

**UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MILANO**

Dottorato in Scienze fisiopatologiche,  
neurologiche e assistenziali del ciclo della vita

Dipartimento di Scienze Cliniche e di Comunità

XXV ciclo



**VALUTAZIONE DELLA FUNZIONE AUTONOMICA  
NEL MILD COGNITIVE IMPAIRMENT  
TRAMITE ANALISI SPETTRALE  
DELLA HEART RATE VARIABILITY**

MED 09

Dr.ssa Paola Nicolini

Matr. n. R08699

Tutor: Prof. F. Magrini

Coordinatore del dottorato: Prof. R. Weinstein

Anno Accademico 2011-2012

# Indice

**Riassunto** **pag.3**

**1. Introduzione** **pag. 6**

**1.1 Mild Cognitive Impairment**

**1.2 Heart Rate Variability**

1.2.1 Analisi nel dominio del tempo

1.2.2 Analisi nel dominio della frequenza (analisi spettrale)

**1.3 MCI e disautonomia**

1.3.1 Demenza e disautonomia

1.3.2 Cognitività e funzione autonoma in assenza di demenza

1.3.3 MCI e disautonomia

**1.4 Rilevanza clinica della disautonomia**

1.4.1 Disautonomia e mortalità

1.4.2 Disautonomia e ipotensione ortostatica

1.4.3 Disautonomia e farmaci

**2.Scopo dello studio** **pag. 22**

**3. Materiali e Metodi** **pag. 22**

**3.1 Popolazione reclutata**

**3.2 Valutazione clinica**

### **3.3. Valutazione autonoma**

3.3.1.Fase basale

3.3.2 Fase di ortostatismo attivo

3.3.3.Fase di respirazione metronomica

### **3.4. Analisi dell'HRV**

### **3.5. Analisi statistica**

**4.Risultati** pag. 29

**5.Discussione** pag. 36

**6. Limiti dello studio e prospettive** pag. 45

**7. Conclusioni** pag. 47

**Bibliografia** pag. 49

# Riassunto

## Background

L'analisi della Heart Rate Variability (HRV), prevista da molti dispositivi Holter commerciali, costituisce un metodo semplice per la valutazione della funzione autonoma. La potenziale associazione tra Mild Cognitive Impairment (MCI) e disautonomia, suffragata indirettamente dai dati in letteratura e ricca di implicazioni cliniche, non è stata indagata se non da un singolo studio con esiti negativi.

## Scopo dello studio

Valutare la funzione autonoma nei soggetti affetti da MCI tramite l'analisi spettrale dell'HRV applicata ad un protocollo sperimentale standardizzato che prevede due test provocativi.

## Materiali e Metodi

Sono stati valutati 40 soggetti affetti da MCI e 40 soggetti cognitivamente integri (gruppo di controllo), reclutati tra quelli consecutivamente sottoposti a valutazione neuropsicologica presso l'U.O di Geriatria del Policlinico di Milano nel periodo compreso tra Gennaio 2011 e Dicembre 2012. L'analisi spettrale dell'HRV è stata eseguita su segmenti elettrocardiografici di 5 minuti appartenenti alle tre fasi del protocollo: basale (clinostatismo a respiro libero), ortostatismo attivo (stimolazione ortosimpatica) e respirazione metronomica a 12 atti/min (stimolazione parasimpatica). Sono stati considerati in particolare gli indici autonomici che meglio esprimono la interazione tra le due branche del sistema nervoso autonomo: Low Frequency Power normalizzata (LFn), High Frequency Power normalizzata (HFn) e rapporto LF/HF (R). Questi indici sono stati considerati come tali nelle tre fasi del protocollo ma anche nella loro variazione dalla fase basale

alla fase attiva di ciascun protocollo ( $\Delta LFn$ ,  $\Delta HFn$ ,  $\Delta R$ ) che rappresenta la risposta alla manovra ed è una misura maggiormente sensibile di modulazione autonoma. È stato inoltre valutato il profilo pressorio al primo, terzo, quinto e decimo minuto di ortostatismo attivo. Il test di Student è stato utilizzato per confrontare gli indici autonomici e le pressioni tra i due gruppi e l'analisi della covarianza (ANCOVA) è stata impiegata, quando opportuno, per correggere l'effetto delle variabili confondenti sugli indici autonomici e sulle pressioni.

