

UNIVERSITA DEGLI STUDI DI PADOVA

CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN MEDICINA E CHIRURGIA

DIPARTIMENTO DI NEUROSCIENZE

Direttore: Prof. Raffaele De Caro

TESI DI LAUREA MAGISTRALE A CICLO UNICO

Alterazioni della corteccia cerebrale e correlati clinici nella Corea di Huntington

Relatore: Prof. Angelo Antonini

Laureando: Leonardo Rigotto

ANNO ACCADEMICO 2022/2023

INDICE

ABSTRACT.....	pag. 1
RIASSUNTO.....	pag. 3
1. INTRODUZIONE.....	pag. 5
1. Definizione e cenni storici.....	pag. 5
1.1 Epidemiologia.....	pag. 6
1.2 Etiologia Genetica.....	pag. 8
1.2.1 Effetto lunghezza CAG sul fenotipo.....	pag. 9
1.3 HTT wild type e ruoli.....	pag. 10
1.4 Patogenesi molecolare.....	pag. 12
1.4.1 Proteolisi e generazione di frammenti mHTT.....	pag. 13
1.4.2 Formazione di aggregati di mHTT.....	pag. 13
1.4.3 Disregolazione trascrizionale	pag. 14
1.4.4 Disfunzione mitocondriale.....	pag. 14
1.4.5 Modifica post-traduzionale di mHTT.....	pag. 15
1.4.6 Alterazioni del citoscheletro e del traffico vescicolare.....	pag. 15
1.4.7 Eccitossicità.....	pag. 16
1.4.8 Trasmissione cellula-cellula.....	pag. 17
1.4.9 Sistema ubiquitina-proteosoma (UPS) e Autofagia.....	pag. 17
1.4.10 Disfunzione della microglia.....	pag. 18
1.4.11 Alterazioni HTT a livello embrionale.....	pag. 19

1.4.11.1 Sede mHTT negli embrioni umani e di topo.....	pag. 22
1.4.11.2 mHTT nella secrezione e il riciclaggio dell'endosoma.....	pag 22
1.4.11.3 mHTT interrompe i complessi giunzionali neuroepiteliali.....	pag. 23
1.4.11.4 mHTT altera la progressione attraverso il ciclo cellulare.....	pag. 23
1.4.11.5 mHTT orienta la neurogenesi verso il lignaggio neuronale.....	pag. 24
1.5 Presentazione clinica.....	pag. 24
1.5.1 Storia naturale ed età d'insorgenza.....	pag. 25
1.5.2 Scale di progressione ed associate alla patologia UHDRS.....	pag. 27
1.5.3 Scale di valutazione comportamentale PBA-HD-PBA-s.....	pag. 30
1.5.4 Scale di valutazione cognitiva.....	pag. 31
1.5.4.1 UHDRS-FAP sezione cognitiva.....	pag. 31
1.5.4.2 Mini Mental State Examination.....	pag. 32
1.5.4.3 Montreal Cognitive Assessment.....	pag. 32
1.5.5 Sintomi e segni motori.....	pag. 33
1.5.6 Sintomi e segni psichiatrici.....	pag. 34
1.5.7 Decadimento cognitivo.....	pag. 36
1.5.8 Sintomi secondari.....	pag. 38
1.5.9 Sintomi periferici.....	pag. 38
1.5.10 Malattia di Huntington giovanile.....	pag. 39
1.6 Neuroimaging.....	pag. 39

1.6.1 Neuroimaging strutturale: MRI.....	pag. 39
1.6.2 Neuroimaging funzionale: PET e fMRI	pag. 42
1.6.3 MRI funzionale.....	pag. 42
1.6.4 Tomografia a emissione di positroni (PET).....	pag. 44
1.6.4.1 Flusso sanguigno cerebrale e metabolismo del glucosio.....	pag. 44
1.6.4.2 Funzione dopaminergica.....	pag. 47
1.6.4.3 Attivazione della microglia.....	pag. 49
1.6.4.4 Fosfodiesterasi.....	pag. 51
1.6.4.5 Recettori GABA.....	pag. 53
1.6.5 Descrittori corticali.....	pag. 54
1.6.5.1 Spessore corticale.....	pag. 55
1.6.5.2 Local Gyrification Index (LGI).....	pag. 56
1.7 Diagnosi.....	pag. 63
1.7.1 Diagnosi differenziale.....	pag. 65
1.8 Gestione HD.....	pag. 66
1.8.1 Trattamento farmacologico.....	pag. 66
1.8.1.1 Segni motori.....	pag. 66
1.8.1.2 Segni psichiatrici.....	pag. 68
1.8.2 Trattamento non farmacologico.....	pag. 69
1.8.2.1 Fisioterapia.....	pag. 69
1.8.2.2 Approccio neuropsicologico.....	pag. 70
1.8.2.3 Logopedia e malnutrizione.....	pag. 71
1.8.3 Assistenza fine vita.....	pag. 71
1.9 Test genetici.....	pag. 72

1.9.1 Test diagnostici.....	pag. 72
1.9.2 Test predittivi.....	pag. 73
1.9.3 Diagnosi prenatale ed opzioni riproduttive.....	pag. 74
2. SCOPO DELLO STUDIO.....	pag. 75
3. MATERIALI E METODI.....	pag. 77
3.1 Partecipanti.....	pag. 77
3.2 Esame clinico neuropsicologico.....	pag. 77
3.2.1 Valutazione motoria.....	pag. 77
3.2.2 Valutazione funzionale.....	pag. 78
3.2.3 Valutazione comportamentale.....	pag. 78
3.2.4 Valutazione cognitiva.....	pag. 79
3.3 Acquisizione delle immagini MRI.....	pag. 83
3.4 Analisi voxel-based delle immagini MRI.....	pag. 83
3.5 Analisi delle misure di spessore corticale, area superficiale e indice di girificazione locale di superficie (LGI).....	pag. 85
3.6 Correlato corticale e sottocorticale dei deficit motori, cognitivi e delle variabili cliniche: analisi ROI based.....	pag. 87
3.7 Analisi statistica.....	pag. 88
3.7.1 Descrittiva variabili demografiche cliniche del campione.....	pag. 88
4. RISULTATI.....	pag. 88
4.1 Caratteristiche demografiche.....	pag. 88

4.1.1 Alterazioni motorie, cognitive e cerebrali negli stadi MDS della HD.....	pag. 90
4.2 Pattern di alterazione alla visita: voxel-based HD vs HC Matched sex&age.....	pag. 92
4.2.1 Pattern di alterazione corticale.....	pag. 92
4.2.2 Pattern di alterazione sottocorticale.....	pag. 93
4.3 Correlazione numero triplette CAG ed age of onset.....	pag. 96
4.4 Pattern di alterazione corticale e sottocorticali nei pazienti con HD: spessore corticale, area-WM, LGI e volumi.....	pag. 96
4.5 Pattern di alterazione volumetrica sottocorticale HD vs HC covariato per età e e-TIV.....	pag. 98
4.6 ROI based analysis: correlazione VBM vs variabili cliniche e genetiche.....	pag. 99
4.6.1 Correlazione tra le alterazioni corticali e sottocorticali in HD con il fenotipo clinico.....	pag. 99
4.6.2 Correlazione tra le alterazioni corticali e sottocorticali in HD con i sintomi motori.....	pag. 100
4.6.3 Correlazione tra le alterazioni corticali e sottocorticali in HD con i sintomi cognitivi.....	pag. 101
4.7 Correlazione LGI index con l'età di esordio pag.....	pag. 102
5. DISCUSSIONE.....	pag. 103
6. CONCLUSIONI.....	pag. 110
7. BIBLIOGRAFIA.....	pag. 111

ABSTRACT

Background

Huntington's disease is a monogenetic autosomal dominant neurodegenerative disorder due to a mutation in the HTT gene. The average age of onset is 35-50 years of age followed by the onset of motor symptoms, including choreic hyperkinesias, cognitive and psychiatric symptoms whose progressive course will lead to exitus in 15-20 years. The diagnosis is based on the clinic suggestive of the pathology associated with the genetic test, while the palliative pharmacological treatment varies according to which symptoms are present in the patient, which in turn vary according to the number of CAG triplets and the age of onset. Several studies have shown that it is possible to highlight, at the level of the individual patient, a characteristic phenotype of brain alteration, the pattern of which is progressively worsening in HD. However, given the heterogeneity between studies in terms of the patients included and the metrics used to measure alterations by MRI, it is not possible to define the most effective among the latter for the purposes of clinical trials.

Aim

The aim of the study is to 1) explore the subcortical and cortical alterations in the HD group in comparison to the HC group of age-matched healthy people via VBM; 2) characterize the nature of the cortical alterations through a multimodal approach by investigating whether they reflect progressive cortical damage, altered cortical plasticity or if instead they are reflection of a neurodevelopmental damage; 3) Finally, identify which significantly altered areas better explain the described symptoms and the clinical variables investigated.

Materials and methods

For this cross-sectional study, 19 HD patients were included and evaluated from a genetic, clinical, behavioral, cognitive point of view and compared with a group of 34 healthy subjects of the same age range for the pattern of brain alterations by means of PET/MRI 3T Siemens Biograph. The pattern of cortical and subcortical alteration of the individual patient was calculated by Voxel Based Morphometry from MPRAGE T1w3d-weighted anatomical images, then corrected for possible vascular damage with 3d FLAIR images through a non-parametric comparison with

amyloid-free healthy subjects of the same age and sex from the ADNI dataset. The nature of the alteration in cortex was then explored with Freesurfer for the components of atrophy (Ctf), local plasticity, and neurodevelopmental alteration (LGI). The prevalent contribution of VBM and cortical alterations to motor symptoms, cognitive symptoms, and functional dysautonomias was found through step-wise regression.

Results

Our study was able to distinguish the specific contribution of cortical areas regards motor symptoms and cognitive decline, associating instead deficits in functional abilities to striatal degeneration and WM alterations. Furthermore, it has been shown that cortical alteration derives from the combination in distinct areas of reduced cortical thickness and cortical-cortical connections, whereas neurodevelopmental misfolding is relevant only in young onset. Clinically, a progressive deterioration of the motor and functional portion is reported, associated with progressive cognitive decline including social cognition, hitherto unexplored in the literature, since the onset of HD.

Conclusions

the cortical and subcortical alterations are in line with the literature, to which new relevant findings are added: alterations in the dorsal and ventral pathway of language and the alteration both as bundle and cortical of the auditory component. The different and parallel contribution observed in the subcortical and cortical in relation to the clinical phenotype, motor symptoms and clinical symptoms suggests possible pharmacological targets, inclusion and progression markers for future clinical trials aimed at improving the clinical management of the patient

RIASSUNTO

Presupposti dello studio

La malattia di Huntington è una patologia neurodegenerativa monogenetica autosomica dominante causata da una mutazione del gene HTT. L'età media di insorgenza è di 35-50 anni di età a cui seguiranno il manifestarsi dei sintomi motori, tra cui le ipercinesie coreiche, sintomi cognitivi e psichiatrici il cui andamento progressivo porterà all'exitus in 15-20 anni. La diagnosi si basa sulla clinica suggestiva della patologia associata al test genetico, mentre il trattamento farmacologico palliativo varia in dipendenza di quali sono i sintomi presenti nel paziente, i quali variano a loro volta in base al numero di triplette CAG e l'age of onset. Diversi studi hanno dimostrato che è possibile evidenziare, a livello del singolo paziente, un caratteristico fenotipo di alterazione cerebrale, il cui pattern è progressivamente ingravescente nella HD. Però data l'eterogeneità esistente tra gli studi a livello di pazienti inclusi e delle metriche atte a misurare le alterazioni mediante RM, non è possibile definire tra quest'ultime la più efficace ai fini dei trial clinici.

Scopo dello studio

Lo scopo dello studio è quello di 1) esplorare le alterazioni sottocorticali e corticali nel gruppo HD rispetto al gruppo HC composto da sani di pari età via VBM 2) caratterizzare la natura dell'alterazioni corticali mediante un approccio multimodale indagando se quest'ultime riflettano un progressivo danno corticale, un'alterata plasticità corticale o se invece siano il riflesso di un danno da neurosviluppo 3) identificare quali aree riscontrate significativamente alterate spiegano maggiormente i sintomi descritti e le variabili cliniche analizzate.

Materiali e metodi

Per questo studio trasversale sono stati inclusi 19 pazienti HD valutati da un punto di vista genetico, clinico, comportamentale, cognitivo e confrontati con un gruppo di 34 soggetti sani di pari range di età per il pattern di alterazioni cerebrali mediante PET/RM 3T Siemens Biograph. Il pattern di alterazione corticale e sottocorticale del singolo paziente è stato calcolato tramite Voxel Based Morphometry a partire dalle immagini anatomiche pesate in MPRAGE T1w3d, poi corrette per i possibili danni vascolari con immagini 3d FLAIR mediante un confronto non-parametrico

con soggetti sani di pari età e sesso amiloide-free del dataset ADNI. La natura dell'alterazione in corteccia è stata poi esplorata con Freesufer per le componenti di atrofia (Ctf), plasticità locale e di alterazione da neurosviluppo (LGI). Tramite step-wise regression si è rilevato il ruolo prevalente delle alterazioni in VBM e corticali ai sintomi motori, cognitivi e disautonomie funzionali.

Risultati

Il nostro studio è riuscito a distinguere il contributo specifico delle aree corticali rispetto ai sintomi motori ed il declino cognitivo, associando invece alla degenerazione striatale e alle alterazioni WM i deficit nelle abilità funzionali. Inoltre, si è comprovato che l'alterazione corticale deriva dalla combinazione in aree distinte dalla riduzione di spessore corticale e delle connessioni cortico-corticali, mentre il misfolding da neurosviluppo è rilevante solo nei young onset. Clinicamente si riporta un progressivo peggioramento della porzione motoria e funzionale, associata ad un declino cognitivo progressivo compresa la cognitivtà sociale, finora inesplorata in letteratura, fin dall'esordio della HD.

Conclusioni

Le alterazioni corticali e sottocorticali sono in linea con la letteratura, a cui si aggiungono nuove evidenze di rilievo: alterazioni della via dorsale e ventrale del linguaggio e l'alterazione come fascio e corticale della componente uditiva. Il contributo differente e parallelo del sottocorticale e corticale in relazione con il fenotipo clinico, sintomi motori e clinici suggerisce possibili target farmacologici, marker di inclusione e di progressione per futuri trial clinici atti a migliorare la gestione clinica del paziente.

INTRODUZIONE

1. DEFINIZIONE E CENNI STORICI

La malattia di Huntington (HD) è una patologia neurodegenerativa ereditaria monogenica a trasmissione autosomica dominante, il cui esordio avviene prevalentemente tra i 35-50 anni di età, a cui segue una progressione irreversibile dei sintomi motori, cognitivi e psichiatrici nell'arco di 15-20 anni fino all'exitus.

La prima descrizione di un paziente affetto da HD, effettuata da Waters, risale al 1842, ma è solo nel 1872 che il medico Statunitense George Huntington definì le caratteristiche cliniche ed ereditarie di questa specifica condizione clinica classificandola con il nome di Còrea di Huntington.

Il termine **còrea**, coniato da Paracelso nel XV secolo per la descrizione della *chorea Sancti Viti*, deriva dal termine greco “*χορεία*”, danza, siccome i movimenti coreici hanno similitudini con i movimenti della danza.

In ambito medico la parola Corea definisce movimenti involontari brevi, bruschi, imprevedibili degli arti, del tronco, del collo o del viso che passano rapidamente da una regione all'altra in modo irregolare, fluido, non stereotipato, imprevedibile. Tali movimenti potendo coinvolgere l'intero corpo possono interferire con la deglutizione, la parola, la postura e l'andatura, inoltre, sono esacerbati dall'ansia e ridotti durante il sonno.

Nonostante la Còrea rimanga uno degli aspetti più importanti e clinicamente eclatanti della patologia, vista l'eterogeneità della presentazione clinica, è oggi desueto nominarla Corea di Huntington ma è da preferirsi la definizione di Malattia di Huntington (MH o HD dall'inglese Huntington's Disease)

Grazie alla conoscenza della natura ereditaria del HD, nota fin dal 19 secolo, e la seguente scoperta del gene causante la patologia in IT15 (gene dell'huntingtina, HTT, braccio corto cromosoma 4), si è riusciti a definire che la causa della stessa è da ricercare in un'espansione ripetuta della tripletta CAG (HTT), la quale comporta un'espansione della porzione poli glutamminica della proteina HTT e il suo successivo mal ripiegamento.

Dal punto di vista clinico la HD si manifesta principalmente con sintomi motori che includono Corea e disturbi della coordinazione, sintomi psichiatrici, come depressione, psicosi e disturbo ossessivo-compulsivo tra i più comuni e dolorosi per i pazienti [1] ed inoltre decadimento cognitivo.

Dal punto di vista fisiopatologico la patologia è caratterizzata da un'atrofia cerebrale e una degenerazione striatale progressiva del putamen e caudato con associata perdita dei neuroni spinosi medi (MSN) [2], inoltre, con minore entità si evidenzia un assottigliamento a livello corticale [3].

1.1 EPIDEMIOLOGIA

La Malattia di Huntington ha una prevalenza media di 4-10/100000 nella popolazione occidentale, con oscillazioni che variano significativamente in base all'area presa in considerazione, le differenze etniche, culturali, e dalla metodologia epidemiologica utilizzata. [4]

Da una revisione sistemica (Rawlins, et al. 2016) della prevalenza di HD, quest'ultima mostra una oscillazione di oltre 10 volte in base alla regione presa in considerazione [5]. I tassi di prevalenza più bassi si riscontrano a Hong Kong, Giappone, Corea del Sud e Taiwan ove oscillano da 0,11/100000 [6] a 0,72/100000 [7], che sono valori considerevolmente inferiori rispetto a quelli dell'Oceania, degli Stati Uniti ed Europa occidentale [5].

Si sono ipotizzate varie teorie per spiegare tali differenze, una di queste ipotizza che la patologia sia migrata dall'Europa nord-occidentale ad altre parti del mondo, con conseguenti valori più bassi di prevalenza nei paesi prima citati [8]. Una seconda teoria ipotizza che i tassi di mutazione inferiore siano responsabili dei tassi di prevalenza più bassi nei paesi asiatici orientali. A sostegno di ciò è stato suggerito che l'esistenza di diversi aplotipi tra asiatici ed europei si associ a tassi di mutazione differenti in base a quest'ultimi. [9][10].

Valori bassi di prevalenza si riscontrano anche tra la razza nera in Sud-Africa 0-0,5/100000[11] e Zimbabwe 0.48-1.84/100000[12], però in questo caso, rispetto ai paesi asiatici, questi sono valori rilevati in comunità con assistenza sanitaria limitata.

Un dato interessante è che in Nord America si evidenzia una similitudine tra la prevalenza della razza bianca 6,37/100000 e della razza nera 4,79/100000 [13], la quale può essere spiegata, almeno parzialmente, dalla presenza di antenati di razza mista.

In Europa occidentale c'è una grossa eterogeneità nella prevalenza delle regioni, con stime che vanno dal 0,53/100000 della Finlandia [14] al 10,85/ 100000 nella regione italiana del Molise. [15]

La prevalenza italiana, rilevata tramite diversi studi epidemiologici, prima dell'introduzione del test genetico, si attestava tra 2,3/100000 e 4,8/100000 [16,17,18,19,20]. La prima analisi di prevalenza dopo l'introduzione del test genetico in Italia risale al 2015 (Squitieri, et al. 2015), la quale ha rilevato un tasso di prevalenza di 10,85/100000 però prendendo come riferimento il solo Molise.

Una recente metanalisi (M. Riccò, L. Vezzosi, F. Balzarini, et al. 2020) suggerisce che i valori di prevalenza italiani si attestino in posizione intermedia tra quelli dell'Europa Occidentale 3,6/100000 e del Regno Unito 6,7/100000, con valore di 4,1/100000. [20]. Nonostante le limitazioni campionarie e metodologiche dello studio, quest'ultimo evidenzia l'eterogeneità genetica italiana. Ci sono aree in cui i tassi sono ben al di sotto dell'Europa occidentale (Oristano, 0,6/100.000; Mantova, 1,5/100.000; Friuli -Venezia-Giulia, 1,9/100.000) [21,22,23], altre relativamente alte e dei cluster come la provincia di Varese (29,2 /100000), il Molise [15] e San Marino [24]. Tutte le aree indicate come cluster sono isolate o montane; quindi, si può ipotizzare che l'effetto fondatore possa aver avuto un ruolo nell'innalzare i casi effettivi.

Dal punto di vista epidemiologico la HD in passato è sempre stata sottostimata, questo era parzialmente dovuto al fatto che prima dell'introduzione del test genetico per arrivare a una diagnosi ci si basava unicamente sulla presenza di segni clinici e familiarità positiva, quindi i casi sporadici, atipici o tardivi non venivano diagnosticati; inoltre, i pazienti affetti con HD venivano sempre sottoposti e trattati con un certo stigma sociale, non spingendoli a rendere palese la loro condizione a familiari e medici di famiglia.

La parziale risoluzione dei problemi appena elencati è avvenuta tramite l'introduzione del test genetico, che garantisce una migliore diagnosi, il tutto associato ad una conoscenza più diffusa della patologia tra la classe medica e la popolazione, con conseguente riduzione dello stigma sociale, sta portando ad un aumento della prevalenza del 15-20% della patologia in Australia, Nord America, Regno Unito e Europa Occidentale [5].

1.2 EZIOLOGIA GENETICA

La Malattia di Huntington è una malattia monogenica autosomica dominante, da ciò si deduce che un genitore affetto ha il 50% di trasmettere la patologia al figlio, poiché un allele mutato è sufficiente affinché la malattia si instauri.

La genesi del HD deriva da un'espansione eccessiva della tripletta CAG, codificante per l'amminoacido glutammina, ripetuta all'inizio del primo esone del gene IT15 (HTT) localizzato nel braccio corto del cromosoma 4. Questa tripletta, così ripetuta, a seguito della trascrizione in mRNA del gene prima citato porta durante la traduzione proteica alla formazione di una coda di poli glutammina (polyQ) nell'estremità NH₂ terminale della proteina ubiquitaria Huntingtina. Il numero delle ripetizioni della tripletta CAG negli alleli del gene wild-type oscilla tra 10 alle 35 ripetizioni, con un valore medio che si aggira sulle 18, (sebbene il numero delle triplette medie varia in base alla prevalenza della patologia nella popolazione presa in considerazione) [8,25]. Il cut-off di ripetizioni oltre il quale si identifica la condizione patologica è 35, sebbene la penetranza oltre questo valore vari sempre in dipendenza del numero delle ripetizioni.

Infatti, tra le 36-41 ripetizioni la patologia presente penetranza ridotta, quindi i pazienti possono sviluppare sintomi di HD nel corso della loro vita oppure non svilupparli affatto o una minima parte. [26]; mentre la penetranza della malattia è completa a 40 o più ripetizioni, invece, tra 25 e 35 si parla di un particolare condizione definita come "allele intermedio".

Si ipotizza che gli alleli intermedi presenti all'interno della popolazione generale derivino da espansioni graduali di CAG nel corso di molte generazioni, però non presentanti la patologia. Tuttavia, recenti studi hanno individuato all'interno del gruppo degli alleli intermedi un fenotipo comportamentale [27]. Nei pazienti presentanti alleli intermedi è possibile che durante la meiosi gli alleli si espandano

ulteriormente, trasferendo alla prole un allele mutato presentante un numero di 36 o più ripetizioni di CAG; tale rischio di espansione è del 21% per un paziente con 35 ripetizioni. [28].

L'instabilità genetica intrinseca della tripletta CAG colpisce soprattutto il gene di HTT, comportando espansioni o contrazioni del numero delle triplette di generazione in generazione. [29].

Inoltre, poiché più il numero di triplette è elevato più precocemente la patologia si manifesta, la sintomatologia può presentarsi sempre prima con il tramandarsi della condizione attraverso le generazioni successive. Tale fenomeno è noto come anticipazione [30]. Quest'ultimo vista la differenza tra oogenesi e spermatogenesi è più probabile che avvenga quando l'eredità è di tipo paterna [31]. Nell'eventualità in cui il numero di ripetizioni sia maggiore di 55, con insorgenza della patologia prima di 20 anni, si riscontra un particolare sottotipo della malattia di Huntington, nota come Juvenile HD.

Una storia familiare dettagliata è fondamentale per giungere ad una diagnosi, come in tutte patologie genetiche, nonostante ciò, il 6-8 % delle HD di nuova diagnosi non presentano alcuna storia familiare pregressa. [32] Come già asserito in precedenza la mutazione de novo potrebbero derivare da espansioni di alleli intermedi. Tuttavia, oltre alla motivazione appena espressa, altre spiegazioni alla base della carenza della storia familiare nel paziente potrebbero derivare da una errata o mancata diagnosi nelle generazioni precedenti, oppure un decesso precoce dell'ascendente di primo grado per altre cause, con conseguente mascheramento clinico del gene di HTT mutato.

1.2.1 Effetto lunghezza CAG sul fenotipo

L'esordio tipico di HD dal punto di vista clinico avviene mediante la manifestazione dei tipici segni motori extrapiramidali. Nella forma tipica HD con esordio di mezza età (mid - life on set o classic on set) il numero di ripetizioni di CAG è compreso tra 40 e 55; quest'ultime contribuiscono all'età di insorgenza del fenotipo motorio per il 56% [33]. Altri fattori che contribuiscono a influenzare l'insorgenza dei sintomi motori per la restante parte di pazienti sono maggiormente

geni coinvolti nella modifica del DNA e della sua riparazione come MLH1 [34] mentre ruolo marginale hanno altri modificatori genici ed ambientali [35].

Tenendo in considerazione il numero di triplette CAG e il numero di anni libero dalla patologia già vissuti del paziente è possibile calcolare, basandosi su dei modelli di popolazione, la probabilità di sopravvivenza libero dalla malattia in corso. [36,37]. Tali modelli di popolazione presentano però ridotta applicazione nel singolo caso, siccome non si può predire con precisione l'insorgenza della patologia solamente basandosi sul numero di triplette, non essendo quest'ultime l'unico fattore determinante per l'insorgenza.

Frequentemente i pazienti presentano lievi sintomi motori, psichiatrici e decadimento cognitivo anni prima della forma manifesta della patologia. La lunghezza della tripletta CAG è indipendente con l'insorgenza dei sintomi psichiatrici e della durata della malattia dalla diagnosi alla morte, mentre presenta una certa relazione con la velocità di progressione patologica. [38,39].

1.3 HTT WILD TYPE E RUOLI

Huntingtina è una proteina di 350 kDa presentante una coda di polyQ all'estremità NH₂ terminale e sequenze multiple di consenso HEAT ripetute formate da (Huntingtina, fattore di allungamento 3, proteina fosfatasi A2 e TOR1). I motivi HEAT presentano una struttura elica-giro-elica particolarmente compatta, che crea un nucleo idrofobico super-elica resistente alla scissione proteolitica.[40]

Huntingtina è una proteina citoplasmatica con localizzazione nucleare parziale, siccome presenta tra gli amminoacidi 174-207 dell'estremità NH₂ la sequenza di localizzazione nucleare NLS, che interagisce con la carioferina b2 di importazione.[41]. Sempre l'estremità NH₂ interagisce, inoltre, con TPR, un poro nucleare di esportazione; tale interazione è ridotta dalle espansioni di polyQ, favorendo progressivamente l'accumulo patologico della proteina a livello nucleare.[42]

Un'ulteriore sequenza di esportazione nucleare è localizzata all'estremità COOH della proteina.

HTT è ampiamente localizzata nel sistema nervoso centrale, in particolare nei neuroni striatali sparsi e in tutti i neuroni corticostriatali [43] con localizzazione

cellulare prevalentemente citoplasmatica dove la proteina è associata con le membrane vescicolari.[44].

Lo sviluppo embrionale precoce necessita di huntingtina, siccome la sua assenza porta al decesso dei topi knock-out per quest'ultima, dopo circa 8,5 giorni dalla nascita, ancora prima dello sviluppo del sistema nervoso centrale [45,46].

La neurogenesi e la neurolazione sono entrambi processi che necessitano di HTT, il primo per riuscire a mantenere il potenziale replicativo delle cellule neuronali primitive durante il processo di induzione neurale [47], mentre il secondo per controllare le interazioni omotopiche tra le cellule neuroepiteliali.[48].

L'huntingtina è anche una proteina scaffold che interagisce con la β -tubulina dei microtubuli legandosi quindi a quest'ultima, inoltre orchestra l'assemblaggio del complesso dineina/dinactina, il quale è fondamentale per i numerosi traffici intracellulari e la mobilità dei poli del fuso mitotico.[49].

Sebbene sia prevalentemente una proteina con sede citoplasmatica, HTT in sede nucleare espleta il ruolo di regolare trascrizionale, in particolare favorendo l'espressione di BDNF mediante il sequestro e l'inibizione citoplasmatica di REST/NSRF [50], un fattore di trascrizione che down-modula la trascrizione di BDNF.

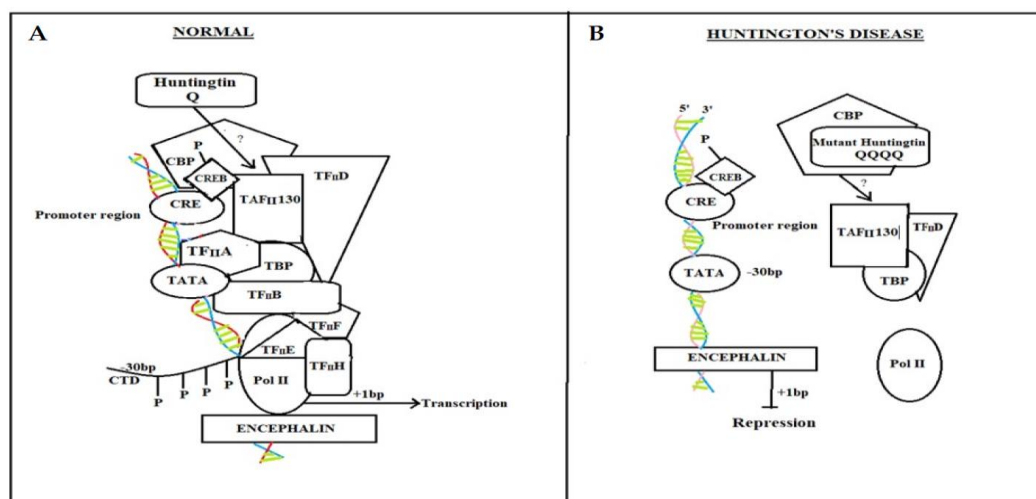


Figura 1. Pathway mediata dal neuron-restrictive silencer element (NSRE) nell'individuo sano e nel paziente affetto da malattia di Huntington. Fonte: Irfan Z, Khanam S, Karmakar V, Firdous SM, El Khier BSIA, Khan I, Rehman MU, Khan A. Pathogenesis of Huntington's Disease: An Emphasis on Molecular Pathways and Prevention by Natural Remedies. Brain Sci. 2022 Oct 14;12(10):1389-1511

Infine, un nuovo ruolo emergente della proteina coinvolge la connettività sinaptica, nello specifico è associata alla corretta formazione delle sinapsi eccitatorie corticali e striatali [52] mediante l'associazione a livello presinaptico con le vescicole sinaptiche e a livello postsinaptico contribuendo alla densità sinaptica. [53,54].

1.4 PATOGENESI MOLECOLARE

La tossicità in HD è ben nota e deriva da un gain of function della proteina mutata, poiché la stessa polyQ espansa è di per sé tossica. Inoltre, una loss of function della proteina wild-type non può rappresentare una soluzione alla patogenicità della proteina mutata, siccome HTT, come visto in precedenza, espleta numerosi ruoli fondamentali nella cellula ed una sua parziale o totale inattivazione od eliminazione porterebbe anch'essa ad una neuro degenerazione [55].

Nonostante ciò, le alterazioni molecolari e i meccanismi a loro associati sono molteplici e variegati all'interno della patologia, ed alcuni di essi potrebbero essere possibili target per future terapie.

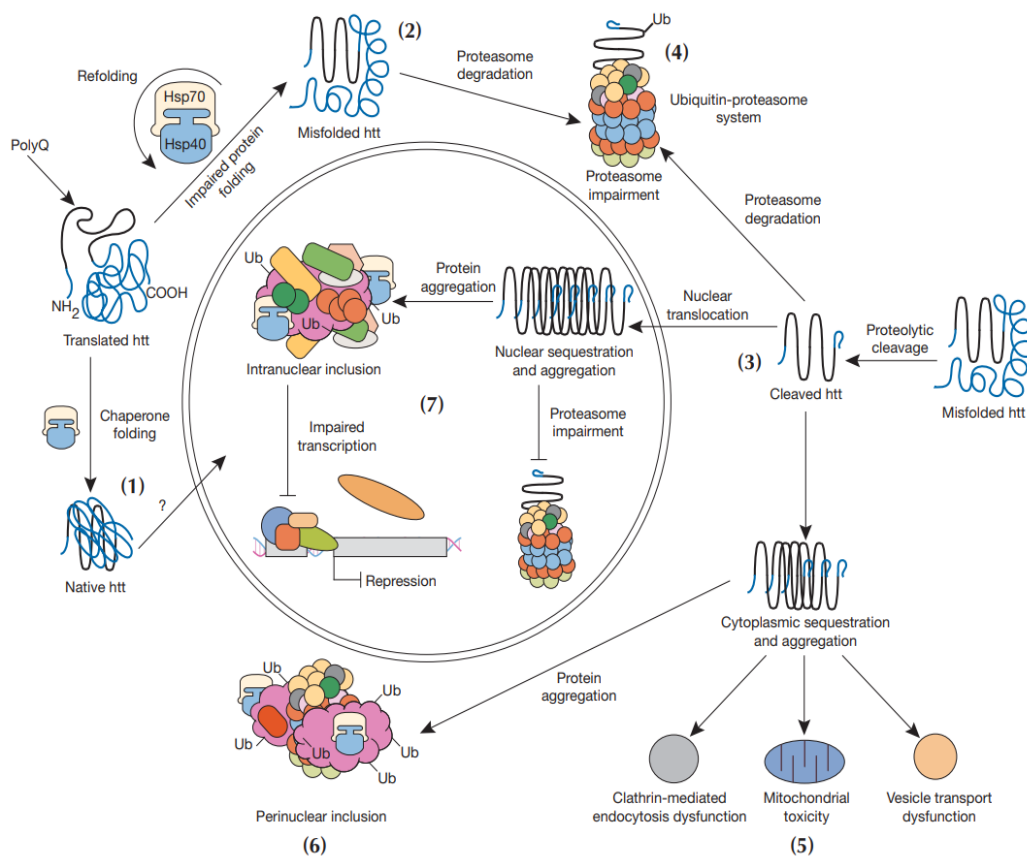


Figura 2: Meccanismi cellulari coinvolti nella patogenesi della malattia di Huntington. Normalmente le Chaperonine Hsp70 e Hsp40 promuovono il refolding della huntingtina (htt) nella struttura nativa. In presenza di alterazioni genetiche: 1) le htt mutate alterano la capacità modulatoria trascrizionale nel nucleo; 2) le Chaperonine non sono più in grado di attuare il refolding e si ha un accumulo di HTT nel citoplasma. 3) vengono degradati dagli enzimi proteolitici e i frammenti costituiscono conformazioni anomale a fogli beta che tendono ad aggregarsi. 4) La traslocazione nel citoplasma di forme mutate di HTT inibendo l'azione ubiquitina-proteasoma, contribuisce ulteriormente all'accumulo intracellulare 5) l'accumulo citoplasmatico ha un'azione inibente sui processi di endocitosi e di trasporto vescicolare e sulla funzione mitocondriale. 6) al fine di proteggersi la cellula riunisce i frammenti intracellulari tossici in forma di aggregati via ubiquitinazione. 7) infine, i frammenti tossici possono raggiungere il nucleo dove danneggiano direttamente il processo di trascrizione. Fonte: Landles C, Bates GP. Huntingtin and the molecular pathogenesis of Huntington's disease. Fourth in molecular medicine review series. EMBO Rep. 2004 Oct;5(10):958-63.[56]

1.4.1 Proteolisi e generazione frammenti mHTT

Numerosi studi concordano e supportano l'ipotesi secondo cui la scissione proteolitica, (espletata da più proteasi, tra cui caspasi, calpaine, catepsine e MMP [57]) di mHTT, comporta la liberazione di frammenti tossici NH₂ terminali, contenenti la porzione di polyQ, espansa; i cui frammenti attraverso un processo di accumulo, contribuiscono alla neurodegenerazione e all'attivazione di ulteriori caspasi proteolitiche con conseguente danno cellulare massivo [58]. In verità, il clivaggio eseguito dalle proteasi con la formazione di frammenti di HTT avviene sia nei confronti della forma wild type che di quella mutata, però solo i frammenti della forma mutata sono associati ad un incremento della tossicità, per via della loro maggiore propensione a formare aggregati nucleari rispetto a quelli citoplasmatici meno tossici. In aggiunta, uno studio (Sathasivam et al.2013) ha ipotizzato che un ulteriore meccanismo che potrebbe contribuire alla formazione di frammenti tossici è lo splicing aberrante del primo esone della HTT.[59]

1.4.2 Formazione di aggregati di mHTT

Gli aggregati di mHTT localizzati nel nucleo, citoplasma e nelle terminazioni assionali sono un segno patognomico distintivo di HD. [52,60]

Tali aggregati sono composti principalmente da huntingtina mutata e numerose altre proteine, tra cui l'ubiquitina, fattori di trascrizione e HTT wild type. [60-64].

La comprensione del loro ruolo, se protettivo o tossico, è ancora dibattuto all'interno della comunità scientifica con numerose teorie a sostegno delle diverse tesi.

1.4.3 Disregolazione trascrizionale

La disregolazione trascrizionale è un meccanismo patogenetico di HD molto importante, che si manifesta prima dei sintomi di esordio della patologia. Studi sul microarray DNA dei pazienti affetti di HD hanno evidenziato che il profilo di espressione di numerosi geni è altamente alterato.[65] Tale modificata espressione genica si verifica perché la polyQ espansa di mHTT interferisce con i domini di attivazione ricchi di glutammina di molteplici fattori di trascrizione e regolatori della trascrizione come: P53, cAMP, responsive element-binding-protein(CREB), CREB-binding-protein (CBP), coinvolte nella proliferazione e sopravvivenza cellulare[63,66], PGC-1 α , il cui ruolo è fondamentale nel metabolismo energetico[67], Sp1 ed il suo coattivatore TAFII130, per quanto concerne l'alterazione dell'espressione del recettore D2 della dopamina[68,69].

HTT mutata, oltre a quanto già asserito, mediante l'inibizione dell'attività dell'istone acetiltransferasi con conseguente condensazione della cromatina, porta a down-regolazione della trascrizione. Questo apre la strada ad una potenziale terapia con HDAC.

Infine, la disregolazione trascrizionale di BDNF [50], con associata perdita del supporto neurotrofico di quest'ultimo, è uno dei meccanismi patologici che viene ritenuto parzialmente responsabile dell'aumentata suscettibilità e sofferenza delle proiezioni cortico-striatali, riscontrabili nei pazienti affetti dalla malattia di Huntington.

1.4.4 Disfunzione mitocondriale

L'HTT mutata altera la funzionalità mitocondriale tramite diverse modalità come: l'alterazione del normale trasporto assonale dell'organello, (con conseguente riduzione del numero dei mitocondri a livello sinaptico e la produzione di ATP associata ad essi), [70,71] l'alterata interazione con la membrana mitocondriale esterna con conseguente disfunzionalità del metabolismo del calcio [72],

l'alterazione del trasporto delle proteine mitocondriali ed il ciclo di fissione e fusione dello stesso organello.

Approfondendo gli ultimi due punti precedentemente elencati, il trasporto proteico mitocondriale è difettoso perché mHTT interagisce e inibisce un componente del complesso di trasporto della membrana mitocondriale interna, TIM23, e mediante tale modifica può favorire disfunzioni della catena respiratoria e morte neuronale[73]. Il fisiologico ciclo dinamico di fissione e fusione, a cui vanno incontro i mitocondri in risposta agli stimoli e le necessità metaboliche, viene invece mutato e sbilanciato verso la fissione degli organelli, poiché la Huntingtina espansa amplifica l'attività enzimatica della dinamina 1 (Drp-1).

La disregolazione e down-modulazione trascrizionale descritta nel paragrafo precedente coinvolge anche i geni mitocondriali, la quale comporta per esempio la repressione PGC-1 α , un coattivatore della trascrizione che modula l'espressione dei geni coinvolti nella respirazione cellulare e la biogenesi mitocondriale. [71].

Tutte le modalità con la quale mHTT porta alla disfunzionalità vanno a sfociare in una produzione massiva di specie reattive dell'ossigeno (ROS), le quali amplificano a loro volta la disfunzionalità ed il danno mitocondriale. Nell'encefalo dei modelli sperimentali di HD e pazienti morti di HD sono stati riscontrati segni di danno ossidativo [74,75], pertanto gli antiossidanti possono rappresentare un metodo per migliorare i livelli dei ROS e la funzionalità mitocondriale.

1.4.5 Modifica post- traduzionale di mHTT

L'mHTT subisce molteplici modifiche post-traduzionali in più siti tramite fosforilazione, acetilazione, ubiquitinazione, SUMOilazione e palmitoilazione. Tutti questi cambiamenti possono avere un effetto sulla patogenicità di mHTT, però il loro ruolo e incidenza sono ancora in gran parte sconosciuti. [30]

1.4.6 Alterazione del citoscheletro e del traffico vescicolare

La HTT essendo una proteina scaffold, grazie alle sue interazioni con la proteina associata all'huntingtina (HAP1), la proteina associata all'huntingtina di 40 kDa (HAP40), dineine e chinesine, regola il trasporto vescicolare ed il riciclaggio di quest'ultime.

Tuttavia, la forma mutata della huntigina non interfacciandosi più con HAP1 fa venire meno la funzione di impalcatura svolta dalla forma wild-type della proteina, tra microtubuli, dineine e chinesine da un lato e il carico dall'altro.

Inoltre, studi eseguiti su modelli animali e cellulari di HD suggeriscono che la porzione espansa polyQ, tramite un effetto indiretto, potenzi la fosforilazione del JNK3 della catena pesante della chinesina, con conseguente interruzione del legame della proteina con i microtubuli e la perturbazione del trasporto assonale veloce. [76].

mHTT grazie all'alterazione del traffico vescicolare inibisce il trasporto corticale di BDNF o il trasporto retrogrado a livello striatale del suo recettore, TrkB.[78], inoltre altera l'interazione tra HAP1, i recettori GABA-A e AMPA e la porzione KIF5 della chinesina, comportando un mancato trasporto dei recettori e una parziale inibizione della eccitabilità sinaptica [77]

1.4.7 Eccitossicità

I MSN striatali sono i neuroni che vanno incontro ad una maggiore degenerazione nei pazienti affetti da HD. Numerosi studi ipotizzano che i neuroni striatali vengano eccessivamente danneggiati per una eccessiva neurotrasmissione glutammatergica, principalmente mediata dai recettori NMDA, a cui è associata una particolare forma di morte neuronale nota come eccitossicità, [79-81]

A tale fenomeno contribuiscono vari fattori, in primo luogo nello striato sono stati individuati valori aumentati delle subunità post-sinaptiche di NMDAR che potrebbero spiegare la loro funzionalità aberrante in HD [82,83], predisponendo i neuroni striatali ad una maggiore suscettibilità alla eccitossicità[84]. In aggiunta a ciò, il traffico vescicolare alterato può coinvolgere anche i recettori NMDAR dello striato [85], inoltre, nella HD il bilancio tra l'attività sinaptica (pro-sinaptica) ed extra sinaptica (dannosa) di NMDAR è ad appannaggio di quest'ultima. [86,87].

Ulteriori studi hanno confermato che oltre ragioni appena espresse, una maggiore suscettibilità dei MSN e della loro eccitabilità deriva da un'espressione ridotta del canale del potassio negli astrociti presentanti mHTT [95]

Altri studi (Lievens et al 2001, Estrada- Sánchez et al. 2009) suggeriscono che l'eccitossicità potrebbe derivare da un ridotto uptake e clearance del glutammato o una maggior rilascio dello stesso [88,89,90].

In sintesi, tutti gli studi, sebbene per motivazioni differenti, suggeriscono che l'eccitossicità sia un processo patologico molto importante alla base del processo neurodegenerativo dello striato nei pazienti con HD.

1.4.8 Trasmissione cellula-cellula

Gli studi (Lee et al .2010; Guo e Lee 2014) suggeriscono l'esistenza di una trasmissione cellula- cellula simile a quella prionica attraverso diverse parti del cervello da proteine come tau, o α -sinucleina e le proteine coinvolte nella HD. [91,92].

Questa capacità "infettiva" la si riscontra all'interno del gruppo delle proteine poli glutamminiche, di cui fa parte HTT; la seguente modalità di trasferimento avrebbe la funzione di favorire l'interiorizzazione di questi aggregati esogeni in altre cellule, al fine di utilizzare quest'ultimi come sede per l'aggregazione nucleare di poli glutammine solubili nel citoplasma.[93]

I primi studi suggerivano che il meccanismo di trasferimento cellula- cellula degli aggregati avvenisse tramite un'interiorizzazione degli stessi dallo spazio extracellulare, ma studi più recenti (Costanzo et al. 2013) ipotizzano che il passaggio avvenga mediante dei nanotubi, cioè dei ponti di membrana ricchi di actina che collegano tra di loro le cellule e permettono di veicolare il contenuto citoplasmatico in modo simile a quello che avviene nei prioni. Per la seguente motivazione il trasferimento viene definito prion-like.[94]

1.4.9 Sistema ubiquitina- proteosoma (UPS) e Autofagia

La degradazione delle proteine intracellulari mal ripiegate può avvenire solamente attraverso due percorsi: il sistema ubiquitina proteasoma (UPS) e il sistema autofagico-lisosoma. La compromissione dell'UPS da parte della forma mutata di HTT è stata comprovata da studi sia nei modelli murini di HD che nel tessuto cerebrale umano post-mortem [96].

La motivazione di una ridotta attività del proteo soma nel HD può essere ricercata nel sequestro di componenti dell'UPS negli aggregati proteici patognomici, che si riscontrano all'interno della patologia, [97,98,99] o dall' interazione del proteo soma con aggregati di huntingtina resistenti alla degradazione. [100]

Nel HD l'alterazione e la disfunzionalità del trasporto assonale descritta in precedenza coinvolge anche gli autofagosomi del sistema autofagico-lisosoma. Nello specifico ciò comporta una inefficiente fusione tra l'autofagosoma e il lisosoma a cui segue una degradazione inefficiente del contenuto proteico dell'autofagosoma. [101]

1.4.10 Disfunzione della microglia

Gli aggregati di Huntingtina, sebbene in numero minore rispetto ai neuroni, sono stati riscontrati anche nelle cellule gliali, soprattutto astrociti,[102] ma tale discrepanza può essere attribuita sia della mancanza di divisione dei neuroni, che di una efficienza omeostatica proteica meno efficiente di quest'ultimi [103]. Nonostante ciò, una reazione di gliosi reattiva è stata individuata sia nei modelli murini di HD [104] che nel cervello post-mortem dei pazienti di HD [105], facendo quindi ipotizzare ad un contributo delle cellule gliali nella patologia.

