascolare e l'insorgenza di disturbi della marcia. In epoca più recente lo studio LADIS (Baezner et al, 2008) ha diffuso i dati relativi la presenza nella popolazione in studio di disturbi della marcia e la

correlazione con la gravità della leucoencefalopatia vascolare; i soggetti sono stati valutati tramite scala SPPB (Short Physical Performance Battery) (Guralnik et al, 1994); i risultati hanno mostrato una correlazione tra la gravità della leucoaraiosi, le alterazioni dell'equilibrio e la velocità del cammino, in linea quindi con i dati di letteratura. Inoltre è stato evidenziato come i soggetti che non effettuavano attività fisica presentassero un maggior rischio di ottenere bassi punteggi alla SPPB con odds ratio di 1.60 nel confronto tra LV moderata e lieve e di 1.75 nel confronto tra LV severa e lieve.

La patogenesi di questo disturbo non è comunque del tutto chiarita, sebbene sia noto come lesioni frontali di varia natura (ematomi sottodurali, tumori, idrocefalo normoteso) (Stolze et al, 2001) siano associate con disturbi della marcia. Anche grazie a studi condotti su pazienti affetti da altre patologie neuro-degenerative (Rossor et al, 1999), è stato dimostrato come i lobi frontali mediali siano implicati nel controllo della marcia e dell'equilibrio (Nutt et al, 1993, Alexander et al, 1996). Nell'idrocefalo normoteso, condizione caratterizzata da un disturbo della marcia simile a quello della leucoencefalopatia età-correlata, tale alterazione è stata attribuita all'interruzione delle fibre cortico-corticali che proiettano alla corteccia frontale, o, in alternativa, all'alterazione delle vie fronto-cerebellari (Yakovlev, 1947, Stolze et al, 2001). Le lesioni della sostanza bianca frontale e lateralmente ai corni frontali dei ventricoli laterali possono inoltre interrompere il fascicolo fronto-occipitale e il fascicolo longitudinale superiore coinvolti nell'integrazione tra controllo posturale e sensitivo-motorio (Curnes et al, 1988). La leucoencefalopatia sottocorticale a sede frontale causerebbe quindi

un'alterazione del network motorio implicato nel controllo dell'equilibrio e della marcia. Tale ipotesi è stata in parte confermata dai risultati di una sotto-analisi del succitato studio LADIS che ha valutato la sede delle alterazioni della sostanza bianca alla RM encefalo e l'incidenza delle cadute, allo scopo di indagare la patogenesi delle alterazioni della marcia e dell'equilibrio, possibili determinanti delle cadute nei soggetti con leucoaraiosi. Dallo studio è emerso come lesioni periventricolari e frontali profonde fossero correlate con maggior incidenza di disequilibrio e cadute ma così non le lesioni a carico dei nuclei della base (Blahak et al, 2008).

2.2.3. Disturbi urinari

Le alterazioni della minzione e della continenza urinaria sono state riscontrate in numerose patologie neurologiche (Fowler, 1999). L'ictus cerebrale è una delle cause documentate di questi disturbi (Brittain et al, 1998). Nel 1998, Sakakibara e collaboratori hanno pubblicato i risultati di uno studio sull'insorgenza di disturbi urinari nei soggetti con leucoaraiosi (Sakakibara et al, 1998). Fino ad allora, infatti, non erano stati effettuati lavori sistematici sull'argomento. I 63 pazienti arruolati, di età media 73 anni, vennero sottoposti a RM encefalo e il grado di leucoencefalopatia vascolare fu valutato con la scala visiva di Brant-Zawadzki (grading da 0: nessuna lesione a 4: leucoaraiosi grave con estese lesioni confluenti); la presenza di disfunzioni urinarie era indagata tramite studio urodinamico. I risultati hanno mostrato come l'82% dei soggetti con

leucoaraiosi di grado 1-4 presentassero una iper-riflessia detrusoriale contro il 9% dei soggetti senza leucoaraiosi.

Inoltre, in epoca più recente, risultati di una sottoanalisi effettuata nell'ambito dello studio LADIS hanno evidenziato la presenza di urgenza minzionale, valutata anamnesticamente, nel 16% della popolazione con leucoaraiosi lieve, 17% in quella con leucoencefalopatia vascolare moderata e nel 25% di quella con leucoencefalopatia vascolare grave (valutata tramite scala visiva Fazekas et al, 1987) confermando la relazione lineare tra questi disturbi e l'entità della leucoencefalopatia (Poggesi et al, 2008).

Molti lavori (Griffiths et al, 1994A, Griffiths et al, 1994B; Blok et al, 1998; Kavia et al, 2005) hanno indagato l'eziopatogenesi dei disturbi urinari nelle patologie neurologiche e l'ipotesi dominante, avvalorata anche da studi di imaging funzionale (Kavia et al, 2005), è che ci sia una relazione tra questi e la presenza dell'ipoperfusione cerebrale a livello delle aree prefrontali conseguente alla leucoencefalopatia. Così come descritto per i disturbi della marcia, quindi, le lesioni della sostanza bianca a sede frontale della leucoencefalopatia età correlata, sarebbero responsabili anche dei disturbi urinari frequente riscontro nella popolazione anziana affetta da LV.

2.2.4. Disturbo del tono dell'umore

Molti studi, negli ultimi venti anni circa, hanno valutato in coorti di pazienti anziani con depressione del tono dell'umore, la presenza e la gravità delle alterazioni della sostanza bianca cerebrale. Da questi studi emerge chiaramente

che un maggior grado di leucoaraiosi è correlato con una più alta incidenza di depressione del tono dell'umore (Coffey et al, 1993; O'Brien et al, 1996; Greenwald et al, 1996; Lenze et al, 1999; Taylor et al, 2005). Sono state avanzate numerose ipotesi atte a spiegare l'origine di questa associazione (Herrmann et al, 2007). Secondo alcuni esisterebbe un meccanismo patogenetico comune capace di predisporre gli anziani allo sviluppo sia della leucoaraiosi che della depressione (Brown et al, 1992), secondo altri la depressione e il suo trattamento sarebbero la causa della leucoencefalopatia età correlata (Rabins et al, 1992); molti pazienti infatti effettuano lunghi periodi di terapia anti-depressiva che potrebbe comportare come effetto collaterale l'insorgenza di ischemie cerebrali silenti responsabili delle alterazioni di segnale alla RM encefalo (Coffey et al, 1993). Tuttavia, se così fosse, una maggior durata di malattia, tipica dei pazienti con esordio giovanile, dovrebbe essere correlata con una maggior presenza di leucoaraiosi, contrariamente a quanto emerge dalla maggior parte degli studi citati in cui la presenza di leucoencefalopatia vascolare appare essere di maggior entità in pazienti con esordio tardivo (O'Brien et al, 1996). L'interpretazione più accreditata è, però, che sia la leucoencefalopatia, in quanto espressione della patologia cerebrovascolare, il fattore predisponente per la depressione in età geriatrica. A tal riguardo, nel 1997, Alexopoulos e collaboratori, hanno coniato il termine "Vascular depression". Un altro nome proposto per questa condizione è quello di "subcortical ischemic depression", intendendo una entità clinica distinta con caratteristiche peculiari, quali una maggior incidenza di apatia e rallentamento psicomotorio, disabilità (Krishnan et al, 2004) e una minore incidenza di

familiarità, una scarsa risposta terapeutica (O'Brien et al, 1998, Taylor et al, 2006) e un una storia naturale caratterizzata da andamento cronico e talora ingravescente (Steffens et al, 1999).

Il meccanismo alla base della relazione tra depressione e leucoencefalopatia vascolare sarebbe l'interruzione delle fibre cortico-sottocorticali come, per esempio, i circuiti fronto-striatali e fronto-limbici (Alexopoulos et al, 1997; Alexopoulos et al 2006).

2.3 Aspetti neuroradiologici

2.3.1 Leucoencefalopatia

Come già accennato in merito alla definizione stessa di questa condizione, la leucoencefalopatia è caratterizzata dalla presenza di alterazioni di segnale a carico della sostanza bianca encefalica, che si presentano alle immagini TC cranio come zone bilaterali e simmetriche di ipodensità e a quelle RM come aree iperintense nelle sequenze T2-pesate, densità protonica e FLAIR e che corrispondono ad aree tenuamente ipointense nelle sequenze T1-pesate (Erkinjuntti et al, 1987).

Queste alterazioni sono tipicamente localizzate nella sostanza bianca a sede periventricolare o profonda (centri semiovali e corona radiata) e risparmiano le fibre sottocorticali ad U (van Swieten et al, 1991). Le alterazioni tipiche della leucoaraiosi si distinguono in modo piuttosto netto dagli infarti cerebrali perché questi sono maggiormente demarcati, possono avere estensione alla corteccia, hanno una distribuzione territoriale vascolare meglio definita, possono coinvolgere i nuclei della base, il talamo e la capsula interna e sono spesso associati a dilatazioni contigue ventricolari o allargamento dei solchi cerebrali.

Le alterazioni possono essere di diversa gravità: si va da lesioni puntiformi a quadri con lesioni confluenti che interessano la quasi totalità della sostanza bianca. Per quantificare l'entità delle alterazioni della sostanza bianca e la progressione delle stesse nel tempo sono state ideate numerose scale visive. Le prime in ordine temporale furono sviluppate per valutare i reperti della TC cranio. Alcune di queste prevedevano un grading dicotomico (presenza/assenza di

leucoencefalopatia vascolare); il punteggio tuttavia dipendeva dal cut-off che l'osservatore poneva per la presenza/assenza delle lesioni (Steingart et al, 1987; Inzitari et al, 1987; De Carli et al, 1996). Quindi, oltre a fornire poche informazioni, queste scale avevano anche una scarsa riproducibilità tra operatori; ciò rende difficile comparare gli studi in cui sono state usate (Scheltens et al, 1998). Le altre scale visive vanno da alcune semplici e rapidamente applicabili che prevedono la creazione di punteggi composti tra sede e gravità delle lesioni (Erkinjuntti et al, 1987; Blennow et al, 1991; Aharon Peretz et al, 1988; Charletta et al, 1995; Lopez et al, 1991) ad altre molto più complesse come quella di Rezek (Rezek et al, 1987).

Anche per quanto riguarda le scale visive basate sulle immagini ottenute con la RM encefalo, i primi lavori proponevano l'uso di un metodo dicotomico (sì/no) senza considerare la sede delle lesioni (George et al, 1986). Altre scale proposte più di recente, prevedono quasi tutte la distinzione tra presenza di alterazione di segnale a sede periventricolare e a carico della sostanza bianca profonda, con la successiva creazione di un punteggio composto. Per molte di queste, però, non esistono degli studi di validazione (Zimmerman et al, 1986; Gerard et al, 1986; Awad et al, 1986; Erkinjuntti et al, 1987; Kertesz et al, 1988; Hunt et al, 1989; Herholz et al, 1990; Harrel et al, 1991). Fra le scale che sono state validate ricordiamo le seguenti: scala di van Swieten (van Swieten et al, 1990); scala di Manolio (Manolio et al, 1994), scala di Scheltens (Scheltens et al, 1993), scala di Schmidt (Schmidt et al, 1992) e scala di Fazekas (Fazekas et al, 1987). Quest'ultima è una delle scale più diffusamente utilizzate. Ha il vantaggio

di essere semplice, implicare una valutazione sia della sostanza bianca periventricolare che profonda e fornire una descrizione abbastanza precisa del tipo di lesioni da individuare alla RM per attribuire il punteggio. Per entrambe le regioni considerate il punteggio va da 0 (nessuna lesione) a 3 (vaste aree confluenti) (figura 2). Questa scala è stata inoltre validata istopatologicamente dagli stessi Autori (Fazekas et al,1993).

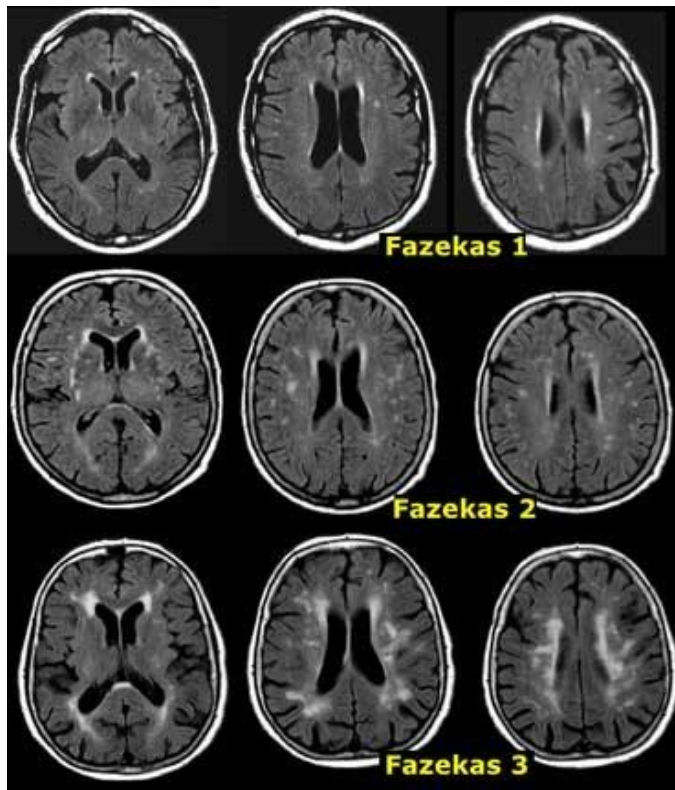


Figura 2: i gradi della scala di Fazekas (Fazekas et al, 1987) (<http://www.radiologyassistant.nl/en/43dbf6d16f98d>)

Un lavoro del 1997 (Mantyla et al, 1997) ha confrontato 13 scale visive. I risultati hanno mostrato che esiste un'importante variabilità tra le scale, la possibilità di ottenere un punteggio equivalente infatti va dallo 0,4 all'88%. Questo dato appare molto significativo dato che l'applicazione delle scale nei vari

studi non è omogenea e risultati discordanti potrebbero essere attribuibili a questa discrepanza. Un possibile bias di questo studio è che il confronto tra scale è stato applicato a RM ottenute in una popolazione di pazienti con ictus cerebrale, in cui si può presupporre che il grado di leucoencefalopatia sia maggiore rispetto alla popolazione generale e alcune di queste scale non sono state ideate specificamente per questi soggetti. Tuttavia, come osservano gli stessi Autori, una scala visiva dovrebbe avere una sensibilità sufficientemente alta da essere capace di valutare correttamente tutti i gradi di alterazioni della sostanza bianca.

In un altro lavoro più recente (Kapeller et al, 2003) sono state confrontate tre scale visive: Manolio et al, 1994, Fazekas et al, 1987 e Schmidt et al, 1992. Le scale sono state applicate alle RM di 255 partecipanti all'Austrian Stroke Prevention Study. I risultati hanno mostrato una discreta concordanza tra le scale per quanto riguarda la valutazione dell'entità delle alterazioni (con un miglior grado di riproducibilità tra le scale di Fazekas e Schmidt rispetto alla Manolio). Le scale hanno mostrato però una scarsa capacità di valutare la progressione delle lesioni. Il dato è stato confermato da un ulteriore lavoro in cui veniva anche utilizzato lo studio della volumetria (Prins et al, 2004).

In epoca relativamente recente, studi di volumetria RM hanno iniziato a presentare sempre più vasta diffusione. La volumetria è stata sviluppata allo scopo di ottenere una misura più oggettiva dell'entità delle alterazioni della sostanza bianca. Inizialmente tale valutazione era effettuata manualmente, tracciando il volume della leucoaraiosi su immagini di RM in aree cerebrali di interesse scelte *a priori* (*ROIs= regions of interest*). Questa metodica presentava grosse limitazioni

dovute al tempo necessario per effettuare tale demarcazione, alla necessità di effettuare un training dell'operatore e al rischio di incorrere in errori operatore-dipendente. Negli ultimi dieci anni sono stati fatti importanti progressi grazie allo sviluppo di metodiche semi-automatiche basate sullo studio della densità e del volume della sostanza bianca a livello dei singoli voxel (VBM = voxel-based morphometry). Questo metodo permette lo studio dell'intera sostanza bianca cerebrale, non presenta la necessità di un training specifico dell'operatore e mostra una buona riproducibilità.

Negli ultimi anni sono stati pertanto disegnati diversi studi atti a confrontare la sensibilità delle scale visive con le nuove metodiche di misura volumetrica delle alterazioni visibili alla RM encefalo (Prins et al, 2004; van Straaten et al, 2006; van der Heuvel et al, 2006B; Gouw et al, 2008). In questi lavori è stata chiaramente dimostrata una maggior affidabilità, sensibilità e oggettività delle scale volumetriche rispetto a quelle visive, soprattutto per quanto riguarda la valutazione longitudinale della progressione delle alterazioni (van der Heuvel et al, 2006B). Tuttavia a causa delle maggiori difficoltà tecniche e dei costi sia in termini di strumentazione che di risorse umane, questa metodica non ha ancora soppiantato quella tradizionale.