## **Risultati**

Differenze significative tra i due gruppi non si sono osservate in condizioni basali, ma solo durante i test provocativi e nella risposte ai test provocativi. Negli MCI, rispetto ai controlli, si è riscontrato uno shift del bilancio simpatovagale verso il parasimpatico durante ortostatismo attivo ( $LFn$   $52.7 \pm 20.0$  vs  $65.8 \pm 17.0$ ,  $p=0.010$ ;  $HFn$   $26.2 \pm 14.3$  vs  $18.5 \pm 10.3$ ,  $p=0.007$ ;  $R$   $3.4 \pm 3.3$  vs  $5.2 \pm 3.8$ ,  $p=0.030$ ) e verso l'ortosimpatico durante respirazione metronomica ( $LFn$   $49.1 \pm 19.3$  vs  $38.1 \pm 18.2$ ,  $p=0.012$ ;  $HFn$   $38.2 \pm 17.7$  vs  $47.8 \pm 18.7$ ,  $p=0.024$ ). Soprattutto, gli MCI, rispetto ai controlli, erano caratterizzati da una attenuazione significativa della risposta fisiologica all'ortostatismo attivo in tutte le sue componenti ( $\Delta LFn$   $3.6 \pm 25.7$  vs  $17.1 \pm 16.8$ ,  $p=0.019$ ;  $\Delta HFn$   $-1.4 \pm 13.4$  vs  $-12.5 \pm 14.2$ ,  $p=0.008$ ;  $\Delta R$   $0.7 \pm 3.0$  vs  $2.8 \pm 2.6$ ,  $p=0.010$ ) e da una attenuazione al limite della significatività della risposta fisiologica alla respirazione metronomica solo nella componente di inibizione dell'ortosimpatico ( $\Delta LFn$   $-0.7 \pm 24.0$  vs  $-10.8 \pm 20.9$ ,  $p=0.053$ ). Inoltre, negli MCI, rispetto ai controlli, si è evidenziata una riduzione della pressione arteriosa sistolica al terzo e al decimo minuto di ortostatismo attivo (rispettivamente  $129.0 \pm 16.7$  vs  $137.7 \pm 18.9$ ,  $p=0.034$ ;  $124.4 \pm 16.0$  vs  $135.2 \pm 21.4$ ,  $p=0.033$ ).

## **Conclusioni**

Negli MCI è presente una disautonomia che non è evidente in condizioni basali ma viene smascherata dai test provocativi. In particolare, la risposta ai test provocativi sembra configurare un

quadro di deficit totale dell'ortosimpatico e di deficit parziale del parasimpatico, potenzialmente riconducibile ad un coinvolgimento dell'insula destra. La riduzione delle pressioni arteriose sistoliche ortostatiche è una possibile conseguenza della disautonomia e, per quanto modesta, potrebbe rivestire significato clinico in pazienti anziani con compromissione dell'autoregolazione del flusso cerebrale. Studi longitudinali potranno meglio precisare la rilevanza clinica della disautonomia in termini di mortalità e progressione verso la demenza.

# 1. Introduzione

## 1.1 Mild Cognitive Impairment

Il Mild Cognitive Impairment (MCI) è un'entità clinica che si colloca lungo il continuum tra integrità cognitiva e demenza. E' caratterizzato da una compromissione cognitiva lieve, di grado tale da non configurare un quadro di demenza, che si accompagna a preservata autonomia funzionale (con possibili minimi deficit nelle attività strumentali della vita quotidiana) [1]. Viene considerato la fase prodromica della demenza, con un tasso annuo di conversione in demenza che varia dal 5-15% nei diversi studi, soprattutto in base alla provenienza dei soggetti considerati (maggiore nei pazienti afferenti ad ambulatori cognitivi, minore nella popolazione generale) [2,3]. Con l'invecchiamento della popolazione [4,5] è destinato ad acquistare un notevole impatto sociosanitario per l'elevata prevalenza negli anziani. Due ampi studi di popolazione condotti su soggetti >65 anni hanno infatti dimostrato che la prevalenza di MCI è all'incirca doppia di quella della demenza: 16.8% contro 8% nel Canadian Study of Health and Aging [6] e 10.7% contro 5.5% nell'Italian Longitudinal Study on Aging [7].