Le cellule della glia maggiormente coinvolte nella patogenesi sono gli astrociti, le cellule più numerose, che in condizioni fisiologiche forniscono un ruolo di supporto ai neuroni e sono capaci di captare e riassorbire il glutammato extracellulare in eccesso, così evitando l'eccitossicità.

Lo studio (Bradford et al. 2009; Bradfors et al. 2010), nel tentativo di comprendere il ruolo effettivo degli astrociti nella patologia della HD, ha inserito selettivamente negli astrociti, di un modello murino, uno huntingtina wild type presentante al NH2-terminale un 160Q. Sebbene non siano stati evidenziate degenerazioni neuronali o gliali, i topi hanno comunque sviluppato dei segni neurologici tardivi associati a livelli ridotti del trasportatore del glutammato GLT-1[106]. Un successivo studio (Bradfrord et al.2010) in seguito all'inserimento della mHTT sia nei neuroni che negli astrociti ha riscontrato un peggioramento del fenotipo unicamente neuronale, confermando così il contributo degli astrociti alla patologia.[107]

Gli astrociti in HD contribuiscono alla patologia anche mediante una ridotta secrezione delle chemochine CCL5[108] e BDNF [109], inoltre, astrociti dei modelli murini di HD presentano livelli ridotti del canale del potassio Kir4.1, il che comporta un aumento extracellulare di potassio e della eccitabilità neuronale.[110].

L' Huntingtina è espressa nelle cellule del sistema immunitario, tra cui la microglia nel SNC. Quando quest'ultime presentano mHTT, tramite un effetto cellulare autonomo, almeno parziale, modulano positivamente la trascrizione dei fattori pro-infiammatori con conseguente rilascio massivo di citochine pro-infiammatorie e chemochine, inducendo una neuro infiammazione.[30]

La neuro infiammazione indotta dalla microglia risulta infatti un aspetto implicato nella neurodegenerazione riscontrata sia nei late-onset che nei pre-sintomatici premanifesti ma portatori del gene patologico per HD [111].

1.4.11 Alterazioni HTT a livello embrionale

Lo sviluppo del SNC richiede il susseguirsi di processi tra di loro sovrapposti di: neurogenesi e differenziamento cellulare, migrazione neuronale, sinaptogenesi, formazione di circuiti neurali e potatura sinaptica associata a mielinizzazione. I primi due processi prendono piede nello neurosviluppo prenatale, mentre i restanti tre continuano ad agire fino all'età adulta, essendo parte della maturazione cerebrale post-natale.

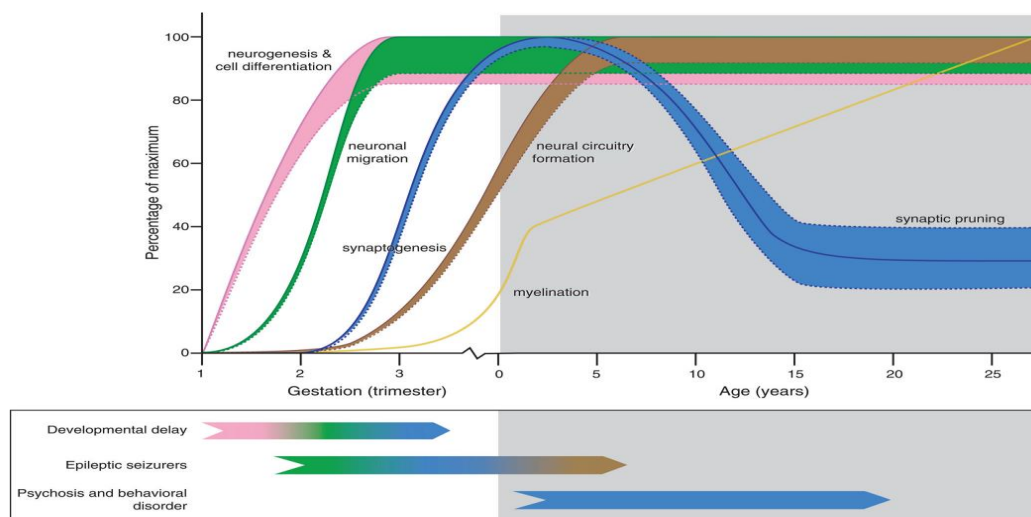


Figura 3. Modello dei potenziali effetti della HTT mutata nello sviluppo del cervello nel HD a esordio giovanile tardivo. Fonte: Bakels HS, Roos RAC, van Roon-Mom WMC, de Bot ST. *Juvenile-Onset Huntington Disease Pathophysiology and Neurodevelopment: A Review. Mov Disord.* 2022 Jan;37(1):16-24.[112]

Mentre i meccanismi e le alterazioni, descritti nei paragrafi precedenti, sono alla base del processo neurodegenerativo e del manifestarsi dei sintomi non appena il danno cellulare è rilevante per la funzionalità del tessuto; ulteriori studi hanno evidenziato come tali ed altri meccanismi agiscano tramite l'alterazione dei processi di neurosviluppo a livello embrionale.

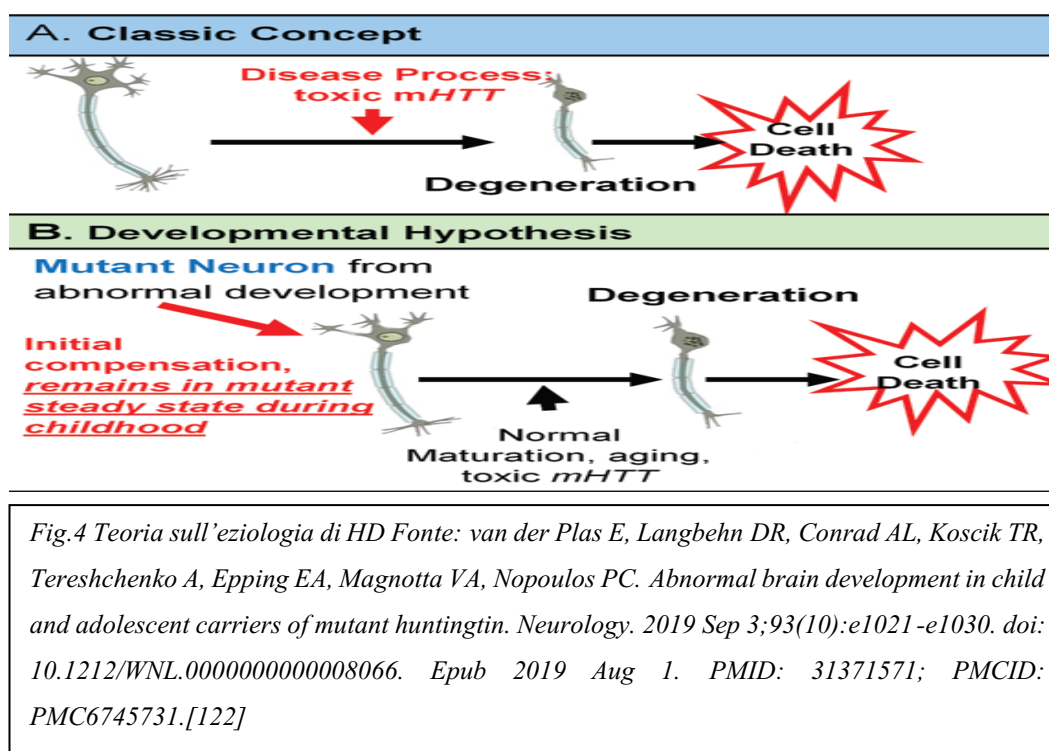
Per introdurre il seguente argomento bisogna enunciare l'ipotesi dello neurosviluppo anormale nella HD, e in altri disturbi neurodegenerativi, la quale afferma che: il gene causante la patologia è influente sullo sviluppo di una regione cerebrale specifica o di uno specifico circuito cerebrale, però allo stesso tempo le cellule anormali di quella specifica regione o circuito, aventi una crescita alterata, vengono compensate nelle prime fasi di vita senza che si instaurino dei sintomi evidenti[113]; Infatti le cellule che si sono sviluppate in maniera anomala permangono in uno stato definito "stato stazionario mutante". Però quest'ultima condizione appena definita fa sì che le cellule alterate, avendo un'omeostasi cellulare disregolata, rimangono molto vulnerabili a disfunzioni e degenerazioni che si manifestano più tardi nella vita derivanti da stress e tensioni fisiologiche (plasticità sinaptica puberale e il processo di invecchiamento) oppure patologiche come gli effetti tossici di mHTT in HD. Alla fine, la patologia evolve in un processo degenerativo, ma la prima alterazione che ha dato il via al processo patologico risale allo sviluppo anormale embrionale.

In sintesi, l'ipotesi di Mehler e Gokhan [113] afferma che le malattie neurodegenerative hanno come punto di partenza uno sviluppo cerebrale aberrante in delle specifiche sottopopolazioni neuronali regionali. Nello specifico sia degli studi molecolari [114-116] che sui topi [116] hanno dimostrato che la degenerazione dei MSN striatali è preceduta da uno sviluppo anormale di quest'ultimi.[117]

Come affermato in precedenza, la motivazione per la quale fin dalle fasi iniziali non si instaurano problemi funzionali, nonostante la crescita anormale dello striato, è dovuta dalla presenza di circuiti neuronali compensatori che coinvolgono componenti non striatali, in particolare il cervelletto. Infatti, quest'ultimo è coinvolto nel circuito striatale attraverso la via indiretta; grazie a ciò il cervelletto

può eventualmente compensare un percorso indiretto difettoso, al fine di mantenere un sistema equilibrato e prevenire lo sviluppo di movimenti involontari [118-120].

Uno studio recente ha rilevato che i portatori di mutazioni HD di appena 6 anni mostrano una iperconnettività compensatoria tra striato e cervelletto, la quale comporta un'ipertrofia compensatoria dello striato non mantenuto nel tempo per via dell'incapacità metabolica di sostenerlo nel tempo, a cui segue una perdita progressiva delle connessioni striato-cerebellari fino alla disfunzione striatale.[121]



Al fine di evidenziare l'alterazione nello neurosviluppo dei pazienti con HD, lo studio (Barnat, Capizzi, et al. 2020)[123] ha esaminato il tessuto di feti umani portatori della mutazione per HD aventi 13 settimane di gestazione (GW13). Tali tessuti, in sintesi, evidenziavano chiare anomalie nella corteccia in via di sviluppo, compreso l'errato posizionamento di mHTT e delle proteine del complesso giunzionale, difetti nella polarità e nella differenziazione delle cellule neuroprogenitrici, ciliogenesi alterata e anomalie mitotiche e nella progressione del ciclo cellulare.[123]

Inoltre, mHTT è responsabile della compromissione della divisione delle cellule progenitrici neurali, della migrazione e della maturazione neuronale [124-126],

inducendo lo sviluppo di una corteccia più sottile nei topi HD [127]; in verità tale nozione è sostenuta dagli studi di neuroimaging umani che hanno rilevato un volume intracranico ridotto nei portatori della mutazione HD a partire dei 7 anni di età. [128-129]. Bisogna tenere in considerazione che la perdita del volume corticale prende piede prima che compaiano i sintomi e che i difetti a carico della rete corticostriatale conducano alla disfunzione e degenerazione dello striato. [129-132].

Andiamo ora ad analizzare più nel dettaglio i processi patologici del neurosviluppo evidenziati dallo studio (Barnat, Capizzi, et al. 2020)[123].

1.4.11.1 Sede mHTT negli embrioni umani e di topo

Nella 13 settimana di gestazione i neuroni corticali che prima si proiettano verso lo striato e che successivamente si deteriorano nella HD derivano dalle cellule progenitrici nella zona ventrale. I progenitori apicali, infatti, estendono i loro processi allo stesso tempo verso la superficie apicali e basali della parete neuroepiteliali, mentre i loro nuclei si muovono avanti ed indietro tra le varie superfici in concerto con la progressione del ciclo cellulare, tutto il processo appena descritto è noto come migrazione nucleare intercinetica; Quest'ultimo, comune a tutti i neuroepiteli pseudostratificati in via di sviluppo, è fondamentale per mantenere l'equilibrio tra il rinnovamento del progenitore e la differenziazione dello stesso, mediante il controllo dell'esposizione dei nuclei progenitori apicali ai segnali proliferativi rispetto a quelli neurogenetici.[133-134]

Usando un anticorpo capace di riconoscere sia HTT che mHTT si è riuscito ad esaminare l'espressione di HTT nella zona ventrale della corteccia nei GW13 con i seguenti riscontri: nei tessuti wild-type la colorazione delimitava la superficie apicale della zona ventrale e si diffondeva distribuendosi nell'intera regione basale, mentre nei portatori mHTT la colorazione si è localizzata nell'estremità apicale dei processi.

1.4.11.2 mHTT nella secrezione e il riciclaggio dell'endosoma

I progenitori apicali riescono a mantenere la loro polarità attraverso sia l'endocitosi che il traffico proteico dalla rete trans-Golgi alla membrana plasmatica dell'estremità apicale.[133] Nella HD sia l'endocitosi che il traffico delle

membrane del Golgi sono disregolate, infatti, come citato nei paragrafi precedenti, una delle funzioni principali di HTT wild-type è quella regolare e permettere il trasporto vescicolare, che però nei progenitori apicali risulta essere alterato sin dalle prime fasi dello sviluppo embrionale.[123]

1.4.10.3 mHTT interrompe i complessi giunzionali neuroepiteliali

Le estremità apicali presentano dei complessi giunzionali [124-129] costituiti da proteine a giunzione stretta ed a giunzione aderente, (come ZO1, PAR3, NCAD e β -catenina) [132], che collegano tra di loro i progenitori vicino permettendo così di sigillare il neuroepitelio. Nella HD a causa dell'azione della HTT che regola il loro traffico in maniera alterata risultano altamente disregolate con conseguente perdita dell'integrità neuroepiteliare.

La HTT è in parte codistribuito con PAR3, NCAD, ZO1 e β -catenina a livello dell'estremità apicale del GW13, invece i livelli di ZO1, NCAD e β -catenina sono elevati nella superficie apicale della zona ventricolare ed ancora più elevati nei tessuti HD, il tutto associato ad una riduzione delle proteine appena citate nella regione basale. Per la proteina PAR3 la disregolazione è diversa rispetto alle altre proteine nella HD, poiché il suo livello di espressione è sottoregolato; quindi, la sua delimitazione nella superficie apicale è diminuita invece che essere aumentata nella patologia.

In condizioni patologiche le interazioni di mHTT con ZO1, PAR3 e β -catenina vengono interrotte rispetto a quelle presenti nella proteina in forma wild-type.[123]

1.4.11.4 mHTT altera la progressione attraverso il ciclo cellulare

L'integrità dei complessi giunzionali apicali è fondamentale per una corretta progressione attraverso la migrazione nucleare intercinetica, ove i nuclei delle cellule progenitrici sorte sulla superficie apicale si muovono verso il basso durante la fase G1, entrano e completano la fase S e successivamente ritornano sulla superficie apicale per andare incontro alla divisione. [133-134;140-141]

Come detto nel paragrafo precedente i complessi giunzionali non si formano correttamente in presenza di mHTT, ed esaminando la progressione del ciclo cellulare nei progenitori apicali si è riscontrato un indice mitotico dimezzato nei

portatori del gene mutato rispetto ai sani. Quindi nella HD, il pool di cellule proliferanti è grandemente diminuito. [123]

1.4.11.5 mHTT orienta la neurogenesi verso il lignaggio neuronale

Il ciclo cellulare è correlato con l'assemblaggio (durante la fase G0) e lo smontaggio (all'inizio della fase M) del ciglio primario a livello dell'estremità del progenitore apicale [133-141]. Dallo studio si è rilevato che sia la lunghezza che la densità delle ciglia erano più elevate nella regione apicale della corteccia nei pazienti HD rispetto ai controlli; quest'ultimo aspetto è un indicatore della mancata progressione del ciclo cellulare nelle cellule apicali, siccome una fase G1 più lunga associata ad una transizione G1/S rapida è una caratterizzazione delle cellule progenitrici orientate verso il lignaggio neuronale. [141-142].

La valutazione dell'orientamento delle ciglia che è stata eseguita tramite l'etichettatura delle sezioni cerebrali apicali con F-actina e per le sezioni basale con Arl13b e γ -tubulina, ha riscontrato che la proporzione delle ciglia basolaterali adibite alla segnalazione delle generazioni basali era maggiore nei campioni HD rispetto ai sani; inoltre, nei campioni HD umani si è evidenziata una percentuale maggiore di progenitori basali nella zona ventricolare, nella zona subventricolare e nella zona subventricolare interna rispetto ai controlli.

In sintesi, la mHTT si localizza in modalità errata nei complessi giunzionali, altera la polarità del neuroepitelio umano e interferisce con il ciclo cellulare dei progenitori apicali, portando ad un minor numero di cellule proliferanti e più progenitori neurali che entrano in modo prematura all'interno dello specifico lignaggio. Tutto ciò è concorde con il fatto che mHTT regola l'adesione cellulare, la polarità, l'organizzazione epiteliale [48] ed inoltre la transizione mesenchimale è accelerata.[143]

1.4 PRESENTAZIONE CLINICA

La malattia di Huntington è un una patologia neurodegenerativa ad ereditarietà autosomica dominante caratterizzata da una triade di sintomi motori, psichiatrici e cognitivi progressivi. L'età media di insorgenza è 45 anni ed è fatale 15-20 anni dopo l'insorgenza della patologia.

HD presenta una grossa eterogeneità clinica, anche all'interno della stessa famiglia, per quanto riguarda l'equilibrio tra le caratteristiche motorie, cognitive e psichiatriche predominanti.

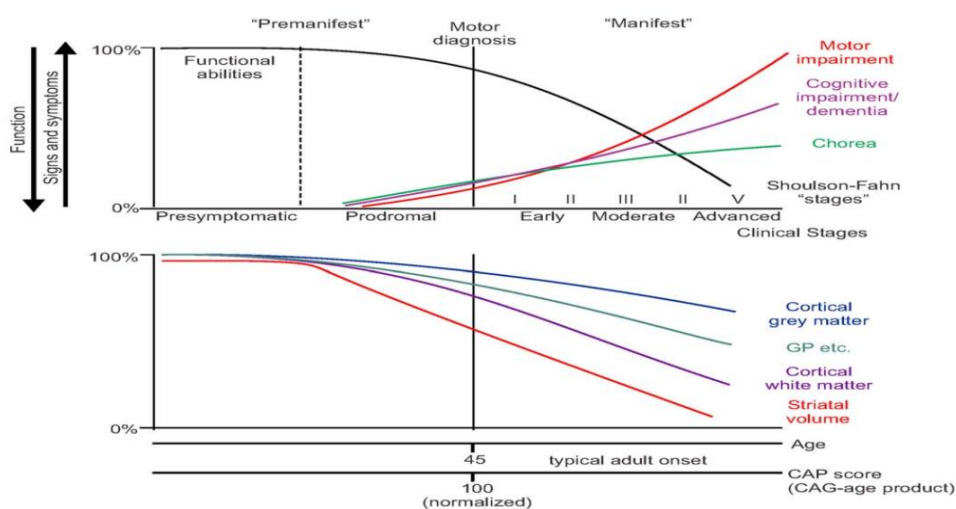


Fig. 5 Storia clinica della malattia di Huntington. Fonte: Reilmann R, Leavitt BR, Ross CA. Diagnostic criteria for Huntington's disease based on natural history. *Mov Disord.* 2014 Sep 15;29(11):1335-41.[144]

1.5.1 Storia naturale ed età d'insorgenza

All'interno della HD possiamo riconoscere diverse fasi della patologia. Inizialmente sono presenti due fasi, prima la fase pre-sintomatica pre-manifesta e poi prodromica pre-manifesta, all'interno della quali, i pazienti portatori della mutazione del gene HD ma non presentanti i sintomi motori "caratteristici" sono indicati come "pre-manifesti". Quest'ultimi possono manifestare segni motori, psichiatrici o cognitivi lievi in dipendenza dalla distanza d'esordio della patologia. Infatti, 10-15 anni prima della data d'insorgenza i pazienti pre-manifesti sono indistinguibili dai controlli sani e con l'avvicinarsi dell'esordio della malattia, i pazienti iniziano a manifestare sintomi prodromici, tra cui: lievi deficit motori, lievi disturbi di equilibrio, lievi deficit cognitivi, sottili cambiamenti della personalità inclusi apatia ed irritabilità e depressione.

Successivamente quando il paziente sviluppa sintomi motori tipici, come le ipercinesie coreiche, o atipici (Akinesia non rigid variant; Ataxia variant; Dystonia Variant) ma anch'essi suggestivi di HD si parla per convenzione di HD "manifesta".

Il sintomo di esordio predominante della patologia è quello motorio, ma non è l'unico che si può manifestare. Infatti, dallo studio (Di Maio e Squitieri et al.1993) [145] che analizzava mediante un questionario i sintomi di esordio in un pool di pazienti, si è evidenziato che il 59% dei pazienti aveva esordito con un sintomo motorio, un 23% con un sintomo psichico-cognitivo e il 18% con entrambi.

All'interno dei sintomi motori il prevalente era la corea, ma altri sintomi motori d'esordio minori erano: instabilità, disartria, perdita di equilibrio. Invece, i sintomi psichici più rappresentati erano: depressione, perdita di interessi, paranoia, allucinazioni o declino cognitivo.[147]

La HD può essere suddivisa anche in base all'età di insorgenza della patologia in:

- Early Onset se l'insorgenza avviene prima dei 20 anni di età
- Classic Onset se l'insorgenza avviene all'interno del range di 20-59 anni età
- Late Onset se l'insorgenza avviene dopo i 60 anni di età.

Come detto anche in precedenza il fattore che influenza maggiormente l'età di esordio è il numero di triplette CAG espanse nel primo esone del gene IT15, con una correlazione inversamente proporzionale tra il numero di triplette ed età di esordio. In verità la correlazione diviene lineare solo in presenza di espansioni ampie CAG length>60, mentre con espansioni intermedie (30-60) la forbice di esordio si allarga rendendo possibile sia un esordio in classico o late onset.[146].

Il numero di triplette è responsabile del 66% della varianza dell'età di esordio.

Si sono ricercati a livello genetico loci all'interno del gene IT-15, in geni limitrofi o fattori ambientali che potessero essere responsabile della modifica dell'età di esordio della HD [147,148]. I principali geni studiati e indicati come modificatori sono stati: ApoE, BDNF, polimorfismo NR2A e NR2B del recettore NMDA, HAP1, GIRK2, UHC-L1, CNR1, NPY e NPY2R.

Tuttavia, nessuno di questi è stato comprovato come certo modificatore dell'età d'insorgenza nei pazienti affetti da HD. [149-155]

Tabella I Stadi della malattia di Huntington [156]

<u>A Preclinical stage</u>	
A1 At risk stage (50%), one affected parent	<ul style="list-style-type: none"> - Anxiousness for the future - Uncertainty about carrieship - Care for affected parent
A2 Gene carrier, premanifest stage	<ul style="list-style-type: none"> -Certainty about carrieship -New position in the family -Renewed uncertainty about onset -Care for affected parent and own family
A3 Transition phase	<ul style="list-style-type: none"> -Strong feelings about changes in cognition -Changes in behaviour -Changes in motor activity -Uncertainty remains
<u>B Clinical stage, manifest stage</u>	
B1 Clinical stage I	<ul style="list-style-type: none"> -Presentation first symptoms: neurological, cognitive or psychiatric -Chorea most prominent symptom -Independent in ADL -Burden for the family mainly psychological -Rare death, unless suicide
B2 Clinical stage II	<ul style="list-style-type: none"> -Motor disturbance more generalised -Physical dependence starts -Burden for the family psychological and physical -Death by other cause, suicide, euthanasia
B3 Clinical stage III	<ul style="list-style-type: none"> -Severe generalised motor disturbance -Almost complete physical dependence -Patient completely dependent on care -Burden for family mainly physical -Death

1.5.2 Scala clinica associata alla patologia UHDRS

La valutazione dei pazienti avviene mediante parametri clinici standardizzati e riconosciuti a livello internazionale contenuti nella scala UHDRS (Unified Huntington's Disease Rating Scale), ideata e convalidata nel 1996 dall'Huntington study Group". [157].

La scala è suddivisa in quattro sezioni separate: la prima valuta l'aspetto motorio (Motor Assessment), la seconda l'ambito cognitivo (Cognitive Assessment), la terza quello comportamentale (Behaviour Assessment), invece l'ultima sezione valuta le capacità funzionali.

UHDRS I (Motor Assessment) è composta da 31 items motori e ad ognuno di essi viene associato un punteggio che va da 0, assenza di anomalie, fino al 4 che indica la compromissione più grave.

Alcuni degli items valutati sono: la motilità oculare, i movimenti volontari, la bradicinesia/rigidità, la deambulazione, la stabilità posturale, l'equilibrio, la distonia e i movimenti coreici. Una menzione speciale meritano questi ultimi due parametri, poiché il punteggio che gli viene attribuito rispecchia tanto la gravità che la frequenza del sintomo (0= assente; 1=scarsa/saltuaria; 2= lieve/ frequente o moderata saltuaria; 3= moderata/frequente; 4= grave continua e prolungata), inoltre, presentano più sezioni di valutazione:

- Distonia 5 sezioni (arto inferiore destro e sinistro, arto superiore destro e sinistro, tronco),
- Corea 7 sezioni (faccia, regione oro-bocca-linguale, arto superiore destro, arto superiore sinistro, tronco, arto inferiore destro, arto inferiore sinistro).

Dalla somma di tutti gli item del UHDRS I si ottiene il Total Motor Score (TMS), il quale fornisce un punteggio compreso nell'intervallo 0-124; quanto quest'ultimo è elevato tanto più va a indicare un danno motorio rilevante e grave. Il valore di TMS è utile ai fini diagnostici, poiché dalla congiunzione di quest'ultimo e l'impressione clinica del paziente, il medico assegna un punteggio di confidenza diagnostica (Disease Rating Scale Diagnostic Confidence Score; DCS) compreso tra 0-4, che riflette la sua convinzione che i segni motori siano rappresentativi di HD.

UHDRS II (Cognitive Assessment) valuta le capacità cognitive del paziente mediante dei test neuropsicologici:

- Test di fluenza per lettera e categoria semantica
- Stroop test (denominazione colori, lettura delle parole, interferenze)
- Symbol digit modalities test

Lo score cognitivo totale si ottiene sommando i vari test e tanto più lo score è basso più le prestazioni cognitive sono in declino. Nelle fasi avanzate della patologia è difficile per il paziente eseguire i test che hanno quindi un effetto pavimento.

UHDRS III (Behavior assessment), la sezione comportamentale di UHDRS si suddivide in 11 item adibiti a valutare segni e sintomi comportamentali ad ognuno dei quali viene dato un punteggio da 0 a 4, in base a gravità e frequenza, dove lo 0 indica che non è presente e 4 che è grave e frequente.

Il punteggio comportamentale totale viene calcolato tramite la somma delle varie voci di frequenza e gravità, ed il suo range di valori va da 0 (nessun sintomo comportamentale) a 88 (sintomi comportamentali gravi).

UHDRS IV, la valutazione funzionale si suddivide in tre componenti:

- Capacità Funzionale Totale (TFC) fornisce una valutazione standard sulla funzionalità complessiva nel paziente affetto da HD ed è utile per evidenziare e valutare la progressione della patologia nel tempo. Il TFC valuta gli individui sotto i seguenti aspetti: occupazione, gestione delle finanze, faccende domestiche e attività della vita quotidiana. Il punteggio varia da 13 (funzionalità normale) a 0 (perdita completa di funzionalità).
- Scala di valutazione funzionale (FAS) è composta da 25 domande a risposta secca si/no sulle attività quotidiane comuni, ogni risposta vale 1 ed il punteggio è compreso nell'intervallo 0-25.
- Scala di indipendenza (IS) valuta il livello di indipendenza del paziente mediante un singolo punteggio tra 10 e 100.

In tutti i punteggi che valutano la capacità funzionale, più il punteggio è basso più è presente un deficit in quello specifico ambito.

In seguito all'esordio della malattia, quest'ultima va incontro ad una progressione che viene suddivisa in 5 stadi che sono stati descritti dalla classificazione di Shoulson e Fahn. Inoltre, le medesime fasi corrispondono anche al punteggio del TFC di UHDRS, siccome è basato sugli stessi domini funzionali. (Tabella II). Nella pratica clinica vengono utilizzati i termini più generali di stadio precoce, moderato ed avanzato della patologia (Tabella III)

Tabella II Il sistema di stadiazione di Shoulson-Fahn

	Total Functional Capacity (TFC)	Stage
Early	11-13	I
	7-10	II
Moderate or mid	4-6	III
Advanced or late	1-3	IV
	0	V

Tabella III Relazione tra Capacità funzionale totale (TFC) e la classificazione di Shoulson-Fahn degli stadi clinici [25]

Stage of disease	Engagement in occupation	Capacity to handle financial affairs	Capacity to manage domestic responsibilities	Capacity to perform activities of daily living	Care can be provided at.
I	Usual level	Full	Full	Full	Home
II	Lower level	Requires slight assistance	Full	Full	Home
III	marginal	Requires major assistance	Impaired	Midly impaired	Home
IV	Unable	Unable	Unable	Moderately impaired	Home or extended care facility
V	Unable	Unable	Unable	Severely impaired	Total care facility

1.5.3 Scale di valutazione comportamentale PBA-HD e PBA-s

I sintomi comportamentali tra i quali apatia, irritabilità e depressione, anche se variabili per tempo e modalità di esordio, presentano un grosso impatto sulle capacità funzionali e la qualità della vita dei pazienti HD. [158-161].

Al fine di valutare gli aspetti comportamentali che risultino alterati nei pazienti affetti da HD, si utilizza una intervista semi strutturata di 40 item, la “The Problem

Behavior Assessment for HD” (PBA-HD).[159] Quest’ultima è a sua volta suddivisa in tre sotto scale: PBA-HD apathy, PBA-HD irritability, PBA-HD depression.

Una versione ridotta della PBA-HD, maggiormente utilizzata nella pratica clinica, è la PBA-s; Quest’ultima è una intervista semi strutturata di 11 item rappresentanti i principali e comuni sintomi comportamentali e psichiatrici di HD. Tale versione è stata sviluppata dalla Behavior Phenotype Working Group dell’European Huntington’s Disease Network (EHDN).[163].

1.5.4 Scale di valutazione cognitiva

1.5.4.1 UHDRS-FAP sezione cognitiva

L’UHDRS-FAP è stata originalmente ideato a partire dell’UHDRS classico ma con dei correttivi che tengano conto dei limiti dei test nei pazienti HD in stadio avanzato (UHDRS-TFC 5). Il test mantiene la suddivisione delle sezioni in motoria, cognitiva e comportamentale dell’UHDRS ma inoltre aggiunge una sezione somatica, la quale valuta segni e sintomi che si manifestano con la progressione della patologia.

La sezione cognitiva del UHDRS-FAP è composta dal test Stroop [164] e ulteriori test del Protocole Toulouse-Montreal d’Evaluation des Gnosies Visuelles [165] (compiti di puntamento, comandi, semplici, domande di orientamento temporale, domande di orientamento temporale, serie automatiche, corrispondenza categoriale e funzionale. Valutazione della partecipazione alle attività quotidiane).

La sezione cognitiva dell’UHDRS-FAP è stata utilizzata solo in uno solo studio dai suoi creatori originali, nel quale si era riscontrata un’eccellente consistenza interna e una forte correlazione tra le sezioni somatiche e quelle motorie; inoltre, la sezione cognitiva di UHDRS-FAP si è rilevata essere più sensibile ai cambiamenti nel corso del tempo rispetto alla sezione cognitiva dell’UHDRS originale.[164]

In generale la sezione cognitiva UHDRS-FAP è raccomandata per valutare le disfunzionalità cognitive in pazienti con HD in stadio avanzato.

1.5.4.2 Mini-Mental State Examinaton (MMSE)

IL MMSE è un test rapido di 30 punti utilizzato ampiamente tanto in ambito clinico quanto nella ricerca per valutare la cognizione a livello globale e per lo screening della demenza; punteggi più alti indicano una migliore cognizione.

La maggior parte degli studi sul trattamento di HD indicano che MMSE non è sensibile nel tempo [166;167-169]. Nonostante ciò, il test ha una migliore sensibilità negli stadi moderati e gravi della patologia rispetto a quelli precoci e può quindi risultare utile nel monitoraggio della progressione di HD dalla forma moderata a quella grave.[170]

1.5.4.3 Montreal Cognitive Assessment (MoCA)

Il MoCA è un breve test composto da 30 punti atti a eseguire una valutazione generica della funzione cognitiva, più il punteggio del test risulta essere elevato più elevata è la funzionalità cognitiva del paziente. Il MoCA valuta molteplici domini cognitivi: orientamento spaziotemporale, attenzione sostenuta, memoria visuospatiale/esecutiva, verbale, linguaggio, denominazione e alfabetizzazione/pensiero astratto. Il MoCA è stato utilizzato in diversi studi riguardanti la HD in tutti gli stadi patologici clinici di quest'ultima. [171-172].

Il valore considerato di cut-off per il deterioramento cognitivo varia tra i diversi studi presi in considerazione, in uno il punteggio limite considerato come indicativo del deterioramento cognitivo era <24[172], mentre un altro studio ha riscontrato un cut-off <26 per avere una sensibilità e specificità rispettivamente di 94% e 84% nel rilevare la disfunzione cognitiva nella HD.[173]. Il MoCA è più sensibile a una prestazione cognitiva anormale nella HD rispetto al precedentemente citato MMSE.[172]; in aggiunta a quanto appena detto il MoCA si è dimostrato essere più sensibile a riconoscere la disfunzione cognitiva all'interno di vari disturbi neurologici, coprendo una gamma più ampia di domini cognitivi rispetto al MMSE, in particolare quando la compromissione si mantiene tra un livello lieve e moderato.[174]

1.5.5 Sintomi e segni motori

I sintomi motori comprendono due grandi categorie: i movimenti motori involontari e i movimenti volontari alterati. La Corea è il movimento involontario più peculiare della HD, la quale viene definita come movimento di durata ridotta, involontario, eccessivo, incoercibile e afinalistico. Inizialmente, la corea coinvolge spesso le estremità distali delle dita dei piedi e delle mani, ma anche dei piccoli muscoli mimici facciali con movimenti di ridotta ampiezza; quest'ultimi potrebbero apparire spesso invisibili od erroneamente interpretati come nervosismo.

Progressivamente i movimenti coreici si diffondono dalle porzioni muscolari più distali a quelle più prossimali ed assiali, inoltre i movimenti crescono anche in ampiezza e frequenza. La corea affligge il paziente per tutta la veglia, ma con schemi molto variabili tra di loro. Per esempio, i movimenti coreici facciali possono portare ad un movimento continuo per attivazione dei muscoli facciali e del collo dove si crea una sequenza in cui si solleva un sopracciglio, si chiudono gli occhi, si protrude la lingua con associata la rotazione o piega del capo; il movimento coreico di iperestensione della schiena è una indicazione del coinvolgimento dei gruppi muscolari assiali.

La corea impatta anche sulla scrittura, l'eloquio e la deglutizione, le quali con il progredire della patologia diventano sempre più problematiche fino a portare il paziente ad essere disartico e disfagico.

I pazienti tendono a sviluppare anche altre alterazioni motorie involontarie come la distonia, la quale è causata da contrazioni muscolari prolungate e inadeguate che portano all'instaurarsi di posture anormali e non fisiologiche come il torcicollo e l'opisthotonos (incarceramento della schiena); la distonia può essere anche il sintomo di esordio della HD. Ulteriori caratteristiche motorie involontarie sono i tic, paragonabili a quelli della sindrome di Tourette ma rari di incidenza, i segni di affezione cerebellare che compaiono sporadicamente, gli scatti mioclonici ed il segno di Babinski che è presente incidentalmente.

Con il progredire della patologia diventano sempre più predominanti disfunzioni a carico di movimenti volontari, quindi: bradicinesia, acinesia e ipocinesia, ma anche rigidità e riflessi posturali alterati. Tutto ciò comporta problemi nella deambulazione e nel mantenere una posizione eretta, soprattutto nelle fasi avanzate,

andando spesso ad instaurare una marcia definita atassica associata a frequenti cadute, soprattutto su terreni irregolari. Bisogna tenere in considerazione che i sintomi motori possono essere esacerbati da infezioni ricorrenti, stress e ansia, per le quali sarà necessario un trattamento appropriato.

L'influenza del disturbo motorio sulle attività della vita quotidiana progredisce nel tempo. Oltre ad alterazioni nella marcia e nell'equilibrio, con il passare del tempo attività quotidiane che richiedono movimenti volontari come alzarsi dal letto, vestirsi, farsi la doccia, pulire la casa, mangiare e cucinare diverranno sempre più ostiche; inoltre, in dipendenza del lavoro svolto da paziente, prima o poi i disturbi motori andranno anche ad inficiare le prestazioni lavorative in modo irreparabile, nonostante i disturbi cognitivi e psichiatrici non siano ancora manifesti.

In generale i movimenti involontari risultano più frequenti nelle forme di HD classic of onset e nelle fasi precoci della patologia. Tipicamente i movimenti coreici e i tic sono i primi a comparire, rimanendo stabili per un periodo di tempo variabile più o meno lungo, per poi diminuire nelle fasi terminali della malattia quando invece prenderanno sempre più rilevanza le alterazioni della mobilità volontaria, come la bradicinesia e la rigidità plastica nel quadro motorio.

Nonostante quanto affermato fino ad adesso, in dipendenza dell'età di esordio e delle fasi della storia naturale della patologia, la prevalenza dei movimenti motori involontari rispetto ai movimenti motori volontari alterati/disfunzionali presenta una grossa variabilità interindividuale.

1.5.6 Sintomi e segni psichiatrici

I sintomi psichiatrici sono estremamente eterogeni e non correlano con la gravità dei sintomi motori e del decadimento cognitivo [175]; Dal punto di vista neuroanatomico derivano da un'atrofia dello striato associativo e limbico con alterazione a carico dei circuiti del sistema fronto-striatale.

La sintomatologia psichiatrica è frequentemente presente nella fase iniziale della patologia, pare che 80% dei pazienti la presenti già in fase prodromica prima dell'instaurarsi dei sintomi motori [175]; secondo altri studi la percentuale di pazienti presentanti tali sintomi oscilla tra il 33-76% in base alla metodologia dello studio utilizzato. [156]

I segni e sintomi psichiatrici, a causa della loro natura, hanno un impatto fortemente negativo sulla vita quotidiana, sulla funzionalità, l'ambiente familiare e la stessa gestione della patologia.

Il segno psichiatrico più rappresentato è la depressione che ha una prevalenza di oltre il 40% nei pazienti affetti da HD [176]. Solitamente il paziente presenta bassa autostima, ansia e sensi di colpa; la diagnosi di un quadro depressivo in contesto di HD non è sempre facile poiché i pazienti presentano frequentemente allo stesso tempo apatia, inattività e perdita di peso.

L'ansia è il secondo segno psichiatrico più rappresentato e si manifesta solitamente in relazione all'incertezza sull'inizio o decorso della malattia. Né la depressione né l'ansia sono correlate allo stadio della patologia e possono manifestarsi nella HD pre-manifesta [177].

Le ossessioni e le compulsioni possono disturbare la vita del paziente fino a sfociare in aggressività e irritabilità. Quest'ultima, in retrospettiva, è spesso il primo segno psichiatrico della patologia, ma in verità si manifesta in tutte le varie fasi della malattia anche con aggressioni verbali e fisiche. [178]

L'apatia, caratterizzata da perdita di interesse, difficoltà ad avviare attività e comportamenti passivi, è un sintomo comune ed invalidante, ma soprattutto è correlato allo stadio della malattia e peggiora nel tempo. Inoltre, l'apatia è stata dimostrata essere un predittore importante del declino funzionale, oltre che essere resistente al trattamento farmacologico.[129]

Altri sintomi psichiatrici sono i pensieri e comportamenti ossessivi e compulsivi, la psicosi, che può essere raramente associata in contemporanea con il declino cognitivo nelle fasi avanzate della malattia, l'ipersessualità che può manifestarsi nelle fasi precoci della patologia, mentre l'ipossessualità caratterizza le fasi avanzate della stessa.[179]

Il suicidio è la seconda causa di morte più comune nella HD; Il rischio dell'atto di suicidio da parte del paziente è più alto in due momenti: il primo quando il paziente da una condizione pre-manifesta inizia a sviluppare una forma manifesta, la seconda in seguito alla perdita di indipendenza nella fase avanzata della patologia.[180]. Lo studio (Paulsen JS et al. 2005) su 4171 pazienti affetti da HD

ha rilevato che il 10 % di essi aveva fatto un precedente tentativo di suicidio e il 17,5 % aveva avuto pensieri riguardanti il suicidio.[181]. Tra i fattori di rischio di suicidio si annoverano la depressione e l'impulsività.[182] e si stima che il rischio suicidario sia 5 volte superiore nei pazienti affetti da HD rispetto alla popolazione generale [181]. Le caratteristiche sociodemografiche e cliniche dei pazienti rivestono un ruolo importante nel comportamento suicidario.

1.5.7 Decadimento cognitivo

Il declino cognitivo è uno dei segni cardine della HD e può essere presente in forma lieve anni prima dell'esordio della patologia e dei sintomi motori, fino a progredire in una demenza sottocorticale e frontale franca nella malattia avanzata; allo stesso tempo i sintomi cognitivi potrebbero essere molto lievi anche in stadi avanzati della patologia, da ciò si deduce che è presente una grande variabilità individuale per quest'ultimi.

Lo studio TRACK-HD ha evidenziato dei deficit precoci dell'attenzione visiva, dell'integrazione visuomotoria e spaziale e della velocità psicomotoria, nonostante gli stessi pazienti non siano consapevoli dell'esistenza di tali problemi e rallentamenti.[129]

I cambiamenti cognitivi a cui va incontro il paziente affetto da HD coinvolgono in particolare le funzioni esecutive e del pensiero concreto. In condizioni normali gli individui sono capaci di distinguere ciò che è rilevante da ciò che può essere ignorato, facendo sì che il comportamento motorio cognitivo sia mirato, preciso e pianificato, ma i pazienti con HD perdono tale capacità; infatti, i pazienti manifestano problematiche nel pianificare la propria vita ed attività semplici, perdono l'elasticità mentale e non riescono a adattarsi a nuovi stimoli con conseguenti giudizi errati e comportamenti inadeguati o sorprendenti.

Quindi, tipicamente le persone affette da HD, come appena accennato, presentano problematiche nel multi-tasking e nella concentrazione già nelle prime fasi della malattia, però nel progredire della stessa vengono meno anche le capacità astrattive, il pensiero è sempre meno efficiente e divengono difficoltose la pianificazione, l'iniziativa e l'organizzazione del tempo, dei pensieri e delle attività.

Tutto gli elementi appena elencati non fanno altro che esacerbare la condizione di stress a cui sono sottoposti i pazienti e la problematica di concentrazione che quest'ultimi presentano.

Oltre alle funzioni esecutive, possono essere presenti alterazioni anche in altri settori, tra i quali:

- Memoria: la memoria a breve termine con l'avanzare della patologia diviene sempre più compromessa soprattutto nell'apprendere nuove informazioni, ma anche che nel richiamo di quelle già precedentemente apprese; sebbene la memoria semantica possa venir risparmiata per una certa porzione. Alcuni studi hanno evidenziato un richiamo libero ridotto riguardante la memoria prospettica, la memoria di riconoscimento e nella memoria della fonte. Inoltre, sono presenti dei deficit nella memoria dichiarativa e in quella procedurale. In generale progressivamente tutti i processi psicomotori diventano gravemente ritardati e inefficienti.
- Attenzione: difficoltà nella gestione del contenuto e flusso di informazioni acquisite, a cui segue una problematica nei tempi di processamento delle stesse, di attenzione sostenuta nel tempo e distribuita.
- Linguaggio: Le difficoltà del linguaggio derivano da una combinazione di disartria, come si era già accennato nei sintomi motori, e difficoltà nell'organizzazione nei pensieri da esprimere associata a ridotta e alterata comprensione degli altri e del messaggio veicolato da essi. I pazienti affetti da HD hanno difficoltà a richiamare le parole giuste e questo comporta un tempo maggiore per rispondere e nel comunicare in senso assoluto. La sintassi risulta spesso disorganizzata e povera di aggettivi e pronomi. Un'anartria completa è una conseguenza frequente nelle fasi avanzate della patologia. Le problematiche di comunicazione rappresentano una forte fonte di stress sia per gli stessi pazienti che per i loro interlocutori.
- Elaborazione delle emozioni: Studi portano evidenze che le persone affette da HD presentano difficoltà nel comprendere ed elaborare le espressioni facciali esprimenti disgusto e altre emozioni negative, nello specifico paura e rabbia [183]. Sono state anche comprovate capacità carenti nell'espressione emotiva e scarsi risultati nei test di "Teoria della mente", i quali richiedono una corretta attribuzione di credenze, stati mentali,

intenzioni, sarcasmo e riconoscimento di comportamenti sociali inappropriati. Probabilmente tali difficoltà è alla base delle problematiche di interazione interpersonale dei pazienti affetti da HD.

1.5.8 Sintomi secondari

Oltre ai tre grossi gruppi di sintomi caratterizzanti la HD: motori, psichiatrici e cognitivi, i pazienti possono sviluppare problematiche neurologiche secondarie quali la deglutizione e il sonno.

La disfagia deriva dalla mancata coordinazione dei muscoli orali e faringei, che possono sfociare in episodi di soffocamento e nei casi più gravi di polmonite ab ingestis. Invece, il disturbo del sonno può derivare da una disfunzione primaria del ritmo circadiano che porta all'inversione del ciclo sonno-veglia. A ciò va aggiunto che l'ansia e la corea notturna possono contribuire all'insonnia e alla riduzione significativa della qualità della vita.

1.5.9 Sintomi periferici

Nonostante la HD sia una patologia che colpisce principalmente il SNC, siccome la proteina Huntingtina è espressa in modalità ubiquitaria in tutte le cellule del corpo umano, anche in quest'ultima malattia si osservano alcuni sintomi sistemici. Fin dalle prime fasi della patologia, anche nella fase prodromica, in tutti i pazienti è segnalata una perdita di peso non intenzionale, secondaria a un catabolismo sottostante, che può portare alla cachessia.

Nonostante sia logico pensare che la corea debba svolgere un ruolo importante nella perdita di peso, in verità, ciò non è stato comprovato mediante l'esistenza di alcune relazioni tra calo ponderale e la corea o altri disturbi del movimento. Allo stesso tempo esiste un 'associazione tale per cui più l'indice di massa corporea è elevato all'esordio della patologia, più è lenta la velocità di progressione della stessa.[164]

Ulteriori sintomi periferici includono l'osteoporosi e l'atrofia del muscolo striato scheletrico., a cui va associata una maggiore incidenza dell'insufficienza cardiaca rispetto ai controlli di pari età, 30% contro 2%.[180]. Si verifica inoltre una disfunzione endocrina sotto forma di ridotta tolleranza al glucosio, bassi livelli di testosterone maschile e ipotiroidismo; nonostante l'atrofia testicolare associata a

tubuli seminiferi anormali e bassi livelli di testosterone maschile, ciò non va a influenzare la fertilità maschile.