Alcuni studi hanno dimostrato inoltre una scarsa correlazione tra il carico lesionale della sostanza bianca cerebrale alle immagini alla RM tradizionale, nelle sequenze T2-pesate, e i correlati clinici quali l'entità delle alterazioni cognitive. Questo potrebbe essere causato dal fatto che l'iperintensità di segnale alla RM può riflettere un ampio spettro patologico, da minime alterazioni tissutali a una

completa demielinizzazione e perdita assonale (Schmidt et al, 1993; Longstreth et al, 1996; de Groot et al, 2000). Pertanto, negli ultimi anni, è stata studiata la possibile applicazione di metodiche avanzate di neuroimaging, capaci di valutare la reale entità del danno assonale. Una di queste metodiche di neuroimaging avanzato è lo studio con sequenze RM in diffusione (DWI). In questa metodica il coefficiente di diffusione apparente (ADC) o diffusività media, rappresenta una misura del contenuto tissutale di acqua che dipende dall'integrità delle barriere strutturali a livello cellulare e sub-cellulare. I processi patologici che modificano il tessuto cerebrale come la leucoencefalopatia sono associati con un elevato ADC. È stato suggerito da alcuni lavori come in soggetti con leucoaraiosi l'alterazione dell'ADC sia presente anche in aree di sostanza bianca apparentemente integre e come queste siano strettamente connesse con le alterazioni cognitive. Questo è stato riscontrato sia nella CADASIL (Holtmannspötter et al, 2005) che nella leucoencefalopatia età-correlata (O'Sullivan et al, 2004; Shenkin et al, 2005; Della Nave et al, 2007; Della Nave et al, 2007). A tale proposito lo studio LADIS nel 2010 ha fornito i risultati dell'analisi della correlazione tra entità della leucoaraiosi valutata con la scala Fazekas, ADC del tessuto cerebrale interessato dalla leucoencefalopatia e di quello apparentemente normale, e misure di deficit cognitivo. È stato evidenziato come le alterazioni cognitive siano fortemente correlate con l'ADC delle aree di sostanza bianca apparentemente integre, più che con il volume delle alterazioni della sostanza bianca visibili alla RM tradizionale (Schmidt et al, 2010). Questa metodica potrebbe pertanto fornire una misura diretta e oggettiva della reale entità delle alterazioni assonali che sarebbero alla

base della leucoencefalopatia ed è quindi prevedibile che una sua più ampia diffusione possa portare una maggior conoscenza dei meccanismi patogenetici connessi con le alterazioni della leucoencefalopatia età-correlata.

2.3.2 Infarti lacunari

Oltre alla leucoaraiosi, il neuroimaging dei pazienti con leucoencefalopatia età-correlata può mostrare altre alterazioni. Una di queste è rappresentata dalla presenza di infarti lacunari (figura 3). Gli infarti lacunari si presentano come lesioni ipointense alla RM encefalo nelle sequenze T1-pesate, di piccole dimensioni. Per quanto riguarda le dimensioni della lesione lacunare generalmente si considerano lacunari quelli di diametro inferiore a 15 mm e superiore a 3 mm (van der Flier et al, 2005). La patogenesi degli infarti lacunari è riconosciuta riconducibile ad alterazioni dei piccoli vasi cerebrali. Questi infarti possono essere correlati con l'insorgenza di un declino cognitivo ad esordio acuto nell'ictus (Tatemichi et al, 1992; Tatemichi et al, 1995) oppure evidenti al follow-up clinico (Miyao et al, 1992; Samuelsson et al, 1996). I fattori determinanti l'insorgenza di declino cognitivo in soggetti con infarti lacunari sono il numero di questi e la loro localizzazione. Per esempio, la presenza di lacune a livello talamico è associata a bassi punteggi al Mini Mental State Examination, ad un'alterazione della velocità di processamento delle informazioni e delle funzioni esecutive. In questo caso si tratta dei cosiddetti infarti strategici (Benisty et al, 2009). Il declino cognitivo è associato anche con i cosiddetti infarti lacunari silenti, definiti come infarti non direttamente correlabili ad ictus acuto clinicamente evidente e di riscontro

incidentale al neuroimaging (Vermeer et al, 2007). Questa condizione non è affatto rara; per esempio un soggetto su dieci della coorte di pazienti arruolati nel Framingham Study, presentava infarti silenti (Das et al, 2008).

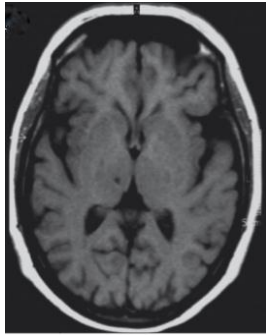


Figura 3 : Infarto lacunare a livello del talamo destro

2.3.3. Microbleeds

Un ulteriore reperto di non raro riscontro alla RM dei pazienti con leucoencefalopatia età-correlata è la presenza di micro-sanguinamenti (spesso chiamati con il termine anglosassone di microbleeds) (figura 4). Questo reperto viene evidenziato mediante specifiche sequenze di RM quali le T2*-pesate gradient-echo in grado di svelare la presenza di depositi di emosiderina, evidenti come piccole aree ipointense. Per essere definita microbleed una lesione deve presentare dimensioni dai 2 ai 10 mm (Greenberg et al, 2009). Fattori di rischio associati con la presenza di microbleeds sono i comuni fattori di rischio vascolare (età, ipertensione, colesterolemia) (Roob et al, 1999; Vernooij et al, 2008). Inoltre sono recentemente emerse evidenze della loro correlazione con l'insorgenza di declino cognitivo e disabilità (Koenneke et al, 2006, Yakushiji et al, 2008).

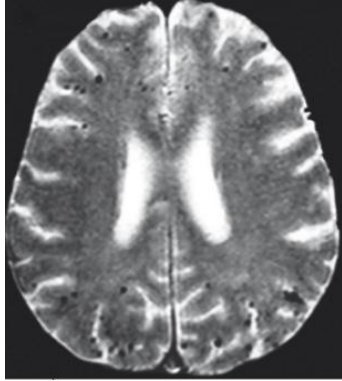


Figura 4: Nell'immagine si possono evidenziare numerosi microbleeds evidenti come lesioni ipointense a livello cortico-sottocorticale alla RM nella sequenza gradient echo

2.4 Aspetti patologici e patogenetici

Nonostante non ci sia un completo accordo tra esperti per quanto riguarda la definizione delle modificazioni patologiche dei piccoli vasi cerebrali associate alla leucoencefalopatia vascolare (Pantoni et al, 2006B), sono pressochè invariabilmente riconoscibili delle alterazioni a carico delle arteriole cerebrali identificate con il termine generico di arteriolosclerosi. Questa è caratterizzata dalla perdita di fibre muscolari lisce della tunica media dei piccoli vasi, dalla deposizione di materiale fibro-ialino e dall'ispessimento della parete dei vasi. Oltre che con l'età avanzata, l'arteriolosclerosi è strettamente correlata con la presenza di fattori di rischio vascolare quali il diabete e l'ipertensione arteriosa (Furuta et al, 1991). Altre manifestazioni della stessa condizione sono le microdeposizioni aterosclerotiche e i microaneurismi (Pantoni, 2010) (Figura 5). Studi patologici hanno inoltre individuato in alcuni pazienti con leucoencefalopatia vascolare la presenza di depositi di beta-amiloide a livello dei micro-vasi (Imaoka et al, 1999).

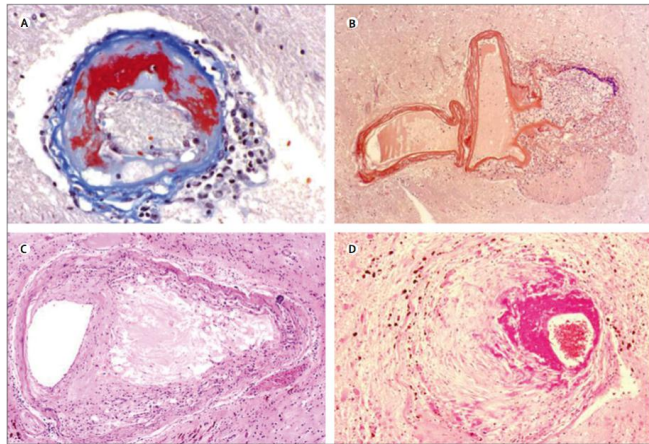
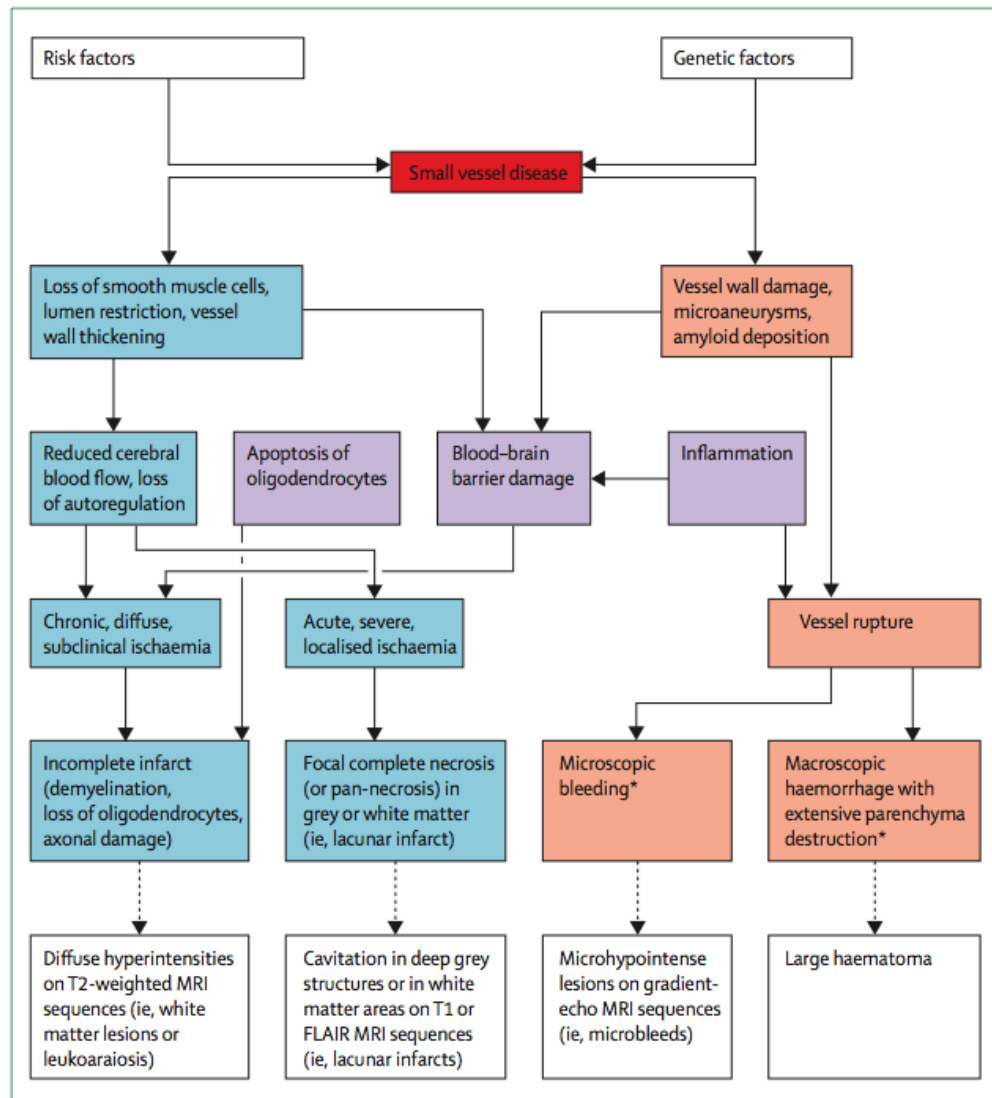


Figura 5: Caratteristiche patologiche della malattia dei piccoli vasi. (A) Lipoialinosi. (B) Microaneurismi nel talamo, in un paziente di 70 anni, iperteso, deceduto in seguito ad una emorragia massiva talamica. È presente necrosi fibrinoide della parete del microneurisma, vicino alla rottura. (C) Microateroma. (D) Necrosi fibrinoide (ponte). (tratto da Pantoni, 2010)

Il meccanismo alla base della leucoencefalopatia micro-vascolare è ancora non del tutto chiarito. L'ipotesi principale prevede che queste lesioni siano di natura ischemica. L'alterazione della parete dei piccoli vasi sarebbe alla base del restringimento del lume degli stessi con conseguente ipoperfusione cerebrale, necrosi selettiva di oligodendrociti e conseguenti alterazioni della mielina. Inoltre le modificazioni delle arteriole causerebbero una perdita dell'auto-regolazione del flusso cerebrale comportando alterazioni dello stesso in risposta a modificazioni della pressione arteriosa (Pantoni, 2002) e questo potrebbe comportare un ulteriore danno ischemico (figura 6).

Figura 6: Patogenesi del danno cerebrale come risultato della malattia dei piccoli vasi cerebrali (tratto da: Pantoni et al, 2010)



Questa ipotesi è supportata dall'evidenza epidemiologica dell'alta prevalenza di leucoaraiosi nei soggetti con malattie e fattori di rischio vascolari. Inoltre, alcuni studi di RM in diffusione, hanno dimostrato una riduzione del flusso di sangue cerebrale nelle aree affette da LV (O'Sullivan et al, 2001B). Secondo altre teorie l'alterazione della barriera emato-encefalica (BEE) con conseguente danno causato dallo stravasamento di proteine seriche tossiche per la sostanza bianca sarebbe alla base della leucoaraiosi (Farral et al, 2009). A parziale conferma di ciò, studi di neuroimaging avrebbero dimostrato in vivo la presenza di alterazioni della BEE nelle regioni encefaliche colpite da LA (Starr et al, 2003). Tuttavia, la comparsa di leucoaraiosi in aree con alterazione della BEE e, viceversa, la presenza di nuove alterazioni della BEE in aree con LA, non sono state dimostrate da studi longitudinali. Inoltre queste alterazioni della BEE potrebbero essere una conseguenza e non la causa delle alterazioni della sostanza bianca. Secondo alcuni autori questa ipotesi potrebbe rivelarsi complementare a quella "ischemica" (Pantoni, 2002). Infine, l'evidenza di microangiopatie geneticamente determinate, come la CADASIL, caratterizzate da vaste alterazioni della sostanza bianca cerebrale può far ipotizzare la concomitante presenza di altri fattori genetici, non ancora identificati, nel determinare la leucoencefalopatia età-correlata.

Parte II

1. Lo studio MILES

Il MILES (MIcrovascular Leukoencephalopathy Study) è uno studio prospettico, osservazionale, multicentrico, approvato e finanziato dal Ministero dell'Università e Ricerca (MIUR) nel 2006 come Progetto di Ricerca di rilevante Interesse Nazionale (PRIN).

I Centri partecipanti sono: Firenze (Centro Coordinatore), Siena, Genova e Padova. La fase di arruolamento ha avuto inizio nel Dicembre 2007 ed è durata 24 mesi.

1.1. Razionale dello studio

La presenza di ipertensione arteriosa, principale fattore di rischio della leucoencefalopatia età-correlata, e la mutazione del gene NOTCH3, causa della CADASIL, non sembrano in grado da sole di spiegare completamente l'ampio spettro clinico e radiologico delle due condizioni. Dall'analisi della letteratura emergono potenziali cofattori dell'espressione fenotipica delle due patologie:

1- fattori di rischio vascolare diversi dall'ipertensione arteriosa tra cui diabete, fumo, obesità, dislipidemia, iperinsulinismo, iperomocisteinemia;

2- polimorfismi genetici possibilmente associati a malattia dei piccoli vasi cerebrali (metalloproteinasi e loro inibitori, componenti del sistema renina-angiotensina, gene della nitrossido sintetasi endoteliale, gene della metilentetraidrofolato reduttasi e della paraoxonasi);

3- mediatori della disfunzione endoteliale attivati da meccanismi patologici correlati con alcuni fattori di rischio vascolare e altri appartenenti alla cascata della infiammazione (fattore di von Willebrand, fattore tissutale, inibitore della via del fattore tissutale, molecola 1 di adesione intercellulare, trombomodulina, forma asimmetrica della dimetilarginina, cellule progenitrici circolanti delle cellule endoteliali);

4-molecole pro e anti infiammatorie (interleuchina-1 beta, interleuchina-1 RN, interleuchina-4; interleuchina-6, interleuchina-10, proteina C, TNF);

5- fattori dietetici come gli acidi grassi (saturi e insaturi) legati ai fosfolipidi nel plasma, vitaminine, carotenoidi e tioli quali marcatori di stato anti-ossidante e di stress-ossidativo;

6- alterazioni emodinamiche che coinvolgono l'autoregolazione e che comportano una disfunzione della reattività microvascolare.

In letteratura non sono al momento presenti studi che abbiano valutato in maniera complessiva tutti questi fattori o che abbiano utilizzato misure dettagliate, standardizzate e avanzate di tipo clinico, funzionale e neuroradiologico, valutando la correlazione con la variabilità dell'espressione fenotipica della leucoencefalopatia. Inoltre, nessuno studio ha confrontato in parallelo le due forme di microangiopatia cerebrale: la CADASIL, geneticamente determinata, e la leucoencefalopatia età-correlata, sporadica.