La diagnosi di MCI si basa su criteri definiti da diversi gruppi di lavoro internazionali [8-10] che includono (i) un disturbo cognitivo soggettivo riferito dal paziente e/o da un informatore (ii) una compromissione cognitiva oggettiva evidenziata dai test neuropsicologici (iii) un'autonomia funzionale sostanzialmente preservata e (iv) l'assenza di demenza.

L'MCI può interessare diversi domini cognitivi (quali memoria, attenzione, linguaggio, funzioni esecutive e visuospatiali) e, alla valutazione neuropsicologica, viene classificato in quattro sottotipi in base al numero dei domini cognitivi compromessi (uno o più) e al coinvolgimento o meno della memoria: aMCI (MCI a dominio singolo con amnesia), sdMCI- (MCI a dominio singolo senza

amnesia), mdMCI+ (MCI a domini multipli con amnesia) e mdMCI- (MCI a domini multipli senza amnesia) [11]. In genere le forme amnesiche (aMCI e mdMCI+ ) evolvono più frequentemente in demenza di Alzheimer (AD) e le forme non amnesiche (sdMCI- e mdMCI-) in demenze non-AD quali demenza vascolare (VaD), demenza a corpi di Lewy (DLB) e demenza frontotemporale (FTD) [1]. Tuttavia, uno studio prospettico Austriaco [12] ha ben sottolineato il comportamento evolutivo eterogeneo dell'MCI, evidenziando un elevato tasso di conversione in AD anche per le forme non amnesiche (circa 11% per anno) e la possibilità che una quota significativa di forme amnesiche esiti in demenze non-AD. Un analogo tasso di progressione verso l'AD (circa 8% per anno) è stato riportato da un altro studio per l'MCI a dominio singolo senza amnesia [13].

## **1.2 Heart Rate Variability**

La Heart Rate Variability (HRV) è la variabilità della frequenza cardiaca, cioè quel fenomeno per cui la frequenza cardiaca varia da battito a battito producendo fluttuazioni negli intervalli RR di una registrazione elettrocardiografica, ed è dovuta all'attività delle due branche del sistema nervoso autonomo- parasimpatico e ortosimpatico [14]. Molti dispositivi Holter commerciali prevedono moduli per l'analisi dell'HRV e questo consente di valutare la funzione autonoma in modo non invasivo e semplice per il paziente, soprattutto se anziano e/o affetto da compromissione cognitiva (i test autonomici della batteria di Ewing necessitano di notevole collaborazione soprattutto per manovra di Valsalva, respirazione profonda e contrazione muscolare isometrica) [15].

L'analisi dell'HRV può essere effettuata nel dominio del tempo o nel dominio della frequenza. Nel 1996 la Task Force della European Society of Cardiology (ESC) e della North American Society of Pacing and Electrophysiology (NASPE) ha stilato un documento di consenso per standardizzare i criteri di analisi e di interpretazione dell'HRV in cui raccomanda l'analisi nel dominio del tempo per registrazioni elettrocardiografiche delle 24 ore e l'analisi nel dominio della frequenza per registrazioni elettrocardiografiche di 5 minuti [16].



### 1.2.1 Analisi nel dominio del tempo

Gli indici nel dominio del tempo quantificano la variabilità della frequenza cardiaca su diverse scale di tempo e derivano da una semplice elaborazione statistica della durata degli intervalli RR. Possono essere calcolati valutando direttamente gli intervalli RR o le differenze tra intervalli RR successivi. Nel primo caso la registrazione elettrocardiografica può essere considerata un unico segmento continuo (SDNN) oppure essere suddivisa in blocchi di 5 minuti (SDANN, SDNN index). Nel secondo caso l'analisi viene eseguita battito per battito (RMSSD, pNN50) e coglie le variazioni più rapide nella frequenza cardiaca. La **Tabella 1** mostra le caratteristiche degli indici nel dominio del tempo. Dato che gli indici nel dominio del tempo sono strettamente correlati agli indici nel dominio della frequenza (**Tabella 2**), la cui interpretazione fisiologica è più diretta ed è stata più ampiamente studiata [16] per la interpretazione fisiologica degli indici nel dominio del tempo si rimanda alla **Tabella 2** e al seguente paragrafo sugli indici nel dominio della frequenza.