1.5.10 Malattia di Huntington giovanile (JHD)

Quando i primi sintomi e segni patologici si manifestano in pazienti presentanti un'età inferiore ai 20 anni di età si parla di malattia di Huntington giovanile, in inglese Juvenile Huntington Disease (JHD). Nella maggior parte dei casi la lunghezza della ripetizione CAG del gene IT15 è superiore a 55, inoltre il 75% dei pazienti presenta come genitore affetto il padre.[184]

La presentazione clinica differisce dalla malattia nella forma adulta rispetto alla rigidità, acinesia e bradicinesia, le quali sono presenti fin dalle fasi iniziali della malattia, essendo inoltre associate ad un ridotto coinvolgimento di movimenti ipercinetici od al massimo episodi distonici; la corea si manifesta raramente nella prima decade della patologia, più frequentemente nella seconda. Le difficoltà di apprendimento e problemi comportamentali a scuola sono molte volte i primi segnali della patologia, mentre le convulsioni coinvolgono il 30-50% dei pazienti.[185]

Questo fenotipo rigido di HD è anche nota con il nome di variante acinetica-rigida o Westphal, in rare occasioni tale variante può avere presentazione nell'età adulta.

1.5 NEUROIMAGING

Studi di neuroimaging strutturali, come la risonanza magnetica (MRI) e funzionali, come la risonanza magnetica funzionale (fMRI) e PET presentano un ruolo cruciale per la caratterizzazione tanto strutturale che funzionale a livello cerebrale delle varie fasi della patologia di HD.

1.6.1 Neuroimaging strutturale: MRI

Il cambiamento più consistente che si evidenzia mediante un'analisi strutturale, MRI, basato su l'analisi delle sequenze volumetriche pesate in T1, nel cervello dei pazienti affetti di HD è una significativa progressiva perdita di volume a livello striatale, in particolare per la degenerazione dei neuroni MSN GABAergici.

A sostegno di ciò, dagli studi di Harris (Harris et al. 1996), si è riscontrata una riduzione del 50-54% del volume medio del putamen e del 28-29% del caudato in

pazienti con HD da forme lievi a moderate. [187, 189] L'atrofia striatale è stata evidenziata, inoltre, sia in pazienti HD precoci presentanti TFC tra I-II [188,189] sia in pazienti portatori del gene mutato 10-15 anni prima dell'insorgenza prevista dei sintomi. [191,192,193]

Relativamente alla relazione tra imaging RM e clinica è stato evidenziato che: 1) che la quantità di perdita volumetrica dello striato correla con l'età d'insorgenza della patologia e la lunghezza delle ripetizioni CAG nel gene HTT[189,190,194] 2) che la stessa disabilità motoria si associa con una maggiore atrofia del putamen e infine 3) che i punteggi ricavati dal Mini-Mental Status examination-score (MMSE) e le valutazioni cognitive sono inversamente correlati con la quantità di perdita di volume del caudato.[187,189].

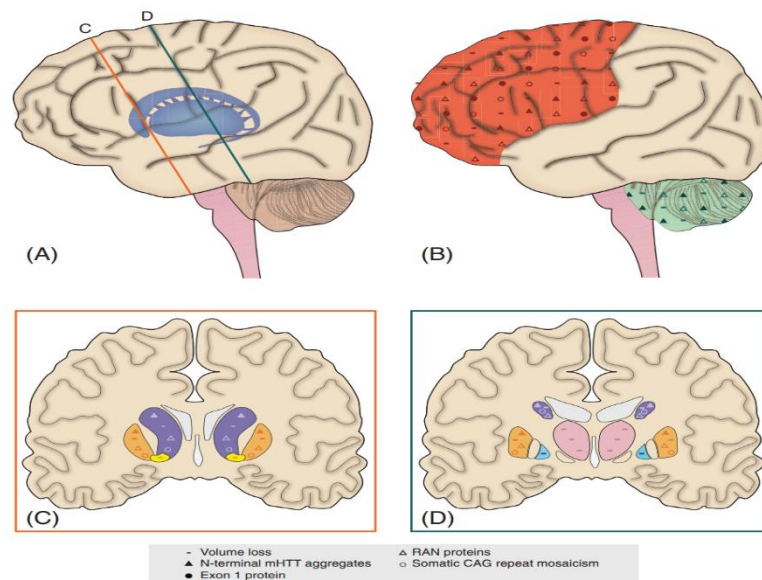


FIG. 1. Schematic illustration showing differences in juvenile-onset Huntington disease (JHD) neuropathology in comparison with adult-onset Huntington disease (AHD) neuropathology. More severe pathological hallmarks of JHD brains are seen in **A**, inset **C** and **D**: the subcortical grey matter structures and **B**: the frontoparietal cortex and, to a lesser extent, the cerebellum. Volume loss (-) is more pronounced in the frontoparietal cortex (red), cerebellum (green), caudate nucleus (purple), putamen (orange), nucleus accumbens (yellow), internal segment of the globus pallidus (blue), and the thalamus (pink). N-terminal mutant huntingtin (mHTT) aggregates (▲) are more abundant in the frontal cortex, caudate nucleus, putamen, and, to a lesser extent, cerebellum of JHD brains. Exon 1 protein (●) is more abundant in the frontoparietal cortex and hippocampus (not displayed) of JHD brains. Repeat-associated non-ATG nuclear (RAN) proteins (▲) are more abundant in the striatum, frontal cortex, and cerebellum of JHD brains. Somatic CAG repeat mosaicism (○) is greater in the neocortex, caudate nucleus, and putamen of JHD brains. [Color figure can be viewed at wileyonlinelibrary.com]

Fig. 6 Illustrazione schematica che mostra le differenze neuropatologiche tra JHD e AHD[112]

Oltre alla perdita di volume striatale, nei pazienti con HD è presente una perdita di volume corticale, il cui assottigliamento avviene nelle fasi precoci della malattia e sembra essere topograficamente selettivo delle regioni corticali con un progressivo coinvolgimento delle stesse in senso postero-anteriore. [195,196].

Nonostante il pattern di assottigliamento corticale appena spiegato, la variabilità regionale ed individuale di quest'ultimo sembra avere un ruolo nella variabilità fenotipica che riscontriamo nei pazienti con HD.

Per esempio, pazienti con bradicinesia più marcata hanno mostrato una perdita volumetrica corticale nelle regioni frontali, comprese tra le aree premotorie e motorie supplementari, maggiori rispetto ai pazienti HD con fenotipo prettamente motorio associato alla corea. [196,197].

L'assottigliamento corticale è stato dimostrato correlare con misure cliniche come TFC, UHDRS e test cognitivi. Per le seguenti motivazioni, la misurazione dell'assottigliamento corticale rappresenta un biomarcatore utile per la valutazione dell'efficacia delle terapie neuroprotettive. [196,197].

Oltre a quanto appena asserito nei pazienti affetti da HD è stata identificata un'atrofia diffusa della sostanza bianca (WM), la quale si associa al declino delle prestazioni motorie e cognitive ed a una maggiore lunghezza delle triplette CAG nel primo esone del gene HTT. [197,199] I cambiamenti a carico della WM sono presenti fin da 12-15 anni prima dell'inizio clinico della patologia, rendendo così manifesto come la degenerazione della connettività strutturale sia alla base della patogenesi di HD.[129]

Un importante studio, il TRACK-HD ha eseguito una valutazione longitudinale multicentrica, mediante MRI, al fine di identificare i principali biomarcatori sensibili ed affidabili nei pazienti con portatore del gene mutato premanifesto di HD e nei pazienti aventi HD precoce (early- on- set) [39;197-201] All'interno dello studio sono stati arruolati 4 gruppi di pazienti HD, 120 portatori del gene HD premanifesto sono stati suddivisi in pre- HD A e pre-HD B in dipendenza della vicinanza di insorgenza della patologia (pre-HD A > 10,8 anni, pre-HD B <10,8 anni), mentre 123 pazienti con HD precoci (early-on-stage) sono stati suddivisi in due gruppi in base al punteggio TFC (HD stadio I, HD stadio II). Dopo 12 mesi di follow-up al MRI è stata riscontrata un'atrofia del volume cerebrale dell'entità del 1,4%-4, % in tutti i gruppi dello studio rispetto al basale non affetto da HD, inoltre, anche l'atrofia della WM risultava aumentata in tutti i gruppi. Una rivalutazione eseguita dopo oltre 24 mesi dal follow up evidenziavano maggiori incrementi di atrofia nel caudato e nel putamen in tutti i 4 sottogruppi. Nello specifico i tassi di perdita dell'intero encefalo e della sostanza grigia nel caudato e putamen (GM) erano più elevati nei gruppi HD-I, HD II e pre-HD B, mentre nel sottogruppo preHD A l'atrofia della GM era localizzata unicamente a livello dello striato. [197-201]

A 36 mesi. I pazienti HD early-on-stage mostravano un'atrofia sempre più progressiva dell'intero encefalo, caudato, putamen e della GM associata ad un declino del TFC, mentre nel gruppo pre-HD A sebbene siano stati osservati tassi di aumento di atrofia cerebrale, striatale e della WM, tali pazienti non erano accompagnati da un peggioramento progressivo delle funzionalità motorie e cognitive, in contrapposizione a quanto riscontrato nel gruppo pre- HD B. [199]

Inoltre, le misure della GM e del volume striatale erano predittori molto sensibili della successiva diagnosi clinica di HD nei pazienti del gruppo pre-HD B. [200] Dai risultati del seguente studio si comprende l'utilità della MRI nel tracciare la patologia nei portatori del gene mutato pre-manifesto e del gene manifesto.

1.6.2 Neuroimaging funzionale: PET e fMRI

Il neuroimaging con emissione di positroni (PET) e la risonanza magnetica funzionale fMRI possono espletare diversi ruoli nello studio della HD; infatti, queste modalità di imaging possono essere particolarmente utili al fine di studiare le basi fisiologiche dei cambiamenti comportamentali, cognitivi e motori riscontrati nella patologia.

Siccome molti sintomi cognitivi indicanti una disfunzione o sofferenza neuronale possono essere presenti prima dei sintomi motori che rendono manifesta la patologia, l'utilizzo del neuroimaging funzionale può essere più indicato e sensibile all'individuare i primi cambiamenti rispetto agli studi strutturati. [94] A tal fine l'utilizzo della fMRI e della PET risulta di grande utilità nel valutare i migliori e potenziali interventi neuroprotettivi da mettere in atto per ritardare il più possibile i sintomi nei soggetti affetti da HD, oltre che valutare l'evoluzione della stessa patologia e l'efficacia di possibili terapie modificanti la malattia.

1.6.3 MRI funzionale

Vi sono sempre più evidenze scientifiche che sostengano, che la gravità della sintomatologia all'interno della HD non dipenda solo dalla perdita neuronale, ma anche dalla disfunzione neuronale e dalla riorganizzazione dei circuiti che possono verificarsi prima del processo neurodegenerativo. Gli approcci di neuroimaging funzionale, come la risonanza magnetica funzionale basata su l'acquisizione di sequenze ecoplanari dinamiche in condizioni di riposo (resting-state –fMRI), hanno

quindi sempre maggiore rilevanza, siccome forniscono immagini dinamiche del cervello che permettono di dare delucidazioni riguardo il grado di attività neuronale nel tempo misurando la risposta emodinamica, il flusso ematico in risposta all'attivazione neuronale. [197]. In sintesi, la fMRI rappresenta l'opportunità per valutare e interpretare il cambiamento dell'attività cerebrale in seguito all'esecuzione di diversi compiti in pazienti affetti in diversi stadi e modalità della HD e non affetti dalla patologia e consente di indagare e monitorare nel tempo le alterazioni dei circuiti a seguito della patologia.

In generale dalla fMRI, dei pazienti affetti da HD manifesta, si evidenzia una ridotta attivazione neuronale orientata a svolgere un compito in diverse aree sottocorticali e corticali, però allo stesso tempo associata ad una maggiore attivazione di altre aree corticali, che vengono interpretate come meccanismi compensatori per migliorare le prestazioni cognitive [200-205].

Un peculiare studio eseguito da Unshuld e colleghi [209] mediante l'ausilio di fMRI [206] ha studiato le reti di connettività funzionale, durante l'esecuzione di un compito di denominazione di colori con effetto Stroop, sia nei portatori del gene pre-manifesto di HD che nei controlli sani, nel quale entrambi presentavano sintomi di natura depressiva. Come risultato si è ottenuto che l'attività della corteccia prefrontale ventromediale associata all'effetto Stroop era più correlata ai sintomi depressivi nei portatori del gene pre-manifesto di HD rispetto ai controlli sani. Nello specifico la correlazione era più forte nei portatori di un numero di HD presentanti più di 42 ripetizioni della tripletta CAG.[207] Invece, utilizzando il test della torre di Londra, il medesimo gruppo dello studio precedente, ha riscontrato un accoppiamento funzionale ridotto tra la corteccia premotoria sinistra e l'area della corteccia prefrontale mediale in un gruppo di soggetti HD precoci e portatori del gene pre-manifesto di HD.[208] I risultati appena elencati suggeriscono che anche nella fase precoce della patologia la disfunzionalità della connettività della rete cerebrale riflette i deficit cognitivi e dell'umore dei pazienti.

Ulteriori studi si sono focalizzati sullo studio dei modelli di connettività cerebrale a riposo con fMRI, infatti, tale approccio fornisce informazioni sui cambiamenti funzionali cerebrali senza la necessità di richiedere al paziente di eseguire un compito. [209,210].

Tramite le acquisizioni dinamiche fMRI a riposo (resting-state fMRI) è stata rilevata una ridotta attività intrinseca della connettività funzionale nei pazienti con HD manifesta e nei portatori di geni pre-manifesti di HD, in aggiunta si evidenzia una ridotta sincronia del blood-oxygen-level-dependent (BOLD) tra il caudato e la corteccia premotoria; si sono riscontrate diverse reti di connettività anomali come, ad esempio, una ridotta sincronizzazione dello stato di riposo nella rete sensorimotoria. [211].

Quindi la fMRI in stato di riposo può essere utile per rilevare la disfunzionalità neuronale precoce, siccome una disfunzionalità alla rete di connettività funzionale è presente tanto nei pazienti HD manifesti che quelli HD premanifesti.

Alterazioni neurovascolari come l'aumento del volume ematico cerebrale arteriolare corticale (CBV) [207] e cambiamenti metabolici cerebrali, come la riduzione di N-acetilaspargato e glutammato che avvengono nella corteccia cingolata si verificano prima dell'instaurarsi di una sostanziale atrofia cerebrale [211]; ciò suggerisce che vista l'antecedenza dei danni funzionali rispetto agli strutturali, la fMRI possa essere più utile della MRI nelle fasi precoci della patologia.

1.6.4 Tomografia a emissione di positroni (PET)

La PET è una tecnica di imaging funzionale della medicina nucleare che presenta ampie applicazioni in ambito neurologico, consentendo la visualizzazione tridimensionale della distribuzione dei metaboliti neuronali in sede encefalica; gli studi PET mediante l'utilizzo di vari radioligandi svolgono un ruolo fondamentale, tanto clinico quanto nella ricerca per valutare l'integrità della neurotrasmissione, per esplorare i meccanismi alla base della patologia di HD e monitorare la progressione di quest'ultima.

Seguirà ora la descrizione di varie alterazioni patologiche della HD valutate con la PET e vari radioligandi.

1.6.4.1 Flusso sanguigno cerebrale e metabolismo del glucosio

I marker utilizzati per evidenziare il flusso ematico cerebrale ed il metabolismo cerebrale del glucosio, fornendo così un indice di integrità neuronale e stato funzionale dei neuroni, sono [^{15}O]H₂O e [^{18}F]FDG .

Nella HD manifesta, utilizzando il marker $[^{15}\text{O}]\text{H}_2\text{O}$, si è riscontrata una compromissione dell'attivazione dello striato e delle sue aree di proiezione motoria frontale durante lo svolgimento delle attività motorie, come i movimenti di opposizione sequenziale dito-pollice; in aggiunta a ciò, c'è un aumento dell'attività cerebrale sincrona nelle aree insulari [214] e parietali. [213]. Quanto appena detto suggerisce che dal punto di vista fisiopatologico una perdita dei neuroni MSN dello striato, con conseguente compromissione degli output motori dei gangli della base-talamocorticali, induce per motivazioni di compensazione il reclutamento di ulteriori vie motorie accessorie. [213,214,215].

Nei pazienti HD manifesti, esplorando l'attivazione cerebrale durante l'attività di generazione delle parole, grazie all'utilizzo del marcatore $[^{15}\text{O}]\text{H}_2\text{O}$, numerosi studi hanno evidenziato la presenza di strategie linguistiche compensative, come l'attivazione del giro sopramarginale sinistro e del giro frontale inferiore destro, attuate al fine di bilanciare la patologica riduzione del flusso sanguigno cerebrale nella circonvoluzione frontale inferiore (coinvolta nella selezione lessicale) e nel cingolato anteriore.

Inoltre, gli studi con il radioligando $[^{18}\text{F}]$ FDG nei pazienti HD manifesti hanno riscontrato un ipometabolismo striatale e corticale [216-218], ove il primo è associato clinicamente prettamente a disfunzioni motorie [218], mentre il secondo a disfunzioni cognitive [219;220].

L'ipometabolismo $[^{18}\text{F}]$ FDG striatale e corticale si è individuato anche nei pazienti portatori del gene premanifesto di HD, il quale si manifesterebbe in precedenza rispetto alla perdita neuronale e strutturale nelle aree citate [221]. In verità, l'ipometabolismo individuato non era localizzato in una specifica area bensì associata a un'alterazione a livello di network: utilizzando un approccio di interconnessioni tra le aree associate da un alterato metabolismo si è riusciti a ricostruire un pattern spaziale di covarianza caratteristico nei pazienti HD premanifesti [221-223]; nello specifico aumenti bilaterali del metabolismo del glucosio a livello cerebellare, talamico e occipitale sono associati a riduzione bilaterali dello stesso nello striato, andando così a creare il precedentemente citato pattern che permette di discriminare tra controlli sani e pazienti affetti da HD. Tuttavia, tale modello ha una ridotta utilità clinica come marker di progressione

poichè, siccome nonostante presenti una buona affidabilità come marker di progressione iniziale della patologia poi si stabilizza e perdere di sensibilità al cambiamento del quadro clinico.[222]

Nonostante ciò, il seguente pattern di alterazione dell'assorbimento del [^{18}F] FDG indica una modifica a carico dei processi intracellulari nelle diverse aree coinvolte:

- Nella corteccia frontale, parietale, temporale e nello striato, dove c'è una riduzione di assorbimento del radioligando, si evidenzia una compromissione del metabolismo del calcio, della regolazione della trascrizione e nella capacità di produzione di energia a carico dei mitocondri
- Nella corteccia occipitale, cerebellare e nel talamo c'è un aumentato assorbimento del marker, il quale potrebbe essere dovuto ad una disfunzione mitocondriale che sfocia in un aumento della risposta glicolitica, oppure dalla mancata attività inibitoria dei gangli della base sul sistema talamo-corticale [222]

Analizzando il declino del tasso metabolico nei pazienti HD pre-manifesti lo studio (Ciarmiello et al.2006) [226] ha suggerito che le maggiori perdite di [^{18}F]FDG nel nucleo caudato, correlando con l'età di esordio e il numero delle CAG, potrebbero supportare la definizione dell'età di insorgenza della patologia. Inoltre, le riduzioni striatali del radioligando [^{18}F] FDG nella HD pre-manifesta diminuiscono nel tempo però in modalità inferiore a quanto osservato nell'imaging delle terminazioni dopaminergiche in HD.[227]

Uno studio peculiare ha utilizzato la PET [^{18}F]FDG su due gruppi di pazienti affetti da HD suddivisi clinicamente in base alla velocità di progressione della patologia, lenta o rapida. Nel follow-up dello studio si è riscontrato un metabolismo del glucosio inferiore nella corteccia frontale e parietale nel gruppo a progressione più veloce rispetto a quello più lento per la patologia.[225]

Pertanto, tutti gli studi e dati sopracitati suggeriscono che l'ipometabolismo del glucosio è progressivo sia nei pazienti HD pre-manifesti che in quelli HD manifesti. Tuttavia, non c'è la certezza che la PET [^{18}F] FDG possa essere impiegata al fine di prevedere il tempo di fenocconversione nei pazienti portatori del gene m-HTT.

1.6.4.2 Funzione Dopaminergica

I neuroni dopaminergici sono fisiologicamente abbondanti nei gangli della base. La presenza di radioligando a livello dei terminali presinaptici e postsinaptici può essere quantificata mediante PET al fine di valutare la funzionalità dopaminergica della HD, la quale è associata alla disfunzionalità dei gangli della base.

La Corea e le altre alterazioni motorie della HD, come Parkinsonismi e distonie, sono correlate alla compromissione della funzionalità dopaminergica [228]; quest'ultima disfunzionalità deriva a sua volta dal processo neurodegenerativo, che colpisce, principalmente i neuroni MSN striatali che esprimono i recettori dopaminergici di tipo 1 (D1), di tipo 2 (D2) e di tipo 3 nello striato laterale(D3).[229].

Tutto ciò si esplica con un coinvolgimento massivo dei terminali nervosi postsinaptici mentre i presinaptici sono relativamente risparmiati.

Gli studi PET per valutare la disfunzionalità dopaminergica postsinaptica in HD sono molteplici, poiché quest'ultima è una caratteristica chiave della patologia.

I principali marcatori PET utilizzati per valutare la disfunzionalità postsinaptica dopaminergica sono i seguenti: [¹¹C]SCH22390 come marcatore PET della densità dei recettori D1 postsinaptici e [¹¹C]raclopride e [¹¹C]FLB457 [230] come marcatori della densità dei recettori postsinaptici D2. Numerosi studi utilizzando i seguenti marcatori hanno evidenziato una riduzione significativa della densità dei recettori D1 e D2 nello striato, con una variabilità che va dal 40 % [231] al 75% [232] nei pazienti con HD manifesto e dal 25%[233] al 50%[227] nei portatori pre-manifesti del gene HD. Una caratteristica peculiare è che la perdita risulta essere maggiore nei pazienti con HD acinetica rigida rispetto ai pazienti con HD manifesta Coreica.[234]

La riduzione dei recettori striatali D1 e D2 è anche correlata ad una peggiore disfunzione motoria, come comprovato mediante l'utilizzo UHDRS [233]; invece nelle aree extrastriatali, e a livello della corteccia temporale, è stata riscontrata una riduzione dei D1 associata a disfunzioni cognitive nei pazienti HD manifesti.[231]

Uno studio che comprendeva due gruppi di pazienti, (uno formato da 16 pazienti HD manifesti e un altro formato da 11 portatori pre-manifesti del gene mHTT),

mediante l'utilizzo di [^{11}C]raclopride ha comprovato che i livelli del recettore corticale D2 erano ridotti in entrambi i gruppi ed inoltre erano associati al grado di disfunzione cognitiva, nello specifico attenzione e funzioni esecutive.[235] Un ulteriore studio, in linea con i risultati appena espressi ed utilizzando lo stesso marcatore, ha evidenziato una riduzione di D2 a livello della corteccia frontale, temporale e nell'amigdala nei pazienti HD manifesti. Invece i livelli dei recettori D1 e D2, ma in particolare D2, erano correlati con le performance cognitive nei portatori pre-manifesti del gene HTT mutato.[236]

Livelli ridotti del recettore D2 li si riscontrano anche a livello ipotalamico nei portatori pre-manifesti del gene HD mutato; infatti, un precoce coinvolgimento dell'ipotalamo spiegherebbe i sintomi non motori prodromici.[237].

Il tasso di declino del legame di [^{11}C]-raclopride e [^{11}C]-SCH23390 a livello striatale è stato dimostrato correlare negativamente con la durata della patologia nei pazienti HD[237], il quale può avere un decorso lineare[242], non lineare[239] o bifasico.[240]. Inoltre, bassi valori di legame di [^{11}C]-raclopride nei portatori pre-manifesti del gene HD a livello del putamen sono correlati con la probabilità di fenocconversione di questi pazienti, sebbene non lo siano con il tasso di declino del legame dello stesso marcatore[227].

Un altro marcatore utilizzabile per valutare la funzionalità dopaminergica alla SPECT è ^{11}C - β -CIT che si lega in modo specifico al DAT (trasportatore della dopamina). Quest'ultima è una proteina transmembrana massivamente espressa nelle terminazioni dopaminergiche presinaptiche. Le immagini SPECT con il marcatore appena elencato hanno dimostrato una riduzione del 50% di DAT striatale nei pazienti affetti da HD rispetto ai controlli sani; come interpretazione di questo risultato si è ipotizzato che una ridotta presenza di DAT rappresenti o scarsi meccanismi di feedback autoregolatori oppure la perdita dei neuroni dopaminergici presinaptici.[241].

Uno studio PET con radioligando didroterabenazina ^{11}C (^{11}C -DBTZ), che si lega in modo selettivo a VMAT2(trasportatore vescicolare delle monoamine di tipo 2), evidenzia un legame striatale ridotto del marcatore in tutti i pazienti con HD, però più accentuato nel sottogruppo di pazienti con fenotipo acinetico rispetto al coreiforme.

Nella loro interezza i risultati degli studi sopracitati suggeriscono che i terminali dopaminergici, sia pre che postsinaptici a livello striatale e della corteccia, si trovino in uno stato disfunzionale e patologico indipendentemente dalle alterazioni strutturali che si vengono a sviluppare con il progredire della patologia a carico dei gangli della base; inoltre, gli studi supportano che la disfunzione della porzione sensorimotoria dello striato sia coinvolta nella componente motoria della patologia[238], mentre la disfunzionalità della corteccia temporale e dello striato associativo sia implicata nella componente cognitiva della malattia [235], ove la perdita del recettore D2 funge da substrato biologico comune.

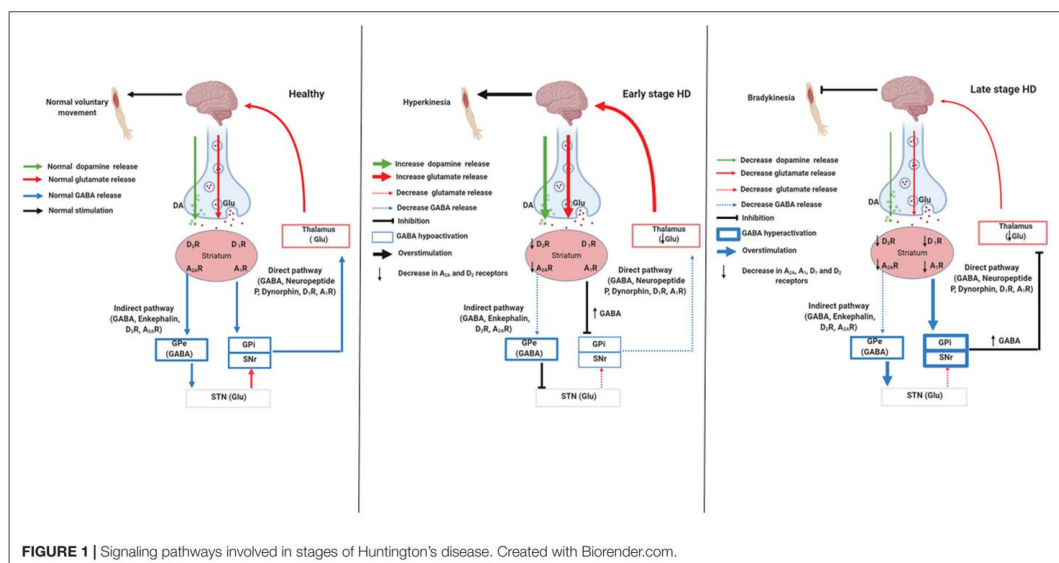


Figure 7 pathway del segnale coinvolti nei diversi stadi malattia di Huntington. Tratto da: Wiprich MT, Bonan CD. Purinergic Signaling in the Pathophysiology and Treatment of Huntington's Disease. Front Neurosci. 2021 Jul 1;15:657338.[243]

1.6.4.3 Attivazione della microglia

Il meccanismo di attivazione della microglia è considerato uno dei processi alla base della neurodegenerazione [184], sebbene, non sia ancora chiaro se esso sia il fattore scatenante il danno neurale di mHTT o rappresenti invece un meccanismo compensatorio.[243]

La microglia, che è un elemento fondamentale del SNC rappresentando il 5-15% del contenuto cellulare, quando viene stimolata da proteine aberranti come la Huntingtina mutata rilascia citochine proinfiammatorie, le quali a loro volta stimoleranno ulteriori rilasci di citochine da parte della microglia inducendo così

una cascata di autopropagazione che può portare a disfunzione neuronale e morte[244]; questo processo non è confinato alla sede cerebrale, poiché le citochine plasmatiche sono aumentate nei portatori del gene HD pre-manifesto e manifesto.[243]

L'imaging di attivazione della microglia può essere eseguito utilizzando traccianti PET che si legano alla proteina traslocatrice mitocondriale di 18kDA (TSPO) localizzata sulla membrana mitocondriale esterna; Quest'ultima proteina dal dominio transmembrana, una volta nota come recettore periferico delle benzodiazepine (PBR), presenta un'espressione modesta nel cervello sano, in contrasto rispetto a quella negli organi periferici come cuore, rene e polmoni. L'aumento di espressione di TSPO cerebrale è stata riscontrata oltre che nella HD in altri disturbi neurodegenerativi come AD, PD.[245]. Di conseguenza, la trasformazione dallo stato quiescente allo stato attivato della microglia è stato considerato un biomarcatore di HD utilizzando ligandi per TSPO, come [11C]PK11195, [11C]GE180, [11C]PBR28.

Lo studio (Pavese et al. 2006) utilizzando [11C]PK11195 come marcatore dell'attivazione della microglia ha riscontrato un aumento di quest'ultima nella regione striatale e corticale prefrontale e del giro cingolato anteriore sia nei portatori del gene HD manifesto e pre-manifesto.[246]

Successivamente, (Tai et al. 2007), sono stati reclutati portatori del gene HD presintomatico e sottoposti a scansione PET con i marcatori [11C]PK11195 e [11C]raclopride. I risultati ottenuti hanno evidenziato che il valore di legame nella regione striatale e corticale era maggiore nei soggetti HD presintomatici rispetto ai controlli sani, il tutto associato ad una perdita massiva dei recettori D2 striatali. Dal seguente studio si rileva una attivazione della microglia fin dalle fasi iniziali della patologia, nonostante non sia stato possibile trarre alcuna conclusione prognostica sull'età di insorgenza dei sintomi. [111].

Lo studio appena citato è stato poi integrato con un imaging multimodale di follow-up con PET e MRI all'interno di un gruppo di pazienti con HD manifesta. I risultati sono stati suddivisi in base alle regioni cerebrali delle manifestazioni principali di HD (motoria, cognitiva, psichiatrica), livello di attivazione della microglia,

recettore D2 e perdita neuronale misurata come diminuzione di volume con MRI per ciascuno dei gruppi in esami (pazienti sani, pre-manifesti e manifesti).[247]

Nei pazienti pre-manifesti è stata riscontrata una atrofia dello striato sensorimotore (SMTS), substantia nigra, corteccia prefrontale anteriore e orbitofrontale associata ad una perdita dei recettori D2/D3 ed aumentata attivazione della microglia nel SMTS, striato associativo, amigdala e ipotalamo. Invece, nei pazienti HD manifesti l'atrofia, rivelata alla MRI, si è estesa ad ulteriori regioni cerebrali quali: il globo pallido, striato limbico, nucleo rosso, corteccia cingolata anteriore e insula, mentre i recettori D3/D3 erano ulteriormente ridotti nella substantia nigra, globo pallido, striato limbico, insula e corteccia cingolata anteriore, il tutto associato ad un aumento dell'attivazione della microglia nelle medesime aree. In sintesi, dai seguenti risultati, in termine di evoluzione della patologia, è ragionevole presumere che la porzione più dorsale dello striato, relativa alla funzione motoria e cognitiva, sia coinvolta prima nella HD, mentre la porzione ventrale dello striato relativa alla funzione psichiatrica venga interessata successivamente, possibilmente dopo la manifestazione dei sintomi motori.[248]

Un ultimo studio ha inoltre dimostrato che i livelli plasmatici di IL- β , IL-6, IL-8 e TNF α sono correlati ad un aumento del legame del marcatore di attivazione della microglia [11C]PK11195 nella corteccia somatica dei pazienti HD pre-manifesti. Quest'ultimo risultato è importante perché dimostra in vivo un legame tra la disfunzione immunitaria periferica e centrale, supportando così il ruolo della disfunzione immunitaria nella patogenesi di HD.[248]

Tutti gli studi appena citati forniscono numerose prove riguardanti il fatto che la microglia sia alla base di alcuni meccanismi cruciali associati alla perdita neuronale nella HD, sebbene la sua modalità d'azione non sia ancora ben compresa.

1.6.4.4 Fosfodiesterasi

Le fosfodiesterasi sono una famiglia di enzimi intracellulari, numerati da 1 a 11, adibiti alla rottura dei legami fosfodiesterici dei nucleotidi ciclici cAMP e cGMP.

Una menzione speciale necessita la fosfodiesterasi 10A, un membro delle fosfodiesterasi (PDE), la quale è altamente espressa negli MSN striatali ove regola la loro eccitabilità. In tale sede l'enzima regola la cascata di segnalazione

cAMP/PKA/DARP-32, svolgendo quindi un ruolo cruciale nella regolazione dell'output striatale e nella promozione della sopravvivenza neuronale.[249]

Studi eseguiti post-mortem su pazienti con HD manifesta hanno confermato che la fosfodiesterasi 10A (PDE10A) risultava gravemente ridotta.[250]

I principali marcatori che sono stati utilizzati in vari studi in vivo per quantificare l'espressione di PDE10A nei pazienti con HD sono: [18F]JNJ42259152, [18F]MNI-659 e [11C]IMA107.

Lo studio (Ahmad et al. 2014), utilizzando il marcatore [18F]JNJ42259152 ha riscontrato all'interno di 5 pazienti con HD manifesta una riduzione significativa del 70,2% e del 62,6 % del marcatore nel caudato e nel putamen, il tutto però senza evidenziare correlazioni tra i valori del marcatore e le scale cliniche in uso per HD.[251]

Mediante l'uso del marcatore per PDE10A, [18F]MNI-659, uno studio successivo, che prevedeva una coorte di 9 controlli sani e 11 malati di HD di cui 3 pre-manifesti e i restanti 8 come manifesti, ha riscontrato una riduzione del 47.6% del legame del marcatore nella regione striatale e pallidale negli otto pazienti aventi un HD manifesta precoce; inoltre, il basso valore di legame striatale del radioligando era associato con punteggi di UHDRS motori peggiori, maggior gravità clinica della patologia e più atrofia cerebrale regionale.

Invece, i tre portatori del gene HD pre-manifesto, che si trovavano in media a 12 anni dall'esordio manifesto della patologia, presentavano una riduzione striatale di PDE10A, ma non al livello dei pazienti aventi HD in forma manifesta.[252].

Il medesimo gruppo di studio ha eseguito due anni dopo un follow-up la cui coorte oltre ai controlli sani era formata da 8 pazienti affetti da HD, di cui 2 in fase pre-manifesta e 6 in fase manifesta iniziale. I soggetti dello studio sono stati scansionati in PET due volte con un intervallo di un anno e mezzo. Alla fine, la percentuale di perdita del legame rilevata del radioligando nel nucleo caudato, globo pallido e putamen è stata più evidente nei pazienti affetti da HD, rispettivamente dell'ordine del 16.6%, 6.9% e 5.8% rispetto ad un calo del 1% nei controlli sani. [253]

Una riduzione del 25-35% del legame striatale e pallidale del marcatore[11C] IMA107 e un suo aumento del 35% nei nuclei talamici motori è stato rilevato in 12

portatori del gene HD presintomatico pre-manifesto che si trovavano in media a 25 anni dall'esordio dei sintomi motori. Successivamente, gli autori dello studio, combinando i dati di PET e del tensore di diffusione del MRI hanno eseguito un'analisi della parcellizzazione striatale basata sulla connettività di espressione di PDE10A secondo: i profili di connettività corteccia-striato e le connessioni striatali tra globo pallido esterno e substantia nigra/ globo pallido interno; quest'ultime molto importanti siccome rappresentano le maggior parte delle vie dirette e indirette. Da questa ulteriore analisi si è riscontrato che la riduzione di PDE10A si localizzava principalmente nello striato sensomotorio, nello striatonigrale, nello striatopallidale e i loro segmenti di proiezione, mentre, le porzioni limbiche e cognitive erano risparmiate.[254]

In aggiunta a quanto appena asserito, secondo gli autori l'alterato equilibrio di espressione di PDE10A tra i nuclei motori talamici e i segmenti striatopallidali interni è fortemente associato ad un alto rischio di conversione sintomatica della patologia; perché per loro, l'aumento del legame nelle strutture talamiche motorie è un meccanismo compensatorio, che alla fine si esaurisce, sfociando con la manifestazione dei sintomi.[254]

Tutti gli studi citati evidenziano il ruolo che la PDE10A svolge nella fisiopatologia della HD.

1.6.4.5 Recettori GABA

Alterazioni dell'espressione del recettore GABA sono state studiate nel contesto della HD evidenziando come la neurotrasmissione GABAergica sia gravemente compromessa nell'HD; nello specifico sono particolarmente coinvolti i MSN GABAergici nel decorso della stessa. [255;256].

[11C]Flumazenil è il marcatore utilizzato per evidenziare i recettori GABA/benzodiazepine.[257;258].

(Holthoff et al.1993) ha riscontrato una riduzione del 17% del radioligando [11C]Flumazenil a livello del nucleo caudato di sei pazienti con HD manifesta associato ad un livello normale dello stesso nel putamen e talamo.[258] Il medesimo studio ha evidenziato anche una riduzione del [18F]FDG del 47%, 41%, 18% rispettivamente nel caudato, putamen e talamo.

Uno studio successivo (Künig G et al. 2000) che comprendeva all'interno della sua coorte di studio dieci pazienti con HD manifesta, ha rilevato risultati paragonabili a quelli di Holthoff, mostrando la riduzione del legame di [11C]Flumazenil nel caudato però con livelli normali nel putamen e un legame anch'esso ridotto del [18F]FDG nel putamen e caudato. [259]

La compromissione metabolica a livello del talamo e del putamen, non essendo associata ad una perdita rilevante del recettore del GABA, suggerisce che la riduzione dell'assorbimento di [18F]FDG preceda i cambiamenti del legame di [11C]Flumazenil. Nel medesimo studio, all'interno di un gruppo formato da tredici pazienti HD pre-manifesti e un altro avente pazienti con HD manifesta, sono stati confrontati i valori del legame di [18F]FDG e [11C]Flumazenil con quelli di [11C]raclopride. Il legame di quest'ultimo radioligando è risultato essere ridotto nel caudato e nel putamen in tutti i pazienti con HD manifesta e in otto pazienti con HD premanifesta. Al fine di esplorare meglio il ruolo della riduzione del [11C]Flumazenil, hanno suddiviso ulteriormente il gruppo dei pazienti portatori del gene con HD pre-manifesta in due sottogruppi in base alla riduzione o meno del marcatore [11C]raclopride. Hanno quindi evidenziato che il legame del radioligando [11C]Flumazenil era significativamente ridotto nel caudato dei pazienti con HD manifesta rispetto ai pazienti con HD premanifesta, ma non presentanti alterazione del legame [11C]raclopride nella medesima area; però ciò non avveniva per i pazienti con HD pre-manifesta con diminuzione del [11C]raclopride e il cui valore di [11C]Flumazenil si attestava tra i controlli sani e i pazienti con HD manifesta. Il valore di legame del marcatore per il GABA era il medesimo in tutti i controlli sani, pazienti con HD pre-manifesta e con HD manifesta.[259]

Gli autori dello studio suggeriscono che il normale valore di legame di [11C]Flumazenil a livello del putamen nei pazienti con HD manifesta possa essere un meccanismo compensatorio attuato nelle proiezioni pallidali dei neuroni MSN GABAergici.

1.6.5 Descrittori corticali

Nei paragrafi precedenti abbiamo evidenziato come il processo neurodegenerativo avvenga principalmente a livello focale prendendo di mira i neuroni spinosi medi

striatali, che sono fondamentali nei circuiti gangli della base-talamo-corteccia; poiché la via indiretta di questo circuito è fondamentale per il controllo motorio guidato dalla corteccia evitando le contrazioni indesiderate.[260]

Nonostante numerosi studi si siano concentrati nell'analizzare il processo neurodegenerativo a livello delle regioni sottocorticali [261-264], alcune evidenze scientifiche suggeriscono che il processo degenerativo corticale differisca per modalità e tempistiche rispetto a quello sottocorticale [265-266]. Alla base del processo dal punto fisiopatologico si ipotizza una diffusione transneurone della proteina Huntingtina mutata mHTT che dopo una prima fase di accumulo intracellulare, si diffonde dallo striato fino ad interessare la superficie corticale.[267]

Ulteriori studi che hanno mappato sia funzionalmente [268-269] che strutturalmente le reti cerebrali nella HD [270-273] hanno riscontrato una neurodegenerazione selettiva dei tratti di sostanza bianca [WM] che si estendono dallo striato. Tutto ciò suggerisce che le alterazioni della morfometria corticale (cioè la dimensione e la forma del modello di ripiegamento della corteccia) influiscano il profilo clinico delle diverse condizioni.

I descrittori più utilizzati per valutare il grado alterazione corticale sono lo spessore corticale, la profondità solcale e l'indice di girificazione locale.[274]

1.6.5.1 Spessore corticale

Il gold standard per la misura in vivo dello spessore corticale attualmente prevede la misura della distanza tra il confine di interfaccia interno (sostanza bianca/grigia) della corteccia e il confine di interfaccia esterno (sostanza grigia/pia) della corteccia utilizzando la pipeline-FreeSurfer applicata alle acquisizioni volumetriche strutturali MPRAGE pesate in T1 in RM [275-276].

All'interno della HD, la ricerca sullo spessore corticale ha evidenziato la presenza di alterazioni corticali pre-diagnosi in specifiche regioni encefaliche [195;198;277-278]. Nello specifico, in tali studi lo spessore corticale è risultato essere ridotto nelle regioni temporali, frontali e parietali negli individui presintomatici HD (pre-HD) [277]. Nella fase sintomatica di HD l'assottigliamento corticale è più prominente nelle regioni del precuneus, visive e motorie primarie, per poi progredire in senso

postero-anteriore alle regioni premotorie e parieto-occipitali nella fase avanzata della patologia.[195]. Lo studio TRACK-HD, già citato nei paragrafi precedenti, ha rilevato che l'assottigliamento corticale era localizzato nella regione frontale posteriore negli individui pre-HD lontani dalla diagnosi prevista, mentre i pazienti prossimi alla diagnosi avevano le regioni occipitale, parietali, temporo-superiore e frontale superiore gravemente alterate. [198]. Invece, (Nopoulos et al.2007) [278], ha riscontrato che lo spessore corticale era significativamente aumentato nei pazienti pre-HD rispetto ai controlli, il che sebbene controverso era confermato parzialmente da altri studi sul volume corticale nei pre-HD.[279] Gli autori conclusero che le alterazioni corticali alterate erano dovute ad un neurosviluppo alterato.

Anche in uno studio più recente (Stoebner, Z. A, et al. 2022)[274] si è evidenziato che lo spessore corticale nei giri precentrali e post-centrali attorno al solco centrale, che corrispondono all'area motrice primaria e alle corteccie somato-sensoriali, è ridotto. Il tutto coerentemente con lo studio già citato (Rosas et al 2002) [195], il quale affermava che l'assottigliamento corticale progredisce in senso postero-anteriore e che la regione maggiormente colpita è la sensori-motoria; infatti, i risultati evidenziavano una differenza di spessore più marcata ai poli posteriori rispetto a quelli anteriori ed inoltre la regione più alterata era la senso-motoria. Tuttavia, bisogna tenere in considerazione che la misura dello spessore corticale da RM, sebbene sia un descrittore valido, può essere soggetto a rumore di misurazione locale e non caratterizzare in modo esaustivo la morfologia della corteccia cerebrale.

1.6.5.2 Local Gyrfication Index (LGI)

Il Local Gyrfication Index (LGI) è un descrittore che quantifica il livello di ripiegamento della corteccia sottesa alla superficie delle meningi andando a misurare la quantità di corteccia presente nelle pieghe del solco encefalico rispetto alla quantità di corteccia visibile nelle regioni circolari di interesse [280]. Dal punto di vista tecnico il metodo attuale tiene conto dello sviluppo in 3D della corteccia e viene calcolato utilizzando la pipeline di FreeSurfer [281], il quale estende l'algoritmo di misura manuale su base coronale al calcolo 3D e prevede in sequenza le seguenti fasi:

1. Crea una superficie esterna mediante un algoritmo di proiezione morfologica della superficie esterna del cervello coerente alle meningi.
2. Mappa la superficie tramite delle regioni circolari di interesse sovrapposte sulla superficie esterna
3. Basandosi sulle regioni di interesse presenti sulla superficie circolare esterna ricava la superficie piaie sottesa alle ROI superficiali individuate

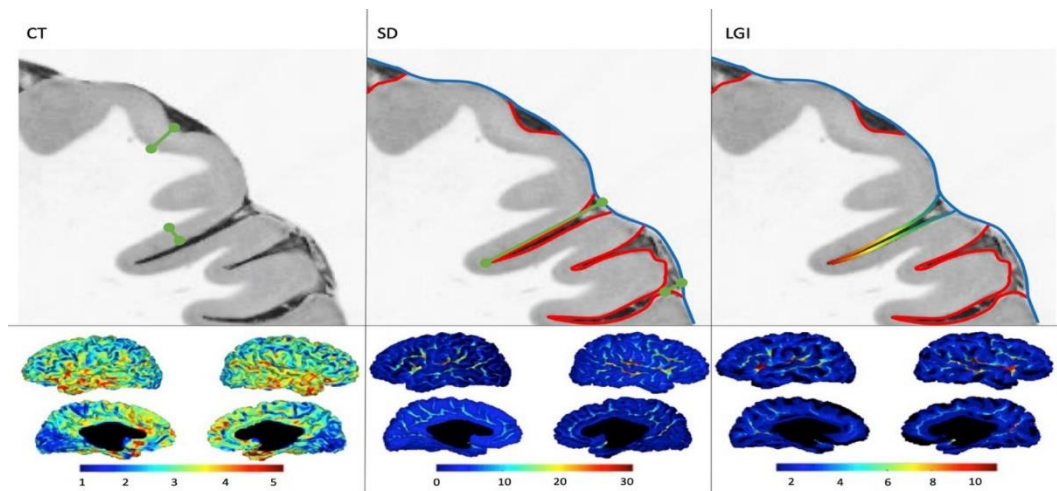


Fig. 8 Misure corticali di CT, SD e LGI su una sezione corticale in alto ed esempi di mappe corticali in basso. Per CT e SD, le barre verdi indicano la misura della distanza geodetica tra i vertici. Invece per SD e LGI, il contorno rosso rappresenta la superficie piaie mentre il contorno blu lo scafo cerebrale. LGI è definito dal rapporto tra superficie rossa e blu mediante l'uso di un kernel adattabile alla forma, inoltre i gradienti per LGI e le cifre poste in basso sono rappresentative di dove la magnitudo dovrebbe essere maggiore (rosso) e minore (blu).[274]

In sintesi, il LGI di ogni punto della superficie corticale viene calcolato come il rapporto tra la superficie di una regione circolare di interesse presente sullo scalpo esterno (ROI_0), centrata in un punto, e la superficie sottesa localizzata a livello della piaie (ROI_p).