Questo studio è nato dall'ipotesi che l'identificazione di cofattori di gravità possa avere importanza pratica, essendo in grado di fornire cruciali informazioni utili ad aumentare i potenziali preventivi e terapeutici in malattie il cui l'impatto in termini di funzionalità, qualità di vita, salute e costi sociali è molto elevato.

Le possibili ricadute di questo lavoro sono:

a- contribuire a capire i meccanismi generali della leucoencefalopatia su base microvascolare;

b- chiarire somiglianze e differenze fisiopatologiche e clinico/funzionali esistenti tra le due forme di leucoencefalopatia in esame;

c- migliorare la conoscenza riguardante l'interazione tra fattori genetici e ambientali nello stesso contesto fisiopatologico;

d- identificare possibili marker biologici predittivi di gravità della malattia.

1.2. Scopo dello studio

L'obiettivo principale del progetto è quello di valutare il ruolo di fattori e meccanismi che contribuiscono alla variabile espressione fenotipica (clinica, funzionale, neuroradiologica) della leucoencefalopatia microvascolare in due diversi ambiti clinici:

- 1- la leucoencefalopatia sporadica, età-correlata, molto frequentemente osservata in soggetti anziani con ipertensione arteriosa;
- 2- la leucoencefalopatia geneticamente determinata, CADASIL, (monogenica, causata da mutazione del gene NOTCH3).

Nello studio è prevista una valutazione della progressione della malattia che sarà quindi valutata tramite follow-up clinico/funzionale e di risonanza magnetica dopo tre anni dal termine dell'arruolamento. L'eventuale correlazione tra dati clinici e di risonanza con i fattori di rischio vascolare e i marcatori biologici di disfunzione endoteliale i parametri di funzione emodinamica cerebrale sarà in grado di aumentare l'informazione sui determinanti della gravità fenotipica.

1.3 Materiali e Metodi

1.3.1. Preparazione ed addestramento all'utilizzo degli strumenti

La prima fase della realizzazione del progetto ha visto lo svolgersi delle seguenti attività:

- a) approvazione del progetto al Comitato Etico dei centri partecipanti;
- b) creazione di un database online per la raccolta dei dati;
- c) preparazione di questionari strutturati per la acquisizione dei dati;
- d) realizzazione di un manuale di istruzioni per uniformare la raccolta dei dati;
- e) creazione di un sito web dedicato allo studio (www.cadasil.unifi.it) con accesso riservato ai ricercatori dove sono stati messi a disposizione per lo scaricamento e la distribuzione il protocollo di ricerca e gli strumenti usati (manuale di istruzioni, questionari, test neuropsicologici, ecc....) rendendo fruibile in tempo reale il database online per l'archiviazione in tempo reale dei dati

raccolti, la verifica dello stato dell'arruolamento dei pazienti e il controllo della qualità dei dati inseriti;

f) definizione di un protocollo uniforme di RM encefalo: gli esatti parametri sono stati determinati nei vari centri con successivo controllo centralizzato di immagini campione;

g) effettuazione di corsi di addestramento alla somministrazione delle scale previste e alla immissione dei dati nel database.

1.3.2. Popolazione in studio

Nel presente studio sono stati arruolati pazienti con leucoencefalopatia età-correlata e CADASIL.

I criteri di esclusione e inclusione sono illustrati nella tabella 1.

Tabella 1. Criteri di inclusione e di esclusione dei pazienti

CRITERI DI INCLUSIONE	
Gruppo CADASIL	Gruppo Leucoencefalopatia età-correlata
a) diagnosi genetica di CADASIL mediante sequenziamento del gene NOTCH3 b) presenza di lesioni della sostanza bianca di qualunque gravità alla RM encefalo c) età > 18 anni d) consenso informato	a) presenza di lesioni di qualunque gravità della sostanza bianca alla RM encefalo b) età compresa tra 65 e 85 anni c) consenso informato
CRITERI DI ESCLUSIONE	
Gruppo CADASIL	Gruppo Leucoencefalopatia età-correlata
a) Ictus cerebrale e/o infarto del miocardio nei 6 mesi precedenti b) MMSE<18 c) Co-morbosità gravi con impatto sullo stato clinico e sulla prognosi a breve termine d) Impossibilità a eseguire RM encefalo	a) Diagnosi genetica di CADASIL b) Esclusione clinico-strumentale di altre cause di leucoencefalopatia (infiammatoria, demielinizzante, metabolica etc.) c) Ictus cerebrale e/o infarto del miocardio nei 6 mesi precedenti d) MMSE<18 e) Co-morbosità gravi con impatto sullo stato clinico e sulla prognosi a breve termine f) Impossibilità a eseguire RM encefalo

Ciascun paziente è stato sottoposto all'analisi del gene NOTCH3 per avere diagnosi di certezza o esclusione di CADASIL. Sono stati esclusi i pazienti con demenza già diagnosticata al momento dell'arruolamento ed è stato scelto un cut-off di punteggio al Mini Mental State Examination di 18 in tutti i pazienti arruolabili senza diagnosi di demenza.

Setting clinico: i pazienti con leucoencefalopatia età-correlata sono stati arruolati prevalentemente in centri neurologici che si occupano di deterioramento cognitivo, disturbi della marcia e ictus. I pazienti affetti da CADASIL sono stati arruolati presso centri di terzo livello per lo studio di malattie cerebrovascolari, leucoencefalopatie e disturbi della memoria.

1.3.3. Protocollo dello studio:

Ogni paziente è stato studiato dal punto di vista clinico secondo un protocollo comune comprendente:

1. Valutazione clinica/funzionale:

a- raccolta di dati anamnestici sulle caratteristiche socio-demografiche e focalizzata sui fattori di rischio vascolare con l'utilizzo di una scheda raccolta dati uguale per tutti i centri partecipanti;

b- esame neurologico e cardiovascolare standard;

c- performance cognitive, tono dell'umore, attività motoria e stato funzionale misurato mediante specifici test/scale (la batteria adottata verrà descritta più dettagliatamente nel paragrafo 1.3.3.2);

d- abitudini dietetiche e assunzione di nutrienti valutate con il questionario di frequenza alimentare semi-quantitativo dello studio EPIC (European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition) (Riboli et al, 1997), utilizzando una versione validata in italiano (Pisani et al, 1997).

2. Esami ematici (vedi punto 1.3.3.3)

3. Valutazione dell'emodinamica cerebrale (vedi punto 1.3.3.4)

4. RM encefalo: l'esame è stato eseguito secondo un protocollo standardizzato sviluppato dalle Unità di Firenze e Siena e condiviso con gli altri

centri comprendente le seguenti sequenze: T1 e T2-pesate, densità protonica, FLAIR e gradient-echo.

Un controllo centralizzato di immagini campione ha assicurato l'uniformità delle acquisizioni.

1.3.3.1 Caratteristiche cliniche

Ai pazienti è stata somministrata una scheda di raccolta dati che comprende sia dati anagrafici che clinici. Nella scheda è stato chiesto al paziente l'eventuale storia anamnestica di alcune patologie e/o fattori di rischio vascolare.

Definizione delle variabili cliniche in studio:

L'ipertensione arteriosa è stata definita come riscontro di valori di pressione sistolica uguale o superiore a 140 mmHg e/o di valori di pressione diastolica uguale o superiore a 90 mmHg in pazienti non in terapia antiipertensiva. La diagnosi di ipertensione è basata su molteplici misurazioni, effettuate in occasioni separate (Chobanian et al, 2003).

Abbiamo definito affetto da diabete mellito ogni paziente con diagnosi della patologia definita dalla presenza di sintomi tipici del diabete (poliuria, polidipsia e ingiustificata perdita di peso) più glicemia casuale ≥ 200 mg/dl. Il termine di glicemia casuale si riferisce alla glicemia controllata in un momento qualsiasi della giornata indipendentemente dall'ultimo pasto. In alternativa la diagnosi di diabete è stata effettuata in caso di riscontro di valori di glicemia a digiuno ≥ 126 mg/dl o di una glicemia a 2 ore >200 mg/dl durante una curva da carico. Il test deve essere eseguito secondo le modalità descritte dal WHO, usando un carico di glucosio equivalente a 75 gr di glucosio anidro dissolto in acqua. Al momento della raccolta dati è stato identificato come affetto da diabete mellito anche ogni paziente in terapia con farmaci ipoglicemizzanti orali o insulina. (Expert Committee on the Diagnosis and Classification of diabetes mellitus, 2003).

Sono stati classificati come affetti da ipercolesterolemia e ipertrigliceridemia tutti i soggetti in terapia farmacologica e/o dietetica per questo motivo. Inoltre sono stati identificati come ipercolesterolemici i pazienti con

almeno uno dei seguenti (ciascun valore risultato alterato in almeno due misurazioni): --colesterolo totale >200 mg/dl e/o; - LDL >130 mg/dl e/o - HDL <35 mg/dl. L'ipertrigliceridemia è presente se i trigliceridi sono >240 mg/dl (in almeno due misurazioni) (National Cholesterol Program, 2002).

Per quanto riguarda la storia anamnestica di ictus, questo è stato definito da esordio acuto di sintomi e/o segni clinici di disfunzione neurologica focale, a volte globale, di durata superiore a 24 ore, con nessuna altra causa identificabile tranne l'origine vascolare. Questo poi è definito come ictus ischemico se i sintomi sono stati determinati da occlusione acuta di un vaso cerebroafferente o intracerebrale. È invece definito ictus emorragico qualora i sintomi fossero determinati da rottura di un piccolo vaso intracerebrale.

La presenza di storia di emicrania è stata valutata usando i seguenti criteri diagnostici (Headache Classification Committee, 2004) (tabella 2).

Tabella 2. Classificazione dell'emicrania (HCC 2004)

CLASSIFICAZIONE	CRITERI DIGNOSTICI
-Emicrania senza aura:	<p>A Almeno 5 attacchi con le caratteristiche descritte nei criteri B-D.</p> <p>B Durata della cefalea durante l'attacco 4-72 ore (senza trattamento o con trattamento inefficace)</p> <p>C La cefalea ha almeno due delle seguenti caratteristiche:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Localizzazione unilaterale - Pulsante - Intensità moderata o severa - Aggravato dallo svolgimento delle normali attività fisiche (es. Camminare o salire le scale) <p>D L'attacco di cefalea è associato ad almeno uno dei seguenti sintomi:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Nausea e/o vomito - Fotofobia e fonofobia <p>E Sintomi non attribuiti ad altre cause.</p>
Emicrania con aura :	<p>A Almeno due attacchi che soddisfano il criterio B.</p> <p>B Le caratteristiche dell'aura sono incluse nei criteri dell'aura tipica, dell'emicrania emiplegica o dell'emicrania tipo basilare.</p> <p>C Sintomi non attribuiti ad altra causa</p>
Aura tipica: -con cefalea emicranica	1 Sintomi visivi completamente reversibili, con caratteristiche positive (es. scotomi

<p>- cefalea non-emicranica -senza cefalea</p>	<p>scintillanti, macchie, linee) e/o negativi (perdita del visus). 2 Sintomi sensitivi completamente reversibili, con caratteristiche positive (formicolio, punture di spillo) o negativi (intorpidimento). 3 Alterazione del linguaggio completamente reversibile.</p> <p>Almeno due dei seguenti: 1 Sintomi visivi omonimi e/o sintomi sensitivi unilaterali. 2 Almeno un sintomo insorge gradualmente in almeno 5 minuti, o sintomi diversi insorgono in successione in almeno 5 minuti. 3 I sintomi persistono almeno 5 minuti e non oltre 1 ora. Almeno uno dei seguenti, ma SENZA sintomi motori.</p>
<p>- Emicrania emiplegica</p>	<p>Emicrania con aura che comprende sintomi motori (debolezza) completamente reversibili in aggiunta ai criteri per l'aura tipica.</p>
<p>- Emicrania tipo-basilare</p>	<p>Emicrania con aura che comprende sintomi (completamente reversibili) chiaramente di origine vertebrobasilare e/o biemisferica, ma senza sintomi motori (debolezza). Devono essere presenti almeno due dei seguenti: - disartria -vertigine - tinnito - ipoacusia - diplopia - sintomi visivi interessanti sia il campo visivo nasale che temporale di entrambi gli occhi - atassia -diminuzione dello stato di coscienza - parestesie bilaterali.</p> <p>Inoltre deve essere presente almeno uno dei seguenti: 1 Almeno un sintomo insorge gradualmente in almeno 5 minuti, o sintomi diversi insorgono in successione in almeno 5 minuti. 2 I sintomi persistono almeno 5 minuti e non oltre 1 ora.</p>

I pazienti sono stati classificati come affetti da disturbi psichiatrici o con storia di tali disturbi quando era presente o lo era stato in anamnesi, almeno uno fra: disturbi del tono dell'umore, disturbo d'ansia o disturbi psicotici. Queste condizioni sono state definite in accordo ai criteri del DSM IV (1994) come illustrato di seguito. I disturbi del tono dell'umore comprendono il disturbo depressivo ed il disturbo bipolare. Il paziente è stato ritenuto con storia di disturbo depressivo se presentava o aveva presentato depressione maggiore, distimia o disturbo depressivo non altrimenti specificato. È stato definito con storia di disturbo bipolare chiunque fosse o fosse stato affetto da almeno uno dei seguenti quadri clinici: Disturbo Bipolare I., disturbo Bipolare II, Disturbo Ciclotimico:

episodi ricorrenti, Disturbo Bipolare non altrimenti specificato. Inoltre è stato definito come affetto da disturbo d'ansia quando fosse o fosse stato presente in passato almeno uno dei seguenti quadri clinici: attacco di panico, agorafobia, fobia specifica, fobia sociale, disturbo ossessivo-compulsivo, disturbo post-traumatico da stress, disturbo d'ansia acuto, disturbo d'ansia generalizzato disturbo d'ansia non altrimenti specificato. Per la definizione dei disturbi psicotici abbiamo considerato i seguenti quadri clinici: schizofrenia, disturbo schizofrenico, disturbo schizoaffettivo.

Per la definizione dei disturbi cognitivi abbiamo considerato la presenza di demenza e disturbo cognitivo lieve secondo i criteri del DSM IV (1994). Secondo tali criteri la caratteristica essenziale della demenza è lo sviluppo di deficit cognitivi multipli che comprendono la perdita di memoria più almeno uno tra afasia, aprassia, agnosia o alterazione delle funzioni esecutive. Il disturbo cognitivo deve essere sufficientemente grave da compromettere la vita sociale od occupazionale. Invece, la caratteristica essenziale del disturbo cognitivo lieve è lo sviluppo di un deficit neurocognitivo lieve non dovuto ad una condizione medica generale. Per definizione, il deterioramento cognitivo e l'impatto nello svolgimento delle attività quotidiane sono lievi (l'individuo è in genere in grado di compensare al deficit cognitivo con sforzo aggiuntivo). E' necessaria la nuova comparsa di deficit in almeno 2 aree cognitive: memoria (imparare o ricordare nuove informazioni), funzioni esecutive (pianificazione, ragionamento), attenzione o velocità di elaborazione delle informazioni, abilità visuomotorie, linguaggio (difficoltà a trovare le parole, ridotta fluency verbale). Il deficit dovrebbe essere confermato da valutazione neuropsicologica.

1.3.3.2 Batteria neuropsicologica, motoria e funzionale

Per quanto riguarda la valutazione neuropsicologica è stata selezionata una batteria di test volta a valutare diverse aree cognitive potenzialmente correlate con la presenza di una leucoencefalopatia microvascolare. I test sono stati scelti anche facendo riferimento alla batteria in uso nello studio europeo LADIS (Madureira et al. 2006). La batteria neuropsicologica ha compreso i test illustrati nella tabella 3.

Nella tabella sono inseriti anche i test usati per la valutazione del tono dell'umore, delle abilità motorie e dello stato funzionale.

Come misura globale di disabilità, analogamente a quanto effettuato da altri importanti studi multicentrici (per es. studio LADIS), è stata scelta la presenza di una compromissione in due o più attività strumentali della vita quotidiana (scala IADL).