### 1.2.2 Analisi nel dominio della frequenza (analisi spettrale)

Gli indici nel dominio della frequenza derivano dall'analisi spettrale che scompone le fluttuazioni della frequenza cardiaca in bande a diversa frequenza (**Tabella 3**). L'analisi spettrale può essere effettuata con diversi metodi (Fast Fourier Transform-FFT, metodo autoregressivo) ma in ogni caso produce una rappresentazione grafica (spettro di potenza) che mostra come la potenza si distribuisce in ciascuna banda. Dato che lo spettro di potenza prevede sull'ordinata la densità di potenza ( $\text{ms}^2/\text{Hz}$ ) e sull'ascissa la frequenza (Hz) il contenuto di potenza della diverse bande viene calcolato integrando l'area sotto lo spettro: si ottengono in questo modo TP, ULF, VLF, LF e HF (valori assoluti in  $\text{ms}^2$ ). Il software calcola anche indici derivati che sono particolarmente importanti perché consentono di meglio apprezzare le interazioni tra le due branche del sistema nervoso autonomo: LF normalizzato (LFn), HF normalizzato (HFN) e R. LFn e HFN derivano da una procedura di

normalizzazione ( $LFn=(LF/TP-VLF)\times 100$ ,  $HF_n=(HF/TP-VLF)\times 100$ ) e sono espressi in unità normalizzate (n.u), R è il rapporto LF/HF.

Da un punto di vista fisiologico TP rappresenta la modulazione autonoma complessiva, HF la modulazione parasimpatica legata all'attività respiratoria, LF la modulazione prevalentemente ortosimpatica legata all'attività dei barocettori [17]. In particolare, va ricordato che è il parasimpatico a mediare le oscillazioni più rapide della frequenza cardiaca (HF) perché agisce quasi istantaneamente sul nodo senoatriale (latenza < 500 ms) mentre l'ortosimpatico ha una latenza d'azione più lunga (fino a 5 s) [14]. ULF e VLF hanno un significato fisiologico ancora incerto ma probabilmente sono legati al sistema renina-angiotensina-aldosterone, alla termoregolazione e al tono vasomotore periferico [18]. HF<sub>n</sub> è indice di modulazione parasimpatica, LF<sub>n</sub> è indice di modulazione ortosimpatica e R è indice di bilancio simpatovagale [19].

**Tabella 1. Indici nel dominio del tempo**

Indice	Descrizione	Variabilità indagata
SDNN (ms)	DS di tutti gli intervalli RR	Variabilità durante tutta la registrazione
SDANN (ms)	DS delle medie degli intervalli RR calcolate su blocchi di 5 minuti	Variabilità per cicli >5 minuti
SDNN index (ms)	Media delle DS degli intervalli RR calcolate su blocchi di 5 minuti	Variabilità per cicli < 5 minuti
RMSSD (ms)	Radice quadrata della media delle differenze quadratiche tra intervalli RR successivi	Variabilità a brevissimo termine
pNN50 (%)	Percentuale di intervalli RR successivi che differiscono più di 50 ms	Variabilità a brevissimo termine

**Tabella 2. Correlazioni tra indici nel dominio del tempo e indici nel dominio della frequenza**

Indice nel dominio del tempo	Indice nel dominio della frequenza
SDNN	TP
SDANN	ULF
SDNN index	VLF
RMSSD	HF
pNN50	HF

**Tabella 3. Indici nel dominio della frequenza (indici spettrali)**

<b>Indice nel dominio della frequenza</b>	<b>Banda di frequenza (Hz)</b>
TP (ms <sup>2</sup> )	≈≤0.4
ULF (ms <sup>2</sup> )*	≤0.003
VLF (ms <sup>2</sup> )	≤0.04
LF (ms <sup>2</sup> )	0.04-0.15
HF (ms <sup>2</sup> )	0.15-0.40

**Legenda:**TP=Total Power, ULF=Ultra Low Frequency Power, VLF=Very Low Frequency Power, LF= Low Frequency Power, HF=High Frequency Power.

\*Solo per registrazioni di 24 ore.