Il metodo appena descritto permette di identificare e localizzare con precisione le anomalie girali, inoltre dato che la corteccia cresce attraverso un'espansione radiale permette di identificare i primi difetti dello sviluppo corticale; quindi, quest'ultimo descrittore può essere utile per andare a valutare i vari difetti di neurosviluppo che si ipotizzano siano alla base della HD. Da quanto appena asserito si può comprendere che la morfometria corticale, misurata tramite indici di Gyrificazione, può fornire informazioni riguardo i cambiamenti neuropatologici specifici presenti nelle diverse regioni cerebrali nei diversi stadi della patologia.

La maggior parte degli studi che hanno indagato in modo specifico il LGI erano trasversali; quindi, non valutavano la progressione della misura nel tempo (Kubera et al. 2019[283]; Nopoulos et al.2007 [278]; Shishegar et al. 2019 [286]).

Nel, Nopoulos et al.2007 [278], il ripiegamento corticale è risultato avere le corone girali ingradite (misurate con la curvatura girale) e solchi sottili in modo anormale (misurati tramite la profondità del solco) nei pre-HD rispetto ai controlli; mentre nello studio, Kubera et al. 2019[283], la complessità del ripiegamento corticale, misurata tramite dimensione frattale FD, ha riportato delle differenze significative nella corteccia motoria, visiva e temporale nei pre-HD rispetto ai controlli.

Invece, lo studio IMAGE-HD, Shishegar et al. 2019 [286], ha quantificato la morfometria corticale utilizzando un altro descrittore, il Gyrfication Index (IG) basato su Laplace Beltrami [284-286], nel quale IG e lo spessore corticale risultavano più bassi nelle regioni superiore-parietale dell'emisfero sinistro (LH) e superiore-temporale dell'emisfero destro (RH) nei pre-HD rispetto ai controlli. Nel dettaglio l'assottigliamento corticale è stato individuato nei pazienti pre-HD nel giro caudato-medio-frontale sinistro e nella regione parietale superiore [286]

Lo studio longitudinale, Brendan Tan et al. 2022 [287] ha valutato i cambiamenti della morfometria corticale in delle specifiche zone ROI di interesse nel tempo, nello specifico le regioni occipito-laterale, giro precentrale, frontale-superiore e regioni frontali medio rostrali dell'atlante cerebrale Desikan-Killiany nei pre-HD e symp-HD rispetto ai controlli.[288] I risultati nello specifico hanno dimostrato un declino longitudinale del LGI nei 18 mesi di osservazione nella regione occipitale laterale destra nei symp-HD, rispetto ai pre-HD ed i controlli, oltre a significative differenze tra i gruppi per LGI nella regione occipitale laterale destra e nella regione precentrale di entrambi gli emisferi. L'assottigliamento corticale nelle regioni occipito-laterali e precentrali al progredire della patologia, nei pre-HD e poi symp-HD, supporta le precedenti evidenze riscontrate riguardo a tale descrittore.

Un ulteriore risultato molto interessante dello studio appena citato riguarda la presenza di un LGI basale massivamente ridotto nei pre-HD rispetto ai controlli, il quale supporta l'ipotesi della presenza di un neurosviluppo anormale nella HD già citata in altri studi [278;283]; infatti secondo ques'ultimi mHTT influenza dei cambiamenti specifici globali e regionali nella morfometria corticale prima della

diagnosi clinica. È bene ricordare che la teoria in auge sul ripiegamento corticale afferma che la tensione assonale durante l'espansione radiale del cervello darebbe vita a delle forze di trazione che avvicinano zone molto interconnesse e allontanano regioni debolmente interconnesse [289], senza considerare che tali forze paiono essere espresse diversamente nello sviluppo neurologico di un paziente HD rispetto al neurotipico. [290-291]. Sebbene la presenza di un LGI basale ridotto nei pre-HD rispetto ai controlli nelle regioni laterali occipitali e precentrali possa essere attribuita al ruolo di mHTT, non si è giunti ad un risultato univoco secondo i quali tali riscontri potessero essere solo attribuibili a difetti nel neurosviluppo e non ad un processo neurodegenerativo; ulteriori studi riguardo al seguente topic ipotizzano che il processo di neurosviluppo e neurodegenerativo possano prendere piede in contemporanea[292] a supporto del fatto che la mHTT possa influenzare alcune cellule neuronali regionali specifiche.[293-294].L'ultimo risultato interessante dello studio è aver notato che dopo la manifestazione clinica il LGI continua diminuire nella regione occipitale laterale del RH, fornendo così la prova che sebbene le differenze di LGI tra i gruppi possano essere rilevate sin dalla fase di pre-HD, i cambiamenti longitudinali del descrittore diventano evidenti solo nella regione precedentemente citata nel cervello dei pazienti symp-HD.

In sintesi, la regione occipitale laterale destra è al più suscettibile al cambiamento di LGI durante la fase manifesta della patologia.[287]

Tabella IV Riassunto di tutti gli imaging citati precedentemente

METODICA	FASE DELLA PATOLOGIA	ALTERAZIONI CORTICALI/SOTTOCORTICALI
MRI	Fase pre-manifesta	Alterazioni atrofiche della WM 12-15 anni prima della fase manifesta e assottigliamento corticale focale[129]
	Fase pre-manifesta: pre HD A (>10,8 aa clinica)	Atrofia WM e Atrofia cerebrale diffusa (1-2%)[39;197-201]
		Atrofia GM solo striatale [39;197-201]
		Atrofia non associata a declino TFC, funzionalità motorie e cognitive [199]
		Assottigliamento corticale focale
	Fase pre-manifesta: pre-HD B (<10,8 aa clinica)	Atrofia WM e Atrofia cerebrale diffusa (2-4%)[39;197-201]
Atrofia GM putamen e caudato>HD A[39;197-201]		
Atrofia associata a declino TFC, score motori e cognitivi [196;197;199]		
Assottigliamento corticale focale		
	Le misure della GM e del volume striatale erano predittori molto sensibili della successiva diagnosi clinica di HD[200]	
Fase manifesta: early (TFC I-II)	Atrofia encefalica diffusa ± 4% e Atrofia WM[39;197-201]	
	Atrofia GM caudato e putamen [39;197-201]	
	Atrofia associata a declino TFC, score motori e cognitivi [196;197;199]	
	Assottigliamento corticale	
Fase manifesta: moderate (TFC III)	Perdita volumetrica media del 50-54% del putamen e del 28-29% del caudato [187;189]	

			<p>Perdita volumetrica corticale maggiore nelle aree frontali (comprese premotorie e motorie supplementari) nei fenotipi motori prevalentemente bradicinetici rispetto a quelli prettamente coreici. [196;197]</p> <p>Assottigliamento corticale</p> <p>Relazione imaging-clinica:</p> <p>Perdita volumetrica striatale correla con età d'insorgenza e lunghezza ripetizione CAG [189;190;194]</p> <p>La disabilità motoria si associa a > atrofia del putamen</p> <p>Gli score MMSE e cognitivi sono inversamente correlati con la perdita volumetrica del caudato [187;189]</p> <p>l'atrofia del WM si associa a declino delle prestazioni motorie e cognitive e > lunghezza CAG [197;199]</p> <p>L'assottigliamento volumetrico corticale inizia fin dalle fasi più precoci della patologia e coinvolge le regioni corticale in senso postero-anteriore; nonostante ciò, esiste molta variabilità fenotipica individuale [195;196]</p>
fmRI	Fase pre-manifesta		<p>Attivazione della corteccia prefrontale ventromediale durante l'uso dell'effetto Stroop correla con sintomi depressivi. Correlazione maggiore nei pazienti con > 42 triplette CAG [207]</p>
	Fase pre-manifesta e manifesta		<p>Accoppiamento funzionale ridotto tra corteccia premotoria sinistra e l'area della corteccia prefrontale mediale durante il test di Londra [208]</p> <p>Ridotta attività intrinseca della connettività funzionale [211]</p> <p>Ridotta sincronia del BOLD tra caudato e corteccia premotoria [211]</p> <p>Reti di connettività anomale: Ridotta sincronizzazione dello stato di riposo nella rete senso-motoria [211]</p>
			<p>Relazioni imaging clinica:</p> <p>Alterazioni neurovascolari come l'aumento del volume ematico cerebrale arteriolare corticale (CBV) [207] e cambiamenti metabolici cerebrali, come la riduzione di N-acetilspartato e glutammato che avvengono nella corteccia cingolata si verificano prima dell'instaurarsi di una sostanziale atrofia cerebrale, quindi prima dell'instaurarsi della clinica.[211]</p>
PET	Marcatore	Fase della patologia	ALTERAZIONI CORTICALI/SOTTOCORTICALI
Flusso ematico cerebrale e metabolismo del glucosio	[¹⁵O]H₂O	Fase manifesta	<p>Compromissione attivazione striato e delle sue aree di proiezione motoria frontale nella attività motorie (es. opposizione dito-pollice) [213;214]</p> <p>Aumento attività sincrona aree insulari e parietali nell'esecuzioni motorie [213;214]</p> <p>Attuazione di strategie linguistiche compensative con attivazione del giro sopramarginale sx e del giro frontale inferiore dx per compensare la riduzione di flusso nella circonvoluzione frontale inferiore e nel cingolato anteriore. [213-215]</p>
	[¹⁸F] FDG	Fase pre-manifesta	<p>Ipometabolismo striatale e corticale antecedente alla perdita neuronale nelle aree citate [221]</p> <p>Aumenti bilaterali del [¹⁸F] FDG a livello cerebellare, talamico e occipitali associati a riduzioni bilaterali nello striato [221-223]</p> <p>La perdita dei neuroni MSN striatali, con compromissione degli output motori gangli della base corticale, induce per compensazione il reclutamento di vie motorie accessorie[213-215]</p> <p>Riduzione nella corteccia frontale, parietale, temporale e nello striato associata ad una compromissione di metabolismo del calcio, della regolazione della trascrizione e produzione energetica mitocondriale [222]</p> <p>Aumentato assorbimento nella corteccia occipitale, cerebellare e nel talamo</p> <p>Riduzioni striatali del radioligando diminuiscono nel tempo in modalità inferiore rispetto all'imaging delle terminazioni dopaminergiche [222]</p>
		Fase manifesta	<p>Ipometabolismo marcato striatale (disfunzioni motorie) e corticale (disfunzioni cognitive) [216-220]</p> <p>Metabolismo del glucosio inferiore nella corteccia frontale e parietale nei gruppi a progressione più rapida di patologia [225]</p>
			<p>Relazione imaging-diagnosi</p> <p>Il declino metabolico nei pazienti pre-HD suggerisce che la maggior parte delle perdite nel nucleo caudato di [¹⁸F] FDG potrebbero contribuire a un approccio CAG-Età per predire l'insorgenza della patologia [227]</p>

Funzione dopaminergica	Recettori D2 post: [¹¹ C]raclopride [¹¹ C]FLB457	Fase premanifesta	Riduzione densità recettori D1 e D2 dal 25%-50% [227;233]
	Recettori D1 post: [¹¹ C]SCH22390	Fase manifesta	Riduzione dei recettori D1 e D2 post-sinaptici con una variabilità tra 40%-75% [231;232] Perdita maggiore nel fenotipo HD acinetico rigido rispetto alla forma manifesta coreica [234]
	Recettori D2: [¹¹ C]raclopride	Fase pre-manifesta e manifesta	Riduzioni corticali di D2 associati ad un grado di disfunzione cognitiva e attentiva e nelle funzioni esecutive. [235]
		Fase pre-manifesta	I livelli dei recettori D1-D2, ma soprattutto D2 correlano con le performance cognitive [236] Livelli ridotti del recettore D2 li si riscontrano anche a livello ipotalamico [237] Bassi livelli di legame a livello del putamen correlano con la probabilità di fenocconversione dei pazienti [227]
		Fase manifesta	Riduzione D2 a livello della corteccia frontale, temporale e nell'amigdala. [236]
	DAT: ¹¹ C-β-CIT	Fase manifesta	Riduzione del 50% del DAT a livello striatale rispetto ai controlli [241]
	VMAT2: ¹¹ C (¹¹ C-DBTZ)	Fase pre-manifesta e manifesta	Riduzione del legame striatale, più accentuato nel sottogruppo di pazienti con fenotipo acinetico rispetto al coreiforme.
			Relazione imaging: clinica Il tasso di declino del legame di [¹¹ C]-raclopride e [¹¹ C]-SCH23390 a livello striatale è stato dimostrato correlare negativamente con la durata della patologia nei pazienti HD[237], il quale può avere un decorso lineare non lineare o bifasico.[242;239;240] La riduzione dei recettori striatali D1 e D2(disfunzione della porzione sensorimotoria) correla con una peggiore disfunzione motoria, score UHDRS [233] Riduzioni di D1 nelle aree extrastriatali, striato associativo e nella corteccia temporale sono associate alle disfunzioni cognitive negli HD manifesti [231]
Attivazione della microglia	TSPO: [¹¹ C]PK11195	Fase premanifesta e manifesta	Aumento della captazione nella regione striatale, del cingolato anteriore e nella corticale prefrontale [246]
	TSPO: [¹¹ C]PK11195 Recettori D2: [¹¹ C]raclopride	Fase pre-manifesta	Aumento del valore di legame nella regione striatale associata allo stesso tempo ad una perdita massiva dei recettori D2 striatali[111].
	TSPO: [¹¹ C]PK11195 Recettori D2: [¹¹ C]raclopride + MRI VOLUMETRICA	Fase pre-manifesta	Atrofia dello striato sensorimotore (SMTS), substantia nigra, corteccia prefrontale anteriore e orbitofrontale associata ad una perdita di recettori D2/D3 ed aumentata attivazione della microglia nel SMTS, striato associativo, amigdala e ipotalamo[247]
		Fase manifesta	Atrofia va a coinvolgere ulteriori aree: globo pallido, striato limbico, nucleo rosso, corteccia cingolata anteriore e insula, riduzione D2/D2 nella substantia nigra, globo pallido, striato limbico, insula e corteccia cingolata anteriore e aumento della microglia nelle medesime aree [247]
TSPO:[¹¹C]PK11195+ livelli plasmatici IL-β, IL-6, IL-8 e TNFα	Fase pre-manifesta	I livelli plasmatici di IL-β, IL-6, IL-8 e TNFα sono correlati ad un aumento del marcatore nella corteccia somatica [248]	
			Relazione imaging-clinica ed evoluzione In termine di evoluzione della patologia, è ragionevole presumere che la porzione più dorsale dello striato, relativa alla funzione motoria e cognitiva, sia coinvolta prima nella HD, mentre la porzione ventrale dello striato relativa alla funzione psichiatrica venga interessata successivamente, possibilmente dopo la manifestazione dei sintomi motori.
Fosfodiesterasi	PDE10A:[¹⁸F]JNJ42259152	Fase manifesta	Riduzione dell'ordine del 70,2% e del 62,6% del marcatore nel caudato e nel putamen, senza evidenza di correlazione tra il valore del marcatore e le scale per HD[251]
	PDE10A: [¹⁸ F]MNI-659	Fase pre-manifesta (<12 aa CLINICA)	Riduzione striatale pallidale inferiore rispetto ai pazienti manifesti [252]

		Fase manifesta: early (TCF I)	Riduzione DEL 47,6% del legame in sede striatale e pallidale, il valore di riduzione si associa a punteggi di UHDRS motori peggiori, maggior gravità clinica e più atrofia cerebrale regionale [252] Dopo uno studio longitudinale di 1 anni e mezzo il legame nel nucleo caudato, globo pallido e putamen si è ridotto rispettivamente del 16,6%, 6,9% e 5,8% rispetto ad un calo del 1% nei sani. [253]
	PDE10A [11C] IMA107	Fase pre-manifesta >25aa dalla clinica	Riduzione del legame striatale e pallidale del 25%-35% associato ad un aumento del 35% nei nuclei talamici motori [254]
	PDE10A [11C] IMA107+ tensore di diffusione MRI e parcellizzazione striatale secondo i profili di connettività (striato/corticale, globo pallido esterno, substantia nigra/ globo pallido interno)	Fase pre-manifesta >25aa dalla clinica	la riduzione di PDE10A si localizzava principalmente nello striato sensorimotorio, nello striatonigrale, nello striatopallidale e i loro segmenti di proiezione, mentre, le porzioni limbiche e cognitive erano risparmiate. Secondo gli autori l'alterato equilibrio di espressione di PDE10A tra i nuclei motori talamici e i segmenti striatopallidali interni è fortemente associato ad un alto rischio di conversione sintomatica della patologia; perché per loro, l'aumento del legame nelle strutture talamiche motorie è un meccanismo compensatorio, che alla fine si esaurisce, sfociando con la manifestazione dei sintomi [254]
Recettori GABA	GABA: [11C]Flumazenil	Fase manifesta	Riduzione del 17% nel nucleo caudato associato a livelli normali del marcatore nel putamen e talamo; allo stesso tempo i livelli di FDG erano ridotti del 47%,41%,18% rispettivamente nel caudato, putamen e talamo [258;259]
	GABA: [11C]Flumazenil +[18F]FDG	Fase pre-manifesta e manifesta	Il marker dei recettori D2 è ridotto nel caudato e nel putamen sia dei pazienti HD manifesta che pre-manifesta [259]
	Recettori D2: [11C]raclopride.	Fase manifesta +Fase pre-manifesta, senza riduzione di [11C]raclopride.	Il legame del radioligando [11C]Flumazenil era significativamente ridotto nel caudato dei pazienti con HD manifesta rispetto ai pazienti con HD pre-manifesta, ma non presentanti alterazione del legame [11C]raclopride nella medesima area [259]
		Fase pre-manifesta, con riduzione di [11C]raclopride	Quanto appena detto non avveniva per i pazienti con HD pre-manifesta con diminuzione del [11C]raclopride e il cui valore di [11C]Flumazenil si attestava tra i controlli sani e i pazienti con HD manifesta[259]
Descrittori Corticali	Fase della patologia		Alterazioni corticali
Spessore corticale	Fase pre-manifesta (pre-HD)		Riduzione dello spessore corticale nelle regioni temporali, frontali e parietali Studio Track-HD: [195]. Assottigliamento corticale localizzato nella regione frontale posteriore negli individui lontani alla diagnosi[277;198], mentre nei pazienti prossimi alla diagnosi assottigliamento nelle regioni occipitali, tempo-superiore e frontale superiore Studio Nopoulos: spessore corticale aumentato nei pre-HD rispetto ai sani, possibile spiegazione neuro sviluppo alterato
	Fase manifesta		Nella fase sintomatica di HD l'assottigliamento corticale è più prominente nelle regioni del precuneus, visive e motorie primarie, per poi progredire in senso postero-anteriore alle regioni premotorie e parieto-occipitali nella fase avanzata della patologia [195]. lo spessore corticale nei giri precentrali e post-centrali attorno al solco centrale, che corrispondono all'area motrice primaria e alle corteccie somato-sensoriali, è ridotto.[274] Il tutto coerentemente con lo studio già citato (Rosas et al 2002) [195], il quale affermava che l'assottigliamento corticale progredisce in senso postero-anteriore e che la regione maggiormente colpita è la sensori-motoria
LGI	Fase pre-manifesta (pre-HD)		[278], Aumento curvatura girale e atrofia CTH nei pre-HD rispetto ai controlli Il ripiegamento corticale misurato tramite dimensione frattale FD ha riportato differenze significative tra la corteccia motoria, visiva e temporale nei pre-HD rispetto ai sani. [283],

		studio IMAGE-HD [296]: Gyrfication Index (IG) e lo spessore corticale ridotti nelle regioni superiore-parietale dell'emisfero sx e superiore-temporale dell'emisfero destro nei pre-HD rispetto ai sani. Nello specifico l'assottigliamento corticale si trovava nel giro caudato-medio-frontale sinistro e nella regione parietale superiore [286]
		LGI basale massivamente ridotto nei pre-HD rispetto ai controlli nelle regioni latero-occipitali e precentrali, il quale supporta l'ipotesi della presenza di un neurosviluppo anormale nella HD [278;283];
	Fase manifesta-sintomatica	Si è dimostrato un declino longitudinale del LGI nei 18 mesi di osservazione nella regione occipitale laterale destra nei symp-HD, rispetto ai pre-HD ed i controlli, oltre a significative differenze tra i gruppi per LGI nella regione occipitale laterale destra e nella regione precentrale di entrambi gli emisferi [287]
		L'assottigliamento corticale nelle regioni occipito-laterali e precentrali progredisce al progredire della patologia nei pre-HD e poi symp-HD [287]

1.7 DIAGNOSI

La diagnosi di HD si basa sui sintomi e segni clinici suggestivi della patologia in una persona con storia familiare indicativa di una malattia ad ereditarietà autosomica dominante, che viene confermata attraverso test genetici atti a determinare la lunghezza delle ripetizioni CAG nel primo esone nel gene IT15 localizzato sul braccio corto del cromosoma 4, locus 4p16.3 [296]

Tabella V Criteri diagnostici richiesti e di supporto

HD Diagnosis		HD diagnosis criteria	
	Test	supportive	requested
• Motor symptoms	Reflexes, muscle strenght, balance	X	
• Sensory symptoms	Sense of touch, vision, hearing	X	
• Psychiatric symptoms	Mood and mental status	X	
• Scales	UHDRS	X	
Neuropsychological examination	Test		
• cognitive	Memory Executive function Attentive Language skills Spatial reasoning	X	
• behavioural	Depression Apathy Impulsivity Anxiety Sign of disordered thinking	X	
Brain imaging			
• anatomical	CT MRI	X	
• Methabolic	PET-FDG	X	
Genetic counseling			
• Associated HD pattern	<ul style="list-style-type: none"> • CAG repeats in huntingtin gene • HDL2 on chromosome 20p • JPH3 triplets expansion 		X

<ul style="list-style-type: none"> • Non-HD Phenocopies Genetic pattern 	<ul style="list-style-type: none"> • Autosomic Dominant <ul style="list-style-type: none"> ○ TBP, ATN ○ C9ORF7 ○ PRNP ○ NKX2.1/TITF1 ○ FTL1 ○ SLC20A2,PDGFRB, PDGFB,JAM2,MYORG,XPR1 • Autosom. Recessive <ul style="list-style-type: none"> ○ FXN ○ ATM ○ APTX,SETX ○ VPS13A ○ ATP7B ○ PANK2,CP,PLA2G6 ○ NPC1 • X-linked <ul style="list-style-type: none"> ○ XK ○ TAF1 		X
--	--	--	---

Nel test genetico, il gene IT-15 deve presentare una lunghezza delle ripetizioni CAG superiore alle 35 perché si definisca patologica, inoltre, la penetranza della patologia risulta incompleta tra le 36-41 e completa superiori a tali valori, invece, tra 25-35 si parla di una condizione clinica nota come allele intermedio.

In alcuni casi la storia familiare suggestiva può essere assente o non ben chiara e dettagliata, in tal caso il sospetto sorge quando il quadro clinico del paziente è altamente coerente con HD e la sua conferma o smentita avviene sempre tramite il test genetico per il gene codificante per l'huntingtina.

All'incirca 1% dei pazienti che si ritiene siano affetti da HD per il quadro clinico e il pedigree, successivamente vengono smentiti per il risultato negativo della mutazione delle ripetizioni del gene IT-15; in questi casi i pazienti possono presentare delle mutazioni genetiche sottostanti, sempre ad ereditarietà autosomica dominante, note collettivamente come “fenocopie” [297].

Le fenocopie della HD sono molteplici, ma la causa genetica più frequente riscontrata tra di esse è la mutazione associata all' espansione ripetuta dell'esonucleotide C9orf72, la quale è allo stesso tempo una delle principali cause della demenza frontotemporale sporadica e familiare ed inoltre, della sclerosi laterale amiotrofica.[298]

Le cause note delle fenocopie della HD sono mostrate in tabella VI. Tuttavia, nella maggior parte dei casi la diagnosi alla base della condizione patologica rimane sconosciuta.

Tabella VI Fenocopie della HD e la loro corrispondente causa genetica.

Disease	Mutation
Familial amyotrophic lateral sclerosis (ALS) and frontotemporal dementia (FTD)	C9orf72-hexanucleotide repeat expansion in chromosome 9 reading frame 72 protein
Huntington's disease like syndrome (HDL1)	PRNP-octapeptide insertion in gene encoding prion protein. Locus 20pter.p12
HDL2	JPH3-triplet repeat expansion in gene encoding junctophilin-3. Locus 16q24.4
HDL3	Causative mutation as yet unknown with Locus 4p15.3
Spinocerebellar ataxia (SCA) 17 (HDL4)	TBP-triplet repeat expansion in gene encoding TATA-box binding protein. Locus 6p27
SCA1/2/3	ATXN 1/2/3 0 triplet repeat expansion in gene encoding Ataxin-1/2/3 respectively. Locus 6p23, 12q24, 14q24-q31.
Dentatorubral-pallidolysian atrophy (DRPLA)	ATN1-triplet repeat expansion in gene encoding atrophin-1. Locus 12p13
Chorea-acanthocytosis	VPS13A-mutation in gene encoding chorein, locus 9p.
McLeod Syndrome	XK-mutation in XK gene on X-chromosome, encoding a supporting protein for Kell antigen on surface of red blood cell. Locus Xp21.2-21.1
Neuroferritinopathy (NBIA2)	PLA2G6-mutation in gene encoding ferritin light chain. Locus 22q13.1
Neurodegeneration with brain iron accumulation (NBIA1) or Pantothenate-kinase associated Neurodegeneration (PKAN)	PANK2-mutation in gene encoding pantothenate kinase 2. Locus 20p13-12.3
Inherited prion disease	PRNP-mutation in gene encoding prion protein
Friedreich's ataxia	FXN- triplet expansion in gene encoding frataxin. Locus 9p13; 9p23-p11

1.7.1 Diagnosi differenziale

La diagnosi differenziale per la HD, oltre ad essere eseguita con le fenocopie descritte ed elencate precedentemente, va fatta principalmente con tutte le condizioni cliniche presentanti come segno motorio, prevalente o secondario, la Corea; siccome quest'ultima è il segno motorio più evidente e manifestato nei pazienti affetti da HD, soprattutto nelle prime fasi della patologia.

Le condizioni patologiche che possono essere associate alla corea sono molteplici e di diversa natura: ereditaria, iatrogena, di natura sistemica o reumatica.

Nonostante nella maggior parte dei casi la corea sia attribuibile a un disturbo iatrogeno e sistemico, nella tabella VII sono riassunte tutte le principali patologie da tenere in considerazione per una diagnosi differenziale basata sulla corea.

Tabella VII Diagnosi differenziale per la corea

Hereditary	Huntington's disease
	Benign hereditary chorea
	Neuroacanthocytosis
	DRPLA
	Wilson disease
Rheumatic disorders	Sydenham chorea
	Chorea gravidarum
Drug- induced	Neuroleptic drugs

	Oral anticonceptive drugs
	Phenytoine
	Levo-dopa
	Cocaine
Sistemic disorders	Systemic Lupus Erythematodes (SLE)
	Thyrotoxicosis
	Polycytemia vera
	Hyperglycemia
	AIDS
	Paraneoplastic

1.8 GESTIONE HD

La gestione di una patologia complessa ed eterogenea come la HD richiede un approccio multidisciplinare che coinvolga diverse specialità mediche e figure lavorative come: neurologi, psichiatri, medici di famiglia, fisioterapisti, terapisti occupazionali, logopedisti, dietologi e infermieri.[299]

Il trattamento da mettere in atto nei confronti di un paziente affetto da HD lo possiamo suddividere in due grandi branche: trattamento farmacologico e trattamento non farmacologico.

1.8.1 Trattamento farmacologico

Attualmente, nonostante i numerosi studi in atto, non sono disponibili trattamenti modificanti la malattia, bensì farmaci atti ad alleviare e palliare i sintomi e segni motori, psichiatrici, cognitivi che il paziente affetto da HD presenta. [300,301].

1.8.1.1 Segni motori

L'ipercinesia coreica non sempre richiede un trattamento farmacologico, poiché spesso nelle fasi iniziali non invalida le attività del paziente, però, quando la corea compromette la funzionalità diviene necessario prendere in considerazione un approccio mediante farmaci.

Il farmaco maggiormente utilizzato per il trattamento della corea è la tetrabenazina (TBZ), un antidopaminergico depletore della dopamina il cui meccanismo d'azione consiste nell'inibire selettivamente la captazione dopaminergica dei neuroni presinaptici del SNC, tramite una previa inattivazione dei trasportatori vescicolari delle monoamine; il meccanismo d'azione è il medesimo della reserpina, ma con

durata d'azione più breve e meno effetti avversi periferici come l'ipotensione ortostatica. Uno dei principali effetti avversi della TBZ è innescare o aggravare una sintomatologia depressiva o psichiatrica come attacchi di panico e sintomi ossessivo compulsivi.[302]; per quest'ultima motivazione il farmaco dovrebbe essere evitato in pazienti con storia di patologia depressiva o di attuale stato emotivo basso.[301]

I pazienti devono essere avvertiti previamente dei possibili effetti collaterali annessi al trattamento, che oltre ai già citati, possono essere con una ridotta incidenza: sonnolenza, acatisia, insonnia, nervosismo, ansietà, ipotensione ortostatica; quindi successivamente alla somministrazione i pazienti devono essere monitorati per valutare l'insorgenza di tali effetti avversi ed interrompere il trattamento. Un'altra avvertenza è che la TBZ non deve essere prescritto insieme ad inibitori del citocromo P450 2D6, come per esempio antidepressivi quali fluoxetina e paroxetina, poiché tale citocromo è adibito all'eliminazione del farmaco.[304]

Nonostante una revisione su Cochrane abbia concluso che solamente il trattamento con la tetrabenazina porti ad un evidente beneficio sulla corea, nella pratica clinica vengono utilizzati anche altri farmaci per il trattamento per la stessa. [307]

I neurolettici atipici, quali olanzapina, risperidone, quetiapina, sono utili quando le ipercinesie coreiche coesistono con irritabilità, ansia o agitazione; Vengono utilizzati anche neurolettici tipici come l'aloiperidolo, ma sono associati a più effetti collaterali extrapiramidali e pseudoparkinsonismi.

L'utilizzo i neurolettici richiede prima della somministrazione di:

- Realizzare un ECG, all'inizio o al cambio del trattamento, in pazienti con antecedenti di patologia cardiaca come insufficienza cardiaca, cardiopatia ischemica o aritmia. Questo è fondamentale poiché i neurolettici aumentano il Q-T e questo può portare l'insorgenza di aritmie ventricolari.
- Controllo del profilo lipidico e glicemico previo e ogni sei mesi, soprattutto con clozapina e olanzapina (in minor misura il risperidone), che portano ad un aumento del peso corporeo e possono indurre la sindrome metabolica.

Inoltre, sebbene sia più frequente nei neurolettici tipici come l'aloiperidolo, bisogna monitorare il paziente per l'insorgenza di una eventuale sindrome da neurolettici

maligna caratterizzata da rigidità, ipertermia, alterazione del livello di coscienza e disautonomie; per la Clozapina bisogna tenere in considerazione anche il rischio di agranulocitosi per alterazione della crasi ematica.

Una benzodiazepina come il Clonazepam è utile se la corea è associata a distonia, mioclono e rigidità, mentre antiepilettici quali valproato di sodio e levetacetam possono essere utili se il paziente presenta solo un mioclono rilevante.

Nelle fasi più avanzate della patologia, spesso risulta necessario ridurre o interrompere i farmaci anti-corea, quando si sviluppano maggiormente la rigidità e spasticità; per il trattamento di quest'ultime il baclofen, la tizanidina diventano utili, mentre le iniezioni della tossina botulinica risultano utili per inibire gli spasmi muscolari mirati.

Nella JHD o nella variante- acinetica di Westphal una prova iniziale di trattamento con levodopa per la rigidità e il parkinsonismo può essere utile.

1.8.1.2 Segni Psichiatrici

La depressione può essere trattata mediante inibitore della ricaptazione della serotonina (SSRI), come citalopram, fluoxetina. Etc.

La mirtazapina, facente parte della classe degli antidepressivi serotoninergici e noradrenergici specifici (NaSSA), con la sua azione sia antidepressiva che sedativa è utile quando il paziente soffre allo stesso tempo di insonnia.

Gli SSRI possono essere utili anche per trattare pazienti presentanti in contemporanea depressione e disturbi della gestione della rabbia; invece, l'irritabilità e l'aggressività possono essere gestite mediante neurolettici tipici, già citati per la gestione della corea. Invece, per i disturbi del sonno, si potrebbe attuare inizialmente un ciclo a breve termine di zopiclone o di zolpidem, oppure la melatonina che diviene particolarmente utile nei casi di inversione del ciclo-sonno veglia.

Tabella VIII Terapia farmacologica Huntington [308-310]

Terapia	Dosaggio da utilizzare	Criteri per iniziare la terapia	Criteri per terminare la terapia
<i>Depletori dopaminergici</i>			
Tetrabenazina	150 mg/die fino ad un massimo di 200 (dose	Ipercinesie coreiche	Sonnolenza, stanchezza, depressione, acatisia,

	media 50/75 mg), grossa variabilità individuale		insonnia, nervosismo, ansietà, ipotensione ortostatica
<i>Neurolettici tipici e atipici</i>			
Aloperidolo	0,5-6mg/die	Psicosi, depressione, che possono essere associati o meno a movimenti coreici e alterazioni dell'ECG.	Ipersensibilità, intolleranza al farmaco, effetti collaterali quali: acatisia, discinesie tardive, distonia, alterazioni della crisi ematica, allungamento dell'intervallo Q-T.
Pimozide	1,8mg/die		
Olanzapina	2,5-20 mg/die		
Risperidone	0,5-4mg/die		
Clozapina	25-50mg/die		
Quetiapina	50-400mg/die		
Aripiprazolo	5-15 mg/ die		
<i>Antiepilettici</i>			
Valproato	500-1000 mg/die	Disturbi dell'umore e alterazioni psico-comportamentali con mioclono e/o epilessia	Ipersensibilità eccessiva, sonnolenza diurna
Leviteracetam	500-2000 mg /die		
Carbamazepina	200-1000 mg/die		
<i>Benzodiazepine</i>			
Clonazepam	1-8mg/die	Mioclono, epilessia, ansia, disturbi del sonno	Sedazione, amnesia anterograda, vertigini. Disturbi dell'equilibrio, reazioni paradosse
Alprazolam	0,75-3mg/die		
Zolpidem	10-20mg		
<i>Antidepressivi *</i>	* Scelta e dosaggio è differenziata e personalizzata sulla base della sintomatologia		
Citalopram	Max 60 mg/die	Sintomi depressivi, disturbi ossessivo compulsivi, aggressività	
Fluoxetina	Max 60 mg/die		
Mirtazapina	Max 45 mg/die		
Sertralina	Max 200 mg/die		
<i>Dopaminoagonisti</i>			
Levodopa	In base alla sintomatologia	Rigidità parkinsonismo	Nausea, Vomito, anoressia, ipotensione ortostatica
<i>Altri farmaci</i>			
Tossina botulinica		Distonia e bruxismo, rigidità	
Baclofen	25-75 mg/die	Spasticità e rigidità	

1.8.2 Trattamenti non farmacologici

I trattamenti non farmacologici svolgono un ruolo fondamentale per la gestione del paziente affetti da HD nell'ambito funzionale, sociale, assistenziale e psicologico.

1.8.2.1 Fisioterapia

La fisioterapia mediante l'attività fisica e l'esercizio motorio nei pazienti affetti da HD può portare a benefici significativi riguardo al controllo/ recupero delle funzioni motorie, al mantenimento dell'equilibrio e al controllo del cammino; il tutto con ricadute positive e migliorative sulle benessere psicologico/fisico, cognitivo e sociale del soggetto, oltre a ridurre il rischio di caduta e le sequele correlate. [306;307].

Il percorso riabilitativo di un paziente con HD può essere suddiviso in due grandi fasi, la fase iniziale e quella intermedia/avanzata, le quali sono associate ad interventi differenti come rappresentati nella tabella seguente.

Fase iniziale	Fase intermedia/ avanzata
Riabilitazione con fine preventivo, Mantenimento capacità residua funzionale e motoria	Esercizi per il controllo motorio e della deambulazione, gestione disfagia, esercizi per mantenimento articolare, esercizi respiratori, prevenzione del rischio di caduta, azioni compensatorie mediante modifiche ambientali/domestiche ed ausili alla deambulazione.

1.8.2.2 Approccio Neuropsicologico

Il neuropsicologo ha un ruolo cruciale nell'identificare sin dalle prime fasi i cambiamenti cognitivi della patologia, nel monitoraggio degli stessi e nella valutazione dei risultati degli interventi terapeutici. Solitamente il percorso cognitivo prende piede dalla presenza di un sospetto di deficit cognitivo che può essere riferito dalla famiglia, paziente o dal medico di famiglia.

La prima valutazione di questo deficit, se presente, consiste in una valutazione neuropsicologica completa che comprende:

- Colloquio neuropsicologico, spesso associato ad un confronto con un familiare
- Somministrazione di test neuropsicologici e ulteriori test al fine di approfondire le diverse funzioni cognitive
- Valutazione dello stato emotivo, al fine di comprendere quale risulta essere l'impatto negativo che esso attua sul funzionamento cognitivo.

Successivamente inizia la riabilitazione cognitiva che può migliorare la compliance e l'aderenza dei pazienti agli altri trattamenti in atto e rendere più funzionali ed efficienti le strategie compensative del deficit cognitivo nella vita quotidiana, andando così ad impattare sia sulla loro qualità della vita che quelle delle loro famiglie. [181]

1.8.2.3 Logopedia e gestione malnutrizione

I logopedisti possono migliorare le capacità comunicative dei pazienti, inizialmente verbalmente e successivamente mediante ausili comunicativi.

Come già accennato nei paragrafi precedenti, in numerosi pazienti affetti da HD si instaura uno stato catabolico dimagrante in assenza di un regime dietetico atto al calo ponderale; lo stato catabolico si può instaurare fin dalle prime fasi della malattia ed il dimagrimento può essere legato anche alla disfagia o alterazioni dentarie che devono essere continuamente monitorate.

Nel caso in cui ad un paziente affetto da HD venisse diagnosticata una malnutrizione, disfagia o dimagrimento, quest'ultimo viene indirizzato ad una consulenza dietologica al fine di valutare lo stato carenziale, le necessità nutrizionali del paziente ed elaborare delle strategie atte ad assicurare al paziente un corretto stato nutrizionale.

La malnutrizione nella HD non è da considerarsi tale solo per carenza di principi nutritivi quali proteine, lipidi, glucidi di origine alimentare, ma anche da una idratazione inadeguata. Mentre nelle prime fasi una dieta ad hoc può essere sufficiente per combattere la malnutrizione che si verifica nella patologia, nelle fasi avanzate della stessa, al fine di mantenere uno stato nutrizionale adeguato, può essere necessario attuare una nutrizione enterale attraverso una gastrostomia; il tubo di alimentazione viene inserito come gastrostomia endoscopica percutanea (PEG) o tramite guida radiologica (RIG) se l'endoscopia non è attuabile.

1.8.3 Assistenza di fine vita

La natura progressiva della patologia rende l'assistenza a fine vita inevitabile per tutti i pazienti. La complessità e la delicatezza dell'argomento, per quanto possa essere difficile è meglio affrontarla fintanto che i pazienti conservano la loro capacità decisionale e prima che si instauri un significativo deterioramento delle capacità intellettive. Con il progredire delle problematiche di deglutizione la somministrazione degli alimenti per via orale può diventare pericolosa ed inattuabile. Dinanzi a tale condizione alcuni pazienti optano per la nutrizione per via enterale spiegata nel paragrafo precedente, mentre altri non la desiderano indipendente dalla circostanza. Nell'evenienza di una condizione clinica terminale,

i pazienti possono anche differire per i livelli di assistenza sanitaria che vogliono ricevere, come antibiotici, ricoveri ospedalieri etc.; a tal fine è consigliato fare il testamento biologico, inoltre, nelle fasi avanzate della malattia, l'assistenza domiciliare potrebbe non essere più sostenibile, richiedendo quindi la necessità di una casa di cura o residenziale.

1.9 TEST GENETICI

Il test genetico consente di determinare la lunghezza della ripetizione CAG in ciascun allele del gene codificante per la proteina Huntingtina (HTT); la metodologia è molto semplice e consiste nell'estrarre il DNA dei linfociti da un campione di sangue prelevato in loco, per poi selezionare ed amplificare mediante tecnica PCR la porzione del gene, HTT (HTT), che ospita la mutazione responsabile della malattia.[296].

1.9.1 Test diagnostici

I test genetici vengono solitamente richiesti dai neurologi per confermare la diagnosi sospetta in quei pazienti che già presentano sintomi motori suggestivi di HD.

Il consenso informato del paziente deve essere ottenuto prima del test, previa spiegazione della natura della patologia, la sua ereditarietà autosomica dominante e le implicazioni che un risultato positivo potrebbe andare a delineare per il paziente e la sua famiglia; deve essere inoltre chiarito che se il test genetico risultasse positivo, nell'eventualità che il/la paziente volesse avere figli o magari già li ha, il rischio di trasmissione della mutazione patologica alla prole è del 50% indipendente dal sesso del nascituro.

I risultati del test genetico devono essere consegnati di persona al paziente, a cui seguirà, in caso di risultato positivo, un rinvio in una clinica specializzata nella HD nel territorio se disponibile. Inoltre, dovrebbero essere forniti informazioni circa i gruppi di sostegno per la HD, tutti i supporti sociali e sanitari disponibili sul territorio ed ai membri della famiglia, se lo ritengono opportuno ed a loro discrezione, una consulenza genetica. Bisogna tenere in considerazione che i pazienti aventi sintomi psichiatrici e cognitivi in un contesto di familiarità per HD, ma non presentanti sintomi motori, devono essere comunque indirizzati a un

genetista per l'esecuzione del test genetico, però quest'ultimo in questo specifico caso si predisporrebbe più come test predittivo che diagnostico in senso stretto.

1.9.2 Test predittivi

Il test predittivo è una tipologia di test genetico che viene eseguito su individui asintomatici, ma che presentano un contesto di ereditarietà per la HD con un 50% di possibilità di manifestarla nel corso della loro vita.

Esistono delle linee guida internazionali per i test predittivi nella HD che delineano i seguenti passaggi: il paziente deve avere una sessione di consulenza pre-test con un genetista clinico accompagnato preferibilmente da uno psicologo e un neurologo, seguito da un periodo di riflessione, una seconda consulenza e successivamente in seguito alla firma del consenso informato scritto, il prelievo del campione di sangue e l'esecuzione del test da parte di un genetista clinico in specifici centri specializzati in tale pratica; il risultato deve essere comunicato, dopo circa 6-8 settimane, di persona al paziente in un'ulteriore consulenza post-test.[311-313].

Allo stesso modo dei test diagnostici, è fondamentale spiegare l'ereditarietà autosomica dominante della patologia, le diverse implicazioni cliniche associate alle diverse lunghezze della tripletta CAG, il fenomeno dell'espansione delle triplette che potrebbe coinvolgere i discendenti [316] e il suo potenziale impatto sull'intera famiglia. Un risultato positivo, come nel test genetico, consiste nell'individuazione di almeno 36 ripetizioni della tripletta CAG nel primo esone del gene codificante per la proteina HTT, il quale implica che il paziente svilupperà la HD ad un certo punto della sua vita, ma senza che sia possibile prevedere l'esatta età di insorgenza o il tasso di progressione della stessa.

Una situazione di difficile gestione può sorgere quando si è in presenza della volontà di alcuni membri del nucleo familiare di non conoscere il proprio stato genetico; un esempio di una tale situazione potrebbe essere che il nipote di un individuo affetto, con rischio del 25% di aver ereditato la patologia [315], vuole sottoporsi al test, mentre il proprio genitore non lo desidera fare. In questo specifico caso un risultato positivo al test del nipote avrebbe un significato anche per il genitore a rischio, il quale avrà sicuramente ereditato la mutazione, e verrà a conoscenza del proprio stato genetico senza averlo chiaramente espresso.

<p>Criteria di esclusione all'esecuzione del test predittivo</p> <p>Età < 18 anni,</p> <p>Malattie psichiatriche gravi che alterano la capacità di intendere e di volere</p> <p>Pressioni esterne che forzano il paziente ad eseguire il test contro la propria volontà</p>
--

È illegale eseguire dei test predittivi su bambini aventi età inferiori di 18 anni, siccome quest'ultimi non possono fornire il loro consenso informato e nessuno può acconsentire per loro conto all'esecuzione del test, in dipendenza del fatto che i pazienti hanno il diritto di non conoscere il loro stato genetico da adulti.

Infine, la percentuale di pazienti a rischio di sviluppare la patologia che procede all'esecuzione del test predittivo si aggira sul 5-20%. [314]

1.9.3 Diagnosi prenatale ed opzioni riproduttive

La diagnosi prenatale per l'individuazione della mutazione alla base della HD può essere eseguita durante la gravidanza. Il campionamento per il test genetico prenatale può essere attuato tramite il prelievo dei villi coriali tra la 11-12 settimana di gestazione o delle cellule libere fetali nel liquido amniotico durante l'amniocentesi tra la 15-17 settimana. Prima del prelievo del materiale fetale e l'esecuzione del test deve essere fornita ai genitori una consulenza dettagliata, circa il loro stato genetico e la decisione di interrompere la gravidanza in caso di risultato positivo del test. Se i genitori non sono ancora stati genotipizzati, si può optare per un test di esclusione confrontando lo stato genetico dell'embrione con quello dei nonni.

È molto importante discutere con i pazienti che desiderano diventare genitori delle implicazioni della patologia su se stessi e sulla prole, poiché, da un lato sebbene i genitori siano liberi dai sintomi da molti anni, (o per tutta la vita se in verità sono negativi alla mutazione patologica) persiste sempre la possibilità che la malattia si sviluppi durante la gravidanza o quando i figli sono ancora piccoli; inoltre, permane sempre il rischio di trasmissione del 50% della patologia alla prole, nonostante la diagnosi prenatale metta un parziale freno a tale problematica rendendo nota già durante la gravidanza la presenza o meno della mutazione per HD nel nascituro.

Se la gravidanza viene proseguita nonostante il test sia risultato positivo, il nascituro avrà effettivamente avuto un test predittivo positivo a cui non ha mai acconsentito.

2. SCOPO DELLO STUDIO

Gli studi presenti in letteratura si sono focalizzati su singole metriche per caratterizzare da un punto di vista anatomico e funzionale le alterazioni corticali e sottocorticali.