Tabella 3: test usati nello studio MILES per la valutazione del profilo cognitivo, del disturbo depressivo, delle abilità motorie e dello stato funzionale

Nome del test	Dominio esplorato	Bibliografia
Mini Mental State Examination	Funzioni cognitive globali	Folstein et al, 1975
VADAS-cog richiamo immediato differito di brevi parole	Memoria	Ferris, 2003
Trail Making Test	Attenzione divisa	Reitan et al, 1958
Stroop Test	Attenzione selettiva	Stroop et al, 1935
Symbol digit modalities tests	Attenzione visuo-spaziale	Ferris, 2003
Digit Cancellation test	Attenzione sostenuta	Lewis et al, 1979
Fluenza verbale fonemica e semantica	Fluenza verbale	Novelli et al, 1986
Clock drawing test	Abilità visuo-spaziali	Wolf-Klein et al, 1989
Geriatric Depression Scale (GDS)	Tono dell'umore	Yesavage et al, 1983
Short Physical Performance Battery (SPPB)	Abilità motorie	Guralnik et al, 1994
Disability Assessment of Dementia (DAD)	Attività funzionali	Gelinas et al, 1999
Attività strumentali della vita quotidiana (IADL)	Attività funzionali	Katz 1963; Lawton et al, 1969

Prima di procedere all'analisi dei dati, i punteggi grezzi ottenuti da ciascun paziente ai test neuropsicologici sono stati corretti per età e scolarità seguendo i valori normativi disponibili in letteratura per ciascun test tramite trasformazione in punteggi z . Questo è stato ottenuto applicando la formula $z = \frac{X - \mu}{\delta}$ dove X è il punteggio grezzo al test, μ la media del punteggio normale in una popolazione di pari età e scolarità e δ la deviazione standard dal valore medio. Inoltre tali punteggi z sono stati usati per creare delle misure composte determinando domini cognitivi distinti. Nello specifico, la media aritmetica degli z del richiamo immediato e differito alla prova di memoria del VADAS-cog è stata usata per creare il dominio memoria, lo z della prova A del Trail Making Test (TMT) come misura di velocità psicomotoria e la media aritmetica degli z dei punteggi del TMT (B-A) e del Symbol Digit come misura delle funzioni esecutive. I punteggi z dei vari domini cognitivi sono quindi stati inseriti nel modello statistico per valutare eventuali differenze tra i gruppi e il ruolo dei test nell'influenzare la disabilità valutata con il punteggio totale alla scala DAD.

Tabella 4: domini cognitivi (misure composte)

Indice di Memoria	$(Z_{\text{(richiamo immediato)}} + Z_{\text{(richiamo differito)}})/2$
Indice di Funzioni Esecutive	$(Z_{\text{(TMT.B-A)}} + Z_{\text{(Symbol Digit)}})/2$
Indice di Velocità Psicomotoria	$Z_{\text{(TMT.A)}}$

1.3.3.3 Esami ematici

Ciascun paziente è stato sottoposto a dosaggi ematici comprendenti:

- 1- marker di disfunzione endoteliale (livelli ematici del fattore di von Willebrand, del fattore tissutale, dell'inibitore della via del fattore tissutale, della molecola 1 di adesione intercellulare, trombomodulina, forma

- asimmetrica della arginina e conta del numero di cellule circolanti progenitrici delle cellule endoteliali);
- 2- polimorfismi associati a malattia dei piccoli vasi cerebrali (metalloproteinasi e loro inibitori, componenti del sistema renina-angiotensina, gene della nitrossido sintetasi endoteliale, gene della metilentetraidrofolato reductasi e della paraoxonasi);
 - 3- livelli ematici di molecole pro- e anti-infiammatorie (interleuchina-6; interleuchina-1 RA, interleuchina-8, interleuchina-10, interleuchina-18 e la proteina C);
 - 4- valutazione dello stato anti-ossidante e dello stress ossidativo con dosaggio dei livelli plasmatici di :di vitamina E (alfa-tocoferolo, gamma-tocoferolo), acido ascorbico, carotenoidi ossigenati, carotenoidi idrocarbonati (alfa-carotene, beta-carotene, licopene) e retinolo;
 - 5- misurazione dei livelli plasmatici dei lipidi, della glicemia, delle vitamine B1, B6, B12, folati ed omocisteina.

I prelievi ematici per lo studio dei marcatori di danno endoteliale e di infiammazione sono stati effettuati dopo aver escluso un evento infiammatorio di tipo infettivo nei 15 giorni precedenti (tabella 5) (Nencini et al, 2003).

Tabella 5. Criteri per la diagnosi di evento infiammatorio di natura infettiva

<ul style="list-style-type: none"> • febbre (>37.5°) o isolamento di agente infettivo nel siero o in materiale di coltura + almeno un sintomo tipico di infezione; • combinazione di almeno due sintomi tipici di infezione <i>oppure</i>
<p><i>sintomi tipici di infezione</i></p>
<ul style="list-style-type: none"> • otalgia • lesione cutanea (es. lacerazione complicata da secrezione purulenta) • tosse produttiva • raffreddore • mal di gola • nausea • vomito • diarrea • disuria • pollachiuria • dolore lombare con piuria • perdite vaginali o peniene lesioni cutanee escoriate • eritema papuloso e/o vescicoloso; • gengivite • ascesso dentale • eritema congiuntivale + aumento della lacrimazione + secrezione + sensazione di corpo estraneo

1.3.3.4 Studio dell'emodinamica cerebrale

I pazienti sono stati sottoposti a studio della funzione emodinamica cerebrale e in particolare dei meccanismi di autoregolazione e di reattività microvascolare. A tal fine tutti i pazienti hanno eseguito un ecocolor-Doppler dei vasi epiaortici per escludere stenosi carotidee in grado di influenzare i risultati dei test di autoregolazione cerebrale e per effettuare la misura dello spessore intima-media e un EcocolorDoppler o Doppler transcranico con monitoraggio dell'arteria cerebrale media, calcolo della velocità media, indice di pulsatilità basale e della velocità media dopo test di apnea massimale e di iperpnea prolungata sino allo steady state. Lo scopo di tale esame è quello di valutare la percentuale di variazione della velocità media del flusso rispetto a quella basale nei due test eseguiti.

1.3.4. Analisi statistica

I dati sono stati analizzati utilizzando il programma SPSS (Statistical Package for Social Sciences, Chicago, Ill; software for Windows Version 17.0). Il test t di Student e l'ANOVA sono stati impiegati per i confronti tra i due gruppi su variabili continue, il test del Chi quadro su variabili non continue.

Per valutare nei soggetti dei due gruppi separatamente, l'influenza di variabili cliniche e strumentali (età, sesso, storia di ipertensione, ipercolesterolemia, e abitudine tabagica, BMI, pressione arteriosa sistolica e diastolica, dosaggio della glicemia, del colesterolo HDL e LDL) su: storia di Ictus ischemico, età di esordio della malattia, disabilità funzionale, punteggio DAD e SPPB, abbiamo usato ANOVA per le variabili numeriche, Chi quadrato per le categoriche e quindi effettuato una regressione logistica binaria per la correzione per età.

Modelli di regressione lineare sono stati impiegati nei due gruppi separatamente per valutare il ruolo predittivo dei vari domini cognitivi sulla disabilità funzionale valutata tramite punteggio totale alla scala DAD.

2. Risultati dello studio

2.1. Pazienti

Dal Dicembre 2007 al Dicembre 2009 sono stati arruolati 119 pazienti di cui 51 affetti da CADASIL (appartenenti a 40 famiglie) e 68 con leucoencefalopatia età-correlata. La popolazione è composta per il 53,8% (64 pazienti) da maschi.

Come atteso, i due gruppi di pazienti arruolati presentano una significativa differenza di età, con la popolazione affetta da CADASIL più giovane rispetto a quella con leucoencefalopatia età-correlata. Nessuna differenza tra i due gruppi è stata evidenziata per quanto concerne la scolarità. Le caratteristiche demografiche della popolazione sono illustrate nella tabella 6.

Tabella 6: Caratteristiche demografiche dei due gruppi di pazienti arruolati, CADASIL e leucoencefalopatia età-correlata (LE)

	CADASIL	LE	p
Numero di pazienti	51 (43%)	68 (57%)	-
Maschi N (%)	24 (47%)	40 (59%)	0.209 ^a
Età (media\pm DS)	50.3 \pm 13.8	70.6 \pm 7.4	<0.001 ^b
Anni di scolarità (media\pm DS)	10.3 \pm 3.7	9.3 \pm 4.8	0.205 ^b

^a test Chi quadrato

^b t-test

2.2 Fattori di rischio vascolare

Per quanto riguarda i fattori di rischio vascolare (tabella 7) si nota come questi siano maggiormente presenti nella popolazione con leucoencefalopatia età-correlata, in particolare questi pazienti presentano una prevalenza di storia d'ipertensione e ipercolesterolemia significativamente maggiore rispetto alla popolazione con CADASIL.

I soggetti con leucoencefalopatia età-correlata presentano anche una maggior frequenza di diabete mellito, sebbene non si raggiunga la significatività statistica. Nessuna differenza è stata rilevata per quanto riguarda la presenza di ipertrigliceridemia. I pazienti con CADASIL presentano una maggior prevalenza di abitudine tabagica (tabella 7).

Per quanto riguarda la misurazione clinica dei parametri vitali relativi ai fattori di rischio, la misurazione della pressione arteriosa ha evidenziato valori significativamente più alti nei pazienti con leucoencefalopatia età-correlata rispetto a quelli affetti da CADASIL, sia per quanto riguarda i valori di pressione sistolica che, in minor misura, di pressione diastolica. Questo dato appare in linea con la maggior prevalenza di storia anamnestica di ipertensione arteriosa nei soggetti con leucoencefalopatia età-correlata. Anche i livelli di glicemia a digiuno sono risultati significativamente più alti nei pazienti con leucoencefalopatia età-correlata, nonostante i valori medi siano nei limiti della norma in entrambi i gruppi (tabella 8).

Tabella 7: prevalenza dei comuni fattori di rischio vascolare nella popolazione in studio

	CADASIL (N=51)	LE (N=68)	P (chi quadro)
Iperensione arteriosa N (%)	18 (35%)	56 (82%)	<0,0001
Diabete mellito N (%)	4 (8%)	10 (15%)	0,250
Ipercolesterolemia N (%)	18 (36%)	38 (56%)	0,026
Ipertrigliceridemia N (%)	9 (18%)	9 (15%)	0,765
Fumo N (%)	15 (31%)	12 (18%)	0,129

Tabella 8: Assessment quantitativo dei comuni fattori di rischio vascolare (media±DS)

	CADASIL (N=51)	LE (N=68)	P (t-test)
Pressione arteriosa sistolica	126.3 ± 14.9	138.6 ± 18.2	<0.001
Pressione arteriosa diastolica	76.8 ± 9.6	81.7 ± 9.7	0.011
Glicemia a digiuno	89.2 ± 16.7	103.6 ± 30.2	0.005
Colesterolemia totale	198.4 ± 37.6	192.9 ± 37.4	0.464
Dosaggio LDL	119.2 ± 33.8	112.0 ± 31.2	0.328
Dosaggio HDL	51.8 ± 15.4	53.1 ± 14.8	0.675
Dosaggio trigliceridi	140.8 ± 152.8	118.9 ± 66.4	0.354
BMI*	28.0 ± 5.1	25.7 ± 3.4	0.010

* BMI (Body Mass Index) = Peso / altezza²

2.3. Caratteristiche cliniche

Al fine di determinare l'età di esordio della malattia, si è considerata l'età di insorgenza del primo fra i seguenti sintomi che in gran parte, come visto, si associano anche alla leucoencefalopatia età-correlata : ictus, TIA, disturbi psichiatrici, deficit cognitivi e crisi epilettiche. Sebbene molto frequente nella CADASIL, l'emicrania è stata esclusa in primo luogo perché l'età di esordio di tale disturbo risulta difficilmente ricostruibile anamnesticamente (Dichgans et al, 1998; Kalimo et al, 2002; Pantoni et al, 2010).

Come atteso, l'età di esordio del primo sintomo è risultata significativamente minore nei pazienti affetti da CADASIL (tabella 9). Allo stesso modo, l'età del primo ictus, è risultato essere inferiore in questo gruppo rispetto al gruppo leucoencefalopatia età-correlata.

Le due popolazioni non differiscono per incidenza di ictus ischemico che risulta essere intorno al 45% in entrambi i gruppi. Tale dato, appare comunque rilevante, data l'età molto più giovane dei pazienti affetti da CADASIL, da cui consegue una loro relativa maggior incidenza di eventi ischemici cerebrali.

Sempre in accordo con i dati di letteratura, i soggetti con CADASIL presentano una maggior prevalenza di storia di emicrania, in particolare, con aura, sebbene quest'ultimo dato non raggiunga la significatività statistica. Più frequenti nei CADASIL anche i disturbi psichiatrici (62% Vs. 47%), nonostante il confronto statistico tra i due gruppi (test t di Student) non abbia mostrato significatività statistica.

Per quanto riguarda i disturbi cognitivi, il 41% dei pazienti con CADASIL presenta storia di deficit contro il 37% della popolazione con leucoencefalopatia età-correlata, che, come pare importante ribadire, è molto più anziana. Una significatività statistica, infatti, emerge per quanto concerne il confronto tra l'età di esordio di tali sintomi che è molto inferiore nei soggetti con CADASIL (età media 54.9 anni) rispetto ai soggetti con leucoencefalopatia età-correlata (età media 71.4 anni).

Nessuna differenza emerge, infine, dal confronto dell'incidenza di crisi epilettiche nelle due popolazioni (tabella 9).

Tabella 9. Caratteristiche cliniche della popolazione in studio

	CADASIL (N=51)	LE (N=68)	P
Età di esordio malattia (media ± DS)	46.2 ± 15.2	62.9 ± 13.9	<0.001 ^a
TIA N (%)	15 (29%)	16 (24%)	0.469 ^b
Ictus ischemico N (%)	22 (43%)	31 (46%)	0.790 ^b
Età del primo Ictus (media ± DS)	51.6 ± 11.1	67.7 ± 7.6	<0.001 ^a
Emicrania N (%)	24 (47%)	18 (27%)	0.020 ^b
Emicrania con aura N (%)	6 (12%)	2 (3%)	0.063 ^b
Disturbi psichiatrici N (%)	29 (62%)	31 (47%)	0.122 ^b
Deficit cognitivi N(%)	19 (37%)	24 (37%)	0.826 ^b
Età di esordio dei deficit cognitivi (media ± DS)	54.9 ± 13.4	71.4 ± 6.2	0.001 ^a
Crisi epilettiche N (%)	5 (10%)	7 (10%)	0.930 ^b

^a test Chi quadrato^b t-test

Per quanto riguarda gli aspetti funzionali, la scala DAD ha mostrato come la compromissione sia maggiore nei soggetti con CADASIL rispetto a quelli con leucoencefalopatia età-correlata. La scala IADL (usata come indice di disabilità) ha mostrato come il 33% dei pazienti con CADASIL contro il 29 % di soggetti con leucoencefalopatia età-correlata presentasse alterazione di due o più items. Pertanto la percentuale di soggetti con disabilità è risultata maggiore nei soggetti con CADASIL anche se non si raggiunge una significatività statistica, dato interessante soprattutto valutando la differenza di età tra i due gruppi (tabella 10).

La scala di valutazione delle abilità motorie SPPB ha fornito dati di significato analogo, evidenziando una maggior compromissione nei pazienti con CADASIL (tabella 10).

Tabella 10: Alterazioni funzionali, motorie e disabilità

	CADASIL (N=51)	LE (N=68)	P (t-test)
Scala Disability Assessment for Dementia (DAD) (media ± DS)	89.0 ± 20.8	92.6 ± 17.6	0.321
Short physical performance battery (SPPB) (media ± DS)	8.4 ± 3.6	8.3 ± 2.7	0.882
Disabilità (≥2 item IADL alterati) N (%)	17 (33%)	20 (29%)	0.647

2.4. Fattori modulanti il fenotipo clinico nei CADASIL e nei pazienti con leucoencefalopatia età-correlata

Allo scopo di valutare il peso dell'età e dei fattori di rischio vascolare nel modulare fenotipo clinico dei pazienti, è stata effettuata un'analisi statistica di regressione logistica e lineare aggiustata per età, analizzando separatamente i dati relativi ai due gruppi (tabelle 11-20).

Nei pazienti con CADASIL sono risultati fattori modulanti l'incidenza di ictus ischemico il valore del colesterolo totale e del colesterolo LDL (tabella 11). L'età di esordio della malattia non si associa significativamente ad alcun fattore dopo la correzione per età (tabella 13). La disabilità, definita come alterazione in due o più items della scala IADL, è risultata influenzata dal BMI e dal dosaggio della colesterolemia HDL (tabella 15); quest'ultimo sembra influenzare anche il punteggio alla scala motoria SPPB (tabella 19).

Nei pazienti con CADASIL è presente inoltre una relazione tra il punteggio alla scala funzionale DAD e la presenza di storia di ipertensione arteriosa e il valore di colesterolo HDL (tabella 17).

Per i pazienti con leucoencefalopatia età-correlata viene evidenziata una relazione tra la presenza di storia di ictus ischemico, ipertensione arteriosa e dosaggio del colesterolo totale (tabella 12). Nessun fattore di rischio vascolare è invece associato significativamente all'età di esordio della malattia e agli indici di funzionalità e alle performances motorie (tabelle 14, 16, 18, 20).