### **1.3 MCI e disautonomia**

Da un punto di vista concettuale vi è motivo di ritenere che l'MCI possa associarsi a disautonomia in quanto rappresenta la fase prodromica della demenza e diversi studi in letteratura dimostrano la presenza di disautonomia nelle demenze [20-31]. Inoltre, sporadici studi in soggetti non dementi evidenziano un rapporto tra funzione autonoma e funzione cognitiva [32,33]. Il confronto tra soggetti cognitivamente integri e MCI in termini di funzione autonoma è stato effettuato da un singolo studio in letteratura [26] che non ha rilevato differenze tra i due gruppi, probabilmente a causa di lacune metodologiche (condizioni non rigorosamente standardizzate, assenza di test provocativo).

#### **1.3.1 Demenza e disautonomia**

La patogenesi della disautonomia nella demenza può riconoscere un meccanismo sia diretto che indiretto. Il meccanismo diretto è legato ad un interessamento diretto del sistema nervoso autonomo nelle sue componenti centrali o periferiche. In effetti in alcune forme di demenza- DLB e Parkinson-demenza (PDD)- sono state descritte alterazioni degenerative del sistema nervoso

autonomo centrale (nucleo motore dorsale del vago, colonne intermediolaterali del midollo spinale) e periferico (gangli ortosimpatici) [34]. Il meccanismo indiretto è dovuto al coinvolgimento del Central Autonomic Network (CAN): una complessa rete di unità funzionali che non fa parte direttamente del sistema nervoso autonomo ma che ne regola l'output tramite proiezioni sui neuroni pregangliari parasimpatici e ortosimpatici [35]. In particolare, il CAN comprende una serie di strutture del sistema nervoso centrale che sono spesso compromesse nelle demenze: insula, corteccia prefrontale ventromediale, corteccia cingolata anteriore, ipotalamo, amigdala, locus coeruleus.

In letteratura vi è un discreto numero di studi che indagano la funzione autonoma nelle demenze: si tratta perlopiù di demenze specifiche (soprattutto AD, meno frequentemente VaD, DLB, PDD) [20-29], ma esistono anche rari studi che considerano una diagnosi generica di demenza in base al cut-off di un test di screening cognitivo [30,31]. La **Tabella 4** mostra un sunto delle caratteristiche degli studi effettuati su soggetti con diagnosi specifiche di demenza e che valutano la funzione autonoma tramite i test della batteria di Ewing e/o l'analisi spettrale dell'HRV. In generale tutti sono concordi nell'evidenziare una disautonomia ma vi sono discrepanze nel tipo di deficit riscontrato, probabilmente dovute a differenze nella modalità di valutazione (i test autonomici sono considerati in genere meno sensibili dell'analisi dell'HRV, perlomeno nel loro principale campo di applicazione che è la diagnosi preclinica della neuropatia autonoma diabetica) [36], a differenze metodologiche nell'analisi dell'HRV (metodo di analisi spettrale, durata della registrazione, indici considerati, test provocativo costituito da ortostatismo attivo o passivo) e a differenze nella popolazione studiata (dati anagrafici, comorbidità, severità della demenza).

In particolare, Giubilei et al. [25] confrontano soggetti AD e controlli sia in condizioni basali (clinostatismo) che durante tilt, effettuando l'analisi (metodo autoregressivo) su due segmenti di registrazione di 15 minuti. Rilevano che nei soggetti AD in condizioni basali è ridotto TP e sono ridotti sia LF che HF ma in uguale misura, senza produrre cioè differenze in LFn, HFn e R;

concludono quindi per una riduzione della modulazione ortosimpatica e parasimpatica senza shift del bilancio simpatovagale. Inoltre dimostrano che nei soggetti AD l'ortostatismo non produce significative variazioni in HFn (che dovrebbe ridursi) e LFn e R (che dovrebbero aumentare), a indicare una risposta fisiologica molto attenuata al cambio posturale (cioè un deficit dell'ortosimpatico che durante tilt dovrebbe sia attivarsi che inibire il parasimpatico). Rivalutando i pazienti dopo trattamento con inibitore dell'acetilcolinesterasi osservano che non cambiano i parametri basali ma migliora notevolmente la risposta al tilt che si sovrappone sostanzialmente a quella dei controlli.