In letteratura gli studi hanno evidenziato alterazioni volumetriche alla MRI con VBM o ROI, a livello di: atrofia WM diffusa, atrofia GM diffusa, atrofia GM striatale (putamen e caudato) [39;197-201] a partire dai pazienti in fase pre-manifesta prossimi alla diagnosi, a cui si aggiunge l'atrofia della GM in altre regioni striatali o connesse ad essa (globo pallido[192;194;352-355], ippocampo[190;353], amigdala[190;356], talamo[279;353;357-360], ipotalamo[247;346-347], insula [190;347;354;361], substantia nigra[247], striato associativo[247], corteccia cingolata anteriore e orbitofrontale[247]) sempre a partire dai pre-HD ; le ultime alterazioni citate sono però sempre inferiori rispetto al caudato , che è generalmente riconosciuto come il marker più sensibile di progressione della patologia nelle varie fasi della stessa. Con il progredire del decorso della HD, ulteriori studi hanno evidenziato un'atrofia sempre più rilevante a livello della corteccia frontale, occipitale, parietale, motoria e sensorimotoria. [198;273;346;353;358;360;362-364]. Mentre dal punto di vista di relazione tra imaging volumetrico e l'ambito funzionale si è rilevato che l'atrofia cerebrale è associata a declino del TFC, score motori e cognitivi[199], che la perdita volumetrica striatale correla con l'età di insorgenza e lunghezza della ripetizione CAG[189;190;194], che gli score MMSE e cognitivi sono inversamente correlati con la perdita volumetrica del caudato[196;189], che i deficit oculomotori e visuospatiali si associano ad atrofie a livello della corteccia visiva[353] e prefrontale [346] ed infine che l'atrofia della WM si associa al declino delle prestazioni motorie, cognitive e maggiore lunghezza delle ripetizioni CAG.[197;199].

Invece lo spessore corticale nei pazienti pre-manifesti in letteratura è ridotto a livello pre-centrale, nel giro frontale superiore, giro frontale medio, giro supero-parietale[286], giro temporale superiore-medio-inferiore e precuneo[195;198;277], mentre nei pazienti manifesti l'assottigliamento diviene più prominente nel precuneo, giro precentrale e post-centrale (area motoria primaria e somato-sensoriale) per poi progredire in senso postero-anteriore alle regioni premotorie, parieto-occipitali nella fase avanzata della patologia.[195;274]. Una menzione

speciale merita lo studio (Nopoulos et al.2007) che ha riscontrato uno spessore corticale aumentato nei pre-HD rispetto ai sani [278]

A livello di LGI quest'ultimo è ridotto nei pre-manifesti nella corteccia motoria, visiva e temporale [283], nel giro supero-parietale sx [286;294], giro temporale superiore dx [286;294] e nelle regioni latero-occipitali e precentrali[280;283], mentre nei pazienti manifesti si riscontra un'ulteriore e progressiva riduzione delle regioni lateroccipitali e nel giro precentrale[288].

Un recente studio (Stoebner et al.2022), applicando un approccio multimodale per caratterizzare la morfologia corticale nei pazienti HD, ha evidenziato alterazioni dello spessore corticale nei giri precentrali e postcentrali, della profondità solcale in quasi tutte le regioni encefaliche, poiché le misure di SD sono poco sensibili, invece per LGI il riscontro è localizzato a livello insulare.[274].

Tutti gli studi che sono stati eseguiti fino a questo momento sulla HD hanno evidenziato alterazioni anatomiche e funzionali, corticali e sottocorticali, senza mai andare ad esplorare quale risultasse essere l'interplay delle diverse alterazioni subcorticali-corticali a livello dello stesso campione, sia per le alterazioni morfologiche, cliniche e funzionali. A tal fine il nostro studio si prefigge di esplorare tale aspetto mediante un approccio innovativo di PET-RM e surface-based associato ad un assessment clinico, funzionale, motorio e cognitivo.

In sintesi, gli obiettivi di questo studio sono: 1) esplorare le alterazioni sottocorticali e corticali al momento della visita via VBM rispetto a un gruppo di partecipanti sani di pari età. 2) caratterizzare la natura di tali alterazioni indagando se riflettano un progressivo danno a livello della corteccia (spessore corticale) o un'alterata plasticità corticale (area superficiale) o se invece siano il riflesso delle alterazioni in aree vulnerabili alla nascita, indagate tramite LGI 3) identificare ,quali tra le aree riscontrate significativamente alterate, spiegano maggiormente i sintomi descritti (motori, cognitivi, comportamentali) e le variabili cliniche(età di esordio, numero triplete, durata di malattia, sesso).

3. MATERIALI E METODI

3.1 Partecipanti

Lo studio, di natura osservazione trasversale, è stato realizzato prendendo in considerazione la popolazione dei pazienti affetti da HD geneticamente determinata presso il centro per i Disturbi del Movimento del dipartimento di Neuroscienze dell'università degli studi di Padova.

Da un pool di 50 pazienti aventi diagnosi di malattia di Huntington geneticamente determinata e seguiti presso il nostro centro dal 2010 al 2022, con stadi di malattia variabili (da sintomatico ad avanzata), di cui 37 valutati in maniera estesa con anamnesi, visita medica con scala motoria dell'UHDRS e una batteria estesa di test neuropsicologici; per questo studio sono stati inclusi 19 pazienti valutati mediante PET/ RM 3T e 34 soggetti sani di pari range di età e sesso valutati mediante la medesima PET/RM (CERMEP – Imagerie du vivant, www.cermep.fr and Hospices Civils de Lyon.)[316]

Tutte le valutazioni appena elencate sono state eseguite in un breve arco di tempo (la maggior parte dei pazienti entro una settimana, la porzione rimanente entro un mese).

3.2 Esame clinico e neuropsicologico

3.2.1 Valutazione motoria

La valutazione motoria dei pazienti è stata eseguita nell'ambito di una visita neurologica da medici esperti che hanno eseguito un training apposito per la somministrazione della porzione motoria dell'UHDRS.

La valutazione motoria è costituita dalla valutazione dell'oculomotore (item), della corea (7 item), della bradicinesia (11 item), della distonia (5 item) e della rigidità (2 item); la sommatoria totale dei vari item corrisponde ad un valore numerico che viene definito TMS (total motor score) e che conferisce una stima del grado di disabilità motoria del singolo paziente [158]. Maggiore è il valore del TMS raggiunto, maggiore è la disabilità motoria del paziente, per un range compreso tra 0 e 106 punti.

3.2.2 Valutazione funzionale

Per stimare il grado di funzionalità dei pazienti, nella vita di tutti i giorni, sono state realizzate le valutazioni funzionali previste dalla scala UHDRS [158]; nello specifico il functional assesment (FAS), l'indipendence scale (IS) e la total functional capacity (TFC).

La scala FAS è composta da una batteria di 25 attività quotidiane comunemente eseguite tra le quali lavarsi, pettinarsi, preparare i pasti, etc. Ad ognuna di queste domande la risposta può essere sì o no, in funzione della capacità del paziente di eseguire le varie attività in modo indipendente o con la necessità di un aiuto esterno. Viene conferito un punto per ogni "sì", quindi nella sua totalità il test presenta un punteggio minimo di 0 e un massimo di 25 punti, ove quest'ultimo corrisponde alla capacità di eseguire tutte le attività quotidiane comuni senza aiuti.

L'indipendence scale conferisce un valore compreso tra un minimo di 10 ed un massimo di 100: il punteggio di 100 esprime un'autonomia totale, mentre i punteggi inferiori al valore massimo sono associati ad una progressiva perdita di autonomia. Il punteggio di 10 indica la necessità per il paziente di una nutrizione di tipo enterale e l'allettamento.

La total functional capacity valuta la capacità di eseguire un lavoro, di eseguire la attività domestiche, di gestire le finanze, di effettuare le ADL (activities of daily living) e la necessità di assistenza. Il punteggio TFC va da un minimo di 0 ad un massimo di 13, dove quest'ultimo valore rappresenta un paziente in grado di svolgere tutte le funzioni precedentemente citate senza la necessità di assistenza alcuna.

3.2.3 Valutazione comportamentale

La valutazione comportamentale è stata eseguita mediante la CIRS e la parte comportamentale della UHDRS.

La CIRS [317] è una scala ideata per valutare la consapevolezza del proprio stato di malattia (insight), che spesso risulta essere alterata nei pazienti affetti da HD. Prima della somministrazione, abbiamo valutato la severità della patologia attraverso dei test che misurino oggettivamente i deficit cognitivi e funzionali del paziente, così da poter valutare quanto la percezione del paziente sia vicina alla

realtà. A tal fine abbiamo eseguito domande, anche in presenza del caregiver, riguardo le motivazioni della visita, della presenza di deficit cognitivi, deficit funzionali e riguardo la progressione della malattia.

La porzione dell'UHDRS che analizza le problematiche comportamentali (Behaviour Assessment) tiene in considerazione la deflessione del tono dell'umore, l'autostima, l'ansia, l'aggressività, le ossessioni, le compulsioni, i pensieri suicidari, i deliri e le allucinazioni, conferendo a ciascuno di essi un punteggio che deriva dalla somma dello score della gravità (da 0 a 4) e della frequenza (da 0 a 4) del disturbo.

In dipendenza che l'insight sia completo, parziale o nullo, viene attribuito un punteggio a ciascun item, fino ad un massimo di 8 punti in presenza di un insight nullo in tutti gli ambiti testati.

3.2.4 Valutazione cognitiva

Per le valutazioni cognitive del seguente studio abbiamo incluso un'approfondita valutazione mediante le scale di valutazione dello stato cognitivo globale, Mini-Mental State Examination (MMSE) e il Montreal Cognitive Assessment (MoCA), inoltre, in aggiunta a ciò, abbiamo indagato per la prima volta i 6 domini cognitivi (attentivo, esecutivo, apprendimento e memoria, linguaggio, funzione percettivo-motoria e cognizione sociale). Nello specifico il test per le fluenze verbali, la memoria di prosa, il Trail Making Test (TMTA, TMTB, TMT B-A), il Symbol Digit Modality Test (SDMT), Benton- Giudizio di orientamento di linee, Test di Stroop, Hopkins Verbal Learning Test Revisionato (HVLN-R), Boston Naming Test, Reading Mind in the eyes test (RMET), Test della figura complessa di Rey-Osterreith (ROCF).

Il MMSE [318] è composto da 30 domande volte ad esplorare sette differenti aree cognitive (orientamento nello spazio, orientamento nel tempo, registrazione di parole, attenzione e calcolo, rievocazione, linguaggio e prassia costruttiva). Il punteggio totale è compreso tra un minimo di 0 ad un massimo di 30 punti.

Un punteggio uguale o inferiore è rappresentativo di una grave compromissione delle abilità cognitive; un punteggio compreso nell'intervallo 18-24 è indice di una

compromissione da moderata a lieve, un punteggio di 25 è considerato borderline, mentre da 26 a 30 è indice di normalità cognitiva.

Il MoCA [319] analizza otto domini: memoria a breve termine e verbale di richiamo, abilità visuospatiali funzioni esecutive, attenzione, concentrazione, memoria di lavoro, linguaggio, orientamento nel tempo e nello spazio. Un punteggio di almeno 26/30 indica un risultato che rientra nel range di normalità, mentre punteggi inferiori sono considerati patologici. Come scala globale, il MoCA è più preciso del MMSE nel valutare deficit cognitivi nella malattia di Huntington; studi hanno inoltre dimostrato che il punteggio del MoCA correla con l'atrofia corticale e il volume dei nuclei caudati nei pazienti affetti da HD.[320]

Il Test di fluenza verbale si esegue chiedendo al paziente di elencare in 60 secondi tutte le parole che gli passano per la mente associate ad una determinata categoria semantica (es: colori, animali, frutta) o fonemica (es: parole che iniziano con la lettera C).[321]

Il test di memoria di prosa (raccontino di Babcock) si basa sulla lettura di un breve racconto, che il paziente deve cercare di memorizzare e provare a rievocare per ben due volte, una subito dopo la lettura ed una dopo 10 minuti. Per ciascun dettaglio che viene citato nella rievocazione del paziente viene conferito un punteggio, fino ad un massimale di 8 punti per rievocazione. In totale si può ottenere un punteggio compreso tra 0 e 16.[322]

Il Trail Making Test (TMTA, TMTB, TMTB-A), usato per la prima volta nel 1944, è ampiamente utilizzato come metodo per valutare le abilità visuo-spaziali, visuo-motorie e attentive. La parte A del test necessita che il paziente colleghi una serie di numeri tra loro in ordine crescente all'interno di un foglio bianco, invece la parte B richiede di connettere fra loro numeri e lettere in ordine crescente in maniera alternata. La porzione A esplora le capacità di scanning visivo, riconoscimento numerico e di abilità motorie; la parte B richiede in aggiunta alla precedente la presenza di una certa flessibilità mentale al fine di passare da uno stimolo all'altro e quindi concludere il test. Il punteggio conferito ad ogni parte corrisponde al numero di secondi di cui il paziente ha necessitato per concludere il test. Maggiore è il punteggio, maggiore è il deficit cognitivo, inoltre i punteggi vengono valutati in base alle normative per età e scolarizzazione. Per ottenere un valore unico ed

eliminare la componente puramente motoria del test, viene considerata la differenza tra B e A (TMT B-A) [323]

Il Symbol Digit Modality Test è un test neuropsicologico che esamina l'attenzione sostenuta (vigilanza e memoria di lavoro). Al paziente viene fornita una chiave-legenda costituita da cifre e un simbolo corrispondente a ciascuna di esse. Nella versione orale, al paziente viene data una lista di simboli a cui deve correttamente associare a voce il numero corrispondente. Il punteggio equivale al numero delle associazioni corrette effettuate entro il limite di tempo previsto (90 secondi). Il punteggio può variare da 0 a 110. [324]

Il test di Benton- Giudizio di orientamento di linee è un test neuropsicologico sviluppato per valutare i deficit visuospatiali, che sono principalmente a carico dell'emisfero destro. Il paziente deve stimare correttamente l'angolazione di due linee disegnate nello spazio, facendo riferimento ad un set di 11 linee poste a semicerchio e separate tra di loro da un angolo pari a 18°. Gli item del test sono 30 e viene conferito un punto per ogni item corretto eseguito dal paziente. Per il nostro studio abbiamo utilizzato come cut-off patologico un punteggio pari o inferiore a 20.[325]

Il test di Stroop (versione abbreviata) è un test usato al fine di analizzare il fenomeno dell'interferenza cognitiva, che avviene quando uno stimolo ha più caratteristiche che interferiscono tra loro. Al paziente vengono fornite tre liste di nomi di colori (verde, rosso, blu); le prime due liste che il paziente deve leggere a voce alta sono congrue, ossia la prima lista è in bianco e nero e riporta solo i nomi dei colori, mentre la seconda presenta gli stessi nomi scritti con inchiostro del colore corrispondente, infine la terza lista è caratterizzata da una lista di nomi di colori scritti con inchiostro di colori non corrispondenti (es: la parola verde è scritta con inchiostro rosso); al paziente viene richiesto di leggere il colore dell'inchiostro, dovendo quindi inibire contemporaneamente lo stimolo automatico a leggere la parola. Lo psicologo prende nota del numero, degli errori effettuati e il tempo impiegato per completare ciascuna lista. Mediante due formule viene calcolato rispettivamente l'effetto dell'interferenza sugli errori e sul tempo impiegato; ciascuno di questi effetti ha un preciso cut-off patologico.[326]

Lo Hopkins Verbal Learning Test (revisionato) è stato usato per valutare le capacità di apprendimento verbale e la memoria di lavoro. Al paziente viene letta una serie di parole tre volte, e dopo ogni volta dovrà provare a ricordare quante più parole possibili. Viene anche richiesto un tentativo di richiamo differito dopo 20 minuti. Infine, lo psicologo leggerà una lista di parole comprendenti le parole delle liste precedenti, e il paziente deve riferire quali tra queste parole facesse parte della lista.[327]

Il Boston Naming Test è un test che prevede la denominazione di una serie di immagini mostrate al paziente. Viene conferito il punteggio di 1 per ogni risposta corretta, anche se ottenuta mediante un aiuto (stimolazione semantica, non fonologica). La versione utilizzata ai fini di questo studio prevede 30 item, il cut-off patologico è fissato a 24.5.[328]

Il Reading Mind in the eyes test è un test neuropsicologico adoperato per misurare l'abilità nel riconoscere i pensieri e le emozioni delle altre persone, ossia la cosiddetta "theory of mind". Il seguente test si fonda su una serie di fotografie dove sono mostrati gli occhi di diversi individui in vari stati emotivi, rispetto ai quali il paziente deve cercare di identificare il corretto stato emotivo scegliendo tra una serie di opzioni che vengono fornite.[329]

Il Test della figura complessa di REY-Ostreith è stato disegnato per valutare la prassia visuo-costruttiva e la memoria spaziale. Consiste in un compito di disegno di copia immediata e di rievocazione differita di una figura geometrica bidimensionale complessa. Nella figura si sono individuati 18 elementi grafici. Considerando separatamente ogni unità, si valuta la correttezza di ogni elemento all'interno del disegno globale. [330]

Al fine di identificare lo stato patologico e confrontare le performance cognitive tra i diversi test, per ciascun punteggio abbiamo calcolato lo z score (sottraendo al singolo punteggio la media dei soggetti sani nel range di età e scolarità e dividendo poi il risultato per la deviazione standard unitaria del campione normativo) Uno z score < -1.5 è stato considerato patologico. Per ciascun dominio infine abbiamo calcolato lo z compound, derivando la media degli z-score dei test che esplorano tale dominio.

3.3 Acquisizione delle immagini MRI

La risonanza magnetica è stata eseguita nel contesto di un esame di PET/risonanza Siemens a 3T combinata presso la Medicina Nucleare dell'ospedale di Padova. Il protocollo clinico di acquisizione includeva tra le altre le immagini anatomiche MPRAGE T13D e 3D pesate in T2, e le sequenze 3d FLAIR e sequenze 2d SWI utili al fine di escludere la co-presenza di patologie vascolari.

3.4 Analisi Voxel-based delle immagini MRI

Al fine di evidenziare il pattern di alterazione corticale e di sostanza bianca dei pazienti con HD vs. sani è stata eseguita un'analisi di morfometria basata sui voxel (VBM) "whole brain" delle immagini anatomiche acquisite in RM, ossia una analisi comprensiva di tutto il tessuto cerebrale, mediante l'ausilio di software automatizzati.

Il processamento dei dati di risonanza magnetica prevede uno step iniziale di segmentazione delle immagini RM, capace di identificare le regioni appartenenti alla sostanza grigia (GM), sostanza bianca (WM) e liquor (CSF), basandosi sull'intensità e sulla distribuzione spaziale dei voxel.

A questo step segue la normalizzazione, ossia un processo di trasformazione spaziale di ciascun'immagine del cervello del paziente in uno spazio comune al fine di poter confrontare le medesime aree del cervello tra pazienti evidenziandone le differenze morfologiche. Il processo di normalizzazione prevede l'integrazione matematica delle trasformazioni spaziali tra $GM_{\text{soggetto}} \rightarrow GM_{\text{standard}}$, $WM_{\text{soggetto}} \rightarrow WM_{\text{standard}}$ e $CSF_{\text{soggetto}} \rightarrow CSF_{\text{standard}}$ al fine di sovrapporre l'immagine del soggetto a quella del template standard. Uno degli spazi standard più utilizzati è il Montreal Neurological Institute space (MNI) ottenuto dalla media di 305 acquisizioni RM di soggetti sani. La misura matematica (giacobiano) che quantifica in maniera vettoriale lo spostamento di ciascun voxel della RM del soggetto per sovrapporsi all'area corrispondente nello spazio MNI viene poi utilizzata come peso per modulare l'intensità di grigio di ciascun voxel nell'immagine RM normalizzata costituendo quindi una misura morfometrica di alterazione della corteccia o della sostanza bianca nella metodica VBM.

Per il nostro studio, le immagini sono state processate con BAAD v4.3, un software integrato con lo strumento di mappatura parametrica statistica SPM12. Il software include inoltre un Computation Anatomy Toolbox (CAT12) sviluppato in MATLAB, mediante cui è stata eseguita la segmentazione diffeomorfa delle immagini T1-pesate 3D dopo la correzione delle disomogeneità, valutazione del controllo qualità e stima del volume intracranico.

Le sequenze FLAIR-T2 pesate sono state incluse nella segmentazione multimodale per correggere la stima dell'atrofia cerebrale dalle lesioni della sostanza bianca, migliorando così anche la segmentazione delle strutture sottocorticali.

La normalizzazione nello spazio MNI standard è stata attuata grazie allo strumento CAT12, integrato in BAAD. Sono state quindi ricavate per ciascun soggetto le mappe di deformazione GM(VBM-GM) e WM (VBM-WM) utilizzando una maschera dell'atlante MNI: rispettivamente GM-T1 (soglia 35%) e MNI-Fractional anisotropy per la WM con soglia 25% per evitare l'errata associazione del tessuto a GM o WM.

Al fine di identificare il pattern di alterazione corticale e sottocorticale di ciascun paziente HD è stato prima confrontato in VBM –GM e VBM-WM ciascun paziente con i soggetti sani di pari età e sesso derivanti dal dataset ADNI incluso nel software BAADs [148] mediante un'analisi non parametrica con il tool SnPM12. Le mappe T-stats statistiche risultanti sono state incluse nell'analisi di secondo livello T test sia per la GM che WM. Alle mappe ottenute è stato applicato il threshold-free cluster enhancement [149], metodo non-parametrico di stima dei cluster ottimale per soglia statistica basata su 5000 iterazioni Leave –One-Out-(LOO) e corretti per correzioni multiple a FWE $p < 0.001$. Le mappe risultanti sono state sovrapposte alla ricostruzione 3D del template standard nello spazio MNI. La localizzazione dei cluster di attivazione è stata definita per la GM sulla base dell'atlante fornito con uno strumento automatizzato di parcellizzazione anatomica AAL 3.1, mentre l'atlante JHU White-Matter Tractography Atlas è stato utilizzato per l'individuazione dei fasci di WM.

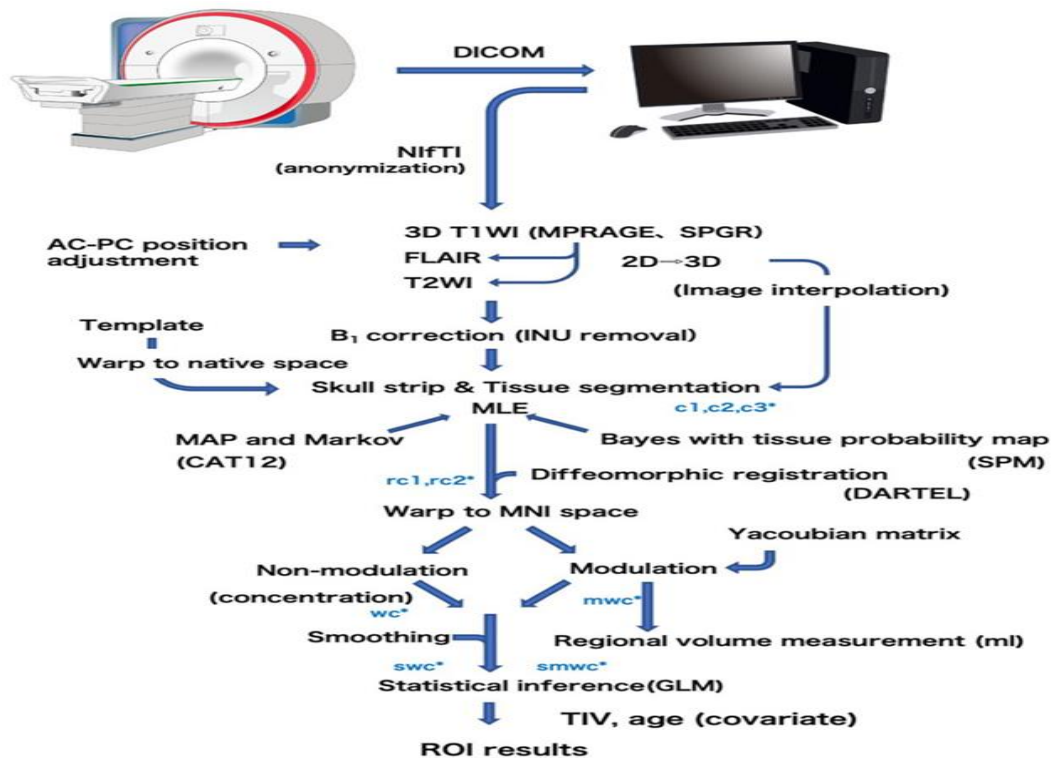


Fig. -9 Rappresentazione schematica dei passaggi eseguiti sopradescritti. Riprodotto da Syaifullah AH et al., 2021 [334]

3.5 Analisi delle misure di spessore corticale, area superficiale e indice di girificazione surface-based(LGI)

Come evidenziato nel paragrafo precedente, la VBM-GM consente di individuare una generica differenza morfologica tra il soggetto e il template standard. Al fine di comprendere la natura di tale alterazione, sono state considerate tre misure: 1) cortical thickness, che descrive le alterazioni di spessore dello strato di corteccia, 2) surface area WM, che descrive i processi di plasticità corticale quantificando quindi le alterazioni locali dell'estensione dei giri e solchi derivanti dalle connessioni cortico-corticali, 3) Il Local Gyrfication Index, che è una misura delle alterazioni morfologiche macroscopiche dei giri e solchi avvenute in età dello neurosviluppo.

Per ricavare queste misure è necessario identificare la superficie della pia e della sostanza bianca. A tal fine, la parcellazione dello spessore corticale è stata effettuata utilizzando il pacchetto software Freesurfer toolkit (versione 7.1) (Dale et al., 1999[332]; Fischl et al., 1999a [333]; Fischl et al., 2004[335]), liberamente disponibile on-line su <http://surfer.nmr.mgh.harvard.edu/> [336]. FreeSurfer ha uno strumento specializzato per la parcellazione automatizzata della materia grigia

neocorticale. Le caratteristiche del processo sono il calcolo della curvatura dell'interfaccia della materia grigia e bianca al fine di caratterizzare i solchi, i giri e l'inflazione dell'intero cervello in una sfera allo scopo di registrare i soggetti all'atlante standard (Desikan et al., 2006[288]; Fischl e Dale, 2000[275]; Fischl et al., 2001[334]; Fischl et al., 2004[335]). La mappatura tra i soggetti e l'atlante viene eseguita utilizzando una registrazione non rigida sulla superficie sferica. Il processo di normalizzazione non lineare e di trasformazione produce un indice di atrofia indicato come e-TIV per ogni soggetto elaborato. Il risultato finale è la parcellazione della corteccia umana in 34 regioni di interesse in ciascun emisfero in 19 sostanze bianche sottocorticali e strutture volumetriche di materia grigia profonda (come tronco cerebrale, ippocampo, amigdala, caudato, accumbens, putamen, pallidum, ventricoli del cervelletto) [312]. La superficie corticale estratta nello spazio nativo delle immagini è stata utilizzata per la creazione di una superficie esterna, che è servita come base per il calcolo dell'LGI (<https://surfer.nmr.mgh.harvard.edu/fswiki/LGI>[335]). Il calcolo IGI locale è stato eseguito come parte del software FreeSurfer utilizzando Matlab R2016b (Mathworks, Natick, MA). Sulla superficie dello "scalpo" vengono create circa 800 regioni sferiche di interesse sovrapposte con il vertice come punto centrale e un raggio standard di 25 mm. Attraverso un algoritmo di corrispondenza, una corrispondente regione di interesse viene identificata sulla superficie piaie per ciascuna di queste regioni. Il rapporto tra l'area della superficie piaie e l'area della superficie esterna fornisce il valore LGI per ciascun vertice, i cui quozienti sono utilizzati per la creazione di una mappa individuale dell'LGI all'interno della quale quest'ultimi hanno valori compresi tra 1 e 5; un LGI di 5 indica che l'area delle circonvoluzioni corticali è 5 volte l'area a livello dello scalpo, mentre un LGI di 1 rappresenta una corteccia piatta nell'area di interesse, che può presentarsi nel caso di agenesi corticale o di lesioni tumorali.

Tutto il processo appena descritto è stato ripetutamente ripetuto con regioni di interesse in gran parte sovrapposte, risultando in mappe corticali di girificazione per successivi confronti statistici. [307].

Onde rendere la distribuzione dei valori normale e quindi soddisfare i requisiti per l'analisi GLM, è stata applicato a ciascuna mappa uno filtro di smoothing gaussiano con kernel FWHM=5mm per LGI (che già include uno smoothing di 2mm nelle mappe) e 10 mm per cth e area.

Al fine di identificare il pattern di alterazione corticale il gruppo HD è stato confrontato per ciascuna metrica (CTH, Area superficiale, LGI) tramite una analisi surface based GLM covariando per età e e-TIV con i soggetti sani di pari range di età e sesso del dataset. A ciascuna mappa ottenuta è stata applicata una threshold $p < 0.05$ Montecarlo corretta ottenuta confrontando la mappa con quella media derivante da 10000 simulazioni.

Analogamente sono stati calcolati i valori dei volumi sottocorticali ottenuti dalla parcellizzazione di ciascuna T1w3D. Onde aumentare il potere statistico, laddove i valori ottenuti per l'emisfero destro e sinistro raggiungevano un valore di correlazione parziale al netto di età e e-TIV di $r = 0.7$ è stato calcolato il valore medio LR. I valori dei volumi ottenuti sono stati poi inclusi in una analisi GLM multilinare includendo età e e-TIV come covariata e il gruppo HD vs. HC come fattore. Una soglia di significatività $p < 0.05$ Sidak corretto per multiple comparison è stata utilizzata per individuare le regioni sottocorticali alterate nella patologia HD.

3.6 Correlato corticale e sottocorticale dei deficit motori, cognitivi e delle variabili cliniche: analisi ROI based.

Al fine di definire il ruolo svolto dall'alterazione sottocorticale (WM) o corticale (GM) nello spiegare le variabili cliniche, la media dei valori T score è stata estratta dai cluster di attivazione FWE corretti ottenuti in VBM dal confronto HD vs. HC. I due valori medi ottenuti sono stati inclusi come variabili indipendenti in una analisi di regressione multilinare a passi volta alla selezione tra GM e WM di quale da sola o in combinazione possa spiegare le variabili cliniche dei pazienti incluse come variabili dipendenti.

Al fine di individuare un ruolo peculiare delle metriche corticali in regioni specifiche nello spiegare le variabili cliniche è stato adottato un analogo processo di selezione delle variabili. Prima di includere nel modello i valori sono stati normalizzati attraverso la z-trasformata sottraendo CAGal valore di ciascun paziente la media dei valori della metrica nella regione ottenuta nel gruppo sano e divisa per la deviazione standard unitaria.

Nel modello multilinare come variabili indipendenti sono stati inclusi i valori medi estratti da ciascun cluster per aree, Cth e LGI e i volumi delle regioni

significativamente alterati nell'HD. Una soglia di $p < 0.05$ è stata usata per la forward selection e di $p = 0.1$ per la backward selection.

3.7 Analisi statistica

3.7.1 Descrittiva variabili demografiche cliniche del campione

I dati ottenuti attraverso l'anamnesi e le valutazioni motorie, funzionali e cognitivo-comportamentali sono state descritti con analisi esplorative, andando a valutare separatamente variabili continue e categoriali, ottenendo rispettivamente media/deviazione standard e frequenze assolute/percentuali.

Con il test Mann Whitney è stata confrontata la distribuzione di età tra HC e HD. Con il test chi quadro è stata confrontata la frequenza di M/F nei due gruppi.

È stata infine eseguita un'analisi di regressione lineare di tra il numero di triplete nei soggetti affetti e l'age of onset.

4. RISULTATI

4.1 Caratteristiche demografiche

La nostra popolazione di studio è costituita dai 19 pazienti, sui 37 dello studio precedente del 2022, che sono stati valutati mediante PET/ RM 3T e dai 34 soggetti sani di pari range di età e sesso (HC) valutati mediante la medesima metodica di PET/RM.

Le caratteristiche intrinseche della popolazione HD e HC (34 soggetti non aventi HD) sono state riassunte nella tabella sottostante (tabelle IX).

Seppure con range di età simili, la distribuzione differisce nei due gruppi ($p < 0.003$), con un età media nei soggetti HC di 37 anni ($SD = 10,45$), mentre nei soggetti HD si attesta sui 50 anni di età ($SD = 11,07$) ed è associata ad una durata media della patologia di 3,07 anni. La distribuzione percentuale per sesso tra

maschi e femmine è invece simile (negli HC 50% vs. 58% negli HD). La media delle espansioni di triplette CAG patologiche nei 19 soggetti HD si attesta sui 43, con un massimo di 39 e un minimo di 50. L'età d'esordio della patologia tra i pazienti sintomatici è in media di 45 anni, compresa in un range tra 27-63 anni di età. All'interno della popolazione HD i pazienti si suddividono in base all'età di insorgenza come quanto segue: 10% Joung onset, 74% Early onset e 16% Late onset; allo stesso tempo i pazienti HD possono essere ulteriormente divisi in base al MDS- stage della patologia con la seguente distribuzione: 16% stadio 1(presintomatici), 32% stadio 2 (prodromici) e 53% stadio 3(manifesti).

Nella tabella sono inoltre riassunti la media dei punteggi di UHDRS (motor), UHDRS-chorea, UHDRS-FAS, UHDRS-IS, UHDRS-rigidity, UHDRS-TCF, MMSE E MoCA (punteggi sono stati corretti per scolarità).

Tabella IX Riassunto delle caratteristiche demografiche e cliniche della popolazione HC e dei soggetti HD esaminati con valutazione motoria, funzionale e cognitivo-comportamentale.

	HC N=34			HD N=19			Mann Whitney U test
	Mean	SD	2.5 - 97.5 P	Mean	SD	2.5 - 97.5 P	p value
Age	36,676	10,464	23,4 - 59,3	49,737	11,055	31,0 - 76,0	0,0003
sex (M)		50%			42%		0,7908
age of onset				45	10,139	27 - 63	/
Joung onset (20-29y)					10%		
Early onset (30-59 y)					74%		
Late onset (>59y)					16%		
CAG triplets expansion				42,625	2,363	39 - 50	/
disease duration				3,071	2,616	0 - 9	/
MDS-Stage							/
I (%)					16%		/
II (%)					32%		/
III (%)					53%		/
UHDRS (motor)				21,437	17,115	0 - 56	/
UHDRS -chorea				7,375	6,82	0 - 21	/
UHDRS -FAS				20,944	4,359	10 - 25	/
UHDRS -IS				88,333	14,246	55 - 100	/
UHDRS -rigidity				4,687	4,285	0 - 16	/
UHDRS-TCF				10,706	3,016	3 - 13	/
MMSE PC				24,411	2,804	19 - 30	/
MoCA PC				19,548	4,424	13,5 - 26,2	/

4.1.1 Alterazioni motorie, cognitive e cerebrali negli stadi MDS della HD

Al progredire della condizione patologica nei vari stadi MDS LM (1= presintomatico, 2=prodromico, 3=manifesto), si è evidenziato un peggioramento di tutti gli score valutati tramite l'UHDRS, motorio (motorio, corea, rigidità) e funzionale (functional assesment (FAS), l'indipendence scale (IS) e la total functional capacity (TFC)). Tale andamento è rappresentato nel grafico box-plot che segue (Fig.10)

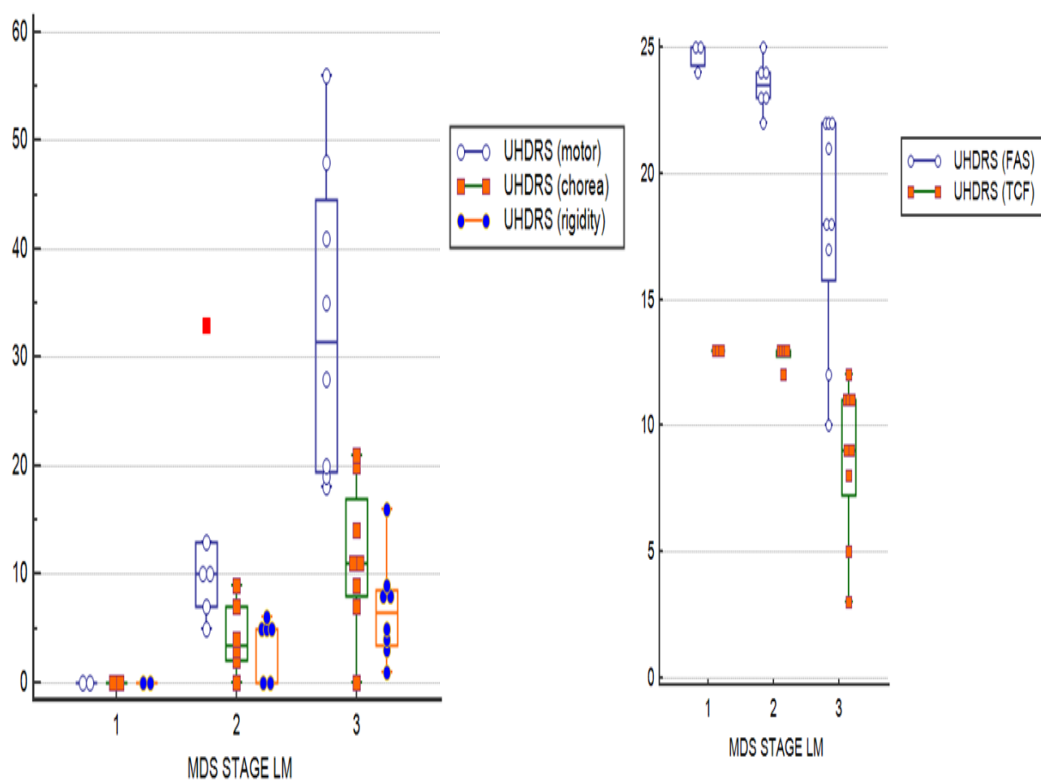


Fig. 10 Progressione score UHDRS in relazione agli stadi MDS nei pazienti HD

Il Trend dello z score dei test neuropsicologici atti a valutare l'ambito cognitivo, (nello specifico: l'aspetto attentivo, esecutivo, del linguaggio, della memoria, visuospatiale e cognitivo sociale), è rappresentato da un declino continuo e progressivo al progredire degli stadi della patologia, fino a raggiungere e superare nell'ultimo stadio della stessa lo score soglia ($z < -1,5$), oltre il quali i singoli domini vengono definiti patologici. (Fig.11)

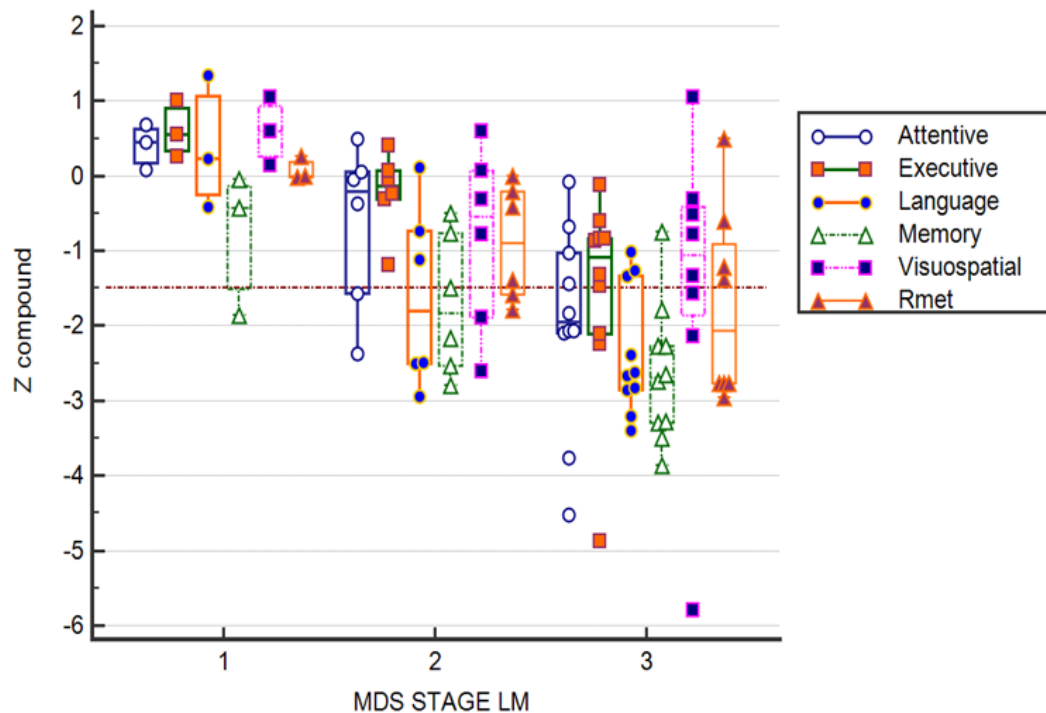


Fig.11 Grafico a scatole e baffi che mette in relazione lo z-score dei singoli domini cognitivi con gli stadi MDS della patologia (soglia patologica $z < -1,5$)

Lo score globale dell'atrofia (t-score) della GM e WM messo in relazione allo stadio clinico, in un diagramma box-plot, mostra un significativo aumento progressivo dell'atrofia corticale e sottocorticale al progredire degli stadi patologici, con il massimo valore riscontrato nei pazienti clinicamente manifesti. (Fig.12)

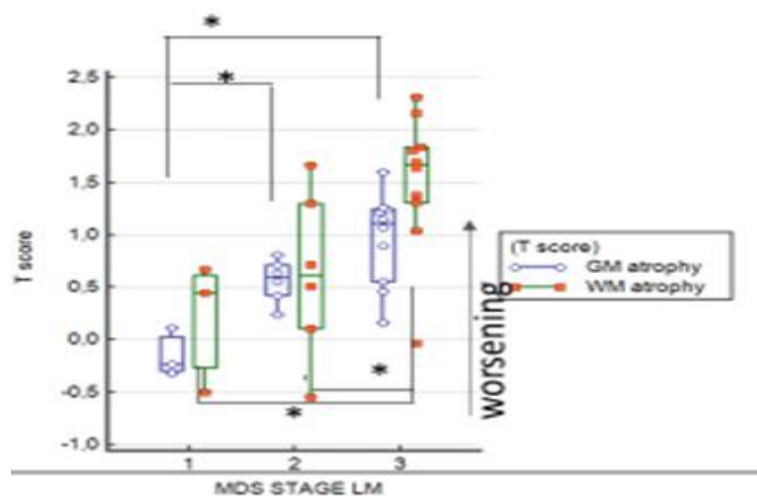


Fig. 12 Confronto tra score globale di atrofia vs stadio clinico (3=soggetti manifesti; 2=prodromici; 1=presintomatici) mediante test di Kruskal Wallis

4.2 Pattern di alterazione alla visita: Voxel-based HD vs HC matched sex&age

4.2.1 Pattern di alterazione corticale

L'analisi dei pattern di atrofia corticale del nostro gruppo di pazienti ha permesso di evidenziare diverse aree di atrofia statisticamente significative (Fig.13):

- A livello frontale: giro retto e corteccia orbitofrontale; giro frontale superiore; giro frontale inferiore (pars triangularis); giro cingolato anteriore; area supplementare motoria
- A livello parietale: giro post-centrale; lobuli parietale superiore e inferiore; precuneo.
- A livello temporale: polo temporale anteriore, giro temporale inferiore sx (corteccia IT)
- A livello occipitale: giro occipitale superiore
- Lobo dell'insula

Risultano esenti da segni di atrofia significativa rispetto ai controlli in particolare la gran parte del giro precentrale, il lobo temporale escluso il polo anteriore e la corteccia IT, il lobo occipitale tranne il giro occipitale superiore. La sostanza grigia sottocorticale è risultata atrofica a livello di caudato, putamen e n. accumens bilateralmente (Fig. 14).

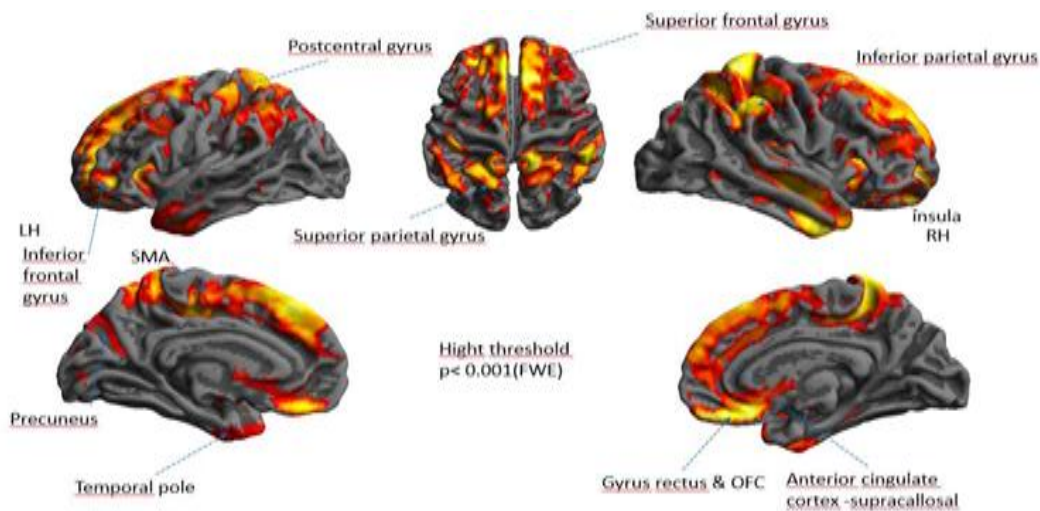


Fig 13 Pattern di atrofia corticale dei soggetti HD vs controlli sani appaiati per sesso ed età

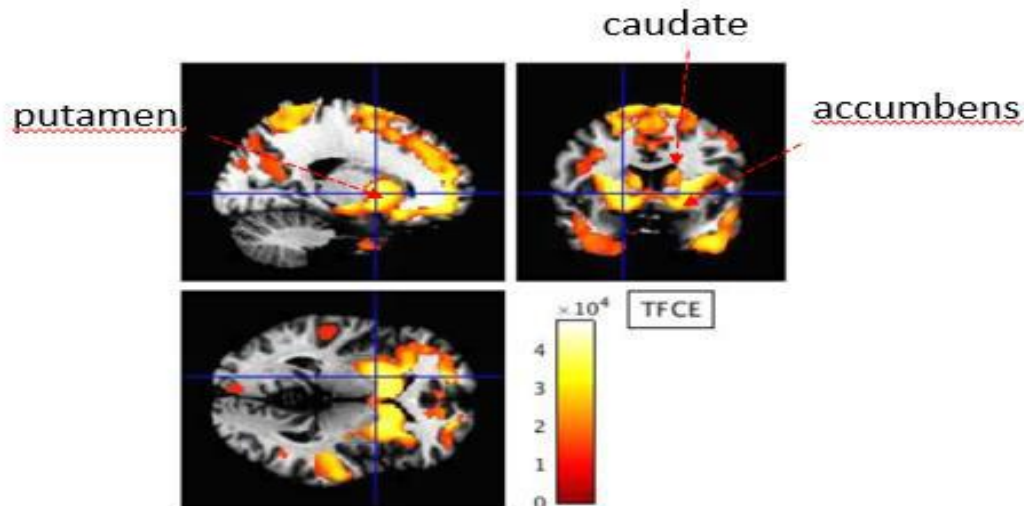


Fig14 Pattern di atrofia della sostanza grigia sottocorticale dei soggetti HD vs controlli sani appaiati per sesso ed età

Nella tabella che segue sono riassunte le aree corticali che sono risultate essere più significative dalla comparazione tra i pazienti HD e la popolazione HC sana in seguito ad appaiamento per sesso ed età.