Tabella 11. Fattori modulanti l'occorrenza di ictus ischemico nei pazienti con CADASIL. Valori espressi come: media (deviazione standard) per le variabili numeriche, frequenza (percentuale) per le categoriche

	Pazienti con storia ictus (22)	Pazienti senza storia di ictus (29)	<i>P</i>	<i>P</i> *
Età	56.1 (9.6)	46.0 (14.9)	0.008 ^a	-
Sesso M	11 (50.0%)	13 (44.8%)	0.714 ^b	0.206
Ipertensione	10 (45.5%)	8 (27.6%)	0.186 ^b	0.933
Ipercolesterolemia	9 (40.9%)	9 (31.0%)	0.465 ^b	0.892
Fumo	4 (18.2%)	11 (37.9%)	0.125 ^b	0.128
BMI	28.7 (5.3)	27.3 (4.9)	0.443 ^a	0.975
PA sistolica	128.8 (14.7)	124.2 (15.0)	0.302 ^a	0.755
PA diastolica	78.1 (10.5)	75.8 (8.7)	0.424 ^a	0.764
Glicemia	91.4 (12.8)	87.9 (18.7)	0.497 ^a	0.857
Colesterolo totale	186.5 (30.2)	206.2 (40.4)	0.075 ^a	0.012
Colesterolo LDL	111.5 (22.5)	124.6 (39.5)	0.239 ^a	0.037
Colesterolo HDL	52.8 (17.3)	51.0 (14.3)	0.721 ^a	0.813

Metodi: ANOVA per le variabili numeriche (^a), Chi quadrato per le categoriche (^b); regressione logistica binaria per la correzione per età (*).

Tabella 12. Fattori modulanti l'occorrenza di ictus ischemico nei pazienti con leucoencefalopatia età-correlata. Valori espressi come: media (deviazione standard) per le variabili numeriche, frequenza (percentuale) per le categoriche

	Pazienti con storia ictus (31)	Pazienti senza storia di ictus (37)	<i>P</i>	<i>P</i> *
Età	73.2 (5.4)	68.4 (8.2)	0.006 ^a	-
Sesso M	19 (61.3%)	21 (56.8%)	0.714 ^b	0.705
Ipertensione	30 (96.8%)	26 (74.3%)	0.004 ^b	0.049
Ipercolesterolemia	18 (58.1%)	20 (54.1%)	0.740 ^b	0.480
Fumo	6 (19.4%)	6 (16.2%)	0.735 ^b	0.709
BMI	25.7 (2.8)	25.7 (4.0)	0.935 ^a	0.842
PA sistolica	138.6 (13.2)	138.6 (21.7)	0.989 ^a	0.639
PA diastolica	82.0 (9.8)	81.5 (9.8)	0.859 ^a	0.737
Glicemia	104.0 (35.9)	103.1 (23.9)	0.910 ^a	0.998
Colesterolo totale	181.1 (34.4)	203.2 (37.4)	0.029 ^a	0.036
Colesterolo LDL	102.7 (26.6)	121.3 (33.3)	0.058 ^a	0.148
Colesterolo HDL	50.6 (12.4)	55.4 (16.6)	0.256 ^a	0.266

Metodi: ANOVA per le variabili numeriche (^a), Chi quadrato per le categoriche (^b); regressione logistica binaria per la correzione per età (*).

Tabella 13. Fattori modulanti l'età di esordio della malattia nei pazienti con CADASIL

	Coeff. stand.	P*	P**
Età	0.93	< 0.001	-
Sesso M	-0.14	0.401	0.308
Iperensione	0.35	0.032	0.097
Ipercolesterolemia	0.19	0.256	0.053
Fumo	0.03	0.839	0.354
BMI	0.23	0.274	0.954
PA sistolica	0.40	0.022	0.106
PA diastolica	0.38	0.031	0.249
Glicemia	0.47	0.006	0.942
Colesterolo totale	0.25	0.152	0.874
Colesterolo LDL	0.46	0.013	0.732
Colesterolo HDL	0.08	0.691	0.532

Metodi: regressione lineare (*) corretta per età (**)

Tabella 14. Fattori modulanti l'età di esordio della malattia nei pazienti con leucoencefalopatia età-correlata

	Coeff. stand.	P*	P**
Età	0.60	< 0.001	-
Sesso M	0.19	0.173	0.160
Iperensione	0.08	0.538	0.858
Ipercolesterolemia	-0.24	0.075	0.248
Fumo	-0.06	0.689	0.587
BMI	0.01	0.976	0.283
PA sistolica	0.24	0.088	0.057
PA diastolica	0.08	0.577	0.046
Glicemia	0.09	0.563	0.379
Colesterolo totale	-0.18	0.249	0.193
Colesterolo LDL	-0.40	0.024	0.073
Colesterolo HDL	0.09	0.602	0.526

Metodi: regressione lineare (*) corretta per età (**)

Tabella 15. Fattori modulanti l'occorrenza di disabilità (≥ 2 item alterati alle IADL) nei pazienti con CADASIL. Valori espressi come: media (deviazione standard) per le variabili numeriche, frequenza (percentuale) per le categoriche

	Pazienti con disabilità (17)	Pazienti senza disabilità (34)	P	P*
Età	57.6 (10.4)	46.7 (13.9)	0.007^a	-
Sesso M	7 (41.2%)	17 (50.0%)	0.552 ^b	0.789
Iperensione	11 (64.7%)	7 (20.6%)	0.002^b	0.051
Ipercolesterolemia	7 (41.2%)	11 (32.4%)	0.534 ^b	0.779
Fumo	5 (29.4%)	10 (29.4)	1.000 ^b	0.951
BMI	31.2 (5.9)	26.5 (3.9)	0.009^a	0.047
PA sistolica	127.6 (15.3)	125.5 (14.9)	0.646 ^a	0.365
PA diastolica	77.6 (9.9)	76.4 (9.5)	0.669 ^a	0.520
Glicemia	98.7 (21.9)	84.1 (10.4)	0.003^a	0.059
Colesterolo totale	198.7 (43.6)	198.3 (35.0)	0.972 ^a	0.421
Colesterolo LDL	127.5 (37.1)	115.1 (32.1)	0.289 ^a	0.807
Colesterolo HDL	43.3 (11.3)	55.7 (15.7)	0.015^a	0.013

Metodi: ANOVA per le variabili numeriche (^a), Chi quadrato per le categoriche (^b); regressione logistica binaria per la correzione per età (*).

Tabella 16. Fattori modulanti l'occorrenza di disabilità (≥ 2 item alterati alle IADL) nei pazienti con leucoencefalopatia età-correlata. Valori espressi come: media (deviazione standard) per le variabili numeriche, frequenza (percentuale) per le categoriche

	Pazienti con disabilità (20)	Pazienti senza disabilità (48)	P	P*
Età	74.6 (5.6)	69.0 (7.5)	0.004^a	-
Sesso M	14 (70.0%)	26 (54.2%)	0.227 ^b	0.231
Iperensione	17 (85.0%)	39 (81.3%)	0.712 ^b	0.558
Ipercolesterolemia	11 (55.0%)	27 (56.3)	0.925 ^b	0.714
Fumo	4 (20.0%)	8 (16.7%)	0.743 ^b	0.749
BMI	25.1 (3.1)	25.9 (3.6)	0.363 ^a	0.390
PA sistolica	140.3 (17.8)	138.0 (18.5)	0.656 ^a	0.863
PA diastolica	82.1 (10.5)	81.6 (9.5)	0.867 ^a	0.616
Glicemia	107.1 (36.9)	102.4 (28.1)	0.614 ^a	0.550
Colesterolo totale	184.9 (27.2)	195.5 (40.1)	0.380 ^a	0.409
Colesterolo LDL	101.6 (18.7)	116.0 (34.2)	0.197 ^a	0.324
Colesterolo HDL	55.9 (17.0)	52.2 (14.2)	0.459 ^a	0.403

Metodi: ANOVA per le variabili numeriche (^a), Chi quadrato per le categoriche (^b); regressione logistica binaria per la correzione per età (*).

Tabella 17. Fattori modulanti il fenotipo clinico nei soggetti con CADASIL: punteggio DAD (analisi statistica di regressione logistica aggiustata per età)

	Coeff. stand.	P	P*
Età	-0.36	0.011	-
Sesso M	-0.06	0.703	0.211
Iperensione	0.54	< 0.001	0.002
Ipercolesterolemia	0.04	0.784	0.548
Fumo	-0.17	0.241	0.282
BMI	-0.35	0.042	0.095
PA sistolica	-0.10	0.500	0.516
PA diastolica	-0.05	0.757	0.383
Glicemia	-0.29	0.058	0.414
Colesterolo totale	-0.06	0.700	0.687
Colesterolo LDL	-0.20	0.225	0.606
Colesterolo HDL	0.36	0.022	0.006

Metodi: regressione lineare corretta per età (*)

Tabella 18 Fattori modulanti il fenotipo clinico nei soggetti con leucoencefalopatia età-correlata: punteggio DAD (analisi statistica di regressione logistica aggiustata per età)

	Coeff. stand.	P	P*
Età	-0.17	0.164	-
Sesso M	0.01	0.933	0.944
Iperensione	0.03	0.783	0.766
Ipercolesterolemia	0.09	0.457	0.382
Fumo	0.136	0.269	0.268
BMI	-0.10	0.452	0.442
PA sistolica	0.15	0.259	0.150
PA diastolica	0.12	0.375	0.395
Glicemia	-0.03	0.846	0.904
Colesterolo totale	-0.01	0.921	0.874
Colesterolo LDL	0.23	0.160	0.165
Colesterolo HDL	0.10	0.494	0.502

Metodi: regressione lineare corretta per età (*)

Tabella 19 Fattori modulanti il fenotipo clinico nei soggetti con CADASIL: punteggio SPPB

	Coeff. stand.	P	P*
Età	-0.55	<0.001	-
Sesso M	0.02	0.901	0.219
Iperensione	-0.46	0.001	0.090
Ipercolesterolemia	0.11	0.438	0.558
Fumo	0.09	0.534	0.307
BMI	-0.21	0.220	0.576
PA sistolica	-0.25	0.094	0.788
PA diastolica	-0.08	0.603	0.177
Glicemia	-0.27	0.066	0.266
Colesterolo totale	-0.21	0.163	0.693
Colesterolo LDL	-0.30	0.061	0.376
Colesterolo HDL	0.25	0.113	0.013

Metodi: regressione lineare corretta per età (*)

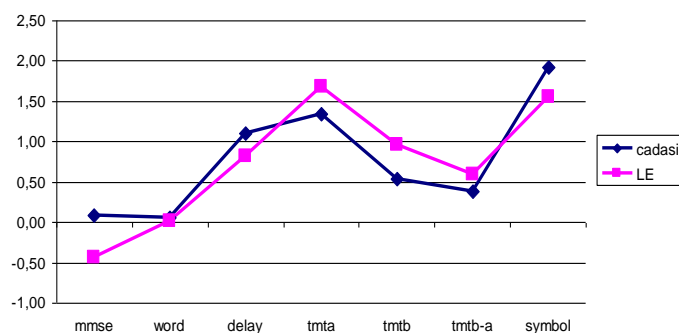
Tabella 20 Fattori modulanti il fenotipo clinico nei soggetti con leucoencefalopatia età-correlata: punteggio SPPB

	Coeff. stand.	P	P*
Età	-0.05	0.693	-
Sesso M	0.127	0.305	0.311
Iperensione	-0.02	0.899	0.760
Ipercolesterolemia	-0.03	0.796	0.821
Fumo	-0.08	0.505	0.506
BMI	-0.03	0.822	0.821
PA sistolica	0.12	0.356	0.309
PA diastolica	0.12	0.348	0.361
Glicemia	0.12	0.403	0.398
Colesterolo totale	-0.06	0.679	0.676
Colesterolo LDL	-0.01	0.983	0.885
Colesterolo HDL	-0.27	0.058	0.063

Metodi: regressione lineare corretta per età (*)

2.5. Profilo neuropsicologico

Il confronto fra i punteggi z dei vari test neuro cognitivi usati non ha mostrato differenze significative fra i due gruppi di pazienti (figura 1).



L'analisi statistica, eseguita con il test t di student per valutare la distribuzione dei punteggi z dei vari domini cognitivi (memoria, funzioni esecutive e velocità psicomotoria), non ha messo in evidenza alcuna differenza significativa (tabella 21).

È stata poi valutata la relazione tra le performances ai test e la misura della disabilità funzionale, valutata con il punteggio totale alla scala DAD. A questo scopo sono stati analizzati singolarmente i dati della popolazione con CADASIL e con leucoencefalopatia età-correlata, usando un'analisi di regressione lineare. Per entrambi i gruppi, una prima analisi in cui venivano inseriti tutti e tre i domini cognitivi, non ha prodotto risultati con significatività statistica (tabelle 22.a e 23.a). Pertanto l'analisi è stata ripetuta usando un diverso modello. Per quanto riguarda la CADASIL, è stato escluso il dominio con valori di significatività maggiore: le funzioni esecutive. La regressione lineare, ripetuta inserendo come variabili solo la memoria e la velocità psicomotoria, ha evidenziato la presenza di una relazione tra la compromissione della memoria e il punteggio totale alla scala DAD ($\beta=-0,358$, $p=0,017$)(tabella 22.b). Nei soggetti con leucoencefalopatia età-correlata l'analisi di regressione lineare è stata ripetuta una terza volta, dimostrando un effetto significativo delle sole funzioni esecutive sul punteggio alla Scala DAD ($\beta=-0,321$, $p=0,028$)(tabella 23.c).

Tabella 21 Profilo Neuropsicologico dei soggetti con CADASIL e leucoencefalopatia età-correlata nei tre domini cognitivi

Punteggi z	CADASIL (N=51) (media±DS)	LE (N=68) (media±DS)	P
Memoria	0,77 ± 0,769	0,40 ± 0,403	0,193
Funzioni esecutive	0,98 ± 1,29	0,93 ± 1,15	0,847
Velocità psicomotoria	1,34 ± 1,94	1,69 ± 1,39	0,292

Tabella 22: Pazienti con CADASIL: relazione tra punteggio nei domini cognitivi e punteggio totale ottenuto alla scala funzionale DAD: analisi di regressione logistica

- a. primo modello: vengono inserite le variabili Memoria, Funzioni esecutive e velocità psicomotoria

Punteggi z	Beta	P
Memoria	0,216	0,261
Funzioni esecutive	-0,031	0,873
Velocità psicomotoria	-0,045	0,826

- b. secondo modello: vengono inserite le variabili : Memoria e Velocità psicomotoria

Punteggi z	Beta	P
Memoria	-0,358	0,017
Velocità psicomotoria	-0,249	0,091

Tabella 23 Pazienti con Leucoencefalopatia età-correlata: relazione tra punteggio nei domini cognitivi e punteggio totale ottenuto alla scala funzionale DAD: analisi di regressione logistica

a. primo modello: vengono inserite le variabili Memoria, Funzioni esecutive e velocità psicomotoria

Punteggi z	Beta	P
Memoria	0,035	0,819
Funzioni esecutive	-0,282	0,067
Velocità psicomotoria	-0,211	0,165

b. secondo modello: vengono incluse le variabili: funzioni esecutive e velocità psicomotoria

Punteggi z	Beta	P
Funzioni esecutive	1,916	0,064
Velocità psicomotoria	-0,203	0,165

c. terzo modello: funzioni esecutive

Punteggi z	Beta	P
Funzioni esecutive	-0,321	0,028

3. Discussione

3.1. Fattori di rischio vascolare

I dati mostrano una maggior prevalenza di alcuni tra i più comuni fattori di rischio vascolare (ipertensione, ipercolesterolemia, diabete mellito) nei soggetti con leucoencefalopatia età-correlata rispetto a quelli con CADASIL. Il dato appare spiegabile con l'età media più elevata di questo gruppo di pazienti. La presenza di una relazione tra leucoencefalopatia e fattori di rischio vascolare è in linea con i dati della letteratura. Per quanto riguarda la pressione arteriosa, per esempio, diversi studi hanno riportato un'elevata prevalenza di alterazioni della sostanza bianca cerebrale in soggetti con ipertensione, che risulta essere il fattore di rischio di più frequente riscontro in questa popolazione (Pantoni e Garcia, 1995; Liao et al, 1996; Longstreth et al, 1996; Breteler et al 1998, Dufouil et al, 2001). Anche per quanto riguarda il diabete mellito è stata riportata un'associazione con la presenza di alterazioni della sostanza bianca cerebrale, nonostante esistano dati contrastanti, probabilmente da attribuire alla diversa numerosità dei campioni nei vari studi (Schmidt et al, 1992; Fazekas et al, 1988; Bogousslavsky et al, 1987; van Swieten et al, 1991).

Per quanto riguarda la CADASIL, invece, i dati disponibili sono molto più frammentari. Negli ultimi anni sono emerse alcune evidenze a favore del ruolo dei fattori di rischio vascolare nel modulare il fenotipo della malattia (Shingal et al, 2004, Adib-Samii et al, 2010). In particolare Adib-Samii e collaboratori hanno dimostrato su un campione di 200 pazienti affetti appartenenti a 124 famiglie di età media 47 anni, come l'ipertensione (OR 2.57 - intervallo di confidenza 1.29-5.14) e il fumo di sigaretta (OR 1.07 – intervallo di confidenza 1.03-1.11) comportino un aumentato rischio di ictus (Adib-Samii et al, 2010). Questo è stato il primo studio a riportare un tale risultato. I risultati del nostro studio hanno evidenziato come la disabilità, valutata con la scala IADL e il punteggio alla scala funzionale DAD, siano influenzati dalla presenza di ipertensione arteriosa, confermando il dato di una maggior compromissione funzionale nei soggetti con tale comorbilità. È pertanto ipotizzabile come la presenza di alcuni fattori di

rischio vascolare possa modulare il fenotipo in questi pazienti affetti da una malattia a patogenesi genetica.