De Vilhena et al. [29] confrontano sempre soggetti AD e controlli sia in condizioni basali (clinostatismo) che durante ortostatismo ma in questo caso si tratta di ortostatismo attivo e l'analisi (FFT) viene effettuata su due segmenti di registrazione di 5 minuti (il secondo, corrispondente all'ortostatismo, ottenuto dopo 2 minuti di stabilizzazione). Contrariamente a Giubilei et al.[25]trovano che nei soggetti AD in condizioni basali non vi sono differenze significative in TP, LF e HF ma piuttosto in LFn e R che risultano maggiori; ipotizzano quindi una iperattivazione ortosimpatica (cioè un deficit del parasimpatico che a riposo dovrebbe inibire l'ortosimpatico). Nei soggetti AD durante ortostatismo trovano solo una riduzione borderline ( $p=0.05$ ) di HF che attribuiscono ad una ridotta modulazione parasimpatica. A differenza di Giubilei et al. [25] non confrontano tra i due gruppi le variazioni in LFn, HFn e R nella transizione da basale ad ortostatismo, tuttavia una rapida ispezione dei dati consente di verificare che anche in questo caso nei soggetti AD non vi sono variazioni significative in LFn e HFn durante la manovra. In entrambi gli studi viene considerata una popolazione di soggetti AD "ideale" dal punto di vista sperimentale, cioè pazienti che non hanno altre patologie e che non assumono alcun farmaco. E' possibile che le discrepanze osservate siano dovute al diverso approccio metodologico all'analisi dell'HRV ma anche ad eventuali differenze nella composizione complessiva della popolazione (nello studio di De Vilhena et al. i pazienti appaiono più anziani con netta prevalenza del sesso femminile).

Allan et al. [28] confrontano soggetti affetti da AD, VaD, DLB e PDD con un gruppo di controllo esclusivamente in condizioni basali (clinostatismo), effettuando l'analisi (FFT) su un segmento di registrazione di 5 minuti. Trovano che solo nei soggetti DLB e PDD vi sono differenze significative rispetto ai controlli (riduzione di LF con R invariato per i DLB; riduzione di TP, LF e HF con R invariato per i PDD), confermando i risultati di un precedente studio [27] che non aveva evidenziato differenze significative in questi parametri nei soggetti AD e VaD rispetto ai controlli. Questi risultati sono chiaramente in contrasto con quelli di Giubilei et al. [25] e De Vilhena et al. [29] sui soggetti AD. E' possibile solo speculare che, dato che questo protocollo sperimentale prevedeva anche test autonomici che richiedono notevole collaborazione da parte del paziente (manovra di Valsalva, respirazione profonda), si sia in qualche modo selezionata una popolazione con deficit cognitivi meno severi.

Aharon-Peretz et al. [24] confrontano soggetti AD e controlli sia in condizioni basali (clinostatismo) che durante ortostatismo attivo, effettuando l'analisi (metodo autoregressivo) su due segmenti di registrazione di 5-10 minuti (basale) e 5 min (ortostatismo). Concludono che nei soggetti AD in condizioni basali vi è un deficit parasimpatico, mentre in ortostatismo vi è un'iperattivazione ortosimpatica con ipoattivazione parasimpatica ("stato ipersimpatico, ipoparasimpatico"). Sembra quindi che in ortostatismo l'ortosimpatico si attivi eccessivamente e inibisca eccessivamente il parasimpatico, cioè che vi sia una risposta fisiologica accentuata al cambio posturale che è in netta contrapposizione ai risultati di Giubilei et al. [25] e De Vilhena et al. [29]. Va tuttavia sottolineato che questo pionieristico studio è stato condotto nel 1992 - prima che la Task Force [16] fissasse degli standard precisi per l'analisi dell' HRV- per cui utilizza indici autonomici e bande di frequenza (LF=Low Frequency band, MF=Medium Frequency band e HF= High Frequency band) che non corrispondono a quelli canonici. In particolare considera indice di attivazione ortosimpatica  $R_A$  (dato dal rapporto  $LF/MF+HF$ ) e indice di attivazione parasimpatica  $R_B$  (dato dal rapporto  $MF/LF+HF$ ) dove LF (<0.03 Hz) corrisponde approssimativamente a VLF e dove MF (0.09-0.11

Hz) corrisponde approssimativamente a LF. Per quanto la citazione storica sia dovuta, l'interpretazione fisiologica è dubbia e non consente confronti.