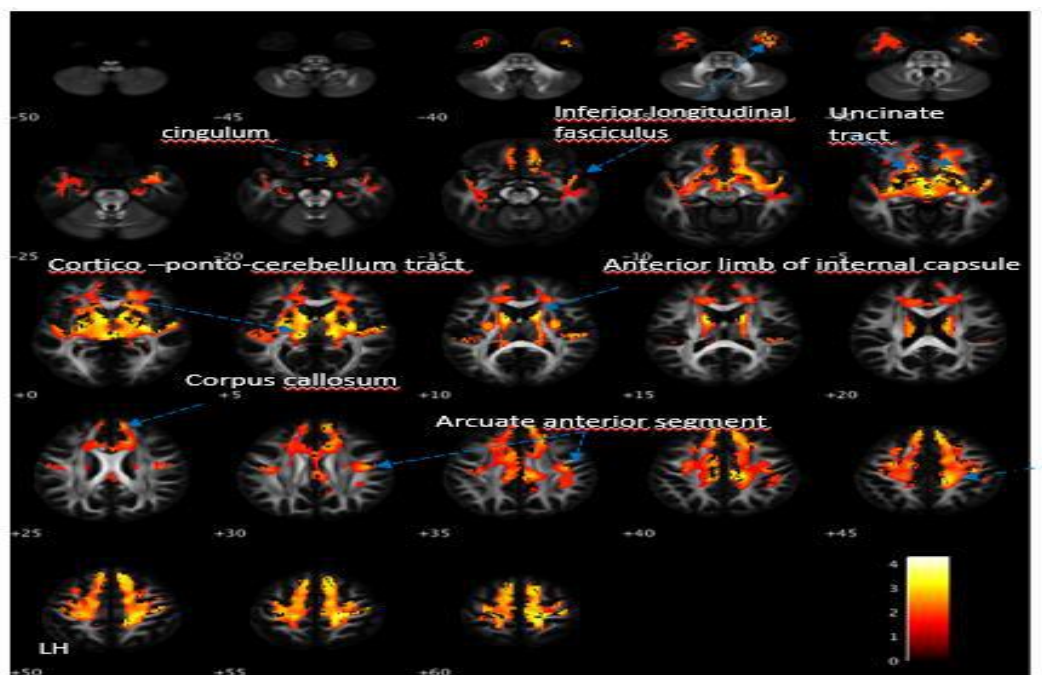
Tabella X Comparazione voxel based morphometric della GM dei pazienti HD rispetto ai controlli sani con dati appaiati per età e sesso. Threshold $p < 0,001$ (FWE-Corrected)

	X MNI	Y MNI	Z MNI	kE	P-FWE-corr	TFCE
Front sup orb R	16	27	-15	105782	0,000	47385
Temp inf L	-40	2	-34	5263	0,000	20711
Thalamus R	21	-12	10	235	0,000	18658
Precuneus R	16	-54	26	836	0,000	17461
Occipital Sup R	27	-76	36	326	0,000	14847
Temporal Mid L	-57	-30	3	263	0,001	13135
Frontal Inf Oper R	45	6	26	13	0,001	12228

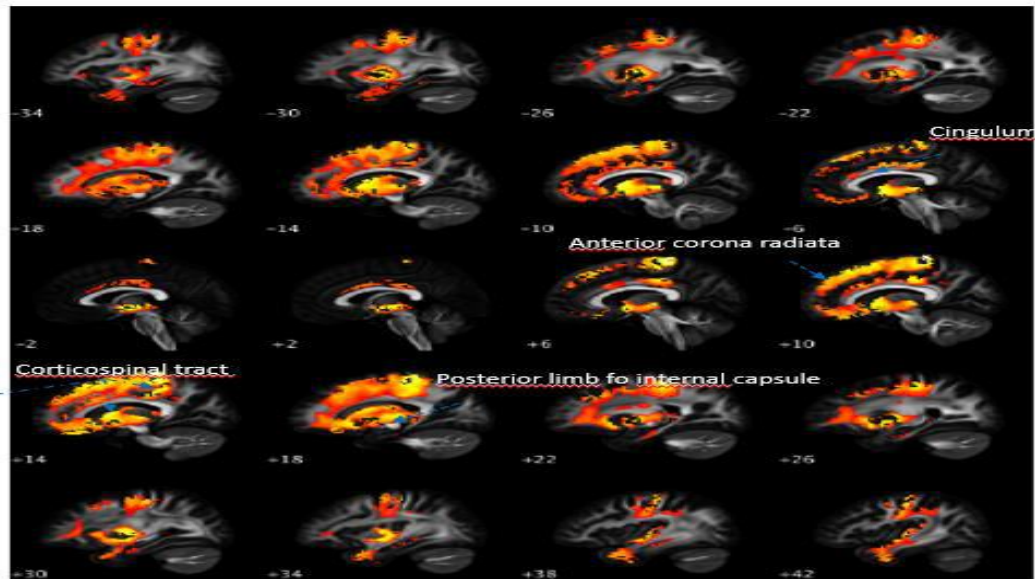
4.2.2 Pattern di alterazione sottocorticale

L'analisi dell'atrofia della sostanza bianca sottocorticale ha mostrato una riduzione di volume rispetto ai controlli a livello delle seguenti aree (Fig. 15):

- Fascicolo longitudinale inferiore (anche detto fascicolo temporo-occipitale, origina dal polo temporale e giunge alla corteccia occipitale);
- Fascicolo longitudinale superiore (collega il giro frontale inferiore e il giro precentrale con il lobulo parietale inferiore)
- Fascicolo uncinato (connette la superficie orbitaria del frontale e polare con le aree temporali anteriori fino al giro dell'ippocampo)
- Cingolo e corpo calloso;
- Tratto cortico-ponto-cerebellare (collegamento tra aree corticali coinvolte nel movimento, nuclei pontini e attraverso il peduncolo cerebellare medio cervelletto controlaterale);
- Braccio anteriore della capsula interna e corona radiata anteriore (dove si localizzano fibre frontopontine e radiazioni talamocorticali);
- Tratto cortico-spinale e braccio posteriore della capsula interna;
- Segmento anteriore del fascicolo arcuato (connessione tra area di Broca e lobulo parietale inferiore).
- Radiazione acustica (origina dal corpo genicolato mediale del talamo, passa per la porzione sottolenticolare della capsula interna fino corteccia uditiva primaria)



High threshold $p < 0.001$ (FWE)



Hight threshold $p < 0.001$ (FWE)

Fig 15 Pattern di atrofia sottocorticale (LH= lato sinistro; nella figura inferiore i numeri negativi indicano il lato sinistro; quelli positivi il lato destro). Threshold $p < 0.001$ (FWE-Corrected)

Nella tabella (tabella XI) che segue sono rappresentati le principali porzioni di WM alla VBM alterate nei pazienti HD nelle quali sono indicate le localizzazioni spaziali delle aree e il livello della significatività (p-value). Le aree, fasci e vie elencate, in maggioranza talamo-corticali e striatali, sono rappresentate come un unico cluster; con un ottimo livello di significatività $p < 0,0001$ per tutte le aree, tranne per il cingolo dorsale (associato al controllo delle funzioni esecutive, orientamento topografico e memoria topografica) nel quale il p è $< 0,004$ pur rimanendo significativo.

Tabella XI Pattern di alterazione WM al VBM nei pazienti HD ($p < 0.001$ FWE corretto)

	X MNI	Y MNI	Z MNI	kE	P-FWE-corr	TFCE
cortico-spinal tract R	10	-33	69	59144	<0,0001	43160
posterior limb of internsl capsule L	-20	-13	8		<0,0001	
forceps minor	-13	33	10		<0,0001	
cortico-spinal tract R	22	-27	57		<0,0001	
posterior limb of internsl capsule R	20	-16	2		<0,0001	
Anterior Thalamic radiation L	-14	4	14		<0,0001	
Cingulum (hippocampus) R	24	-14	-27		<0,0001	
cortico-spinal tract R	4	-26	68		<0,0001	
Anterior Thalamic radiation L	-8	3	0		<0,0001	
Acoustic Radiation R	50	-16	2		<0,0001	
Inferior Fronto-Occipital Fasciculus R	38	-16	11		<0,0001	
superior longitudinal fasciculus R	28	-4	6		<0,0001	
Inferior Fronto-Occipital Fasciculus L	-36	-13	-7		<0,0001	
uncinate fasciculus-L	-34	4	-30		<0,0001	
uncinate fasciculus-R	36	8	-30		<0,0001	
Cingulum dorsal L	-7	4	31		0,0004	

4.3 Correlazione numero triplette CAG ed age of onset

L'età di esordio, come era atteso, correla anche se non significativamente ($p < 0.125$) con il numero delle triplette CAG nel range di ripetizioni del campione. Nella figura n.16 che segue si può osservare la rappresentazione grafica della correlazione appena espressa tramite un grafico a dispersione nel quale è stata calcolata la retta di regressione lineare.

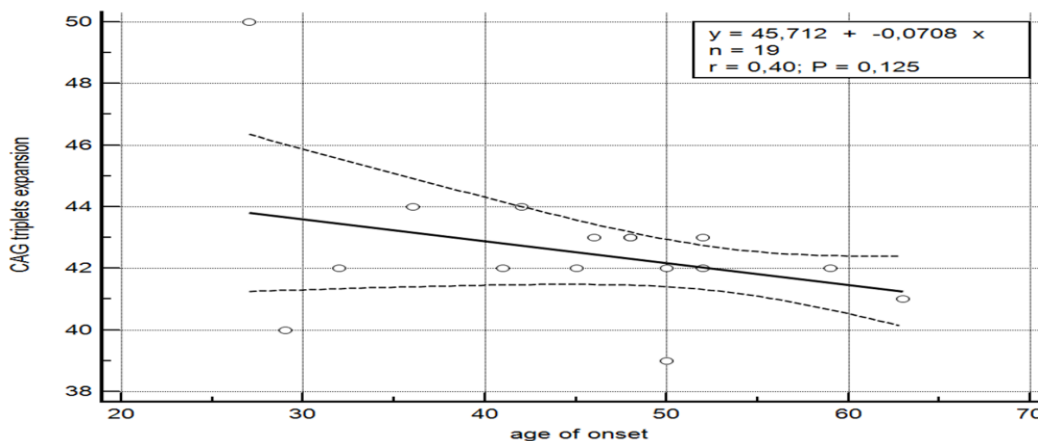


Fig 16. Correlazione Espansione triplette CAG e age of onset

Si nota come l'età anagrafica correli negativamente, non in modo perfetto, con l'espansione delle triplette CAG.

4.4 Pattern di alterazione corticale e sottocorticali nei pazienti con HD: spessore corticale, area-WM, LGI e volumi

Lo spessore corticale in seguito all'applicazione di un threshold $p < 0.05$ Montecarlo corretta è risultato essere significativamente ridotto a livello del giro latero occipitale (p -value 0,0016) e superioparietale (p -value 0,00013) con maggiore lateralizzazione a destra.

Le connessioni cortico-corticali quantificate tramite le aree superficiale della WM che sono risultate essere significativamente inferiori, sono risultate essere nell'emisfero sx: la lingula con più significatività (p -value=0,00001) seguita dal cingolato posteriore (p -value=0,00022); mentre nell'emisfero destro le aree rilevate sono in ordine di significatività: il giro paraippocampale (p -value=0,00001), il giro postecentrale (p -value=0,00019) e il precuneo (p -value=0,00065).

Le aree alterate alla LGI non sono sopravvissute alla Montecarlo corretta; perciò, le aree indicate in tabella ed i p -value a loro associate sono non corretti per correzioni multiple e sono indicati solo con finalità esplorativa e qualitativa.

Le regioni di spessore corticale, aree WM e LGI alterata sono rappresentate nella Fig.17 nella tabella XII

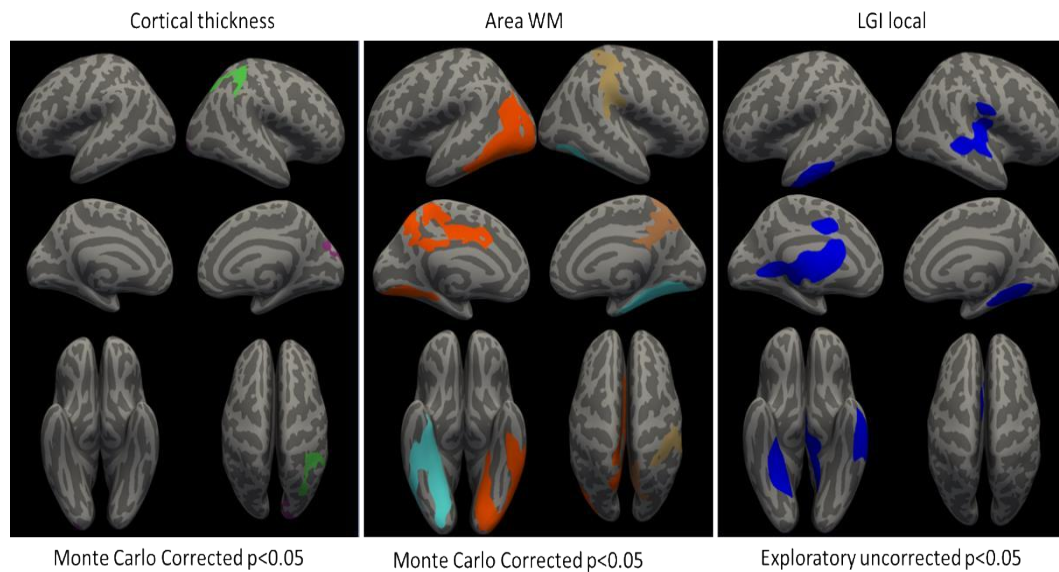


Fig.17 Comparazione delle alterazioni di spessore corticale, area WM e LGI tra HD e HC

Tabella XII Pattern di alterazione nello spessore corticale, area WM e LGI nei pazienti HD

		VtxMax	Size(mm ²)	TalX	TalY	TalZ	NVtxs	Max - log(10) P	Monte Carlo p<0.05
Cortical Thickness									
rh	lateraloccipital	117799	1656.05	13.1	-87.4	21.1	2145	2,800	*
	superiorparietal	133641	1325.60	29.5	-37.9	47.4	3472	3,870	*
Area									
lh	lingual	91243	8327.51	-19.2	-76.7	-3.1	13403	4,852	*
	posteriorcingulate	49331	3089.70	-4.4	-0.3	35.2	7595	3,641	*
rh	parahippocampal	40195	3895.67	31.6	-22.1	-21.1	6763	4,781	*
	postcentral	95954	3207.71	33.6	-32.0	49.7	7822	3,706	*
	precuneus	155887	2150.24	14.2	-45.7	38.3	5382	3,189	*
LGI									
lh	transversetemporal	64362	2110.62	-37.6	-29.8	12.0	5394	2,124	
	lateralorbitofrontal	79041	513.18	-12.7	15.1	-14.1	1135	2,059	
	superiorparietal	133605	770.31	-17.4	-49.2	66.7	1816	-1,732	
	superiorfrontal	117077	154.27	-20.5	29.0	51.4	218	1,421	
	superiorfrontal	110026	122.21	-12.7	16.7	35.8	302	1,385	
	precentral	80087	21.51	-56.2	5.8	27.2	53	1,318	
rh	parahippocampal	13995	1541.24	36.4	-39.1	-11.4	2821	1,687	
	transversetemporal	101533	2187.28	38.3	-26.8	10.1	5562	1,647	
	postcentral	32567	386.63	59.4	-19.2	19.3	994	1,593	

4.5 Pattern di alterazione volumetrica sottocorticale HD vs HC covariato per età e e-TIV

Partendo dalla stima dei singoli volumi sottocorticali a cui è seguito il calcolo del valore medio dei due emisferi LR in presenza di un $r > 0,7$; le aree che sono risultate essere significativamente alterate in un'analisi GLM multilineare covariate per età e e-TIV e con livello di significatività $p < 0,05$ Sidak corretto sono le seguenti:

- Talamo con un p-value $< 0,0001$
- Le regioni sottocorticali striatali del: Putamen, Pallido e Caudato ai quali era associato un p-value rispettivamente di 0,0001, 0,0001 e 0,003
- Amigdala e accumbens p-value 0,012 e 0,010.

La corteccia cerebellare, la WM cerebellare e l'ippocampo nonostante avessero una correlazione con $r > 0,7$ non sono risultate essere statisticamente significative in seguito alla correzione.

Tabella XIII Pattern di alterazione volumetrica sottocorticale nei pazienti HD, i volumi dell'emisfero destro e sinistro sono stati mediati se il coefficiente di correlazione parziale includente età e e-TIV come variabile di disturbo sopravvive con soglia $r > 0,7$.

	HC (N=34)	HD (N=19)	GLM			
	Mean (SD)	Mean (SD)	F	Sig. Sidak corr	Noncent. Parameter	Observed Power ^P
Multivariate Pillai's Trace			6,158	<0,0001	92,369	1,000
LR-Thalamus	7453(891)	6886(867)	14,000	0,000	14,000	0,956
LR-Putamen	4946(571)	3224(992)	15,241	0,000	15,241	0,969
LR-Pallidum	1992(200)	1428(346)	16,225	0,000	16,225	0,977
LR-Caudate	3447(488)	2277(709)	9,559	0,003	9,559	0,858
LR-Hippocampus	4110(417)	3872(508)	2,008	0,163	2,008	0,285
LR-Amigdala	1590(210)	1490(297)	6,891	0,012	6,891	0,730
LR-Accumbens	549(77)	354(144)	7,130	0,010	7,130	0,745
LR-cerebellum-GM	54781(6041)	49956(6313)	3,249	0,078	3,249	0,424
LR-cerebellum-WM	14332(1742)	12881(2191)	0,336	0,565	0,336	0,088
CC-Posterior	964(142)	834(232)	0,054	0,817	0,054	0,056
CC-Mid_Posterior	538(80)	442(138)	0,006	0,938	0,006	0,051
CC-Central	568(137)	482(188)	0,210	0,649	0,210	0,073
CC-Mid_Anterior	556(152)	480(201)	1,859	0,179	1,859	0,267
CC-Anterior	943(161)	820(133)	0,055	0,815	0,055	0,056
Brain-Stem	21328(2133)	19731(2768)	2,535	0,118	2,535	0,345

	LR-Thalamus	L/R Caudate	L/R putamen	L/R pallidum	L/R hippocampus	L/R accumbens	L/R amygdala	LR/Cerebellum cortex	L/R cerebellum WM
correlated $r > 0,5$	0,78	0,95	0,95	0,872	0,904	0,67	0,769	0,931	0,925

4.6 ROI based analysis: correlazione VBM vs variabili cliniche e genetiche

4.6.1 Correlazione tra le alterazioni corticali e sottocorticali in HD con il fenotipo clinico

Nessuna delle alterazioni evidenziate con le metodiche precedentemente valutate correla in modo significativo con il numero dell'espansione delle triplette CAG. Si cita solo il pallido sebbene non abbia una reale significatività statistica con un p-value di 0,09.

L'età di esordio della patologia correla in maniera significativa crescente con lo spessore corticale del giro superioparietale RH e la sostanza bianca sottocorticale della VBM, ai quali sono associati rispettivamente dei p-value di 0,002 e 0,0095.

La riduzione dello spessore corticale a livello del giro laterooccipitale dell'emisfero destro correla in una modalità molto significativa con la riduzione nello score la scala MoCA (p-value 0,0006), allo stesso tempo anche l'ipertrofia della sostanza bianca rilevata alla VBM correla significativamente con peggiori performance cognitive nella medesima scala.

Tabella XIV Rappresentazione delle alterazioni corticali e sottocorticali che presentano correlazione con il numero di triplette CAG, età di esordio e score MoCA

	Variable	CAG_triplets_expansion			age of onset			MoCA		
		Beta	r partial	pvalue	Beta	r partial	pvalue	Beta	r partial	pvalue
VBM	GM									
	WM				7,23	0,625	0,0095	-2,745	-0,551	0,015
Volume	LR_Accumbens									
	LR_Amigdala									
	LR_Caudate									
	LR_Pallidum			0,09						
	LR_Putamen									
Area	LR_Thalamus									
	lh_posteriorcingulate									
	rh parahippocampal									
	rh_postcentral									
	lh_lingual									
Cortical thickness	rh_precuneus									
	RH_lateraloccipital							1,72	0,715	0,0006
	RH_superioparietal				-3,5153	-0,719	0,002			

4.6.3 Correlazione tre le alterazioni corticali e sottocorticali in HD con i sintomi cognitivi

I vari aspetti cognitivi che sono stati rilevati tramite le specifiche scale correlano con le seguenti strutture corticali e sottocorticali (Tabella XVI). In particolare, si osserva che un declino nei seguenti domini si correla con:

- **Attentivo:** atrofia WM (p-value 0,0044) e aumento spessore corticale del giro lateroccipitale RH (p-value 0,002)
- **Esecutivo:** la atrofia GM (p-value 0,006) e a livello di alterazioni volumetriche nelle strutture sottocorticali con ipertrofia dell'acumbens (p-value 0,0001)
- **Linguaggio:** La atrofia WM (p-value 0,0055) e come l'ambito esecutivo con l'ipertrofia dell'acumbens (p-value 0,0007)
- **Memoria:** La atrofia GM (p-value 0,0006), riduzione area WM a livello del cingolo posteriore LH (p-value 0,0119) ed ipertrofia a livello di spessore corticale sia nel giro lateroccipitale RH e atrofia del giro superoparietale RH (p-value rispettivamente di <0,0001 e 0,0005)
- **Visuospatiale:** La atrofia del GM (p-value 0,001) e ipertrofia del talamo (p-value 0,0024)
- **(RMET):** La atrofia GM (p-value 0,0001) e ipertrofia dello spessore corticale del giro lateroccipitale RH (p-value 0,01).

Tabella XVI: Rappresentazione delle alterazioni corticali e sottocorticali che presentano correlazione con i sintomi cognitivi: attentivo, esecutivo, linguaggio, memoria, visuospatiale e RMET

Variable	Attentive-zc			Executive-zc			Language-zc			Memory-zc			Visuospatial-zc			RMET-zc		
	Beta	r	pvalue	Beta	r	pvalue	Beta	r	pvalue	Beta	r	pvalue	Beta	r	pvalue	Beta	r	pvalue
VBM	GM			-1,454	0,346	0,006				-1,543	-0,7169	0,0006	-1,733	-0,721	0,001	-1,82	-0,8198	0,0001
	WM	-0,8168	-0,6232	0,0044			-0,956	-0,61	0,0055									
Volume	LR_Accumbens			0,3251	0,7822	0,0001	0,493	0,7063	0,0007									
	LR_Amigdala																	
	LR_Caudate																	
	LR_Pallidum																	
	LR_Putamen																	
	LR_Thalamus												0,923	0,686	0,0024			
Area	lh_posteriorcingulate									-0,287	-0,594	0,0119						
	rh parahippocampal																	
	rh_postcentral																	
	lh_lingual																	
Cortical thickness	rh_precuneus																	
	RH_lateraloccipital	0,427	0,7588	0,0002						0,892	0,9372	<0,0001				0,379	0,606	0,01
	RH_superiorparietal									-0,3733	-0,7519	0,0005						

4.7 Correlazione LGI index con l'age onset

Mediante la valutazione della correlazione tra il valore di LGI in tutti i quattro giri riscontrati alterati (giro postcentrale LH, giro precentrale LH, giro frontale medio caudato e giro superofrontale) e l'age of onset, si è riscontrato uno specifico pattern, secondo il quale l'aumento del ripiegamento corticale correla con un'insorgenza precoce della patologia (young-onset), per poi perdere di rilevanza negli early e late-onset. (Fig.18)

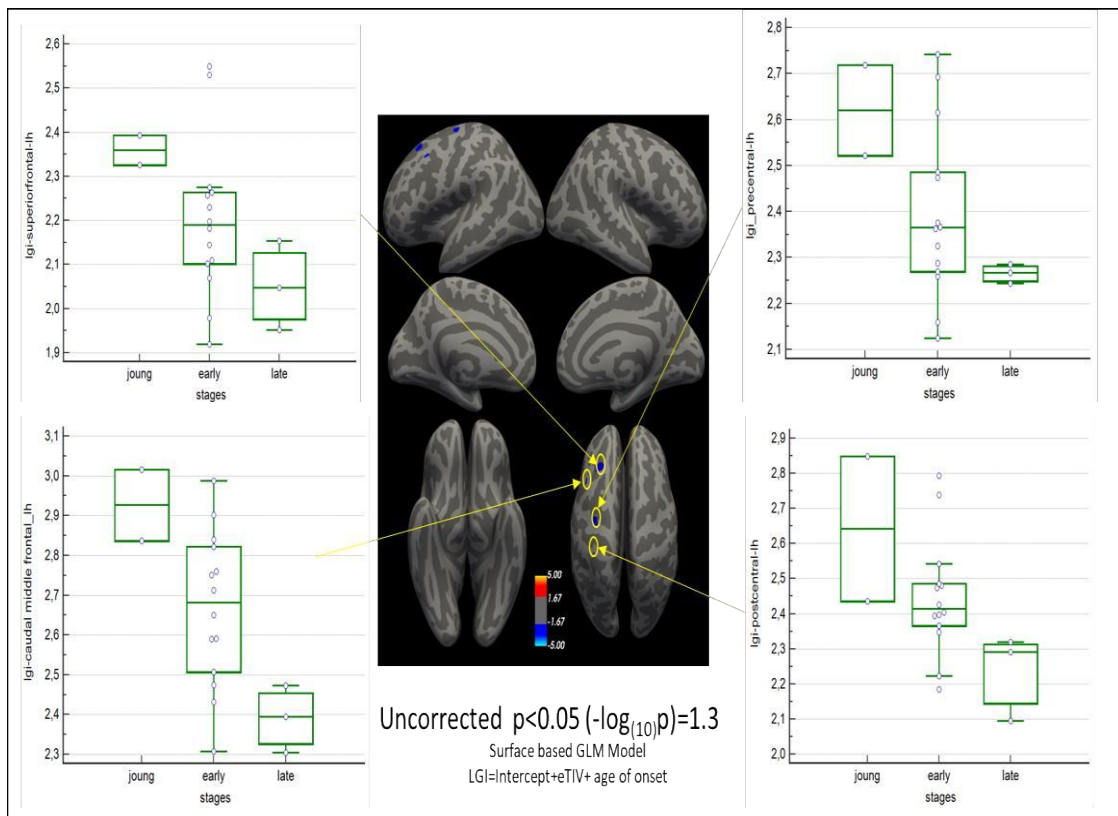


Fig.18 Correlazione LGI con l'età di esordio (young, early e late)

5. DISCUSSIONE

Il seguente studio applicando un approccio innovativo multimodale in RM, all'interno di un campione monocentrico comprensivo dei diversi stadi e fenotipi della patologia HD, ha distinto per la prima volta un contributo specifico delle aree corticali (LOC e parietale superiore e cingolato posteriore) rispetto ai sintomi motori e il declino cognitivo, andando invece ad associare alla degenerazione striatale (accumbens, pallido, caudato e amigdala) e alle alterazioni in sostanza bianca i deficit nelle abilità funzionali. A livello degenerativo e di vulnerabilità il nostro studio è riuscito ad evidenziare, per la prima volta, che l'alterazione corticale deriva dalla combinazione in aree distinte della riduzione di spessore corticale e riduzione delle connessioni cortico-corticali, ed allo stesso tempo che l'impatto dei misfolding da neurosviluppo nella corteccia sono rilevanti solo nei pazienti a esordio giovanile. È interessante notare che il pattern di alterazione frontale dorsale rilevato in VBM non presenti un particolare riscontro con le alterazioni dello spessore corticale che risultano essere in linea con la letteratura, quindi a livello parietale e occipitale, quanto piuttosto con le alterazioni cortico-corticali. Da un punto di vista clinico i dati mostrano che accanto a un peggioramento sia della porzione motoria che funzionale già mostrata in letteratura, l'evoluzione della malattia è fin dall'esordio accompagnata da un declino cognitivo progressivo che si estende a tutti i domini compreso la cognitivtà sociale, finora inesplorata in letteratura.

Dal punto di vista epidemiologico la distribuzione percentuale per sesso tra il maschile e femmine nella nostra popolazione HD evidenzia una leggera prevalenza del sesso femminile 58% vs. 42%; tale dato non trova riscontro in letteratura e può essere spiegato dalla ridotta numerosità del campione analizzato [5;343;344;]. La suddivisione dei pazienti in base all'età di insorgenza nel nostro campione HD prevede una prevalenza di early of onset (74%), la quale spiega il perché la media dell'età d'esordio tra i pazienti sintomatici è di 45 anni, il risultato rimane comunque in linea con la media fornita dalla letteratura ~40 anni di età all'interno di un range di 35-50 anni di età. [5;146;343;344] La stessa media dell'espansione delle triplette CAG patologiche (42,323) è influenzata dalla prevalenza nel campione di early of onset, i quali hanno in media un numero di triplette compreso tra 40-55.[33] Comunque, in linea generale il campione HD analizzato dal punto di

vista dell'age of onset e gli stadi della patologia presenta una buona eterogeneità ed è quindi sufficientemente rappresentativo.

Il peggioramento dello score delle scale motoria, corea, rigidità, FAS e TCF di UHDRS avvengono in concordanza dell'evoluzione e dell'aggravarsi della patologia fino a diventare ed essere definite patologiche nella fase manifesta, tutto ciò è linea con quanto riportato in letteratura [198;199-201]. Lo stadio cognitivo, che non era stato precedentemente esplorato in altri studi associato ai vari stadi della patologia, è stato valutato sotto l'aspetto attentivo, esecutivo, del linguaggio, memoria, visuospaziale, RMET e tramite i quali si è evidenziato un progressivo declino delle funzionalità esplorate fino a raggiungere il livello di domini cognitivi patologici nello stadio 3 MDS; un ulteriore elemento di novità dello studio è l'aver somministrato il test neuropsicologico RMET, basato sulla "theory of mind", che non era mai stato valutato precedentemente ed il cui è andamento dello score è risultato essere il medesimo degli altri domini cognitivi supportando la sua introduzione in aggiunta ai test cognitivi previsti dai criteri di diagnosi dell'HD. Per quanto concerne gli score di atrofia WM e GM riscontrati patologici alla VBM, quest'ultimi presentano alterazioni già nelle prime fasi della patologia e prevedono un continuo peggioramento al progredire dell'HD; nello specifico non si è evidenziato un pattern dissociativo che privilegi la atrofia della WM o della GM in nessuno degli stadi clinici, ma bensì il loro andamento è concorde e progressivo, da cui si può dedurre che il peggioramento clinico nel nostro campione è dovuto ad un atrofia sia della WM che della GM in tutto gli stadi valutati. Per averne la certezza bisognerebbe fare uno studio longitudinale che vada ad indagare nel tempo e nei vari stadi la progressione di alterazione della WM e della GM. In ogni caso quanto appena riportato è coerente con la letteratura [196;197-199].

I pattern di atrofia corticale riscontrati con VBM a livello frontale, temporale, parietale, occipitale e insulare confermano le alterazioni riportate da altri studi in letteratura. [195-197;247] Allo stesso tempo le alterazioni della WM alla VBM a livello del braccio anteriore della capsula interna e della corona radiata (quindi fibre frontopontine e radiazioni talamo corticali e del tratto cortico-spinale), nel braccio posteriore della capsula interna e nel tratto corti-ponto-cerebellare associate a deficit di motricità e sensibilità sono risultate essere in linea con quello che ci aspettavamo e con la letteratura.[39;197-201] Rappresentano invece un elemento di

novità il riscontro di alterazioni a livello dei tratti facenti parte della via dorsale del linguaggio (fascicolo arcuato e fascicolo longitudinale superiore) associati alla comprensione e produzione fonologica e sintattica del linguaggio ed a livello dei tratti della via ventrale del linguaggio (tratto uncinato, fascicolo longitudinale inferiore) associati invece alla decodifica di suoni complessi e la attribuzioni di un significato a quest'ultimi. I risultati appena esposti evidenziano un importante ruolo della degenerazione della WM sottocorticale nel deterioramento progressivo dei pazienti HD nella comprensione e produzione del linguaggio. Interessante anche il riscontro di alterazioni a livello del caudato posteriore che potrebbero spiegare i deficit di memoria topografica riscontrabili nei pazienti HD e nella radiazione acustica, la quale risulta alterata sia come fascio ma anche come atrofia a livello dei giri temporali trasversi di Heschl della corteccia uditiva primaria (area 41).

Tra l'età di esordio della patologia e l'espansione delle triplette CAG si evidenzia una correlazione negativa non perfetta come già riportato in letteratura, che però non raggiunge la significatività statistica [30]. Il reperto appena descritto è probabilmente comunque limitato dal fatto che i pazienti che giungono alla nostra attenzione sono pazienti in età avanzata aventi già un numero di triplette CAG tendenzialmente basso; mentre, in netta contrapposizione rispetto a quanto appena asserito, i pazienti presentanti un numero alto di triplette non giungono alla nostra attenzione in età avanzata, come conseguenza della maggiore precocità nel raggiungere una disabilità marcata o il decesso.

In seguito alla correzione di Montecarlo le aree di cortical thickness risultate significativamente alterate sono state il giro lateroccipitale RH e il superoparietale RH (quest'ultimo fa parte dell'area somastetica associativa e partecipa alla funzione di stereognosi). Le sedi appena citate come alterate sono concordi con i risultati riscontrati nello studio Track-HD, il quale le indica alterate già a partire dai pazienti prossimi alla diagnosi. Allo stesso tempo nel nostro campione non si è evidenziato l'assottigliamento corticale prominente nelle regioni del precuneo, visive e motorie primarie presenti nella fase sintomatica di HD.[195] La mancanza del riscontro di una significativa alterazione di spessore corticale per le ultime sedi citate, può essere spiegato dal fatto che quest'ultime secondo la letteratura[195;121] sono alterate solo nei pazienti sintomatici, i quali nella nostra popolazione HD rappresentano il 53%, contro il 47% di pazienti pre-sintomatici e prodromici; quindi

essendo il rapporto tra quest'ultimi quasi 1:1, è probabile che in seguito al confronto con HC e la successiva correzione, tali aree non abbiamo raggiunto la significatività per l'intero campione in esame costituendone poco più della metà. Invece, le aree di WM risultate significativamente alterate nel nostro campione in seguito alla correzione sono molto più estese numerose di quelle del Cth. Da ciò si può dedurre che le alterazioni che avevamo precedentemente riscontrato alterate a livello della VBM sia per GM corticale che per WM sottocorticale sono prevalentemente da imputare, nel nostro campione, alla plasticità compensativa o di reazione al danno dell'area sottocorticale della sostanza bianca rispetto alle neurogenerazione corticale del Cth. Le aree di sostanza bianca risultate essere significativamente alterate sono in linea con la letteratura [347], ma di particolare interesse sono le alterazioni a livello della corteccia cingolata posteriore, il precuneo e il giro paraippocampale, poiché quest'ultime sono regioni tra di loro interconnesse e facenti parte del default mode network (DMN) e richiederebbero in quanto tali ulteriori approfondimenti al fine di valutare l'alterazione dell'appena citato network nella HD. [345]

Le regioni risultate alterate con la metodica del LGI non sono sopravvissute alla multipla comparison rispetto al sano; perciò, nel nostro campione non riscontriamo un pattern di cortical folding che individui regioni di suscettibilità dovute al neurosviluppo. Tale risultato è dovuto al fatto che il nostro campione contiene pochi pazienti Joung onset, solo 2 su 19 totali ed è poi confermato dall'analisi di correlazione.

Le alterazioni volumetriche sottocorticali significative nei pazienti HD si riscontrano soprattutto a livello striatale (talamo, putamen, pallido, caudato) in linea con lo studio TRACK-HD e altri. [39;197-201] Mentre le alterazioni a livello dell'amigdala e dell'accumbens confermano una possibile alterazione del salience network, coinvolto nella rivelazione e filtro degli stimoli salienti emotivi frontali e sensoriali, nei pazienti HD. (Aracil-Bolaños I et. al 2022) [345]

Dalla ROI based analysis del nostro campione dal punto di vista del fenotipo clinico si ricava che il numero di triplette non correla in modo significativo con nessuna delle alterazioni di VBM, volume, area e Cth precedentemente esposte, ma solamente il pallido striatale dà un'idea di trend ma senza raggiungere la significatività; Tale risultato non conferma i dati presenti in letteratura, nella quale

il numero di triplette correla sia con l'atrofia della WM che con la perdita volumetrica striatale. [189;190;194;197;199]. Invece l'età d'insorgenza correla sia con l'atrofia della WM che con il giro superoparietale alla Cth fornendo perciò un risultato coerente con lo studio TRACK-HD, il quale aveva individuato tali sedi di suscettibilità [29]; inoltre, si è riscontrato che a correlare ed in influenzare lo score della scala MoCA in modo significativo ci sono sia la WM che il giro lateroccipitale della Cth, il quale svolge un ruolo importante nell'elaborazione percettiva.

Nella ROI based dal punto di vista motorio si è evidenziata una netta distinzione del ruolo corticale e sottocorticale nell'andare a influenzare i vari aspetti motori della patologia. La GM ipertrofica correla con gli aspetti motori dell'UHDRS (motor e corea), quindi alterazioni dei movimenti volontari, la motilità oculare, stabilità posturale, equilibrio, distonia, bradicinesia e movimenti coreici; mentre la WM atrofica correla con gli score di valutazione funzionale dell'UHDRS (FAS, IS E TFC) e gli aspetti motori meno caratterizzanti la patologia e legati alla rigidità. I nostri risultati appena espressi sono concordi con la letteratura per la significatività del ruolo dell'atrofia della GM rispetto agli aspetti motor e corea di UHDRS, ma differiscono rispetto dalla stessa per il ruolo della correlazione corticale con le scale funzionali, in particolare per la TFC e per il ruolo di correlazione sottocorticale con i sintomi motori coreici, [196;197-199] Le novità introdotta dai seguenti risultati riguarda soprattutto l'individuazione della WM di come possibile nuovo marker da associare alla progressione ed il peggioramento degli score funzionali.

Sempre a livello dell'UHDRS motor e rigidity quest'ultimi correlano in modo inaspettato prevalentemente con alterazioni volumetriche dell'amigdala, quindi dello striato ventrale [201]; mentre la correlazione dell'UHDRS-corea e FAS, con le strutture striato pallidali(pallido, caudato)[349-351,] è in linea con la letteratura, invece quelle dell'UHDRS-IS e TCF con le alterazioni di Cth a livello del giro lateroccipitale rappresentano un elemento di novità.

Anche dal punto di vista dei sintomi cognitivi possiamo riscontrare una netta differenza del ruolo corticale e sottocorticale di rilevanza rispetto ai vari aspetti cognitivi indagati. La WM correla con l'ambito attentivo ed il linguaggio, la relazione tra sostanza bianca ed aspetto cognitivo attentivo è in linea con le nostre aspettative e la letteratura, poiché è presente una porzione di WM striatale atta a

regolare quello specifico ambito, mentre rappresenta un risultato interessante l'influenza sottocorticale nell'influenzare il linguaggio; solitamente nei pazienti HD la produzione del linguaggio è alterata prevalentemente per colpa delle contrazioni involontarie e coreiche che portano alla disartria, però le alterazioni della WM che abbiamo rilevato sia a livello della via dorsale che ventrale del linguaggio ci indicano che la porzione sottocorticale della WM ha un ruolo di rilevanza nell'alterare l'elaborazione e produzione del linguaggio nei pazienti HD. La GM invece correla con l'ambito esecutivo, la memoria, il visuospatiale e RMET. A livello esecutivo ci aspettavamo una correlazione anche con la WM, per via del ruolo dello striato in tale ambito, ma dai nostri risultati pare le alterazioni abbiano un'influenza solo corticale con le aree esecutive prefrontali (giro frontale superiore e inferiore alterate alla VBM) [247;346]; invece il prevalente ruolo corticale nell'influenzare l'aspetto visuospatiale e della memoria è in linea con la letteratura [190;346-347]. Il coinvolgimento dell'accumbens con l'ambito esecutivo ci fa ipotizzare che come nel parkinson, l'accumbens striatale espleti il ruolo di blocco esecutivo portando al fenomeno del "freezing", mentre per l'influenza dell'accumbens sul linguaggio bisognerebbe esplorare se è coinvolta l'interazione striatale dello stesso con la corteccia temporale, ma nel nostro studio non è stata possibile esplorare tale ipotesi. Le aree di WM e di Cth risultate essere rilevanti per la memoria sono coerenti ed in linea con la funzione svolta da quest'ultime (cingolato posteriore proietta all'ippocampo, il giro lateroccipitale espleta ruolo di retrieval information e il giro supero-parietale proietta a sua volta al cingolato posteriore). Il coinvolgimento del talamo dal punto di vista visuospatiale non ha trovato riscontro in letteratura; perciò, in futuro potrebbe essere un aspetto da approfondire, mentre le alterazioni riscontrate nell'attentivo a livello del Cth sono in linea con gli studi precedentemente eseguiti. [273;348] Noi riscontriamo che la componente di social cognition correla con la GM e la Ctf del giro lateroccipitale, però questi risultati, essendo i primi ricavati da tale ambito, non posso aver riscontro in altri studi ed infatti, una delle prospettive future sarà quello di indagare tale aspetto su un campione più ampio.

I risultati sulla relazione tra LGI e age of onset evidenziano un pattern di misfolding presente nei pazienti young onset, che però perde sempre più di rilevanza all'aumentare dell'age of onset, perciò nei pazienti early e late of onset. Quindi il

peso del LGI come area di suscettibilità da neurosviluppo è rilevante solo nei pazienti con numero più elevato di triplette e presentazione precoce della patologia, mentre nei soggetti early e late la diminuzione del LGI è da attribuire alla progressiva neurodegenerazione della patologia e non a un danno da neurosviluppo. [278;283;288]

Il pattern di misfolding è consistente in tutte le 4 aree di correlazione analizzate, anche se il risultato necessiterà di essere confermato in studi futuri a causa della ridotta numerosità campionaria dei young of onset del campione presenti (2 su 19 totali).

Il nostro studio per quanto innovativo nella metodica presenta diverse limitazioni.

La prima riguarda la distribuzione dell'età dei controlli HC che non è la stessa, nonostante il range sia simile e solamente nella VBM gli HC e HD sono matched per età e sesso. Questo problema è dovuto al fatto che i dati analizzati per questa tesi sono parte di uno studio più esteso che coinvolge l'analisi del contributo funzionale oltre che anatomico in corteccia mediante PET-FDG e il campione sano è l'unico campione normativo PET/RM pubblicato disponibile. Ciononostante, l'età giovane e l'inclusione a covariata dell'età e e-TIV hanno mitigato l'effetto dell'aging.

Altro limite deriva dal fatto che le alterazioni corticali e sottocorticali risultate essere significative nel fenotipo clinico, sintomi motori e cognitivi fanno comunque riferimento ad un'eterogeneità di pazienti in vari stadi e fasi della patologia; perciò, i nostri risultati forniscano unicamente delle indicazioni generali sui ruoli della GM, WM, Volume, area WM e Cth rispetto agli aspetti clinici, motori e cognitivi senza riuscire differenziare e rilevare il ruolo delle diverse alterazioni nei vari stadi patologici di HD.

Infine, sebbene il nostro campione HD presenta una buona eterogeneità per l'età e l'age of onset, i soggetti inclusi con young onset (2) sono in numero troppo limitato per riuscire a rilevare in modo significativo aree di danno da imputare ad alterazioni dello neurosviluppo, rispetto agli early e late of onset che invece ne rappresentano numericamente la maggioranza. Per la motivazione appena enunciata le multiple comparison per LGI nel nostro campione non ha raggiunto la significatività minima richiesta ed anche la correlazione tra LGI e age of onset riscontrata nei pazienti

young of onset ha rilevanza limitata vista la ridotta numerosità del campione. Inoltre, in linea generale possiamo riassumere che la numerosità del nostro campione HD, sebbene di una patologia rara, limita la significatività dei risultati ottenuti dall'analisi statistica per gli aspetti indagati.

6. CONCLUSIONI

In base al nostro studio, le alterazioni corticali (prevalenza parietale e temporo-occipitale) e sottocorticali (putamen, caudato, pallidum, accumbens) rilevate alla VBM sono risultate essere in linea con la letteratura, a cui si aggiungono nuovi riscontri di rilievo, tra i quali: le alterazioni della WM della via dorsale e ventrale del linguaggio e dell'alterazione sia come fascio che corticale della componente uditiva. Il contributo differente e parallelo riscontrato nel sottocorticale e corticale in relazione con il fenotipo clinico, sintomi motori e sintomi clinici suggerisce possibili target farmacologici, marker di inclusione e di progressione per futuri trial clinici atti a migliorare la gestione clinica del paziente. I dati clinici inoltre sottolineano l'aspetto complesso della malattia di HD caratterizzata fin dall'esordio da sintomi motori e non motori e rendendo importante una presa incarico multidisciplinare del paziente.

7. BIBLIOGRAFIA

1. Rosenblatt A. 2007. Neuropsichiatria della malattia di Huntington. *Dialoghi Clin Neurosci* 9: 191–197.
2. Reiner A, Albin RL, Anderson KD, D'Amato CJ, Penney JB, Young AB. 1988. Differential loss of striatal projection neurons in Huntington disease. *Proc Natl Acad Sci* 85: 5733–5737.
3. Rosas HD, Doros G, Gevorkian S, Malarick K, Reuter M, Coutu JP, Triggs TD, Wilkens PJ, Matson W, Salat DH, et al. 2014. PRECREST: A phase II prevention and biomarker trial of creatine in at-risk Huntington disease. *Neurology* 82: 850–857.
4. Walzer Francis O, Huntington's disease. *Lancet* 2007;
5. Rawlins MD, Wexler NS, Wexler AR, Tabrizi SJ, Douglas I, Evans SJ, Smeeth L. The Prevalence of Huntington's Disease. *Neuroepidemiology*. 2016;46(2):144-53. doi: 10.1159/000443738. Epub 2016 Jan 30. PMID: 26824438.
6. Kanazawa I: Prevalenza e tasso di malattia di Huntington nella prefettura di Ibaraki. *Relazione Annuale del Comitato di Ricerca sulle Malattie Degenerative del SNC*. Ministero della Salute e del Welfare del Giappone, 1983, pp 151–156.
7. Adachi Y, Nakashima K: [Studio genetico della popolazione sulla malattia di Huntington – prevalenza ed effetto del fondatore nell'area di San-in, Giappone occidentale]. *Nihon Rinsho* 1999;57:900–904.
8. Kay C, Fisher E, Michael H (2014) *Epidemiology*. In: Tabrizi SJ, Jones L (eds) Bates G. Oxford University Press, Huntington's disease, pp 131–164
9. Warby SC, Visscher H, Collins JA, Doty CN, Carter C, Butland SL, Hayden AR, Kanazawa I, Ross CJ, Hayden MR: HTT haplotypes contribute to differences in Huntington disease prevalence between Europe and East Asia. *Eur J Hum Genet* 2011;19:561-566.
10. Xu M, Wu ZY: Huntington disease in Asia. *Chin Med J (Engl)* 2015;128:1815-1819
11. Hayden MR, MacGregor JM, Beighton PH: The prevalence of Huntington's chorea in South Africa. *S Afr Med J* 1980;58:193-196.