3.2 Profilo neuropsicologico

Il nostro studio conferma che il profilo neuropsicologico è simile fra i pazienti affetti da CADASIL, malattia geneticamente determinata, e i pazienti con leucoencefalopatia età-correlata, forma sporadica di microangiopatia cerebrale. Questi risultati confermano quindi che la CADASIL, le cui manifestazioni cliniche e neuroradiologiche avvengono in epoca precoce rispetto a quella associate alla forma sporadica, quando ancora non entrano in gioco altri meccanismi quali la degenerazione neuronale, possa essere considerata un modello puro di studio del deterioramento cognitivo su base vascolare di tipo sottocorticale [Charlton et al, 2006].

Un aspetto interessante è il riscontro di una possibile influenza delle alterazioni nel dominio cognitivo “memoria” sulle performance funzionali (Scala DAD) nei soggetti affetti da CADASIL. I dati presenti in letteratura a questo riguardo sono ancora piuttosto limitati, tuttavia il nostro risultato sembra confermare alcune evidenze a favore di un’alterazione della memoria, a fianco di deficit delle funzioni esecutive nei soggetti con CADASIL, in particolare nelle fasi precoci, prima del primo ictus (Amberla et al., 2004). Due studi in particolare hanno valutato il deficit mnesico in questa malattia. Nel 2006 è stato pubblicato il lavoro di Buffon e collaboratori che ha evidenziato in un gruppo di 42 soggetti con CADASIL una conservazione della memoria semantica e della capacità di riconoscimento a fronte di un importante deficit mnesico evidenziato sia nella prova di rievocazione immediata che differita; tale profilo non si modificava in relazione all’età dei pazienti. Inoltre il disturbo mnesico si differenziava da quello dei pazienti colpiti da Malattia di Alzheimer (Buffon et al, 2006). Più recentemente Epalbaum e collaboratori, studiando specificamente il disturbo di memoria nei pazienti affetti da CADASIL, hanno distinto due tipologie di deficit: a) sindrome amnesica di tipo ippocampale, definita come ridotto richiamo libero e ritardato con scarso o nessun miglioramento dopo suggerimento; b) deficit

mnesico di tipo frontale sottocorticale, definito come ridotto richiamo libero associato a normale richiamo totale in seguito a suggerimento. Dei 40 pazienti CADASIL con disturbo di memoria studiati il 18% aveva il disturbo di tipo ippocampale e il 45% quello di tipo frontale-sottocorticale (Epalbaum et al 2010). Questi dati si possono spiegare con la presenza nella CADASIL, accanto ad un danno sottocorticale preponderante, di un danno corticale che partecipa al delinearsi dei disturbi cognitivi. Alterazioni corticali sono state dimostrate con studi di neuroimaging avanzato e studi patologici con riscontro anche di apoptosi neuronale quale possibile causa di atrofia (Viswanathan et al, 2006; Jouvent et al, 2008; Formichi et al 2009; Battisti et al, 2009).

Nei soggetti con leucoencefalopatia età-correlata, invece, lo studio MILES ha rilevato una relazione tra la disabilità e le funzioni esecutive, confermando l'imponente quantità di dati di presenti in letteratura che evidenziano un'alterazione delle funzioni esecutive mediata dal coinvolgimento da parte della leucoaraiosi dei circuiti frontali sottocorticali (Schmidt et al 1993; Ylikoski R et al, 1993; O'Sullivan et al 2004; Prins et al, 2005; van der Heuvel et al, 2006, van Dijk et al, 2008).

4. Conclusioni

Il MILES è il primo studio osservazionale, multicentrico, ad aver valutato in maniera estensiva e standardizzata le caratteristiche cliniche, funzionali, neuropsicologiche, radiologiche e sonologiche di due gruppi di pazienti con forme eziopatogeneticamente diverse di microangiopatia vascolare, sporadica e geneticamente determinata, allo scopo di individuare i possibili fattori modulanti il fenotipo clinico di questi pazienti e di fornire una descrizione del profilo neuropsicologico.

In primo luogo, il ruolo dell'ipertensione arteriosa nei soggetti con CADASIL nel modulare il fenotipo (disabilità), emerso anche da studi di recente pubblicazione, sembra indicare come una precoce ed intensiva correzione di questo fattore di rischio possa rappresentare un obiettivo di primaria importanza nella prevenzione della disabilità.

Per quanto riguarda il profilo neuropsicologico, è emerso un ulteriore dato interessante. Diversamente dalla forma sporadica dove l'influenza delle funzioni esecutive sulla disabilità funzionale, risultato dall'analisi dei nostri dati, rappresenta un dato atteso, nella CADASIL la disabilità sembra essere influenzata dalle alterazioni nel dominio della memoria. Questo appare in parte in linea con i risultati di studi recenti. Tali risultati sembrano in grado di fornire un contributo per indagare la relazione esistente tra il fenotipo neuropsicologico e il pattern delle alterazioni della sostanza bianca rilevabili in questi pazienti, contribuendo ad approfondire un ambito in cui la correlazione patogenetica non è ancora del tutto nota.

Infine, i risultati ancora in corso di analisi per quanto riguarda i vari biomarker umorali (risultati su un sottogruppo di pazienti affetti da CADASIL recentemente pubblicati hanno mostrato alterazioni indicative di disfunzione endoteliale in questa malattia; Pescini et al 2010), le alterazioni emodinamiche e neuroradiologiche sono potenzialmente capaci di fornire informazioni di rilevante importanza per una più precisa definizione e comprensione di queste forme di leucoencefalopatia vascolare.

BIBLIOGRAFIA

Adib-Samii P, Brice G, Martin RJ, Markus HS. Clinical spectrum of CADASIL and the effect of cardiovascular risk factors on phenotype: study in 200 consecutively recruited individuals. *Stroke* 2010;41:630-634.

Aharon-Peretz J, Cummings JL, Hill MA. Vascular dementia and dementia of the Alzheimer type. Cognition, ventricular size, and leuko-araiosis. *Arch Neurol* 1988;45:719-721.

Alexander NB. Gait disorders in older adults. *J Am Geriatr Soc* 1996;44:434-451.

Alexopoulos GS, Meyers BS, Young RC, Campbell S, Silbersweig D, Charlson M. 'Vascular depression' hypothesis. *Arch Gen Psychiatry* 1997;54:915-922.

Alexopoulos GS. The vascular depression hypothesis: 10 years later. *Biol Psychiatry* 2006;60:1304-1305.

Amberla K, Wäljas M, Tuominen S, Almkvist O, Pöyhönen M, Tuisku S, Kalimo H, Viitanen M. Insidious cognitive decline in CADASIL. *Stroke* 2004;35:1598-1602.

Artavanis-Tsakonas S, Matsuno K, Fortini ME. Notch signaling. *Science* 1995;268:225-232.

Awad IA, Spetzler RF, Hodak JA, Awad CA, Carey R. Incidental subcortical lesions identified on magnetic resonance imaging in the elderly. I. Correlation with age and cerebrovascular risk factors. *Stroke* 1986;17:1084-1089.

Baezner H, Blahak C, Poggesi A, Pantoni L, Inzitari D, Chabriat H, Erkinjuntti T, Fazekas F, Ferro JM, Langhorne P, O'Brien J, Scheltens P, Visser MC, Wahlund LO, Waldemar G, Wallin A, Hennerici MG; LADIS Study Group. Association of gait and balance disorders with age-related white matter changes: the LADIS study. *Neurology* 2008;70:935-942.

Baloh RW, Yue Q, Socotch TM, Jacobson KM. White matter lesions and disequilibrium in older people. I. Case-control comparison. *Arch Neurol* 1995;52:970-974.

Baloh RW, Ying SH, Jacobson KM. A longitudinal study of gait and balance dysfunction in normal older people. *Arch Neurol* 2003;60 :835-839.

Battisti C, Formichi P, Radi E, Malandrini A, Federico A. Evaluation of brain apoptosis in a CADASIL postmortem case. *Clin Neuropathol* 2009;28:358-361.

Baudrimont M, Dubas F, Joutel A, Tournier-Lasserre E, Bousser MG. Autosomal dominant leukoencephalopathy and subcortical ischemic stroke. A clinicopathological study. *Stroke* 1993;24:122-125.

Benisty S, Gouw AA, Porcher R, Madureira S, Hernandez K, Poggesi A, van der Flier WM, Van Straaten EC, Verdelho A, Ferro J, Pantoni L, Inzitari D, Barkhof F, Fazekas F, Chabriat H; LADIS Study group. Location of lacunar infarcts correlates with cognition in a sample of non-disabled subjects with age-related white-matter changes: the LADIS study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2009;80:478-483.

Binswanger O. Die Abgrenzung der allgemeinen progressiven Paralyse. *Berl Klin Wochenschr* 1894;31:1102-1105,1137-1139,1180-1186.

Blennow K, Wallin A, Uhlemann C, Gottfries CG. White-matter lesions on CT in Alzheimer patients: relation to clinical symptomatology and vascular factors. *Acta Neurol Scand* 1991;83:187-193.

Bloem BR, Steijns JA, Smits-Engelsman BC. An update on falls. *Curr Opin Neurol* 2003;16:15-26.

Blok BF, Sturms LM, Holstege G. 1998. Brain activation during micturition in women. *Brain* 1998;121:2033–2042.

Bogousslavsky J, Regli F, Uske A. Leukoencephalopathy in patients with ischemic stroke. *Stroke* 1987;18:896-899.

Boone KB, Miller BL, Lesser IM, Mehringer M, Hill-Gutierrez E, Goldberg MA, et al. Neuropsychological correlates of white-matter lesions in healthy elderly subjects. A threshold effect. *Arch Neurol* 1992;49:549–554.

Bracco L, Campani D, Baratti E, Lippi A, Inzitari D, Pracucci G, Amaducci L. Relation between MRI features and dementia in cerebrovascular disease patients with leukoaraiosis: a longitudinal study. *J Neurol Sci* 1993;120:131-136.

Breteler MM, van Swieten JC, Bots ML, Grobbee DE, Claus JJ, van den Hout JH, van Harskamp F, Tanghe HL, de Jong PT, van Gijn J, et al. Cerebral white matter lesions, vascular risk factors, and cognitive function in a population-based study: the Rotterdam Study. *Neurology* 1994;44:1246-1252.

Brittain KR, Peet SM, Castleden CM. Stroke and incontinence. *Stroke* 1998;29:524-528.

Buffon F, Porcher R, Hernandez K, Kurtz A, Pointeau S, Vahedi K, Bousser MG, Chabriat H. Cognitive profile in CADASIL. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2006;77:175-180.

Chabriat H, Vahedi K, Iba-Zizen MT, Joutel A, Nibbio A, Nagy TG, Krebs MO, Julien J, Dubois B, Ducrocq X, Levasseur M, Homeyer P, Mas JL, Lyon-Caen O, Tournier-Lasserre E, Bousser MG. Clinical spectrum of CADASIL: a study of 7 families. Cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy. *Lancet* 1995;346:934-939.

Chabriat H, Levy C, Taillia H, Iba-Zizen MT, Vahedi K, Joutel A, Tournier-Lasserre E, Bousser MG. Patterns of MRI lesions in CADASIL. *Neurology* 1998;51:452-457.

Charletta D, Gorelick PB, Dollear TJ, Freels S, Harris Y. CT and MRI findings among African-Americans with Alzheimer's disease, vascular dementia, and stroke without dementia. *Neurology* 1995;45:1456-1461.

Charlton RA, Morris RG, Nitkunan A, Markus HS. The cognitive profiles of CADASIL and sporadic small vessel disease. *Neurology* 2006;66:1523-1526.

Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL Jr, Jones DW, Materson BJ, Oparil S, Wright JT Jr, Roccella EJ; National Heart, Lung, and Blood Institute Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure; National High Blood Pressure Education Program Coordinating Committee. The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: the JNC 7 report. *JAMA* 2003;289:2560-2572.

Choi JC, Kang SY, Kang JH, Park JK. Intracerebral hemorrhages in CADASIL. *Neurology* 2006;67:2042-2044.

Coffey CE, Wilkinson WE, Weiner RD, Parashos IA, Djang WT, Webb MC, Figiel GS, Spritzer CE. Quantitative cerebral anatomy in depression. A controlled magnetic resonance imaging study. *Arch Gen Psychiatry* 1993;50:7-16.

Curnes JT, Burger PC, Djang WT, Boyko OB. MR imaging of compact white matter pathways. *AJNR Am J Neuroradiol* 1988;9:1061-1068.

Das RR, Seshadri S, Beiser AS, Kelly-Hayes M, Au R, Himali JJ, Kase CS, Benjamin EJ, Polak JF, O'Donnell CJ, Yoshita M, D'Agostino RB Sr, DeCarli C, Wolf PA. Prevalence and correlates of silent cerebral infarcts in the Framingham offspring study. *Stroke* 2008;39:2929-2935.

Davous P. CADASIL: a review with proposed diagnostic criteria. *Eur J Neurol* 1998;5:219-233.

Davous P, Fallet-Bianco C. Démence sous corticale familiale avec leucoencéphalopathie artériopathique: observation clinico-pathologique. *Rev Neurol (Paris)* 1991;147:376-384.

DeBette S, Markus HS. The clinical importance of white matter hyperintensities on brain magnetic resonance imaging: systematic review and meta-analysis. *BMJ* 2010;341:c3666.

DeCarli C, Grady CL, Clark CM, Katz DA, Brady DR, Murphy DG, Haxby JV, Salerno JA, Gillette JA, Gonzalez-Aviles A, Rapoport SI. Comparison of positron emission tomography, cognition, and brain volume in Alzheimer's disease with and without severe abnormalities of white matter. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1996;60:158-167.

Della Nave R, Foresti S, Pratesi A, Ginestroni A, Inzitari M, Salvadori E, Giannelli M, Diciotti S, Inzitari D, Mascalchi M. Whole-brain histogram and voxel-based analyses of diffusion tensor imaging in patients with leukoaraiosis: correlation with motor and cognitive impairment. *AJNR Am J Neuroradiol* 2007;28:1313-319.

Desmond DW, Moroney JT, Lynch T, Chan S, Chin SS, Mohr JP. The natural history of CADASIL: a pooled analysis of previously published cases. *Stroke* 1999;30:1230-1233.

Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fourth Edition. Washington DC, American Psychiatry Association 1994, p. 317.

Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fourth Edition. Washington DC, American Psychiatry Association 1994, p. 393.

Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fourth Edition. Washington DC, American Psychiatry Association 1994, p. 273.

Dichgans M, Mayer M, Uttner I, Brüning R, Müller-Höcker J, Rungger G, Ebke M, Klockgether T, Gasser T. The phenotypic spectrum of CADASIL: clinical findings in 102 cases. *Ann Neurol* 1998;44:731-739.

Dichgans M, Holtmannspötter M, Herzog J, Peters N, Bergmann M, Yousry TA. Cerebral microbleeds in CADASIL: a gradient-echo magnetic resonance imaging and autopsy study. *Stroke* 2002;33:67-71.

van Dijk EJ, Prins ND, Vrooman HA, Hofman A, Koudstaal PJ, Breteler MM. Progression of cerebral small vessel disease in relation to risk factors and cognitive consequences: Rotterdam Scan study. *Stroke* 2008;39:2712-2719.

Dotti MT, Federico A, Mazzei R, Bianchi S, Scali O, Conforti FL, Sprovieri T, Guidetti D, Aguglia U, Consoli D, Pantoni L, Sarti C, Inzitari D, Quattrone A. The spectrum of Notch3 mutations in 28 Italian CADASIL families. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2005;76:736-738.

Dufouil C, de Kersaint-Gilly A, Besançon V, Levy C, Auffray E, Brunnereau L, Alperovitch A, Tzourio C. Longitudinal study of blood pressure and white matter hyperintensities: the EVA MRI Cohort. *Neurology* 2001;56:921-926.

Epelbaum S, Benisty S, Reyes S, O'Sullivan M, Jouvent E, Düring M, Hervé D, Opherck C, Hernandez K, Kurtz A, Viswanathan A, Bousser MG, Dichgans M, Chabriat H. Verbal memory impairment in subcortical ischemic vascular disease A descriptive analysis in CADASIL. *Neurobiol Aging* 2010 Feb 9. [Epub ahead of print].

Erkinjuntti T, Ketonen L, Sulkava R, Sipponen J, Vuorialho M, Iivanainen M. Do white matter changes on MRI and CT differentiate vascular dementia from Alzheimer's disease? *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1987;50:37-42.

Estes ML, Chimowitz MI, Awad IA, McMahon JT, Furlan AJ, Ratliff NB. Sclerosing vasculopathy of the central nervous system in nonelderly demented patients. *Arch Neurol* 1991;48:631-636.

Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2003;26:5-20.

Fazekas F, Chawluk JB, Alavi A, Hurtig HI, Zimmerman RA. MR signal abnormalities at 1.5 T in Alzheimer's dementia and normal aging. *AJR Am J Roentgenol* 1987;149:351-356.

Farrall AJ, Wardlaw JM. Blood-brain barrier: ageing and microvascular disease--systematic review and meta-analysis. *Neurobiol Aging* 2009;30:337-352.

Fazekas F, Chawluk JB, Alavi A, et al. MR signal abnormalities at 1,5 T in Alzheimer's dementia and normal aging. *Am J Neuroradiol* 1987;8:421-426.

Fazekas F, Niederkorn K, Schmidt R, Offenbacher H, Horner S, Bertha G, Lechner H. White matter signal abnormalities in normal individuals: correlation with carotid ultrasonography, cerebral blood flow measurements, and cerebrovascular risk factors. *Stroke* 1988;19:1285-1288.

Fazekas F, Kleinert R, Offenbacher H, Schmidt R, Kleinert G, Payer F, Radner H, Lechner H. Pathologic correlates of incidental MRI white matter signal hyperintensities. *Neurology* 1993;43:1683-1689.

Fein G, van Dyke C, Davenport L, Turetsky B, Brant-Zawadzki M, Zatz L, et al. Preservation of normal cognitive functioning in elderly subjects with extensive white-matter lesions of long duration. *Arch Gen Psychiatry* 1990;47:220–223.

Ferro JM, Madureira S. Age-related white matter changes and cognitive impairment. *J Neurol Sci.* 2002;204:221-225.

van der Flier WM, van Straaten EC, Barkhof F, Verdelho A, Madureira S, Pantoni L, Inzitari D, Erkinjuntti T, Crisby M, Waldemar G, Schmidt R, Fazekas F, Scheltens P. Small vessel disease and general cognitive function in nondisabled elderly: the LADIS study. *Stroke* 2005;36:2116-2120.

Fowler CJ. Neurological disorders of micturition and their treatment. *Brain* 1999;122:1213-1231.

Formichi P, Radi E, Battisti C, Di Maio G, Tarquini E, Leonini A, Di Stefano A, Dotti MT, Federico A. Apoptosis in CADASIL: an in vitro study of lymphocytes and fibroblasts from a cohort of Italian patients. *J Cell Physiol* 2009;219:494-502.

Furuta A, Ishii N, Nishihara Y, Horie A. Medullary arteries in aging and dementia. *Stroke* 1991;22:442-446.

Garde E, Lykke Mortensen E, Rostrup E, Paulson OB. Decline in intelligence is associated with progression in white matter hyperintensity volume. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2005;76:1289-1291.

George AE, de Leon MJ, Kalnin A, Rosner L, Goodgold A, Chase N. Leukoencephalopathy in normal and pathologic aging: 2. MRI of brain lucencies. *AJNR Am J Neuroradiol* 1986;7:567-570.

Gerard G, Weisberg LA. MRI periventricular lesions in adults. *Neurology* 1986;36:998-1001.

Greenwald BS, Kramer-Ginsberg E, Krishnan RR, Ashtari M, Aupperle PM, Patel M. MRI signal hyperintensities in geriatric depression. *Am J Psychiatry* 1996;153:1212-1215.

Gouw AA, van der Flier WM, van Straaten EC, Pantoni L, Bastos-Leite AJ, Inzitari D, Erkinjuntti T, Wahlund LO, Ryberg C, Schmidt R, Fazekas F, Scheltens P, Barkhof F; LADIS study group. Reliability and sensitivity of visual scales versus volumetry for evaluating white matter hyperintensity progression. *Cerebrovasc Dis* 2008;25:247-253.

Greenberg SM, Vernooij MW, Cordonnier C, Viswanathan A, Al-Shahi Salman R, Warach S, Launer LJ, Van Buchem MA, Breteler MM; Microbleed Study

Group. Cerebral microbleeds: a guide to detection and interpretation. *Lancet Neurol* 2009;8:165-174.

Griffiths DJ, McCracken PN, Harrison GM, Gormley EA, Moore K, Hooper R, McEwan AJ, Triscott J. Cerebral aetiology of urinary urge incontinence in elderly people. *Age Ageing* 1994A;23:246-250.

Griffiths DJ, McCracken PN, Harrison GM, Moore KN. Urinary incontinence in the elderly: the brain factor. *Scand J Urol Nephrol Suppl* 1994B;157:83-88.

de Groot JC, de Leeuw FE, Oudkerk M, van Gijn J, Hofman A, Jolles J, Breteler MM. Cerebral white matter lesions and cognitive function: the Rotterdam Scan Study. *Ann Neurol* 2000;47:145-151.

Guralnik JM, Simonsick EM, Ferrucci L, Glynn RJ, Berkman LF, Blazer DG, Scherr PA, Wallace RB. A short physical performance battery assessing lower extremity function: association with self-reported disability and prediction of mortality and nursing home admission. *J Gerontol* 1994;49:M85-94.

Hachinski VC, Potter P, Merskey H Leuko-araiosis. *Arch Neurol* 1987;44:21-23.

Headache Classification Committee. The International Classification of Headache Disorders, 2nd Edition. *Cephalalgia* 2004; 24:1-160.

Harrell LE, Duvall E, Folks DG, Duke L, Bartolucci A, Conboy T, Callaway R, Kerns D. The relationship of high-intensity signals on magnetic resonance images to cognitive and psychiatric state in Alzheimer's disease. *Arch Neurol* 1991;48:1136-1140.

Herholz K, Heindel W, Rackl A, Neubauer I, Steinbrich W, Pietrzyk U, Erasmi-Körper H, Heiss WD. Regional cerebral blood flow in patients with leuko-araiosis and atherosclerotic carotid artery disease. *Arch Neurol* 1990;47:392-396.

Herrmann LL, Le Masurier M, Ebmeier KP. White matter hyperintensities in late life depression: a systematic review. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2008;79:619-624.

van den Heuvel DM, ten Dam VH, de Craen AJ, Admiraal-Behloul F, Olofsen H, Bollen EL, Jolles J, Murray HM, Blauw GJ, Westendorp RG, van Buchem MA. Increase in periventricular white matter hyperintensities parallels decline in mental processing speed in a non-demented elderly population. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2006B;77:149-153.

van den Heuvel DM, ten Dam VH, de Craen AJ, Admiraal-Behloul F, van Es AC, Palm WM, Spilt A, Bollen EL, Blauw GJ, Launer L, Westendorp RG, van Buchem MA; PROSPER Study Group. Measuring longitudinal white matter

changes: comparison of a visual rating scale with a volumetric measurement. *AJNR Am J Neuroradiol* 2006B;27:875-878.

Holtmannspötter M, Peters N, Opherk C, Martin D, Herzog J, Brückmann H, Sämann P, Gschwendtner A, Dichgans M. Diffusion magnetic resonance histograms as a surrogate marker and predictor of disease progression in CADASIL: a two-year follow-up study. *Stroke* 2005;36:2559-2565.

Hunt AL, Orrison WW, Yeo RA, Haaland KY, Rhyne RL, Garry PJ, Rosenberg GA. Clinical significance of MRI white matter lesions in the elderly. *Neurology* 1989;39:1470-1474.

Imaoka K, Kobayashi S, Fujihara S, Shimode K, Nagasaki M. Leukoencephalopathy with cerebral amyloid angiopathy: a semiquantitative and morphometric study. *J Neurol* 1999;246:661-666.

Inzitari D, Diaz F, Fox A, Hachinski VC, Steingart A, Lau C, Donald A, Wade J, Mulic H, Merskey H. Vascular risk factors and leuko-araiosis. *Arch Neurol* 1987;44:42-47.

Inzitari D, Simoni M, Pracucci G, Poggesi A, Basile AM, Chabriat H, Erkinjuntti T, Fazekas F, Ferro JM, Hennerici M, Langhorne P, O'Brien J, Barkhof F, Visser MC, Wahlund LO, Waldemar G, Wallin A, Pantoni L; LADIS Study Group. Risk of rapid global functional decline in elderly patients with severe cerebral age-related white matter changes: the LADIS study. *Arch Intern Med* 2007;167:81-88.

Inzitari D, Pracucci G, Poggesi A, Carlucci G, Barkhof F, Chabriat H, Erkinjuntti T, Fazekas F, Ferro JM, Hennerici M, Langhorne P, O'Brien J, Scheltens P, Visser MC, Wahlund LO, Waldemar G, Wallin A, Pantoni L; LADIS Study Group. Changes in white matter as determinant of global functional decline in older independent outpatients: three year follow-up of LADIS (leukoaraiosis and disability) study cohort. *BMJ* 2009;339:b2477.

Ishiko A, Shimizu A, Nagata E, Takahashi K, Tabira T, Suzuki N. Notch3 ectodomain is a major component of granular osmiophilic material (GOM) in CADASIL. *Acta Neuropathol* 2006;112:333-339.

Jokinen H, Kalska H, Ylikoski R, Madureira S, Verdelho A, van der Flier WM, Scheltens P, Barkhof F, Visser MC, Fazekas F, Schmidt R, O'Brien J, Waldemar G, Wallin A, Chabriat H, Pantoni L, Inzitari D, Erkinjuntti T; LADIS group. Longitudinal cognitive decline in subcortical ischemic vascular disease—the LADIS Study. *Cerebrovasc Dis* 2009;27:384-391.

Joutel A, Corpechot C, Ducros A, Vahedi K, Chabriat H, Mouton P, Alamowitch S, Domenga V, Cécillion M, Marechal E, Maciazek J, Vayssiere C, Cruaud C, Cabanis EA, Ruchoux MM, Weissenbach J, Bach JF, Boussier MG, Tournier-

Lasserve E. Notch3 mutations in CADASIL, a hereditary adult-onset condition causing stroke and dementia. *Nature* 1996;383:707-710.

Joutel A, Vahedi K, Corpechot C, Troesch A, Chabriat H, Vayssière C, Cruaud C, Maciasek J, Weissenbach J, Bousser MG, Bach JF, Tournier-Lasserve E. Strong clustering and stereotyped nature of Notch3 mutations in CADASIL patients. *Lancet* 1997;350:1511-1515.

Joutel A, Dodick DD, Parisi JE, Cecillon M, Tournier-Lasserve E, Bousser MG. De novo mutation in the Notch3 gene causing CADASIL. *Ann Neurol* 2000;47:388-391.

Joutel A, Favrole P, Labauge P, Chabriat H, Lescoat C, Andreux F, Domenga V, Cécillon M, Vahedi K, Ducros A, Cave-Riant F, Bousser MG, Tournier-Lasserve E. Skin biopsy immunostaining with a Notch3 monoclonal antibody for CADASIL diagnosis. *Lancet* 2001;358:2049-2051.

Jouvent E, Mangin JF, Porcher R, Viswanathan A, O'Sullivan M, Guichard JP, Dichgans M, Bousser MG, Chabriat H. Cortical changes in cerebral small vessel diseases: a 3D MRI study of cortical morphology in CADASIL. *Brain* 2008;131:2201-2208.

Kalimo H, Ruchoux MM, Viitanen M, Kalaria RN. CADASIL: a common form of hereditary arteriopathy causing brain infarcts and dementia. *Brain Pathol* 2002;12:371-384.

Kapeller P, Barber R, Vermeulen RJ, Adèr H, Scheltens P, Freidl W, Almkvist O, Moretti M, del Ser T, Vaghfeldt P, Enzinger C, Barkhof F, Inzitari D, Erkinjuntti T, Schmidt R, Fazekas F; European Task Force of Age Related White Matter Changes. Visual rating of age-related white matter changes on magnetic resonance imaging: scale comparison, interrater agreement, and correlations with quantitative measurements. *Stroke* 2003;34:441-445.

Kalimo H, Ruchoux MM, Viitanen M, Kalaria RN. CADASIL: a common form of hereditary arteriopathy causing brain infarcts and dementia. *Brain Pathol* 2002;12:371-384.

Kavia RB, Dasgupta R, Fowler CJ. Functional imaging and the central control of the bladder. *J Comp Neurol* 2005;493::27-32.

Kertesz A, Black SE, Tokar G, Benke T, Carr T, Nicholson L. Periventricular and subcortical hyperintensities on magnetic resonance imaging. 'Rims, caps, and unidentified bright objects'. *Arch Neurol* 1988;45:404-408.

Kobari M, Meyer JS, Ichijo M, Oravez WT. Leukoaraiosis: correlation of MR and CT findings with blood flow, atrophy, and cognition. *AJNR Am J Neuroradiol* 1990;11:273-281.

Koennecke HC. Cerebral microbleeds on MRI: prevalence, associations, and potential clinical implications. *Neurology* 2006;66:165-171.

Krishnan KR, Taylor WD, McQuoid DR, MacFall JR, Payne ME, Provenzale JM, Steffens DC. Clinical characteristics of magnetic resonance imaging-defined subcortical ischemic depression. *Biol Psychiatry* 2004;55:390-397.

Launer LJ. Epidemiology of white matter lesions. *Top Magn Reson Imaging* 2004;15:365-367.

de Leeuw FE, de Groot JC, Achten E, Oudkerk M, Ramos LM, Heijboer R, Hofman A, Jolles J, van Gijn J, Breteler MM. Prevalence of cerebral white matter lesions in elderly people: a population based magnetic resonance imaging study. The Rotterdam Scan Study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2001;70:9-14.

Lenze E, Cross D, McKeel D, Neuman RJ, Sheline YI. White matter hyperintensities and gray matter lesions in physically healthy depressed subjects. *Am J Psychiatry* 1999;156:1602-1607.

Lesnik Oberstein SA, van den Boom R, van Buchem MA, van Houwelingen HC, Bakker E, Vollebregt E, Ferrari MD, Breuning MH, Haan J; Dutch CADASIL Research Group. Cerebral microbleeds in CADASIL. *Neurology* 2001;57:1066-1070.

Liao D, Cooper L, Cai J, Toole JF, Bryan NR, Hutchinson RG, Tyroler HA. Presence and severity of cerebral white matter lesions and hypertension, its treatment, and its control. The ARIC Study. *Atherosclerosis Risk in Communities Study. Stroke* 1996;27:2262-2270.

Longstreth WT Jr, Manolio TA, Arnold A, Burke GL, Bryan N, Jungreis CA, Enright PL, O'Leary D, Fried L. Clinical correlates of white matter findings on cranial magnetic resonance imaging of 3301 elderly people. The Cardiovascular Health Study. *Stroke* 1996;27:1274-1282.

Longstreth WT Jr, Diehr P, Manolio TA, Beauchamp NJ, Jungreis CA, Lefkowitz D; Cardiovascular Health Study Collaborative Research Group. Cluster analysis and patterns of findings on cranial magnetic resonance imaging of the elderly: the Cardiovascular Health Study. *Arch Neurol* 2001;58:635-640.

Longstreth WT Jr, Arnold AM, Beauchamp NJ Jr, Manolio TA, Lefkowitz D, Jungreis C, Hirsch CH, O'Leary DH, Furberg CD. Incidence, manifestations, and

predictors of worsening white matter on serial cranial magnetic resonance imaging in the elderly: the Cardiovascular Health Study. *Stroke* 2005;36:56-61.

Lopez OL, Becker JT, Jungreis CA, Rezek D, Estol C, Boller F, DeKosky ST. Computed tomography--but not magnetic resonance imaging- identified periventricular white-matter lesions predict symptomatic cerebrovascular disease in probable Alzheimer's disease. *Arch Neurol* 1995;52:659-664.

Madureira S, Verdelho A, Moleiro C, Ferro JM, Erkinjuntti T, Jokinen H, Pantoni L, Fazekas F, Van der Flier W, Visser M, Waldemar G, Wallin A, Hennerici M, Inzitari D. Neuropsychological predictors of dementia in a three-year follow-up period: data from the LADIS study. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2010;29:325-334.

Manolio TA, Kronmal RA, Burke GL, Poirier V, O'Leary DH, Gardin JM, Fried LP, Steinberg EP, Bryan RN. Magnetic resonance abnormalities and cardiovascular disease in older adults. The Cardiovascular Health Study. *Stroke* 1994;25:318-327.

Mäntylä R, Erkinjuntti T, Salonen O, Aronen HJ, Peltonen T, Pohjasvaara T, Standertskjöld-Nordenstam CG. Variable agreement between visual rating scales for white matter hyperintensities on MRI. Comparison of 13 rating scales in a poststroke cohort. *Stroke* 1997;28:1614-1623.

Markus HS, Martin RJ, Simpson MA, Dong YB, Ali N, Crosby AH, Powell JF. Diagnostic strategies in CADASIL. *Neurology* 2002;59:1134-1138.

Miyao S, Takano A, Teramoto J, Takahashi A. Leukoaraiosis in relation to prognosis for patients with lacunar infarction. *Stroke* 1992;23:1434-1438.

National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation* 2002;106:3143-3421.

Nencini P, Sarti C, Innocenti R, Pracucci G, Inzitari D. Acute inflammatory events and ischemic stroke subtypes. *Cerebrovasc Dis* 2003;15:215-221.