12. Scrimgeour EM, Pfumojena JW: Huntington disease in black Zimbabwean families living near the Mozambique border. *Am J Med Genet* 1992;44:762-766.
13. Folstein SE, Chase GA, Wahl WE, McDonnell AM, Folstein MF: Huntington disease in Maryland: clinical aspects of racial variation. *Am J Hum Genet* 1987;41:168-179.
14. Palo J, Somer H, Ikonen E, Karila L, Peltonen L: Low prevalence of Huntington's disease in Finland. *Lancet* 1987;2:805-806.
15. Squitieri F, Griguoli A, Capelli G, Porcellini A, D'Alessio B: Epidemiology of Huntington disease: first post-HTT gene analysis of prevalence in Italy. *Clin Genet* 2015, Epub ahead of print.
16. Frontali M., Malaspina P, Rossi C, et al., Epidemiological and linkage studies on Huntington disease in Italy, *Hum Genet*, 1990
17. Groppi C, Barontini F, Braco L, et al., Huntington Chorea : a prevalence study in the Florence area. *Acta Psych Scand*, 1986
18. Mainini P, Lucci B, Guidetti D, et al., prevalenza della malattia di Huntington nelle province di Reggio Emilia e Parma, 1982
19. Squitieri F, Di Maio L, Boiano S, et al., epidemiology and molecular genetics of Huntington disease in Italy, *Abstr XIV World Congress of Neurology*, 1989
20. Riccò M, Vezzosi L, Balzarini F, Gualerzi G, Ranzieri S. Prevalence of Huntington Disease in Italy: a systematic review and meta-analysis. *Acta Biomed* [Internet]. 2020 Apr. 10 [cited 2022 Aug. 18];91(3-S):119-27. Available from: <https://www.mattioli1885journals.com/index.php/actabiomedica/article/view/9441>
21. Centro di Coordinamento della Rete Regionale per le Malattie Rare della Lombardia, Centro di Ricerche Cliniche per le Malattie Rare Aldo e Cele Daccò, IRCCS – Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri. Registro Lombardo Malattie Rare (ReLMaR) - Rapporto al 31Dicembre 2015 Milan; 2016. Available from: <http://malattierare.marionegri.it/content/view/152>
22. Comune di Trieste. Piano di Zona 2013-2015 - Ambito 1.2Trieste [Internet]. 2013. Available from: http://documenti.comune.trieste.it/sociale/PDZ_layout_2013.pdf

23. Muroli A, Ercoli T, Melas V, et al. Prevalence of Huntington's Disease in Sardinia, Italy. *Mov Disord.*2019;34(S2):A31. <https://www.mdsabstracts.org/abstract/prevalence-of-huntingtons-disease-in-sardinia-italy/>. Accessed January 29, 2020.
24. Stumpo M, Guttmann S, Volpini M, Monaldini M, Manzaroli D, Maffi S, et al. Elevata prevalenza della malattia di Huntington nella Repubblica di San Marino: un'indagine epidemiologica. *JNeurol Neurochirurgia Psichiatria.* 2016;87:A60.
25. Snell RG, MacMillan JC, Cheadle JP et al (1993) Relationship between trinucleotide repeat expansion and phenotypic variation in Huntington's disease. *Nat Genet* 4:393–397
26. Rubinsztein DC, Leggo J, Coles R et al (1996) Phenotypic characterization of individuals with 30-40 CAG repeats in the Huntington disease (HD) gene reveals HD cases with 36 repeats and apparently normal elderly individuals with 36-39 repeats. *Am J Hum Genet* 59:16–22
27. Killoran A, Biglan KM, Jankovic J, et al (2013) Characterization of the Huntington intermediate CAG repeat expansion phenotype in PHAROS. *Neurology*
28. Semaka A, Kay C, Doty C et al (2013) CAG size-specific risk estimates for intermediate allele repeat instability in Huntington disease. *J Med Genet* 50:696–703
29. Zühlke C, Riess O, Bockel B, Lange H, Thies U (1993) Stabilità mitotica e variabilità meiotica della ripetizione (CAG) n nel gene della malattia di Huntington. *Hum Mol Genet* 2:2063–2067 15. Kremer B, Almqvist E, Theilmann J et al (1995) I meccanismi dipendenti dal sesso per le espansioni e le contrazioni della CAG si ripetono sui cromosomi della malattia di Huntington colpiti. *Am J Hum Genet* 57:343–350
30. Ghosh R, Tabrizi SJ. Clinical Features of Huntington's Disease. *Adv Exp Med Biol.* 2018;1049:1-28. doi: 10.1007/978-3-319-71779-1_1. PMID: 29427096.
31. Kremer B, Almqvist E, Theilmann J et al (1995) Sex-dependent mechanisms for expansions and contractions of the CAG repeat on affected Huntington disease chromosomes. *Am J Hum Genet* 57:343–350
32. Siesling S, Vegter-van de Vlis M, Losekoot M et al (2000) Family history and DNA analysis in patients with suspected Huntington's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 69:54–59

33. Gusella JF, MacDonald ME, Lee JM (2014) Genetic modifiers of Huntington's disease. *Mov Disord* 29:1359–1365
34. Consortium GMoHsDG-H (2015) Identification of Genetic Factors that Modify Clinical Onset of Huntington's Disease. *Cell* 162:516–26
35. Wexler NS, Lorimer J, Porter J et al (2004) Venezuelan kindreds reveal that genetic and environmental factors modulate Huntington's disease age of onset. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101:3498–3503
36. Langbehn DR, Brinkman RR, Falush D, Paulsen JS, Hayden MR (2004) Group IHSDC. A new model for prediction of the age of onset and penetrance for Huntington's disease based on CAG length. *Clin Genet* 65:267–277
37. Aylward EH, Nopoulos PC, Ross CA et al (2011) Longitudinal change in regional brain volumes in prodromal Huntington disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 82:405–410
38. Rosenblatt A, Kumar BV, Mo A, Welsh CS, Margolis RL, Ross CA (2012) Age, CAG repeat length, and clinical progression in Huntington's disease. *Mov Disord* 27:272–276
39. Tabrizi SJ, Scahill RI, Owen G, et al (2013) Predictors of phenotypic progression and disease onset in premanifest and early-stage Huntington's disease in the TRACK-HD study: analysis of 36-month observational data. *Lancet Neurol*
40. Li W, Serpell LC, Carter WJ, Rubinsztein DC, Huntington JA. 2006. Expression and characterization of full-length human huntingtin, an elongated HEAT repeat protein. *J Biol Chem* 281: 15916–15922.
41. Desmond CR, Atwal RS, Xia J, Truant R. 2012. Identification of a karyopherin b1/b2 proline-tyrosine nuclear localization signal in huntingtin protein. *J Biol Chem* 287: 39626–39633.
42. Cornett J, Cao F, Wang CE, Ross CA, Bates GP, Li SH, Li XJ. 2005. Polyglutamine expansion of huntingtin impairs its nuclear export. *Nat Genet* 37: 198–204.
43. Fusco FR, Chen Q, Lamoreaux WJ, Figueredo-Cardenas G, Jiao Y, Coffman JA, Surmeier DJ, Honig MG, Carlock LR, Reiner A. 1999. Cellular localization of huntingtin in striatal and cortical neurons in rats: Lack of correlation with neuronal vulnerability in Huntington's disease. *J Neurosci* 19: 1189–1202

44. DiFiglia M, Sapp E, Chase K, Schwarz C, Meloni A, Young C, Martin E, Vonsattel JP, Carraway R, Reeves SA. 1995. Huntingtin is a cytoplasmic protein associated with vesicles in human and rat brain neurons. *Neuron* 14: 1075–108
45. Nasir J, Floresco SB, O’Kusky JR, Diewert VM, Richman JM, Zeisler J, Borowski A, Marth JD, Phillips AG, Hayden MR. 1995. Targeted disruption of the Huntington’s disease gene results in embryonic lethality and behavioral and morphological changes in heterozygotes. *Cell* 81:811–823.
46. Zeitlin S, Liu JP, Chapman DL, Papaioannou VE, Efstratiadis A. 1995. Increased apoptosis and early embryonic lethality in mice nullizygous for the Huntington’s disease gene homologue. *Nat Genet* 11: 155–163.
47. Nguyen GD, Gokhan S, Molero AE, Mehler MF. 2013. Selective roles of normal and mutant huntingtin in neural induction and early neurogenesis. *PLoS ONE* 8: e64368
48. Lo Sardo V, Zuccato C, Gaudenzi G, Vitali B, Ramos C, Tartari M, Myre MA, Walker JA, Pistocchi A, Conti L, et al. 2012. An evolutionary recent neuroepithelial cell adhesion function of huntingtin implicates ADAM10-Ncadherin. *Nat Neurosci* 15: 713–721.
49. Caviston JP, Ross JL, Antony SM, Tokito M, Holzbaur ELF. 2007. Huntingtin facilitates dynein/dynactin-mediated vesicle transport. *Proc Natl Acad Sci* 104: 10045–10050.
50. Zuccato C, Tartari M, Crotti A, Goffredo D, Valenza M, Conti L, Cataudella T, Leavitt BR, Hayden MR, Timmusk T, et al. 2003. Huntingtin interacts with REST/NRSF to modulate the transcription of NRSE-controlled neuronal genes. *Nat Genet* 35: 76–83.
51. : Irfan Z, Khanam S, Karmakar V, Firdous SM, El Khier BSIA, Khan I, Rehman MU, Khan A. Pathogenesis of Huntington's Disease: An Emphasis on Molecular Pathways and Prevention by Natural Remedies. *Brain Sci.* 2022 Oct 14;12(10):1389.
52. DiFiglia M, Sapp E, Chase K, Schwarz C, Meloni A, Young C, Martin E, Vonsattel JP, Carraway R, Reeves SA. 1995. Huntingtin is a cytoplasmic protein associated with vesicles in human and rat brain neurons. *Neuron* 14: 1075–1081

53. . Marcora E, Kennedy MB. 2010. The Huntington's disease mutation impairs Huntingtin's role in the transport of NF- κ B from the synapse to the nucleus. *Hum Mol Genet* 19: 4373–4384
54. McKinstry SU, Karadeniz YB, Worthington AK, Hayrapetyan VY, Ozlu MI, Serafin-Molina K, Risher WC, UstunkayaT, Dragatsis I, Zeitlin S, et al. 2014. Huntingtin is required for normal excitatory synapse development in cortical and striatal circuits. *J Neurosci* 34: 9455–9472.
55. Nasir J, Floresco SB, O'Kusky JR, Diewert VM, Richman JM, Zeisler J, Borowski A, Marth JD, Phillips AG, Hayden MR. 1995. Targeted disruption of the Huntington's disease gene results in embryonic lethality and behavioral and morphological changes in heterozygotes. *Cell* 81: 811–823.
56. : Landles C, Bates GP. Huntingtin and the molecular pathogenesis of Huntington's disease. Fourth in molecular medicine review series. *EMBO Rep.* 2004 Oct;5(10):958-63.
57. 27. Halliday GM, McRitchie DA, Macdonald V, Double KL, Trent RJ, McCusker E (1998) Regional specificity of brain atrophy in Huntington's disease. *Exp Neurol* 154:663–672
58. Hughes A, Jones L (2014) Pathogenic mechanisms in Huntington's disease. In: Bates GP Tabrizi SJ, Jones L (eds) *Huntington's Disease*, 4th edn. Oxford University Press.
59. Sathasivam K, Neueder A, Gipson TA et al (2013) Aberrant splicing of HTT generates the pathogenic exon 1 protein in Huntington disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110:2366–2370
60. Becher MW, Kotzuk JA, Sharp AH, Davies SW, Bates GP, Price DL, Ross CA. 1998. Intranuclear neuronal inclusions in Huntington's disease and dentatorubral and pallidoluysian atrophy: Correlation between the density of inclusions and IT15 CAG triplet repeat length. *Neurobiol Dis* 4: 387–397
61. Gutekunst CA, Li SH, Yi H, Mulroy JS, Kuemmerle S, Jones R, Rye D, Ferrante RJ, Hersch SM, Li XJ. 1999. Nuclear and neuropil aggregates in Huntington's disease: Relationship to neuropathology. *J Neurosci* 19: 2522–2534
62. Huang CC, Faber PW, Persichetti F, Mittal V, Vonsattel JP, MacDonald ME, Gusella JF. 1998. Amyloid formation by mutant huntingtin: Threshold, progressivity and recruitment of normal polyglutamine proteins. *Somat Cell Mol Genet* 24: 217–233.

63. Steffan JS, Kazantsev A, Spasic-Boskovic O, Greenwald M, Zhu YZ, Gohler H, Wanker EE, Bates GP, Housman DE, Thompson LM. 2000. The Huntington's disease protein interacts with p53 and CREB-binding protein and represses transcription. *Proc Natl Acad Sci* 97: 6763–6768.
64. Kazantsev A, Preisinger E, Dranovsky A, Goldgaber D, Housman D. 1999. Insoluble detergent-resistant aggregates form between pathological and nonpathological lengths of polyglutamine in mammalian cells. *Proc Natl Acad Sci* 96: 11404–11409.
65. Luthi-Carter R, Strand A, Peters NL, Solano SM, Hollingsworth ZR, Menon AS, Frey AS, Spektor BS, Penney EB, Schilling G, et al. 2000. Decreased expression of striatal signaling genes in a mouse model of Huntington's disease. *Hum Mol Genet* 9: 1259–1271.
66. Nucifora FC, Sasaki M, Peters MF, Huang H, Cooper JK, Yamada M, Takahashi H, Tsuji S, Troncoso J, Dawson VL, et al. 2001. Interference by huntingtin and atrophin-1 with CBP-mediated transcription leading to cellular toxicity. *Science* 291: 2423–2428.
67. Cui L, Jeong H, Borovecki F, Parkhurst CN, Tanese N, Krainc D. 2006. Transcriptional repression of PGC-1 α by mutant huntingtin leads to mitochondrial dysfunction and neurodegeneration. *Cell* 127: 59–69.
68. Dunah AW, Jeong H, Griffin A, Kim YM, Standaert DG, Hersch SM, Mouradian MM, Young AB, Tanese N, Krainc D. 2002. Sp1 and TAFII130 transcriptional activity disrupted in early Huntington's disease. *Science* 296:2238–2243.
69. Zhai W, Jeong H, Cui L, Krainc D, Tjian R. 2005. In vitro analysis of huntingtin-mediated transcriptional repression reveals multiple transcription factor targets. *Cell* 123: 1241–1253.
70. . Panov AV, Gutekunst CA, Leavitt BR, Hayden MR, Burke JR, Strittmatter WJ, Greenamyre JT. 2002. Early mitochondrial calcium defects in Huntington's disease are a direct effect of polyglutamines. *Nat Neurosci* 5: 731–736.
71. Choo YS, Johnson GVW, MacDonald M, Detloff PJ, Lesort M. 2004. Mutant huntingtin directly increases susceptibility of mitochondria to the calcium-induced permeability transition and cytochrome c release. *Hum Mol Genet* 13: 1407–1420.

72. Orr AL, Li S, Wang CE, Li H, Wang J, Rong J, Xu X, Mastroberardino PG, Greenamyre JT, Li XJ. 2008. N-terminal mutant huntingtin associates with mitochondria and impairs mitochondrial trafficking. *J Neurosci* 28: 2783–2792
73. Yano H, Baranov SV, Baranova OV, Kim J, Pan Y, Yablonska S, Carlisle DL, Ferrante RJ, Kim AH, Friedlander RM. 2014. Inhibition of mitochondrial protein import by mutant huntingtin. *Nat Neurosci* 17: 822–831.
74. Perluigi M, Poon HF, Maragos W, Pierce WM, Klein JB, Calabrese V, Cini C, De Marco C, Butterfield DA. 2005. Proteomic analysis of protein expression and oxidative modification in r6/2 transgenic mice: A model of Huntington disease. *Mol Cell Proteomics* 4: 1849–1861
75. Sorolla MA, Reverter-Branchat G, Tamarit J, Ferrer I, Ros J, Cabisco E. 2008. Proteomic and oxidative stress analysis in human brain samples of Huntington disease. *Free Radic Biol Med* 45: 667–678.
76. Morfini GA, You YM, Pollema SL, Kaminska A, Liu K, Yoshioka K, Bjoörkblom B, Coffey ET, Bagnato C, Han D, et al. 2009. Pathogenic huntingtin inhibits fast axonal transport by activating JNK3 and phosphorylating kinesin. *Nat Neurosci* 12: 864–871.
77. Twelvetrees AE, Yuen EY, Arancibia-Carcamo IL, MacAskill AF, Rostaing P, Lumb MJ, Humbert S, Triller A, Saudou F, Yan Z, et al. 2010. Delivery of GABAARs to synapses is mediated by HAP1-KIF5 and disrupted by mutant huntingtin. *Neuron* 65: 53–65.
78. Liot G, Zala D, Pla P, Mottet G, Piel M, Saudou F. 2013. Mutant Huntingtin alters retrograde transport of TrkB receptors in striatal dendrites. *J Neurosci* 33: 6298–6309.
79. Coyle JT, Schwarcz R. 1976. Lesion of striatal neurones with kainic acid provides a model for Huntington's chorea. *Nature* 263: 244–246.
80. McGeer EG, McGeer PL. 1976. Duplication of biochemical changes of Huntington's chorea by intrastriatal injections of glutamic and kainic acids. *Nature* 263: 517–519.
81. Beal MF, Kowall NW, Ellison DW, Mazurek MF, Swartz KJ, Martin JB. 1986. Replication of the neurochemical characteristics of Huntington's disease by quinolinic acid. *Nature* 321: 168–171.

82. Benn CL, Slow EJ, Farrell LA, Graham R, Deng Y, Hayden MR, Cha JHJ. 2007. Glutamate receptor abnormalities in the YAC128 transgenic mouse model of Huntington's disease. *Neuroscience* 147: 354–372.
83. Ali NJ, Levine MS. 2006. Changes in expression of N-methyl- D-aspartate receptor subunits occur early in the R6/2 mouse model of Huntington's disease. *Dev Neurosci* 28: 230–238.
84. Laforet GA, Sapp E, Chase K, McIntyre C, Boyce FM, Campbell M, Cadigan BA, Warzecki L, Tagle DA, Reddy PH, et al. 2001. Changes in cortical and striatal neurons predict behavioral and electrophysiological abnormalities in a transgenic murine model of Huntington's disease. *J Neurosci* 21: 9112–9123.
85. Fan MMY, Fernandes HB, Zhang LYJ, Hayden MR, Raymond LA. 2007. Altered NMDA receptor trafficking in a yeast artificial chromosome transgenic mouse model of Huntington's disease. *J Neurosci* 27: 3768–3779.
86. Okamoto S, Pouladi MA, Talantova M, Yao D, Xia P, Ehrnhoefer DE, Zaidi R, Clemente A, Kaul M, Graham RK, et al. 2009. Balance between synaptic versus extrasynaptic NMDA receptor activity influences inclusions and neurotoxicity of mutant huntingtin. *Nat Med* 15: 1407–1413.
87. Milnerwood AJ, Cummings DM, Dalle'rac GM, Brown JY, Vatsavayai SC, Hirst MC, Rezaie P, Murphy KPSJ. 2006. Early development of aberrant synaptic plasticity in a mouse model of Huntington's disease. *Hum Mol Genet* 15: 1690–1703.
88. Shin JY, Fang ZH, Yu ZX, Wang CE, Li SH, Li XJ. 2005. Expression of mutant huntingtin in glial cells contributes to neuronal excitotoxicity. *J Cell Biol* 171: 1001–1012.
89. Lie'vens JC, Woodman B, Mahal A, Spasic-Boscovic O, Samuel D, Kerkerian-Le Goff L, Bates GP. 2001. Impaired glutamate uptake in the R6 Huntington's disease transgenic mice. *Neurobiol Dis* 8: 807–821.
90. Estrada-Sa'nchez AM, Montiel T, Segovia J, Massieu L. 2009. Glutamate toxicity in the striatum of the R6/2 Huntington's disease transgenic mice is age-dependent and correlates with decreased levels of glutamate transporters. *Neurobiol Dis* 34: 78–86.
91. Lee SJ, Desplats P, Sigurdson C, Tsigelny I, Masliah E. 2010. Cell-to-cell transmission of non-prion protein aggregates. *Nat Rev Neurol* 6: 702–706.
92. Guo JL, Lee VMY. 2014. Cell-to-cell transmission of pathogenic proteins in neurodegenerative diseases. *Nat Med* 20: 130–138.

93. Ren PH, Lauckner JE, Kachirskaia I, Heuser JE, Melki R, Kopito RR. 2009. Cytoplasmic penetration and persistent infection of mammalian cells by polyglutamine aggregates. *Nat Cell Biol* 11: 219–225.
94. Costanzo M, Abounit S, Marzo L, Danckaert A, Chamoun Z, Roux P, Zurzolo C. 2013. Transfer of polyglutamine aggregates in neuronal cells occurs in tunneling nanotubes. *J Cell Sci* 126: 3678–3685.
95. Tong X, Ao Y, Faas GC et al (2014) Astrocyte Kir4.1 ion channel deficits contribute to neuronal dysfunction in Huntington's disease model mice. *Nat Neurosci* 17:694–703.
96. Bennett EJ, Shaler TA, Woodman B et al (2007) Global changes to the ubiquitin system in Huntington's disease. *Nature* 448:704–708.
97. Davies SW, Turmaine M, Cozens BA, DiFiglia M, Sharp AH, Ross CA, Scherzinger E, Wanker EE, Mangiarini L, Bates GP. 1997. Formation of neuronal intranuclear inclusions underlies the neurological dysfunction in mice transgenic for the HD mutation. *Cell* 90: 537–548.
98. Waelter S, Boeddrich A, Lurz R, Scherzinger E, Lueder G, Lehrach H, Wanker EE. 2001. Accumulation of mutant huntingtin fragments in aggresome-like inclusion bodies as a result of insufficient protein degradation. *Mol Biol Cell* 12: 1393–1407.
99. DiFiglia M, Sapp E, Chase KO, Davies SW, Bates GP, Vonsattel JP, Aronin N. 1997. Aggregation of huntingtin in neuronal intranuclear inclusions and dystrophic neurites in brain. *Science* 277: 1990–1993.
100. Holmberg CI, Staniszewski KE, Mensah KN, Matouschek A, Morimoto RI. 2004. Inefficient degradation of truncated polyglutamine proteins by the proteasome. *EMBO J* 23: 4307–4318.
101. Wong YC, Holzbaur ELF. 2014. The regulation of autophagosome dynamics by huntingtin and HAP1 is disrupted by expression of mutant huntingtin, leading to defective cargo degradation. *J Neurosci* 34: 1293–1305.
102. Shin JY, Fang ZH, Yu ZX, Wang CE, Li SH, Li XJ. 2005. Expression of mutant huntingtin in glial cells contributes to neuronal excitotoxicity. *J Cell Biol* 171: 1001–1012.
103. Tydlacka S, Wang CE, Wang X, Li S, Li XJ. 2008. Differential activities of the ubiquitin-proteasome system in neurons versus glia may account for the

preferential accumulation of misfolded proteins in neurons. *J Neurosci* 28: 13285–13295.

104. Reddy PH, Williams M, Charles V, Garrett L, Pike-Buchanan L, Whetsell WO, Miller G, Tagle DA. 1998. Behavioural abnormalities and selective neuronal loss in HD transgenic mice expressing mutated full-length HD cDNA. *Nat Genet* 20: 198–202.
105. Myers RH, Vonsattel JP, Paskevich PA, Kiely DK, Stevens TJ, Cupples LA, Richardson EP, Bird ED. 1991. Decreased neuronal and increased oligodendroglial densities in Huntington's disease caudate nucleus. *J Neuropathol Exp Neurol* 50: 729–742.
106. Bradford J, Shin JY, Roberts M, Wang CE, Li XJ, Li S. 2009. Expression of mutant huntingtin in mouse brain astrocyte causes age-dependent neurological symptoms. *Proc Natl Acad Sci* 106: 22480–22485.
107. Bradford J, Shin JY, Roberts M, Wang CE, Sheng G, Li S, Li XJ. 2010. Mutant huntingtin in glial cells exacerbates neurological symptoms of Huntington disease mice. *J Biol Chem* 285: 10653–10661.
108. Chou SY, Weng JY, Lai HL, Liao F, Sun SH, Tu PH, Dickson DW, Chern Y. 2008. Expanded-polyglutamine huntingtin protein suppresses the secretion and production of a chemokine (CCL5/RANTES) by astrocytes. *J Neurosci* 28: 3277–3290
109. Wang L, Lin F, Wang J, Wu J, Han R, Zhu L, DiFiglia M, Qin Z. 2012. Expression of mutant N-terminal huntingtin fragment (htt552-100Q) in astrocytes suppresses the secretion of BDNF. *Brain Res* 1449: 69–82.
110. Tong X, Ao Y, Faas GC, Nwaobi SE, Xu J, Hausteiner MD, Anderson MA, Mody I, Olsen ML, Sofroniew MV, et al. 2014. Astrocyte Kir4.1 ion channel deficits contribute to neuronal dysfunction in Huntington's disease model mice. *Nat Neurosci* 17: 694–703.
111. Tai YF, Pavese N, Gerhard A, Tabrizi SJ, Barker RA, Brooks DJ, Piccini P. 2007. Microglial activation in presymptomatic Huntington's disease gene carriers. *Brain J Neurol* 130: 1759–1766.
112. Bakels HS, Roos RAC, van Roon-Mom WMC, de Bot ST. Juvenile-Onset Huntington Disease Pathophysiology and Neurodevelopment: A Review. *Mov Disord*. 2022 Jan;37(1):16-24. doi: 10.1002/mds.28823. Epub 2021 Oct 12. PMID: 34636452; PMCID: PMC9291924.

113. Mehler MF, Gokhan S. Mechanisms underlying neural cell death in neurodegenerative diseases: Alterations of a developmentally-mediated cellular rheostat. *Trends Neurosci.* 2000;23(12):599-605.
114. Conforti P, Besusso D, Bocchi VD, et al. Faulty neuronal determination and cell polarization are reverted by modulating HD early phenotypes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2018;115:E762–E771.
115. Wiatr K, Szlachcic WJ, Trzeciak M, Figlerowicz M, Figiel M. Huntington disease as a neurodevelopmental disorder and early signs of the disease in stem cells. *Mol Neurobiol* 2018;55:3351–3371.
116. Molero AE, Arteaga-Bracho EE, Chen CH, et al. Selective expression of mutant huntingtin during development recapitulates characteristic features of Huntington’s disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 2016;113:5736–5741.
117. Mehler MF, Petronglo XJR, Arteaga-bracho EE, et al. Loss-of-Huntingtin in medial and lateral Ganglionic lineages differentially disrupts regional Interneuron and projection neuron subtypes and promotes Huntington’s disease-associated behavioral, cellular, and pathological hallmarks. *J Neurosci* 2019;39:1892–1909.
118. Bostan AC, Dum RP, Strick PL. Cerebellar networks with the cerebral cortex and basal ganglia. *Trends Cogn Sci.*2013;17(5):241-54.
119. Bostan AC, Strick PL. The cerebellum and basal ganglia are interconnected. *Neuropsychol Rev.* 2010;20(3):261-70.
120. Bostan AC, Dum RP, Strick PL. The basal ganglia communicate with the cerebellum. *Proc Natl Acad Sci U S A.*2010;107(18):8452-6.
121. 40. Tereshchenko AV et al., *Neurology* 94, e1908–e1915 (2020). [PubMed: 32265233]
122. van der Plas E, Langbehn DR, Conrad AL, Kosciuk TR, Tereshchenko A, Epping EA, Magnotta VA, Nopoulos PC. Abnormal brain development in child and adolescent carriers of mutant huntingtin. *Neurology.* 2019 Sep 3;93(10):e1021-e1030. doi: 10.1212/WNL.0000000000008066. Epub 2019 Aug 1. PMID: 31371571; PMCID: PMC6745731.
123. Barnat M, Capizzi M, Aparicio E, Boluda S, Wennagel D, Kacher R, Kassem R, Lenoir S, Agasse F, Braz BY, Liu JP, Ighil J, Tessier A, Zeitlin SO, Duyckaerts C, Dommergues M, Durr A, Humbert S. Huntington's disease alters human neurodevelopment. *Science.* 2020 Aug 14;369(6505):787-793.

doi: 10.1126/science.aax3338. Epub 2020 Jul 16. PMID: 32675289; PMCID: PMC7859879.

124. Godin JD, Colombo K, Molina-Calavita M, Keryer G, Zala D, Charrin BC, Dietrich P, Volvert ML, Guillemot F, Dragatsis I, Bellaiche Y, Saudou F, Nguyen L, Humbert S. Huntingtin is required for mitotic spindle orientation and mammalian neurogenesis. *Neuron*. 2010 Aug 12;67(3):392-406. doi: 10.1016/j.neuron.2010.06.027. PMID: 20696378.
125. McKinstry SU, Karadeniz YB, Worthington AK, Hayrapetyan VY, Ozlu MI, Serafin-Molina K, Risher WC, Ustunkaya T, Dragatsis I, Zeitlin S, Yin HH, Eroglu C. Huntingtin is required for normal excitatory synapse development in cortical and striatal circuits. *J Neurosci*. 2014 Jul 9;34(28):9455-72. doi: 10.1523/JNEUROSCI.4699-13.2014. PMID: 25009276; PMCID: PMC4087216.
126. Barnat M, Le Fric J, Benstaali C, Humbert S. Huntingtin-Mediated Multipolar-Bipolar Transition of Newborn Cortical Neurons Is Critical for Their Postnatal Neuronal Morphology. *Neuron*. 2017 Jan 4;93(1):99-114. doi: 10.1016/j.neuron.2016.11.035. Epub 2016 Dec 22. PMID: 28017473.
127. Molina-Calavita M, Barnat M, Elias S, Aparicio E, Piel M, Humbert S. Mutant huntingtin affects cortical progenitor cell division and development of the mouse neocortex. *J Neurosci*. 2014 Jul 23;34(30):10034-40. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0715-14.2014. PMID: 25057205; PMCID: PMC6608303.
128. Nopoulos PC, Aylward EH, Ross CA, Mills JA, Langbehn DR, Johnson HJ, Magnotta VA, Pierson RK, Beglinger LJ, Nance MA, Barker RA, Paulsen JS; PREDICT-HD Investigators and Coordinators of the Huntington Study Group. Smaller intracranial volume in prodromal Huntington's disease: evidence for abnormal neurodevelopment. *Brain*. 2011 Jan;134(Pt 1):137-42. doi: 10.1093/brain/awq280. Epub 2010 Oct 4. PMID: 20923788; PMCID: PMC3025719.
129. Tabrizi SJ, Scahill RI, Durr A, Roos RA, Leavitt BR, Jones R, Landwehrmeyer GB, Fox NC, Johnson H, Hicks SL, Kennard C, Craufurd D, Frost C, Langbehn DR, Reilmann R, Stout JC; TRACK-HD Investigators. Biological and clinical changes in premanifest and early stage Huntington's disease in the TRACK-HD study: the 12-month longitudinal analysis. *Lancet Neurol*. 2011 Jan;10(1):31-42. doi: 10.1016/S1474-4422(10)70276-3. Epub 2010 Dec 2. PMID: 21130037.

130. Tang CC, Feigin A, Ma Y, Habeck C, Paulsen JS, Leenders KL, Teune LK, van Oostrom JC, Guttman M, Dhawan V, Eidelberg D. Metabolic network as a progression biomarker of premanifest Huntington's disease. *J Clin Invest*. 2013 Sep;123(9):4076-88. doi: 10.1172/JCI69411. Epub 2013 Aug 29. PMID: 23985564; PMCID: PMC3754266.
131. Virlogeux A, Moutaux E, Christaller W, Genoux A, Bruyère J, Fino E, Charlot B, Cazorla M, Saudou F. Reconstituting Corticostriatal Network on-a-Chip Reveals the Contribution of the Presynaptic Compartment to Huntington's Disease. *Cell Rep*. 2018 Jan 2;22(1):110-122. doi: 10.1016/j.celrep.2017.12.013. PMID: 29298414.
132. Zhao X, Chen XQ, Han E, Hu Y, Paik P, Ding Z, Overman J, Lau AL, Shahmoradian SH, Chiu W, Thompson LM, Wu C, Mobley WC. TRiC subunits enhance BDNF axonal transport and rescue striatal atrophy in Huntington's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2016 Sep 20;113(38):E5655-64. doi: 10.1073/pnas.1603020113. Epub 2016 Sep 6. PMID: 27601642; PMCID: PMC5035849.
133. Arai Y, Taverna E. Neural Progenitor Cell Polarity and Cortical Development. *Front Cell Neurosci*. 2017 Dec 5;11:384. doi: 10.3389/fncel.2017.00384. PMID: 29259543; PMCID: PMC5723293.
134. Miyata T, Okamoto M, Shinoda T, Kawaguchi A. Interkinetic nuclear migration generates and opposes ventricular-zone crowding: insight into tissue mechanics. *Front Cell Neurosci*. 2015 Jan 28;8:473. doi: 10.3389/fncel.2014.00473. PMID: 25674051; PMCID: PMC4309187.
135. Wheeler VC, Gutekunst CA, Vrbanac V, Lebel LA, Schilling G, Hersch S, Friedlander RM, Gusella JF, Vonsattel JP, Borchelt DR, MacDonald ME. Early phenotypes that presage late-onset neurodegenerative disease allow testing of modifiers in Hdh CAG knock-in mice. *Hum Mol Genet*. 2002 Mar 15;11(6):633-40. doi: 10.1093/hmg/11.6.633. PMID: 11912178.
136. Zheng S, Ghitani N, Blackburn JS, Liu JP, Zeitlin SO. A series of N-terminal epitope tagged Hdh knock-in alleles expressing normal and mutant huntingtin: their application to understanding the effect of increasing the length of normal Huntingtin's polyglutamine stretch on CAG140 mouse model pathogenesis. *Mol Brain*. 2012 Aug 14;5:28. doi: 10.1186/1756-6606-5-28. PMID: 22892315; PMCID: PMC3499431.
137. Saudou F, Humbert S. The Biology of Huntingtin. *Neuron*. 2016 Mar 2;89(5):910-26. doi: 10.1016/j.neuron.2016.02.003. PMID: 26938440.

138. Chou FS, Li R, Wang PS. Molecular components and polarity of radial glial cells during cerebral cortex development. *Cell Mol Life Sci.* 2018 Mar;75(6):1027-1041. doi: 10.1007/s00018-017-2680-0. Epub 2017 Oct 10. PMID: 29018869.
139. Bultje RS, Castaneda-Castellanos DR, Jan LY, Jan YN, Kriegstein AR, Shi SH. Mammalian Par3 regulates progenitor cell asymmetric division via notch signaling in the developing neocortex. *Neuron.* 2009 Jul 30;63(2):189-202. doi: 10.1016/j.neuron.2009.07.004. PMID: 19640478; PMCID: PMC2736606.
140. Taverna E, Götz M, Huttner WB. The cell biology of neurogenesis: toward an understanding of the development and evolution of the neocortex. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2014;30:465-502. doi: 10.1146/annurev-cellbio-101011-155801. Epub 2014 Jun 27. PMID: 25000993.
141. Norden C. Pseudostratified epithelia - cell biology, diversity and roles in organ formation at a glance. *J Cell Sci.* 2017 Jun 1;130(11):1859-1863. doi: 10.1242/jcs.192997. Epub 2017 Apr 28. PMID: 28455413.
142. Arai Y, Pulvers JN, Haffner C, Schilling B, Nüsslein I, Calegari F, Huttner WB. Neural stem and progenitor cells shorten S-phase on commitment to neuron production. *Nat Commun.* 2011 Jan 11;2:154. doi: 10.1038/ncomms1155. PMID: 21224845; PMCID: PMC3105305.
143. Moreira Sousa C, McGuire JR, Thion MS, Gentien D, de la Grange P, Tezenas du Montcel S, Vincent-Salomon A, Durr A, Humbert S. The Huntington disease protein accelerates breast tumour development and metastasis through ErbB2/HER2 signalling. *EMBO Mol Med.* 2013 Feb;5(2):309-25. doi: 10.1002/emmm.201201546. Epub 2013 Jan 9. PMID: 23300147; PMCID: PMC3569645.
144. Reilmann R, Leavitt BR, Ross CA. Diagnostic criteria for Huntington's disease based on natural history. *Mov Disord.* 2014 Sep 15;29(11):1335-41. doi: 10.1002/mds.26011. Epub 2014 Aug 27. PMID: 25164527.
145. Di Maio, Squitieri, Napolitano, Campanella, Trofatter, Conneally I Onset symptoms in 510 patients with Huntington's disease *Med Genet* 1993.
146. Myers RH. Huntington's disease genetics. *NeuroRx.* 2004 Apr;1(2):255-62. doi: 10.1602/neurorx.1.2.255. PMID: 15717026; PMCID: PMC534940.
147. Djoussè and Myers et al., Evidence for a modifier of onset age in Huntington disease linked to the HD gene in 4p16. *Neurogenetics.* 2004.

148. Simonin C, Duru C, Salleron J, Hincker P, Delval C, Youssov K Association between caffeine intake and age at onset in Huntington's disease.. REGISTRY Study of the European Huntington's Disease Network Neurobiology of Disease 58 (2013) 179–182.
149. Kehoe P, Krawczak M, Haroer SP, Owen MJ, Jones AL. Age of onset in Huntington disease: sex specific influence of apolipoprotein E genotype and normal CAG repeat length. J Med Genet 1999.
150. Egan MF, Kojima M, Callicott JH, Goldberg TE, Kolachana BS, Bertolino A, Zaitsev E, Gold B, Goldman D, Dean M, Lu B, Weinberger DR. The BDNF val66met polymorphism affects activity-dependent secretion of BDNF and human memory and hippocampal 2003 Cell Jan.
151. MacDonald, ME.; Vonsattel, J. P.; Shrinidhi, J.; Couropmitree, N. N.; Cupples, L. A.; Bird, E. D.; Gusella, J. F.; Myers, R. H. Evidence for the GluR6 gene associated with younger onset age of Huntington's disease. Neurology 1999.
152. Arning L, Montè D, Hansen W, Wieczorek S, Jagiello P, Akkad DA, Andrich J, Kraus PH, Saft C, Epplen JT. ASK1 and MAP2K6 as modifiers of age at onset in Huntington's disease. J Mol Med. 2008.
153. Metzger, S., Bauer, P., Tomiuk, J., Laccone, F., Didonato, S., Gellera, C., Mariotti, C., Lange, H.W., Weirich-Schwaiger, H., Wenning, G.K., Seppi, K., Melegh, B., Havasi, V., Baliko, L., Wieczorek, S., Zaremba, J., Hoffman-Zacharska, D., Sulek, A., Basak, A.N., Soydan, E., Zidovska, J., Kebrdlova, V., Pandolfo, M., Ribai, P., Kadasi, L., Kvasnicova, M., Weber, B.H., Kreuz, F., Dose, M., Stuhrmann, M., Riess, O., 2006b. Genetic analysis of candidate genes modifying the age-at-onset in Huntington's disease. Hum. Genet.
154. Nazé P, Vuillaume I, Destée A, Pasquier F, Sablonnière B. Mutation analysis and association studies of the ubiquitin carboxy-terminal hydrolase L1 gene in Huntington's disease. Neurosci Lett. 2002.
155. Kloster E, Saft C, Epplen JT. Association of age at onset in Huntington disease with functional promoter variations in NPY and NPY2R. J Mol Med (2014) 92:177–184.
156. Roos: Huntington's disease: a clinical review. Orphanet Journal of Rare Diseases 2010 5:40.
157. Huntington Study Group Unified Huntington's Disease Rating Scale: reliability and consistency. Mov Disord, 1996.

158. Craufurd D, Thompson JC, Snowden JS: Behavioral changes in Huntington Disease. *Neuropsychiatry Neuropsychol Behav Neurol* 2001; 14:219–226
159. Naarding P, Kremer HP, Zitman FG: Huntington's disease: a review of the literature on prevalence and treatment of neuropsychiatric phenomena. *Eur Psychiatry* 2001; 16:439–445.
160. Rickards H, De Souza J, van Walsem M, et al: European Huntington's Disease Network: Factor analysis of behavioural symptoms in Huntington's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2011; 82:411–412.
161. van Duijn E: Treatment of Irritability in Huntington's Disease. *Curr Treat Options Neurol* 2010; 12:424–433.
162. Kingma EM, van Duijn E, Timman R, et al: Behavioural problems in Huntington's disease using the Problem Behaviours Assessment. *Gen Hosp Psychiatry* 2008; 30:155–161.
163. Orth M, Handley OJ, Schwenke C, et al: Investigators of the European Huntington's Disease Network: Observing Huntington's Disease: the European Huntington's Disease Network's REGISTRY. *PLoS Curr* 2010; 2:RRN1184.
164. Myers RH, Sax DS, Koroshetz WJ et al (1991) Factors associated with slow progression in Huntington's disease. *Arch Neurol* 48:800–804.
165. Agniel A, Joannette Y, Doyon B, Duchein C. *Protocole Toulouse Montreal d'Evaluation des Gnosies Visuelles*. Isbergues: L'Ortho Edition; 1992.
166. Rodrigues GR, Souza CP, Cetlin RS, et al. Use of the frontal assessment battery in evaluating executive dysfunction in patients with Huntington's disease. *J Neurol* 2009;256:1809-1815.
167. Ranen NG, Peyser CE, Coyle JT, et al. A controlled trial of idebenone in Huntington's disease. *Mov Disord* 1996;11:549-554.
168. Randomized controlled trial of ethyl-eicosapentaenoic acid in Huntington disease: the TREND-HD study. *Arch Neurol* 2008;65: 1582-1589.
169. Zinzi P, Salmaso D, De Grandis R, et al. Effects of an intensive rehabilitation programme on patients with Huntington's disease: a pilot study. *Clin Rehabil* 2007;21:603-613.

170. Klempir J, Klempirova O, Spackova N, Zidovska J, Roth J. Unified Huntington's disease rating scale: clinical practice and a critical approach. *Funct Neurol* 2006;21:217-221.
171. Bloom J. Usefulness of the Montreal Cognitive Assessment (MoCA) in Huntington's disease. *Mov Disord* 2013;28:1744-1747.
172. Videnovic A, Bernard B, Fan W, Jaglin J, Leurgans S, Shannon KM. The Montreal Cognitive Assessment as a screening tool for cognitive dysfunction in Huntington's disease. *Mov Disord* 2010; 25:401-404.
173. Bezdicek O, Majerova V, Novak M, Nikolai T, Ruzicka E, Roth J. Validity of the Montreal Cognitive Assessment in the detection of cognitive dysfunction in Huntington's disease. *Appl Neuropsychol Adult* 2013;20:33-40.
174. Mickes L, Jacobson M, Peavy G, et al. A comparison of two brief screening measures of cognitive impairment in Huntington's disease. *Mov Disord* 2010;25:2229-2233.
175. Jauhar, S. & Ritchie, S. Psychiatric and behavioural manifestations of Huntington's disease. *Adv. Psychiatr. Treat.*16, 168–175 (2010).
176. van Duijn E, Kingma EM, van der Mast RC (2007) Psychopathology in verified Huntington's disease gene carriers. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 19:441–448.
177. Craufurd D, Snowden J (2002) Neuropsychological and neuropsychiatric aspects of Huntington's disease, in Huntington's disease. In: PS H (ed) *Huntington's disease*. Oxford Medical Publications, Oxford.
178. Wheelock VL, Tempkin T, Marder K, Nance M, Myers RH, Zhao H, Kayson E, Orme C, Shoulson I, Huntington Study Group: predittori del collocamento in una casa di cura nella malattia di Huntington. *Neurologia* 2003, 60:998-1001.
179. Novak MJ, Tabrizi SJ (2010) Huntington's disease. *BMJ* 340:c3109.
180. Lanska DJ, Lanska MJ, Lavine L, Schoenberg BS (1988) Conditions associated with Huntington's disease at death. A case-control study. *Arch Neurol* 45:878–880.
181. Paulsen JS, Hoth KF, Nehl C, Stierman L (2005) Critical periods of suicide risk in Huntington's disease. *Am J Psychiatry* 162:725–731.