Nutt JG, Marsden CD, Thompson PD. Human walking and higher-level gait disorders, particularly in the elderly. *Neurology* 1993;43:268-279.

O'Brien J, Desmond P, Ames D, Schweitzer I, Harrigan S, Tress B. A magnetic resonance imaging study of white matter lesions in depression and Alzheimer's

disease. *Br J Psychiatry* 1996;168:477-485. Erratum in: *Br J Psychiatry* 1996;168:792.

Opherk C, Peters N, Herzog J, Luedtke R, Dichgans M. Long-term prognosis and causes of death in CADASIL: a retrospective study in 411 patients. *Brain* 2004;127:2533-2539.

O'Sullivan M, Jarosz JM, Martin RJ, Deasy N, Powell JF, Markus HS. MRI hyperintensities of the temporal lobe and external capsule in patients with CADASIL. *Neurology* 2001A;56:628-634.

O'Sullivan M, Summers PE, Jones DK, Jarosz JM, Williams SC, Markus HS. Normal-appearing white matter in ischemic leukoariosis: a diffusion tensor MRI study. *Neurology*. 2001B;57:2307-2310.

O'Sullivan M, Morris RG, Huckstep B, Jones DK, Williams SC, Markus HS. Diffusion tensor MRI correlates with executive dysfunction in patients with ischaemic leukoariosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2004;75:441-447.

O'Sullivan M. Leukoariosis. *Pract Neurol* 2008;8:26-38.

Pantoni L, Garcia JH. The significance of cerebral white matter abnormalities 100 years after Binswanger's report. A review. *Stroke* 1995;26:1293-1301.

Pantoni L. Pathophysiology of age-related cerebral white matter changes. *Cerebrovasc Dis* 2002;13 Suppl 2:7-10.

Pantoni L, Poggesi A, Basile AM, Pracucci G, Barkhof F, Chabriat H, Erkinjuntti T, Ferro JM, Hennerici M, O'Brien J, Schmidt R, Visser MC, Wahlund LO, Waldemar G, Wallin A, Inzitari D; LADIS Study Group. Leukoariosis predicts hidden global functioning impairment in nondisabled older people: the LADIS (Leukoariosis and Disability in the Elderly) Study. *J Am Geriatr Soc* 2006;54:1095-1101.

Pantoni L, Sarti C, Alafuzoff I, Jellinger K, Munoz DG, Ogata J, Palumbo V. Postmortem examination of vascular lesions in cognitive impairment: a survey among neuropathological services. *Stroke* 2006B;37:1005-1009.

Pantoni L, Poggesi A, Inzitari D. The relation between white-matter lesions and cognition. *Curr Opin Neurol* 2007;20:390-397.

Pantoni L. Leukoariosis: from an ancient term to an actual marker of poor prognosis. *Stroke* 2008;39:1401-1403.

Pantoni L. Cerebral small vessel disease: from pathogenesis and clinical characteristics to therapeutic challenges. *Lancet Neurol* 2010;9:689-701.

- Pantoni L, Pescini F, Nannucci S, Sarti C, Bianchi S, Dotti MT, Federico A, Inzitari D. Comparison of clinical, familial, and MRI features of CADASIL and NOTCH3-negative patients. *Neurology* 2010;74:57-63.
- Pescini F, Bianchi S, Salvadori E, Poggesi A, Dotti MT, Federico A, Inzitari D, Pantoni L. A pathogenic mutation on exon 21 of the NOTCH3 gene causing CADASIL in an octogenarian paucisymptomatic patient. *J Neurol Sci* 2008;267:170-173.
- Pescini F, Cesari F, Giusti B, Sarti C, Zicari E, Bianchi S, Dotti MT, Federico A, Balestrino M, Enrico A, Gandolfo C, Gori AM, Abbate R, Pantoni L, Inzitari D. Bone marrow-derived progenitor cells in cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy. *Stroke* 2010;41:218-223.
- Peters N, Opherck C, Danek A, Ballard C, Herzog J, Dichgans M. The pattern of cognitive performance in CADASIL: a monogenic condition leading to subcortical ischemic vascular dementia. *Am J Psychiatry* 2005A;162:2078-2085.
- Peters N, Opherck C, Bergmann T, Castro M, Herzog J, Dichgans M. Spectrum of mutations in biopsy-proven CADASIL: implications for diagnostic strategies. *Arch Neurol* 2005B;62:1091-1094.
- Pisani P, Faggiano F, Krogh V, Palli D, Vineis P, Berrino F. Relative validity and reproducibility of a food frequency dietary questionnaire for use in the Italian EPIC centres. *Int J Epidemiol* 1997;26(Suppl. 1):S152-160.
- Poggesi A, Pracucci G, Chabriat H, Erkinjuntti T, Fazekas F, Verdelho A, Hennerici M, Langhorne P, O'Brien J, Scheltens P, Visser MC, Crisby M, Waldemar G, Wallin A, Inzitari D, Pantoni L; Leukoaraiosis And DISability Study Group. Urinary complaints in nondisabled elderly people with age-related white matter changes: the Leukoaraiosis And DISability (LADIS) Study. *J Am Geriatr Soc* 2008;56:1638-1643.
- Prins ND, van Straaten EC, van Dijk EJ, Simoni M, van Schijndel RA, Vrooman HA, Koudstaal PJ, Scheltens P, Breteler MM, Barkhof F. Measuring progression of cerebral white matter lesions on MRI: visual rating and volumetrics. *Neurology* 2004;62:1533-1539.
- Prins ND, van Dijk EJ, den Heijer T, Vermeer SE, Jolles J, Koudstaal PJ, Hofman A, Breteler MM. Cerebral small-vessel disease and decline in information processing speed, executive function and memory. *Brain* 2005;128:2034-2041.
- Pullicino P, Eskin T, Ketonen L. Prevalence of Binswanger's disease. *Lancet* 1983;1:939.

Rabins PV, Pearlson GD, Aylward E, Kumar AJ, Dowell K. Cortical magnetic resonance imaging changes in elderly inpatients with major depression. *Am J Psychiatry* 1991;148:617-620.

Rezek DL, Morris JC, Fulling KH, Gado MH. Periventricular white matter lucencies in senile dementia of the Alzheimer type and in normal aging. *Neurology* 1987;37:1365-1368.

Razvi SS, Davidson R, Bone I, Muir KW. Diagnostic strategies in CADASIL. *Neurology* 2003;60:2019-2020.

Razvi SS, Davidson R, Bone I, Muir KW. The prevalence of cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy (CADASIL) in the west of Scotland. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2005;76:739-741.

Riboli E, Kaaks R. The EPIC Project: rationale and study design. European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *Int J Epidemiol* 1997;26(Suppl. 1):S6-S14.

Román GC. Why not Binswanger's disease? *Arch Neurol* 1988;45:141-143.

Roob G, Schmidt R, Kapeller P, Lechner A, Hartung HP, Fazekas F. MRI evidence of past cerebral Microbleeds in a healthy elderly population. *Neurology* 1999;52:991-994.

Rossor MN, Tyrrell PJ, Warrington EK, Thompson PD, Marsden CD, Lantos P. Progressive frontal gait disturbance with atypical Alzheimer's disease and corticobasal degeneration. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1999;67:345-352.

Ruchoux MM, Guerouaou D, Vandehaute B, Pruvo JP, Vermersch P, Leys D. Systemic vascular smooth muscle cell impairment in cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy. *Acta Neuropathol* 1995;89:500-512.

Ruchoux MM, Maurage CA. CADASIL: Cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy. *J Neuropathol Exp Neurol* 1997;5:947-964.

Sakakibara R, Hattori T, Uchiyama T, Yamanishi T. Urinary function in elderly people with and without leukoaraiosis: relation to cognitive and gait function. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1999;67:658-660.

Samuelsson M, Söderfeldt B, Olsson GB. Functional outcome in patients with lacunar infarction. *Stroke* 1996;27:842-846.

Scheltens P, Barkhof F, Leys D, Pruvo JP, Nauta JJ, Vermersch P, Steinling M, Valk J. A semiquantitative rating scale for the assessment of signal hyperintensities on magnetic resonance imaging. *J Neurol Sci* 1993;114:7-12.

Scheltens P, Erkinjuntti T, Leys D, Wahlund LO, Inzitari D, del Ser T, Pasquier F, Barkhof F, Mäntylä R, Bowler J, Wallin A, Ghika J, Fazekas F, Pantoni L. White matter changes on CT and MRI: an overview of visual rating scales. European Task Force on Age-Related White Matter Changes. *Eur Neurol* 1998;39:80-89.

Schmidt R, Fazekas F, Kleinert G, Offenbacher H, Gindl K, Payer F, Freidl W, Niederkorn K, Lechner H. Magnetic resonance imaging signal hyperintensities in the deep and subcortical white matter. A comparative study between stroke patients and normal volunteers. *Arch Neurol* 1992;49:825-827.

Schmidt R, Fazekas F, Offenbacher H, Dusek T, Zach E, Reinhart B, Grieshofer P, Freidl W, Eber B, Schumacher M, et al. Neuropsychologic correlates of MRI white matter hyperintensities: a study of 150 normal volunteers. *Neurology* 1993;43:2490-2494.

Schmidt R, Fazekas F, Kapeller P, Schmidt H, Hartung HP. MRI white matter hyperintensities: three-year follow-up of the Austrian Stroke Prevention Study. *Neurology* 1999;53:132-139.

Schmidt R, Schmidt H, Kapeller P, Enzinger C, Ropele S, Saurugg R, Fazekas F. The natural course of MRI white matter hyperintensities. *J Neurol Sci* 2002;203-204:253-257.

Schmidt R, Ropele S, Enzinger C, Petrovic K, Smith S, Schmidt H, Matthews PM, Fazekas F. White matter lesion progression, brain atrophy, and cognitive decline: the Austrian stroke prevention study. *Ann Neurol* 2005;58:610-616.

Schmidt R, Petrovic K, Ropele S, Enzinger C, Fazekas F. Progression of leukoaraiosis and cognition. *Stroke* 2007;38:2619-2625.

Schmidt R, Ropele S, Ferro J, Madureira S, Verdelho A, Petrovic K, Gouw A, van der Flier WM, Enzinger C, Pantoni L, Inzitari D, Erkinjuntti T, Scheltens P, Wahlund LO, Waldemar G, Rostrup E, Wallin A, Barkhof F, Fazekas F; LADIS study group. Diffusion-weighted imaging and cognition in the leukoaraiosis and disability in the elderly study. *Stroke* 2010;41:e402-408.

Shenkin SD, Bastin ME, Macgillivray TJ, Deary IJ, Starr JM, Rivers CS, Wardlaw JM. Cognitive correlates of cerebral white matter lesions and water diffusion tensor parameters in community-dwelling older people. *Cerebrovasc Dis* 2005;20:310-318.

Singhal S, Bevan S, Barrick T, Rich P, Markus HS. The influence of genetic and cardiovascular risk factors on the CADASIL phenotype. *Brain* 2004;127:2031-2038.

Singhal S, Rich P, Markus HS. The spatial distribution of MR imaging abnormalities in cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy and their relationship to age and clinical features. *AJNR Am J Neuroradiol* 2005;26:2481-487.

Starr JM, Wardlaw J, Ferguson K, MacLulich A, Deary IJ, Marshall I. Increased blood-brain barrier permeability in type II diabetes demonstrated by gadolinium magnetic resonance imaging. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2003;74:70-76.

Steffens DC, Helms MJ, Krishnan KR, Burke GL. Cerebrovascular disease and depression symptoms in the cardiovascular health study. *Stroke* 1999;30:2159-2166.

Steingart A, Hachinski VC, Lau C, Fox AJ, Diaz F, Cape R, Lee D, Inzitari D, Merskey H. Cognitive and neurologic findings in subjects with diffuse white matter lucencies on computed tomographic scan (leuko-araiosis). *Arch Neurol* 1987;44:32-35.

Stolze H, Kuhtz-Buschbeck JP, Drücke H, Jöhnk K, Illert M, Deuschl G. Comparative analysis of the gait disorder of normal pressure hydrocephalus and Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2001;70:289-297.

van Straaten EC, Fazekas F, Rostrup E, Scheltens P, Schmidt R, Pantoni L, Inzitari D, Waldemar G, Erkinjuntti T, Mäntylä R, Wahlund LO, Barkhof F; LADIS Group. Impact of white matter hyperintensities scoring method on correlations with clinical data: the LADIS study. *Stroke* 2006;37:836-840.

van Swieten JC, Hijdra A, Koudstaal PJ, van Gijn J. Grading white matter lesions on CT and MRI: a simple scale. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1990;53:1080-1083.

van Swieten JC, van den Hout JH, van Ketel BA, Hijdra A, Wokke JH, van Gijn J. Periventricular lesions in the white matter on magnetic resonance imaging in the elderly. A morphometric correlation with arteriolosclerosis and dilated perivascular spaces. *Brain* 1991A;114:761-774.

van Swieten JC, Geyskes GG, Derix MM, Peeck BM, Ramos LM, van Latum JC, van Gijn J. Hypertension in the elderly is associated with white matter lesions and cognitive decline. *Ann Neurol* 1991B;30:825-830.

Tatemichi TK, Desmond DW, Prohovnik I, Cross DT, Gropen TI, Mohr JP, Stern Y. Confusion and memory loss from capsular genu infarction: a thalamocortical disconnection syndrome? *Neurology* 1992;42:1966-1979.

Tatemichi TK, Desmond DW, Prohovnik I. Strategic infarcts in vascular dementia. A clinical and brain imaging experience. *Arzneimittelforschung* 1995;45:371-385.

Taylor WD, MacFall JR, Payne ME, McQuoid DR, Steffens DC, Provenzale JM, Krishnan RR. Greater MRI lesion volumes in elderly depressed subjects than in control subjects. *Psychiatry Res* 2005;139:1-7.

Taylor WD, Steffens DC, Krishnan KR. Psychiatric disease in the twenty-first century: The case for subcortical ischemic depression. *Biol Psychiatry* 2006;60:1299-1303.

Tournier-Lasserre E, Iba-Zizen MT, Romero N, Bousser MG. Autosomal dominant syndrome with strokelike episodes and leukoencephalopathy. *Stroke* 1991;22:1297-1302.

Tournier-Lasserre E, Joutel A, Melki J, Weissenbach J, Lathrop GM, Chabriat H, Mas JL, Cabanis EA, Baudrimont M, Maciazek J, Bach MA, Bousser MG. Cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy maps to chromosome 19q12. *Nat Genet* 1993;3:256-259.

Vernooij MW, van der Lugt A, Ikram MA, Wielopolski PA, Niessen WJ, Hofman A, Krestin GP, Breteler MM. Prevalence and risk factors of cerebral microbleeds: the Rotterdam Scan Study. *Neurology* 2008;70:1208-1214.

Viswanathan A, Gray F, Bousser MG, Baudrimont M, Chabriat H. Cortical neuronal apoptosis in CADASIL. *Stroke* 2006;37:2690-2695.

Yakovlev PI Paraplegias of hydrocephalics. *Am J Ment Defic* 1947;51:561-576.

Yakushiji Y, Nishiyama M, Yakushiji S, Hirotsu T, Uchino A, Nakajima J, Eriguchi M, Nanri Y, Hara M, Horikawa E, Kuroda Y. Brain microbleeds and global cognitive function in adults without neurological disorder. *Stroke* 2008;39:3323-3328.

Yamauchi H, Fukuda H, Oyanagi C. Significance of white matter high intensity lesions as a predictor of stroke from arteriolosclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2002;72:576-582.

Yesavage JA, Brink TL, Rose TL, et al. Development and validation of a geriatric depression rating scale: a preliminary report. *J Psych Res* 1983;17:27.

Ylikoski R, Ylikoski A, Erkinjuntti T, Sulkava R, Raininko R, Tilvis R. White matter changes in healthy elderly persons correlate with attention and speed of mental processing. *Arch Neurol* 1993;50:818-824.

Vahedi K, Chabriat H, Levy C, Joutel A, Tournier-Lasserre E, Bousser MG. Migraine with aura and brain magnetic resonance imaging abnormalities in patients with CADASIL. *Arch Neurol* 2004;61:1237-1240

Valenti R, Poggesi A, Pescini F, Inzitari D, Pantoni L. Psychiatric disturbances in CADASIL: a brief review. *Acta Neurol Scand* 2008;118:291-295.

Wisniewska M, Devuyst G, Bogousslavsky J, Ghika J, van Melle G. What is the significance of leukoaraiosis in patients with acute ischemic stroke? *Arch Neurol* 2000;57:967-973.

Whitman GT, Tang Y, Lin A, Baloh RW. A prospective study of cerebral white matter abnormalities in older people with gait dysfunction. *Neurology* 2001;57:990-994. Erratum in: *Neurology* 2001;57:1942.

Zimmerman RD, Fleming CA, Lee BC, Saint-Louis LA, Deck MD. Periventricular hyperintensity as seen by magnetic resonance: prevalence and significance. *AJR Am J Roentgenol* 1986;146:443-450.