182. Lipe H, Schultz A, Bird TD (1993) Risk factors for suicide in Huntingtons disease: a retrospective case controlled study. *Am J Med Genet* 48:231–233.
183. Snowden JS. The neuropsychology of Huntington's disease. *Archives of Clinical Neuropsychology*, 32(7), 876-887 (2017).
184. Quarrell OWJ, Brewer HM, Squiteri F, Barker RA, Nance MA, Landwehrmeyer B: *Juvenile Huntington's disease*. Oxford University Press; 2009.
185. Andrew SE, Goldberg YP, Kremer B et al (1993) The relationship between trinucleotide (CAG) repeat length and clinical features of Huntington's disease. *Nat Genet* 4:398–403.
186. Rosas HD, Feigin AS, Hersch SM. Using advances in neuroimaging to detect, understand, and monitor disease progression in Huntington's disease. *NeuroRx*. 2004 Apr;1(2):263-72. doi: 10.1602/neurorx.1.2.263. PMID: 15717027; PMCID: PMC534942.
187. Harris GJ, Pearlson GD, Peyser CE, Aylward EH, Roberts J, Barta PE, Chase GA, Folstein SE. Putamen volume reduction on magnetic resonance imaging exceeds caudate changes in mild Huntington's disease. *Ann Neurol* 1992; 31: 69-75 [PMID:1531910 DOI: 10.1002/ana.410310113].
188. Harris GJ, Aylward EH, Peyser CE, Pearlson GD, Brandt J, Roberts-Twillie JV, Barta PE, Folstein SE. Single photon emission computed tomographic blood flow and magnetic resonance volume imaging of basal ganglia in Huntington disease. *Arch Neurol* 1996; 53: 316-324 [PMID: 8929153 DOI:10.1001/archneur.1996.00550040044013].
189. Rosas HD, Goodman J, Chen YI, Jenkins BG, Kennedy DN, Makris N, Patti M, Seidman LJ, Beal MF, Koroshetz WJ. Striatal volume loss in HD as measured by MRI and the influence of CAG repeat. *Neurology* 2001; 57: 1025-1028 [PMID: 11571328 DOI: 10.1212/WNL.57.6.1025].
190. Rosas HD, Koroshetz WJ, Chen YI, Skeuse C, Vangel M, Cudkowicz ME, Caplan K, Marek K, Seidman LJ, Makris N, Jenkins BG, Goldstein JM. Evidence for more widespread cerebral pathology in early HD: an MRI-based morphometric analysis. *Neurology* 2003; 60: 1615-1620 [PMID: 12771251 DOI: 10.1212/01.WNL.0000065888.88988.6E]
191. Paulsen JS, Langbehn DR, Stout JC, Aylward E, Ross CA, Nance M, Guttman M, Johnson S, MacDonald M, Beglinger LJ, Duff K, Kayson E,

- Biglan K, Shoulson I, Oakes D, Hayden M. Detection of Huntington's disease decades before diagnosis: the Predict-HD study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2008; 79: 874-880 [PMID: 18096682 DOI: 10.1136/jnnp.2007.128728]
192. Aylward EH, Codori AM, Barta PE, Pearlson GD, Harris GJ, Brandt J. Basal ganglia volume and proximity to onset in presymptomatic Huntington disease. *Arch Neurol* 1996; 53: 1293-1296 [PMID: 8970459 DOI: 10.1001/archneur.1996.00550120105023].
193. Paulsen JS, Hayden M, Stout JC, Langbehn DR, Aylward E, Ross CA, Guttman M, Nance M, Kiebertz K, Oakes D, Shoulson I, Kayson E, Johnson S, Penziner E. Preparing for preventive clinical trials: the Predict-HD study. *Arch Neurol* 2006; 63: 883-890 [PMID: 16769871 DOI: 10.1001/archneur.63.6.883].
194. Aylward EH, Li Q, Stine OC, Ranen N, Sherr M, Barta PE, Bylsma FW, Pearlson GD, Ross CA. Longitudinal change in basal ganglia volume in patients with Huntington's disease. *Neurology* 1997; 48: 394-399 [PMID: 9040728 DOI: 10.1212/WNL.48.2.394]
195. Rosas HD, Liu AK, Hersch S, Glessner M, Ferrante RJ, Salat DH, van der Kouwe A, Jenkins BG, Dale AM, Fischl B. Regional and progressive thinning of the cortical ribbon in Huntington's disease. *Neurology* 2002; 58: 695-701 [PMID:11889230 DOI: 10.1212/WNL.58.5.695]
196. Rosas HD, Salat DH, Lee SY, Zaleta AK, Pappu V, Fischl B, Greve D, Hevelone N, Hersch SM. Cerebral cortex and the clinical expression of Huntington's disease: complexity and heterogeneity. *Brain* 2008; 131: 1057-1068 [PMID: 18337273 DOI: 10.1093/brain/awn025]
197. Niccolini F, Politis M. Neuroimaging in Huntington's disease. *World J Radiol.* 2014 Jun 28;6(6):301-12. doi: 10.4329/wjr.v6.i6.301. PMID: 24976932; PMCID: PMC4072816.
198. Tabrizi SJ, Langbehn DR, Leavitt BR, Roos RA, Durr A, Craufurd D, Kennard C, Hicks SL, Fox NC, Scahill RI, Borowsky B, Tobin AJ, Rosas HD, Johnson H, Reilmann R, Landwehrmeyer B, Stout JC. Biological and clinical manifestations of Huntington's disease in the longitudinal TRACKHD study: cross-sectional analysis of baseline data. *Lancet Neurol* 2009; 8: 791-801 [PMID: 19646924 DOI: 10.1016/S1474-4422(09)70170-X]
199. Tabrizi SJ, Reilmann R, Roos RA, Durr A, Leavitt B, Owen G, Jones R, Johnson H, Craufurd D, Hicks SL, Kennard C, Landwehrmeyer B, Stout JC, Borowsky B, Scahill RI, Frost C, Langbehn DR. Potential endpoints for

clinical trials in premanifest and early Huntington's disease in the TRACKHD study: analysis of 24 month observational data. *Lancet Neurol* 2012; 11: 42-53 [PMID: 22137354 DOI: 10.1016/S1474-4422(11)70263-0]

200. Dierks T, Linden DE, Hertel A, Günther T, Lanfermann H, Niesen A, Frölich L, Zanella FE, Hör G, Goebel R, Maurer K. Multimodal imaging of residual function and compensatory resource allocation in cortical atrophy: a case study of parietal lobe function in a patient with Huntington's disease. *Psychiatry Res* 1998; 84: 27-35 [PMID: 9870415 DOI: 10.1016/S0925-4927(98)00040-7]
201. Clark VP, Lai S, Deckel AW. Altered functional MRI responses in Huntington's disease. *Neuroreport* 2002; 13:703-706 [PMID: 11973474 DOI: 10.1097/00001756-200204160 00033]
202. Kim JS, Reading SA, Brashers-Krug T, Calhoun VD, Ross CA, Pearlson GD. Functional MRI study of a serial reaction time task in Huntington's disease. *Psychiatry Res* 2004; 131:23-30 [PMID: 15246452 DOI: 10.1016/j.psychres.2004.03.002]
203. Georgiou-Karistianis N, Sritharan A, Farrow M, Cunnington R, Stout J, Bradshaw J, Churchyard A, Brawn TL, Chua P, Chiu E, Thiruvady D, Egan G. Increased cortical recruitment in Huntington's disease using a Simon task. *Neuropsychologia* 2007; 45: 1791-1800 [PMID: 17321554 DOI: 10.1016/j.neuropsychologia.2006.12.023]
204. Georgiou-Karistianis N, Stout JC, Domínguez D JF, Carron SP, Ando A, Churchyard A, Chua P, Bohanna I, Dymowski AR, Poudel G, Egan GF. Functional magnetic resonance imaging of working memory in Huntington's disease: cross-sectional data from the IMAGE-HD study. *Hum Brain Mapp* 2014; 35: 1847-1864 [PMID: 23913754 DOI: 10.1002/hbm.22296]
205. Thiruvady DR, Georgiou-Karistianis N, Egan GF, Ray S, Sritharan A, Farrow M, Churchyard A, Chua P, Bradshaw JL, Brawn TL, Cunnington R. Functional connectivity of the prefrontal cortex in Huntington's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2007; 78: 127-133 [PMID: 17028117 DOI: 10.1136/jnnp.2006.098368]
206. Wolf RC, Sambataro F, Vasic N, Schönfeldt-Lecuona C, Ecker D, Landwehrmeyer B. Aberrant connectivity of lateral prefrontal networks in presymptomatic Huntington's disease. *Exp Neurol* 2008; 213: 137-144 [PMID: 18588876 DOI: 10.1016/j.expneurol.2008.05.017]
207. Unschuld PG, Joel SE, Pekar JJ, Reading SA, Oishi K, McEntee J, Shanahan M, Bakker A, Margolis RL, Bassett SS, Rosenblatt A, Mori S, van Zijl PC,

- Ross CA, Redgrave GW. Depressive symptoms in prodromal Huntington's Disease correlate with Stroop-interference related functional connectivity in the ventromedial prefrontal cortex. *Psychiatry Res* 2012; 203: 166-174 [PMID: 22974690 DOI: 10.1016/j.psychresns.2012.01.002]
208. Unschuld PG, Liu X, Shanahan M, Margolis RL, Bassett SS, Brandt J, Schretlen DJ, Redgrave GW, Hua J, Hock C, Reading SA, van Zijl PC, Pekar JJ, Ross CA. Prefrontal executive function associated coupling relates to Huntington's disease stage. *Cortex* 2013; 49: 2661-2673 [PMID: 23906595 DOI: 10.1016/j.cortex.2013.05.015]
209. Fox MD, Raichle ME. Spontaneous fluctuations in brain activity observed with functional magnetic resonance imaging. *Nat Rev Neurosci* 2007; 8: 700-711 [PMID: 17704812 DOI: 10.1038/nrn2201]
210. Greicius M. Resting-state functional connectivity in neuropsychiatric disorders. *Curr Opin Neurol* 2008; 21: 424-430 [PMID: 18607202 DOI: 10.1097/WCO.0b013e328306f2c5]
211. Poudel GR, Egan GF, Churchyard A, Chua P, Stout JC, Georgiou-Karistianis N. Abnormal synchrony of resting state networks in premanifest and symptomatic Huntington disease: the IMAGE-HD study. *J Psychiatry Neurosci* 2014; 39: 87-96 [PMID: 24083458 DOI: 10.1503/jpn.120226]
212. Hua J, Unschuld PG, Margolis RL, van Zijl PC, Ross CA. Elevated arteriolar cerebral blood volume in prodromal Huntington's disease. *Mov Disord* 2014; 29: 396-401 [PMID: 23847161 DOI: 10.1002/mds.25591]
213. Bartenstein P, Weindl A, Spiegel S, Boecker H, Wenzel R, Ceballos-Baumann AO, et al. Central motor processing in Huntington's disease. A PET study. *Brain*. 1997;120(Pt 9):1553-67.
214. Weeks RA, Ceballos-Baumann A, Piccini P, Boecker H, Harding AE, Brooks DJ. Cortical control of movement in Huntington's disease. A PET activation study. *Brain*. 1997;120(Pt 9):1569-78.
215. Pagano G, Niccolini F, Politis M. Current status of PET imaging in Huntington's disease. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2016 Jun;43(6):1171-82. doi: 10.1007/s00259-016-3324-6. Epub 2016 Feb 22. PMID: 26899245; PMCID: PMC4844650.
216. Antonini A, Leenders KL, Spiegel R, Meier D, Vontobel P, Weigell-Weber M, et al. Striatal glucose metabolism and dopamine D2 receptor binding in asymptomatic gene carriers and patients with Huntington's disease. *Brain*. 1996;119(Pt 6):2085-95.

217. Mazziotta JC, Phelps ME, Pahl JJ, Huang SC, Baxter LR, Riege WH, et al. Reduced cerebral glucose metabolism in asymptomatic subjects at risk for Huntington's disease. *N Engl J Med.* 1987;316: 357–62.
218. Kuwert T, Lange HW, Langen KJ, Herzog H, Aulich A, Feinendegen LE. Cortical and subcortical glucose consumption measured by PET in patients with Huntington's disease. *Brain.* 1990;113(Pt 5):1405–23.
219. Young AB, Penney JB, Starosta-Rubinstein S, Markel DS, Berent S, Giordani B, et al. PET scan investigations of Huntington's disease: cerebral metabolic correlates of neurological features and functional decline. *Ann Neurol.* 1986;20:296–303.
220. Berent S, Giordani B, Lehtinen S, Markel D, Penney JB, Buchtel HA, et al. Positron emission tomographic scan investigations of Huntington's disease: cerebral metabolic correlates of cognitive function. *Ann Neurol.* 1988;23:541–6.
221. Feigin A, Leenders KL, Moeller JR, Missimer J, Kuenig G, Spetsieris P, et al. Metabolic network abnormalities in early Huntington's disease: an [18F]FDG PET study. *J Nucl Med.* 2001;42:1591–5.
222. Feigin A, Tang C, Ma Y, Mattis P, Zgaljardic D, Guttman M, et al. Thalamic metabolism and symptom onset in preclinical Huntington's disease. *Brain.* 2007;130:2858–67.
223. Eidelberg D, Surmeier DJ. Brain networks in Huntington disease. *J Clin Invest.* 2011;121:484–92.
224. Tang CC, Feigin A, Ma Y, Habeck C, Paulsen JS, Leenders KL, et al. Metabolic network as a progression biomarker of premanifest Huntington's disease. *J Clin Invest.* 2013;123:4076–88.
225. Shin H, Kim MH, Lee SJ, Lee KH, Kim MJ, Kim JS, et al. Decreased metabolism in the cerebral cortex in early-stage Huntington's disease: A possible biomarker of disease progression? *J Clin Neurol.* 2013;9(1):21-5.
226. Ciarmiello A, Cannella M, Lastoria S, Simonelli M, Frati L, Rubinsztein DC, et al. Brain white-matter volume loss and glucose hypometabolism precede the clinical symptoms of Huntington's disease. *J Nucl Med.* 2006;47(2):215-22.
227. van Oostrom JC, Maguire RP, Verschuuren-Bemelmans CC, Veenma-van der Duin L, Pruijm J, Roos RA, et al. Striatal dopamine D2 receptors,

- metabolism, and volume in preclinical Huntington disease. *Neurology*. 2005;65(6):941-3.
228. Schrag A, Quinn N. Disorders of the basal ganglia and their modern management. *J R Coll Physicians Lond*. 1999;33(4):323–7.
229. Day M, Wokosin D, Plotkin JL, Tian X, Surmeier DJ. Differential excitability and modulation of striatal medium spiny neuron dendrites. *J Neurosci*. 2008;28(45):11603–14.
230. Esmailzadeh M, Farde L, Karlsson P, Varrone A, Halldin C, Waters S, et al. Extrastriatal dopamine D(2) receptor binding in Huntington's disease. *Hum Brain Mapp*. 2011;32:1626–36.
231. Ginovart N, Lundin A, Farde L, Halldin C, Backman L, Swahn CG, et al. PET study of the pre- and post-synaptic dopaminergic markers for the neurodegenerative process in Huntington's disease. *Brain*. 1997;120(Pt 3):503–14.
232. Sedvall G, Karlsson P, Lundin A, Anvret M, Suhara T, Halldin C, et al. Dopamine D1 receptor number – a sensitive PET marker for early brain degeneration in Huntington's disease. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*. 1994;243:249–55.
233. Andrews TC, Weeks RA, Turjanski N, Gunn RN, Watkins LH, Sahakian B, et al. Huntington's disease progression. PET and clinical observations. *Brain*. 1999;122(Pt 12):2353–63.
234. Turjanski N, Weeks R, Dolan R, Harding AE, Brooks DJ. Striatal D1 and D2 receptor binding in patients with Huntington's disease and other choreas. A PET study. *Brain*. 1995;118(Pt 3):689–96.
235. Pavese N, Politis M, Tai YF, Barker RA, Tabrizi SJ, Mason SL, et al. Cortical dopamine dysfunction in symptomatic and premanifest Huntington's disease gene carriers. *Neurobiol Dis*. 2010;37:356–61.
236. Lawrence AD, Weeks RA, Brooks DJ, Andrews TC, Watkins LH, Harding AE, et al. The relationship between striatal dopamine receptor binding and cognitive performance in Huntington's disease. *Brain*. 1998;121(Pt 7):1343–55.
237. Politis M, Pavese N, Tai YF, Tabrizi SJ, Barker RA, Piccini P. Hypothalamic involvement in Huntington's disease: an in vivo PET study. *Brain*. 2008;131:2860–9.

238. Pavese N, Andrews TC, Brooks DJ, Ho AK, Rosser AE, Barker RA, et al. Progressive striatal and cortical dopamine receptor dysfunction in Huntington's disease: A PET study. *Brain*. 2003;126(11):1127-35.
239. Feigin A, Tang C, Ma Y, Mattis P, Zgaljardic D, Guttman M, et al. Thalamic metabolism and symptom onset in preclinical Huntington's disease. *Brain*. 2007; 130(5):2858-67.
240. Andrews TC, Weeks RA, Turjanski N, Gunn RN, Watkins LH, Sahakian B, et al. Huntington's disease progression. PET and clinical observations. *Brain*. 1999;122(12):2353-63.
241. Ginovart N, Lundin A, Farde L, Halldin C, Bäckman L, Swahn CG, et al. PET study of the pre- and post-synaptic dopaminergic markers for the neurodegenerative process in Huntington's disease. *Brain*. 1997;120(3):503-14.
242. Bohnen NI, Koeppe RA, Meyer P, Ficaró E, Wernette K, Kilbourn MR, et al. Decreased striatal monoaminergic terminals in Huntington disease. *Neurology*. 2000;54(9):1753-9.
243. Politis M, Su P, Piccini P. Imaging of microglia in patients with neurodegenerative disorders. *Front Pharmacol*. 2012;3:96.
244. Nakanishi H. Microglial functions and proteases. *Mol Neurobiol*. 2003;27:163–76.
245. Dupont, A.C.; Largeau, B.; Santiago Ribeiro, M.; Guilloteau, D.; Tronel, C.; Arlicot, N. Translocator Protein-18 kDa (TSPO) Positron Emission Tomography (PET) Imaging and Its Clinical Impact in Neurodegenerative Diseases. *Int. J. Mol. Sci.* 2017, 18, 785. [CrossRef]
246. Pavese N, Gerhard A, Tai YF, Ho AK, Turkheimer F, Barker RA, et al. Microglial activation correlates with severity in Huntington disease: a clinical and PET study. *Neurology*. 2006;66:1638–43.
247. Politis M, Pavese N, Tai YF, Kiferle L, Mason SL, Brooks DJ, et al. Microglial activation in regions related to cognitive function predicts disease onset in Huntington's disease: a multimodal imaging study. *Hum Brain Mapp*. 2011;32:258–70.
248. Politis M, Lahiri N, Niccolini F, Su P, Wu K, Giannetti P, et al. Increased central microglial activation associated with peripheral cytokine levels in premanifest Huntington's disease gene carriers. *Neurobiol Dis*. 2015;83:115–21. doi:10.1016/j.nbd.2015.08.011.

249. Nishi A, Kuroiwa M, Miller DB, O'Callaghan JP, Bateup HS, Shuto T, et al. Distinct roles of PDE4 and PDE10A in the regulation of cAMP/PKA signaling in the striatum. *J Neurosci*. 2008;28:10460–71.
250. Hebb AL, Robertson HA, Denovan-Wright EM. Striatal phosphodiesterase mRNA and protein levels are reduced in Huntington's disease transgenic mice prior to the onset of motor symptoms. *Neuroscience*. 2004;123:967–81.
251. Ahmad R, Bourgeois S, Postnov A, Schmidt ME, Bormans G, Van Laere K, et al. PET imaging shows loss of striatal PDE10A in patients with Huntington disease. *Neurology*. 2014;82(3):279–81.
252. Russell DS, Barret O, Jennings DL, Friedman JH, Tamagnan GD, Thomae D, et al. The phosphodiesterase 10 positron emission tomography tracer, [¹⁸F]MNI-659, as a novel biomarker for early Huntington disease. *JAMA Neurol*. 2014;71(12):1520–8.
253. Russell, D.S.; Jennings, D.L.; Barret, O.; Tamagnan, G.D.; Carroll, V.M.; Caillé, F.; Alagille, D.; Morley, T.J.; Papin, C.; Seibyl, J.P.; et al. Change in PDE10 across early Huntington disease assessed by [¹⁸F]MNI-659 and PET imaging. *Neurology* 2016, 86, 748–754.
254. Niccolini F, Haider S, Marques T, Muhlert N, Tziortzi A, Searle G, et al. Altered PDE10A expression detectable early before symptomatic onset in Huntington's disease. *Brain*. 2015;138:3016–29. doi: 10.1093/brain/awv214.
255. Hsu, Y.T.; Chang, Y.G.; Chern, Y. Insights into GABAergic system alteration in Huntington's disease. *Open Biol*. 2018, 8, 180165. [CrossRef].
256. Garret, M.; Du, Z.; Chazalon, M.; Cho, Y.H.; Baufreton, J. Alteration of GABAergic neurotransmission in Huntington's disease. *CNS Neurosci. Ther.* 2018
257. Ribac CE, Vaughn JE, Roberts E. The GABA neurons and their axon terminals in rat corpus striatum as demonstrated by GAD immunocytochemistry. *J Comp Neurol*. 1979;187:261–84.
258. 71. Holthoff VA, Koeppe RA, Frey KA, Penney JB, Markel DS, Kuhl DE, et al. Positron emission tomography measures of benzodiazepine receptors in Huntington's disease. *Ann Neurol*. 1993;34(1):76–81.
259. König G, Leenders KL, Sanchez-Pernaute R, Antonini A, Vontobel P, Verhagen A, et al. Benzodiazepine receptor binding in Huntington's disease:

- [11C]flumazenil uptake measured using positron emission tomography. *Ann Neurol.* 2000;47(5):644–8.
260. Ehrlich, M. E. (2012). Huntington's disease and the striatal medium spiny neuron: Cell-autonomous and non-cell-autonomous mechanisms of disease. *Neurotherapeutics*, 9(2), 270–284. <https://doi.org/10.1007/s13311-012-0112-2>.
261. Hett, K., Johnson, H., Coupe, P., Paulsen, J. S., Long, J. D., & Oguz, I. (2020). Tensor-based grading: A novel patch-based grading approach for the analysis of deformation fields in Huntington's disease. *IEEE 17th International Symposium on Biomedical Imaging*, 1091–1095. <https://doi.org/10.1109/ISBI45749.2020.9098692>.
262. Li, H., Zhang, H., Hu, D., Johnson, H., Long, J. D., Paulsen, J. S., & Oguz, I. (2020). Generalizing MRI subcortical segmentation to neurodegeneration. In *MLCN workshop, MICCAI* (pp. 139–147). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-030-66843-3_14.
263. Li, H., Zhang, H., Johnson, H., Long, J., Paulsen, J., & Oguz, I. (2021a). Longitudinal subcortical segmentation with deep learning. In: *SPIE Medical Imaging 2021: Image processing*. International Society for Optics and Photonics, 11596. <https://doi.org/10.1117/12.2582340>.
264. Li, H., Zhang, H., Johnson, H., Long, J., Paulsen, J., & Oguz, I. (2021b). MRI subcortical segmentation In neurodegeneration with cascaded 3D CNNs. In: *SPIE Medical Imaging: Image processing*. International Society for Optics and Photonics, 11596. <https://doi.org/10.1117/12.2582005>.
265. Paulsen, J. S., Nopoulos, P. C., Aylward, E., Ross, C. A., Johnson, H., Magnotta, V. A., Juhl, A., Pierson, R. K., Mills, J., Langbehn, D., Nance, M., & PREDICT-HD Investigators and Coordinators of the Huntington's Study Group (HSG). (2010). Striatal and white matter predictors of estimated diagnosis for Huntington disease. *Brain Research Bulletin*, 82(3–4), 201–207. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2010.04.003>.
266. Paulsen, J. S., Ph, D., Long, J. D., et al. (2015). Prediction of manifest Huntington disease with clinical and imaging measures: A 12-year prospective observational study. *Lancet Neurology*, 13(12), 1193–1201. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(14\)70238-8.Prediction](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(14)70238-8.Prediction)
267. Babcock, D. T., & Ganetzky, B. (2015). Transcellular spreading of huntingtin aggregates in the *Drosophila* brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(39), E5427–E5433. <https://doi.org/10.1073/pnas.1516217112>.

268. Poudel, G., Stout, J. C., Gray, M., Chua, P., Borowsky, B., Egan, G. F., & Georgiou-Karistianis, N. (2017). Longitudinal changes in the fronto-striatal network are associated with executive dysfunction and behavioral dysregulation in Huntington's disease: 30 months IMAGE-HD data. *Cortex*, 92, 139–149.
269. Soloveva, M. V., Jamadar, S. D., Hughes, M., Velakoulis, D., Poudel, G., & Georgiou-Karistianis, N. (2020a). Brain compensation during response inhibition in premanifest Huntington's disease. *Brain and Cognition*, 141, 105560.
270. Georgiou-Karistianis, N., Sritharan, A., Asadi, H., Johnston, L., Churchyard, A., & Egan, G. (2011). Diffusion tensor imaging in Huntington's disease reveals distinct patterns of white matter degeneration associated with motor and cognitive deficits. *Brain Imaging and Behavior*, 5(3), 171–180
271. McColgan, P., Seunarine, K. K., Gregory, S., Razi, A., Papoutsis, M., Long, J. D. ... Roos, R. A. C. (2017). Topological length of white matter connections predicts their rate of atrophy in premanifest Huntington's disease. *JCI Insight*, 2, 8.
272. Poudel, G. R., Harding, I. H., Egan, G. F., & Georgiou-Karistianis, N. (2019). Network spread determines severity of degeneration and disconnection in Huntington's disease. *Human Brain Mapping*. [https:// doi. org/ 10. 1002/ hbm. 24695](https://doi.org/10.1002/hbm.24695)
273. Poudel, G. R., Stout, J. C., Salmon, L., Churchyard, A., Chua, P., Georgiou-Karistianis, N., & Egan, G. F. (2014). White matter connectivity reflects clinical and cognitive status in Huntington's disease. *Neurobiology of Disease*, 65, 180–187.
274. Stoebner, Z. A., Hett, K., Lyu, I., Johnson, H., Paulsen, J. S., Long, J. D., & Oguz, I. (2022). Comprehensive shape analysis of the cortex in Huntington's disease. *Human Brain Mapping*, 1–15. <https://doi.org/10.1002/hbm.26125>.
275. Fischl, B., & Dale, A. M. (2000). Measuring the thickness of the human cerebral cortex from magnetic resonance images. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(20), 11050–11055. [https:// doi. org/ 10. 1073/ pnas. 20003 3797](https://doi.org/10.1073/pnas.200033797).
276. Spalletta, G., Piras, F., & Gili, T. (2018). *Brain Morphometry*. Springer
Tabrizi, S. J., Langbehn, D. R., Leavitt, B. R., Roos, R. A. C., Durr, A., Craufurd, D. ... Stout, J. C. (2009). Biological and clinical manifestations of

- Huntington's disease in the longitudinal TRACKHD study: cross-sectional analysis of baseline data. *The Lancet Neurology*, 8(9), 791–801
277. Rosas, H. D., Hevelone, N. D., Zaleta, A. K., Greve, D. N., Salat, D. H., & Fischl, B. (2005). Regional cortical thinning in preclinical Huntington disease and its relationship to cognition. *Neurology*, 65(5), 745–747.
278. Nopoulos, Magnotta, V. A., Mikos, A., Paulson, H., Andreasen, N. C., Paulsen, J. S., Nopoulos, P. C. ... Paulsen, J. S. (2007). Morphology of the cerebral cortex in preclinical Huntington's disease. *American Journal of Psychiatry*, 164(9), 1428–1434
279. Paulsen, J. S., Magnotta, V. A., Mikos, A. E., Paulson, H. L., Penziner, E., Andreasen, N. C., & Nopoulos, P. C. (2006). Brain structure in preclinical Huntington's disease. *Biological Psychiatry*, 59(1), 57–63.
280. Schaer, M., Cuadra, M. B., Tamarit, L., Lazeyras, F., Eliez, S., & Thiran, J. P. (2008). A surface-based approach to quantify local cortical gyrification. *IEEE Transactions on Medical Imaging*, 27(2), 161–170-
281. Schaer, M., Cuadra, M. B., Schmansky, N., Fischl, B., Thiran, J. P., & Eliez, S. (2012). How to measure cortical folding from MR images: a step-by-step tutorial to compute local gyrification index. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, 59, e3417.
282. Johnson, E. B., Ziegler, G., Penny, W., Rees, G., Tabrizi, S. J., Scahill, R. I., & Gregory, S. (2019). Dynamics of cortical degeneration over a decade in Huntington's Disease. *BioRxiv*, 537977. <https://doi.org/10.1101/537977>.
283. Kubera, K. M., Schmitgen, M. M., Hirjak, D., Wolf, R. C., & Orth, M. (2019). Cortical neurodevelopment in pre-manifest Huntington's disease. *NeuroImage: Clinical*, 101913.
284. Shishegar, R., Manton, J. H., Walker, D. W., Britto, J. M., & Johnston, L. A. (2015). Quantifying gyrification using Laplace Beltrami eigenfunction level-sets. 2015 IEEE 12th International Symposium on Biomedical Imaging (ISBI), 1272–1275.
285. Shishegar, R., Pizzagalli, F., Georgiou-Karistianis, N., Egan, G. F., Jahanshad, N., & Johnston, L. A. (2021). A gyrification analysis approach based on Laplace Beltrami eigenfunction level sets. *NeuroImage*, 229, 117751.
286. Shishegar, R., Rajapakse, S., & Georgiou-Karistianis, N. (2019). Altered Cortical Morphometry in Pre-manifest Huntington's Disease: Cross-sectional

- Data from the IMAGE-HD Study. 2019 41st Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (EMBC), 2844–2847.
287. Tan B, Shishegar R, Fornito A, Poudel G, Georgiou-Karistianis N. Longitudinal mapping of cortical surface changes in Huntington's Disease. *Brain Imaging Behav.* 2022 Jun;16(3):1381-1391. doi: 10.1007/s11682-021-00625-2. Epub 2022 Jan 14. PMID: 35029800
288. Desikan, R. S., Ségonne, F., Fischl, B., Quinn, B. T., Dickerson, B. C., Blacker, D. ... Hyman, B. T. (2006). An automated labeling system for subdividing the human cerebral cortex on MRI scans into gyral based regions of interest. *Neuroimage*, 31(3), 968–980.
289. Van Essen, D. C. (1997). A tension-based theory of morphogenesis and compact wiring in the central nervous system. *Nature*, 385(6614),313–318.
290. Libero, L. E., Schaer, M., Li, D. D., Amaral, D. G., & Nordahl, C. W.(2019). A longitudinal study of local gyrification index in young boys with autism spectrum disorder. *Cerebral Cortex*, 29(6),2575–2587.
291. Nordahl, C. W., Dierker, D., Mostafavi, I., Schumann, C. M., Rivera,S.M., Amaral, D. G., & Van Essen, D. C. (2007). Cortical folding abnormalities in autism revealed by surface-based morphometry.*Journal of Neuroscience*, 27(43), 11725–11735.
292. Mangin, J. F., Rivière, D., Duchesnay, E., Cointepas, Y., Gaura, V., Verny, C. ... Hantraye, P. (2020). Neocortical morphometry in Huntington's disease: Indication of the coexistence of abnormal neurodevelopmental and neurodegenerative processes. *NeuroImage: Clinical*, 26, 102211.
293. Marder, K., & Mehler, M. F. (2012). Development and neurodegeneration: turning HD pathogenesis on its head. AAN Enterprises.
294. Mehler, M. F., & Gokhan, S. (2000). Mechanisms underlying neural cell death in neurodegenerative diseases: alterations of a developmentally-mediated cellular rheostat. *Trends in Neurosciences*, 23(12), 599–605.
295. Molero, A. E., Gokhan, S., Gonzalez, S., Feig, J. L., Alexandre, L. C., & Mehler, M. F. (2009). Impairment of developmental stem cell mediated striatal neurogenesis and pluripotency genes in a knockin model of Huntington's disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(51), 21900–21905.

296. Craufurd D, MacLeod R, Frontali M, et al (2014) Diagnostic genetic testing for Huntington's disease. *Pract Neurol*.
297. Wild EJ, Mudanohwo EE, Sweeney MG et al (2008) Huntington's disease phenocopies are clinically and genetically heterogeneous. *Mov Disord* 23:716–720.
298. Hensman Moss DJ, Poulter M, Beck J et al (2014) C9orf72 expansions are the most common genetic cause of Huntington disease phenocopies. *Neurology* 82:292–299.
299. Novak MJ, Tabrizi SJ (2011) Huntington's disease: clinical presentation and treatment. *Int Rev Neurobiol* 98:297–323
300. Bonelli RM, Hofmann P (2007) A systematic review of the treatment studies in Huntington's disease since 1990. *Expert Opin Pharmacother* 8:141–153.
301. Frank S (2014) Treatment of Huntington's disease. *Neurotherapeutics* 11:153–160.
302. Bruneau MA et al. Catastrophic reactions induced by tetrabenazine. *Can J Psychiatry* 2002; 47:683.
303. Group HS (2006) Tetrabenazine as antichorea therapy in Huntington disease: a randomized controlled trial. *Neurology* 66:366–372 1 Clinical Features of Huntington's Disease 25.
304. Guay DR (2010) Tetrabenazine, a monoamine-depleting drug used in the treatment of hyperkinetic movement disorders. *Am J Geriatr Pharmacother* 8:331–373.
305. Mestre T, Ferreira J, Coelho MM, Rosa M, Sampaio C (2009) Therapeutic interventions for symptomatic treatment in Huntington's disease. *Cochrane Database Syst Rev* CD006456.
306. American College of Sports Medicine ACSM Guidelines for exercise testing and prescription. 8th ed. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins. (2009).
307. . La Malattia di Huntington linee guida cliniche di fisioterapia European Huntington's Disease Network, 2013.
308. "Killoran A, Biglan KM. Current therapeutic options for Huntington's disease: good clinical practice versus evidence-based approaches? *Mov Disord*. 29: 1404-1413 (2014).

309. Groves M, van Duijn E, Anderson K, Craufurd D, Edmondson MC, Goodman N, van Kammen DP, Goodman L. An International Survey-based Algorithm for the Pharmacologic Treatment of Irritability in Huntington's Disease. *PLoS Curr.* 2011 Aug 30;3.
310. Anderson K, Craufurd D, Edmondson MC, Goodman N, Groves M, van Duijn E, van Kammen DP, Goodman L. An International Survey-based Algorithm for the Pharmacologic Treatment of Obsessive- Compulsive Behaviors in Huntington's Disease. *PLoS Curr.* 2011 Sep 20;3.
311. Craufurd D, Tyler A (1992) Predictive testing for Huntington's disease: protocol of the UK Huntington's Prediction Consortium. *J Med Genet* 29:915–918.
312. Went L (1990) Ethical issues policy statement on Huntington's disease molecular genetics predictive test. International Huntington Association. World Federation of Neurology. *J Med Genet* 27:34–38
313. Guidelines for the molecular genetics predictive test in Huntington's disease. International Huntington Association (IHA) and the World Federation of Neurology (WFN) Research Group on Huntington's Chorea. *Neurology* 1994;44:1533–6.
314. Semaka A, Hayden MR (2014) Evidence-based genetic counselling implications for Huntington disease intermediate allele predictive test results. *Clin Genet* 85:303–311.
315. Maat-Kievit A, Vegter-Van Der Vlis M, Zoetewij M, Losekoot M, van Haeringen A, Roos RA: Predictive testing of 25 percent at-risk individuals for Huntington disease (1987-1997). *Am J Med Genet* 1999, 88:662-8.
316. ERMEP-IDB-MRXFDG: a database of 37 normal adult human brain [18F]FDG PET, T1 and FLAIR MRI, and CT images available for research. Mérida, I., Jung, J., Bouvard, S. et al. *EJNMMI Res* 11, 91 (2021). <https://doi.org/10.1186/s13550-021-00830-6>.
317. Ott BR, Lafleche G, Whelihan WM, Buongiorno GW, Albert MS, Fogel BS. Impaired awareness of deficits in Alzheimer disease. *Alzheimer Dis Assoc Disord.* 1996 Summer;10(2):68-76. doi: 10.1097/00002093-199601020-00003. PMID: 8727167.
318. Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. "Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr*

- Res. 1975 Nov;12(3):189-98. doi: 10.1016/0022-3956(75)90026-6. PMID: 1202204.
319. Nasreddine ZS, Phillips NA, Bédirian V, Charbonneau S, Whitehead V, Collin I, Cummings JL, Chertkow H. The Montreal Cognitive Assessment, MoCA: a brief screening tool for mild cognitive impairment. *J Am Geriatr Soc.* 2005 Apr;53(4):695-9. doi: 10.1111/j.1532-5415.2005.53221.x. Erratum in: *J Am Geriatr Soc.* 2019 Sep;67(9):1991. PMID: 15817019.
320. Ramirez-Garcia G, Galvez V, Diaz R, Campos-Romo A, Fernandez-Ruiz J. Montreal Cognitive Assessment (MoCA) performance in Huntington's disease patients correlates with cortical and caudate atrophy. *PeerJ.* 2022 Apr 4;10:e12917. doi: 10.7717/peerj.12917. PMID: 35402100; PMCID: PMC8988933.
321. Costa A, Bagoj E, Monaco M, Zabberoni S, De Rosa S, Papantonio AM, Mundi C, Caltagirone C, Carlesimo GA. Standardization and normative data obtained in the Italian population for a new verbal fluency instrument, the phonemic/semantic alternate fluency test. *Neurol Sci.* 2014 Mar;35(3):365-72. doi: 10.1007/s10072-013-1520-8. Epub 2013 Aug 21. PMID: 23963806.
322. Spinnler H, Tognoni G (1987). Standardizzazione e taratura italiana di test neuropsicologici. *Ital J Neurol Sci*
323. Giovagnoli, A.R., Del Pesce, M., Mascheroni, S. et al. Trail making test: normative values from 287 normal adult controls. *Ital J Neuro Sci* 17, 305–309 (1996). <https://doi.org/10.1007/BF01997792>.
324. Nocentini U, Giordano A, Di Vincenzo S, Panella M, Pasqualetti P. The Symbol Digit Modalities Test - Oral version: Italian normative data. *Funct Neurol.* 2006 Apr-Jun;21(2):93-6. PMID: 16796824.
325. Benton AL, Varney NR, Hamsher KD. Visuospatial judgment. A clinical test. *Arch Neurol.* 1978 Jun;35(6):364-7. doi: 10.1001/archneur.1978.00500300038006. PMID: 655909.
326. Una versione abbreviata del test di Stroop: dati normativi nella popolazione italiana / Caffarra, Paolo; G., Vezzadini; F., Dieci; F., Zonato; A., Venneri. - In: NUOVA RIVISTA DI NEUROLOGIA. - ISSN 1122-035X. - 12:(2002), pp. 111-115.
327. Benedict, R. H. B., Schretlen, D., Groninger, L., & Brandt, J. (1998). Hopkins Verbal Learning Test—Revised: Normative data and analysis of inter-form and test–retest reliability. *Clinical Neuropsychologist*, 12(1), 43–55. <https://doi.org/10.1076/clin.12.1.43.1726>.

328. Williams BW, Mack W, Henderson VW. Boston Naming Test in Alzheimer's disease. *Neuropsychologia*. 1989;27(8):1073-9. doi: 10.1016/0028-3932(89)90186-3. PMID: 2797414.
329. Baron-Cohen S, Wheelwright S, Hill J, Raste Y, Plumb I. The "Reading the Mind in the Eyes" Test revised version: a study with normal adults, and adults with Asperger syndrome or high-functioning autism. *J Child Psychol Psychiatry*. 2001 Feb;42(2):241-51. PMID: 11280420.
330. Caffarra P, Vezzadini G, Dieci F, Zonato F, Venneri A. Rey-Osterrieth complex figure: normative values in an Italian population sample. *Neurol Sci*. 2002 Mar;22(6):443-7. doi: 10.1007/s100720200003. PMID: 11976975.
331. Syaifullah AH, Shiino A, Kitahara H, Ito R, Ishida M, Tanigaki K. Machine Learning for Diagnosis of AD and Prediction of MCI Progression From Brain MRI Using Brain Anatomical Analysis Using Diffeomorphic Deformation. *Front Neurol*. 2021 Feb 5;11:576029. doi: 10.3389/fneur.2020.576029. PMID: 33613411; PMCID: PMC7893082.
332. Dale, A.M., Fischl, B., & Sereno, M.I. Cortical surface-based analysis. I. Segmentation and surface reconstruction. *Neuroimage*. 9, 179-194(1999).
333. Fischl, B., Sereno, M.I., & Dale, A.M. Cortical surface-based analysis. II: Inflation, flattening, and a surface-based coordinate system. *Neuroimage*. 9, 195-207 (1999).
334. B. Fischl, A. Liu, and A. M. Dale, "Automated manifold surgery: Constructing geometrically accurate and topologically correct models of the human cerebral cortex," *IEEE Trans. Med. Imag.*, vol. 20, no. 1, pp. 70–80, Jan. 2001.
335. Fischl B, van der Kouwe A, Destrieux C, Halgren E, Ségonne F, Salat DH, Busa E, Seidman LJ, Goldstein J, Kennedy D, Caviness V, Makris N, Rosen B, Dale AM. Automatically parcellating the human cerebral cortex. *Cereb Cortex*. 2004 Jan;14(1):11-22. doi: 10.1093/cercor/bhg087. PMID: 14654453.
336. <http://surfer.nmr.mgh.harvard.edu/>. FreeSurfer.
337. <https://surfer.nmr.mgh.harvard.edu/fswiki/LGI>.
338. Wiprich MT, Bonan CD. Purinergic Signaling in the Pathophysiology and Treatment of Huntington's Disease. *Front Neurosci*. 2021 Jul 1;15:657338. doi: 10.3389/fnins.2021.657338. PMID: 34276284; PMCID: PMC8281137.

339. Videnovic A, Leurgans S, Fan W, Jaglin J, Shannon KM (2009) Daytime somnolence and nocturnal sleep disturbances in Huntington disease. *Parkinsonism. Relat Disord* 15:471–474.
340. van der Burg JM, Björkqvist M, Brundin P (2009) Beyond the brain: widespread pathology in Huntington's disease. *Lancet Neurol* 8:765–774.
341. van Dijk G, van Heijningen S, Reijne AC, Nyakas C, van der Zee EA, Eisel UL. Integrative neurobiology of metabolic diseases, neuroinflammation, and neurodegeneration. *Front Neurosci.* 2015;9: 173.
342. Harper PS, Lim C, Craufurd D (2000) Ten years of presymptomatic testing for Huntington's disease: the experience of the UK Huntington's Disease Prediction Consortium. *J Med Genet* 37:567–571.
343. Walker FO. Huntington's disease. *Lancet.* 2007;369(9557):218–28. doi: 10.1016/S0140-6736(07)60111-1.
344. Ha AD, Fung VSC. Huntington's disease. *Curr Opin Neurol.* 2012;25(4):491–8. doi: 10.1097/WCO.0b013e3283550c97.
345. Aracil-Bolaños I, Martínez-Horta S, González-de-Echávarri JM, Sampedro F, Pérez-Pérez J, Horta-Barba A, Campolongo A, Izquierdo C, Gómez-Ansón B, Pagonabarraga J, Kulisevsky J. Structure and Dynamics of Large-Scale Cognitive Networks in Huntington's Disease. *Mov Disord.* 2022 Feb;37(2):343-353. doi: 10.1002/mds.28839. Epub 2021 Nov 9. PMID: 34752656.
346. Gomez-Anson B, Alegret M, Munoz E, et al. Prefrontal cortex volume reduction on MRI in preclinical Huntington's disease relates to visuomotor performance and CAG number. *Parkinsonism Relat Disord.* 2009;15(3):213-219.
347. Peinemann A, Schuller S, Pohl C, Jahn T, Weindl A, Kassubek J. Executive dysfunction in early stages of Huntington's disease is associated with striatal and insular atrophy: a neuropsychological and voxel-based morphometric study. *J Neurol Sci.* 2005;239(1):11-19.
348. Minkova L, Gregory S, Scahill RI, et al. Cross-sectional and longitudinal voxel-based grey matter asymmetries in Huntington's disease. *NeuroImage Clin.* 2018;17:312-324.

349. Domínguez D JF, Egan GF, Gray MA, et al. Multi-Modal Neuroimaging in Premanifest and Early Huntington's Disease: 18 Month Longitudinal Data from the IMAGE-HD Study. *PLoS One*. 2013;8(9):e74131. doi:10.1371/journal.pone.0074131.
350. Aylward EH, Harrington DL, Mills JA, et al. Regional atrophy associated with cognitive and motor function in prodromal Huntington disease. *J Huntingtons Dis*. 2013;2(4):477-489.
351. van den Bogaard SJA, Dumas EM, Acharya TP, et al. Early atrophy of pallidum and accumbens nucleus in Huntington's disease. *J Neurol*. 2011;258(3):412-420.
352. Aylward EH, Brandt J, Codori AM, Mangus RS, Barta PE, Harris GJ. Reduced basal ganglia volume associated with the gene for Huntington's disease in asymptomatic at-risk persons. *Neurology*. 1994;44(5):823.
353. Coppens EM, Jacobs M, van den Berg-Huysmans AA, van der Grond J, Roos RAC. Grey matter volume loss is associated with specific clinical motor signs in Huntington's disease. *Parkinsonism Relat Disord*. 2018;46:56-61.
354. Jurgens CK, Van de Wiel L, Van Es ACGM, et al. Basal ganglia volume and clinical correlates in 'preclinical' Huntington's disease. *J Neurol*. 2008;255(11):1785.
355. Kipps CM, Duggins AJ, Mahant N, Gomes L, Ashburner J, McCusker EA. Progression of structural neuropathology in preclinical Huntington's disease: a tensor based morphometry study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2005;76(5):650-655.
356. Ahveninen LM, Stout JC, Georgiou-Karistianis N, Lorenzetti V, Glikmann-Johnston Y. Reduced amygdala volumes are related to motor and cognitive signs in Huntington's disease: The IMAGE-HD study. *NeuroImage Clin*. 2018;18:881-887.
357. Harris GJ, Codori AM, Lewis RF, Schmidt E, Bedi A, Brandt J. Reduced basal ganglia blood flow and volume in pre-symptomatic, gene-tested persons at-risk for Huntington's disease. *Brain*. 1999;122(9):1667-1678.
358. Bäckman L, Robins-Wahlin TB, Lundin A, Ginovart N, Farde L. Cognitive deficits in Huntington's disease are predicted by dopaminergic PET markers and brain volumes. *Brain a J Neurol*. 1997;120(12):2207-2217.

359. Jernigan TL, Salmon DP, Butters N, Hesselink JR. Cerebral structure on MRI, Part II: Specific changes in Alzheimer's and Huntington's diseases. *Biol Psychiatry*. 1991;29(1):68-81.
360. Starkstein SE, Brandt J, Bylsma F, Peyser C, Folstein M, Folstein SE. Neuropsychological correlates of brain atrophy in Huntington's disease: a magnetic resonance imaging study. *Neuroradiology*. 1992;34(6):487-489.
361. Thieben MJ, Duggins AJ, Good CD, et al. The distribution of structural neuropathology in pre-clinical Huntington's disease. *Brain*. 2002;125(8):1815-1828.
362. Aylward EH, Anderson NB, Bylsma FW, et al. Frontal lobe volume in patients with Huntington's disease. *Neurology*. 1998;50(1):252-258.
363. Labuschagne I, Cassidy AM, Scahill RI, et al. Visuospatial processing deficits linked to posterior brain regions in premanifest and early stage Huntington's disease. *J Int Neuropsychol Soc*. 2016;22(6):595-608.
364. Ruocco HH, Bonilha L, Li LM, Lopes-Cendes I, Cendes F. Longitudinal analysis of regional grey matter loss in Huntington disease: effects of the length of the expanded CAG repeat. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2008;79(2):130-135.

Ringraziamenti

In quest'ultima pagina vorrei dedicare un doveroso pensiero a tutte le persone che hanno contribuito a rendere questo percorso così speciale e questo traguardo raggiungibile.

Un sentito ringraziamento va innanzitutto alla mia famiglia per il sostegno e per l'incoraggiamento morale e materiale fornitomi durante questi 6 anni di percorso universitario. Vi sono grato per essere stati al mio fianco non solo durante l'ultimo periodo, ma per tutti questi anni, con immancabile pazienza e amorevole supporto: il raggiungimento di questo traguardo è anche merito vostro.

Non di minor importanza vorrei ringraziare i miei amici, quelli che ci sono da una vita e quelli che man mano si sono aggiunti durante il tragitto. In questa sede, rivolgo un grazie particolare ai compagni di corso, che hanno reso le giornate più piacevoli, le lezioni degne di essere seguite e lo studio più sopportabile. Menzione speciale per la Dilly ed i suoi magnifici riassunti, senza i quali gli esami sarebbero stati ancora più impegnativi.

Un doveroso ringraziamento va alla clinica neurologica, per la disponibilità, la professionalità e la cortesia dimostratami, ma una menzione particolare va al Dott. Luca Weis senza il cui aiuto e supporto la stesura della seguente tesi non avrebbe mai avuto luogo.

Come ultima istanza, vorrei ringraziare tutti quanti coloro mi abbiano regalato anche per un fugace momento serenità e gioia, facendomi il dono di una risata e dedicandomi tempo, vicinanza ed affetto.

A tutti voi la mia più sincera riconoscenza. Grazie di cuore a tutti