Tra gli studi che si occupano di AD e disautonomia va poi ricordato un più recente studio di De Vilhena et al. [37], condotto su un campione di soggetti AD (n=22) senza campione di controllo, che dimostra una significativa associazione tra funzione autonoma e severità della demenza: il punteggio ad un test cognitivo complesso (CAMCOG) è correlato positivamente ad indici di modulazione parasimpatica quali HF, pNN50 e RMSSD.

Infine, tra gli studi che indagano la funzione autonoma nelle demenze ce ne sono due in cui la diagnosi di demenza non è specifica per tipo, ma generica in base al cut-off di un test cognitivo. Nel primo, Kim et al. [30] considerano donne ultrasessantacinquenni con disabilità fisica (n=311, un subset della più ampia popolazione dello studio epidemiologico Women's Health and Aging Study I) e le suddividono in due gruppi - con o senza compromissione cognitiva - in base ad un punteggio cut-off di 24 al MMSE. Confrontano poi i due gruppi effettuando l'analisi dell'HRV su registrazioni elettrocardiografiche di 2 ore e trovano una riduzione di VLF nel gruppo cognitivamente compromesso. Inoltre, classificano ogni indice autonomo come ridotto o non ridotto in base alla distribuzione in quartili (primo quartile vs ultimi tre quartili) e dimostrano che la riduzione di alcuni indici autonomi parasimpatici (HF, pNN50 e RMSSD) aumenta significativamente il rischio di compromissione cognitiva, fino a circa 7 volte nel caso della riduzione di HF. Il secondo studio è uno studio Giapponese [31] condotto su soggetti ultrasessantacinquenni (n= 138) che evidenzia una riduzione di LF e R nei soggetti dementi rispetto ai controlli.

**Tabella 4. Sunto degli studi che hanno valutato la funzione autonoma in specifici tipi di demenza**

Studio	Popolazione	Test autonomici	Analisi spettrale dell'HRV	Modalità dell' analisi spettrale dell'HRV				Conclusioni
				Test provocativo	Metodo di analisi	Durata della registrazione	Indici analizzati	
Elmstahl et al. 1992 <sup>20</sup>	AD (n=24) vs C (n=54)	SI	NO	-	-	-	-	Deficit OS e PS in AD
Wang et al. 1994 <sup>21</sup>	AD (n=23) vs C (n=23)	SI	NO	-	-	-	-	Deficit PS in AD
Algotsson et al. 1995 <sup>22</sup>	AD (n=29) vs C (n=15)	SI	NO	-	-	-	-	Deficit OS e PS in AD
Idiaquez et al. 2002 <sup>23</sup>	AD (n=20) vs C (n=20)	SI	NO	-	-	-	-	Deficit PS in AD
Aharon-Peretz et al. 1992 <sup>24</sup>	AD (n=20) vs C (n=7)	NO	SI	Ortostatismo attivo	AR	5-10 min (clinostatismo) +5 min (ortostatismo)	R <sub>A</sub> , R <sub>B</sub>	In AD deficit PS a riposo, iperattivazione OS con iperinibizione PS durante ortostatismo
Giubilei et al. 1998 <sup>25</sup>	AD (n=12) vs C (n=10)	NO	SI	Tilt-test	AR	15 min (clinostatismo) +15 min (ortostatismo)	TP, LF, HF, LFn, HFn, R	In AD deficit OS e PS a riposo senza alterazione del bilancio SV, marcata attenuazione della risposta al tilt
Zulli et al. 2005 <sup>26</sup>	AD (n=33) e MCI (n=39) vs C (n=29)	NO	SI	NO	FFT	24 ore (da cui 1 ora estrapolata per analisi spettrale)	LF, HF, R	In AD deficit OS e PS senza alterazione del bilancio SV, non disautonomia negli MCI
Allan et al. 2005 <sup>27</sup>	AD (n=14) e VaD (n=20) vs C (n=80)	NO	SI	NO	FFT	5min (clinostatismo)	TP, LF, HF, R	In AD e VaD nessuna differenza in stato autonomico rispetto ai controlli
Allan et al. 2007 <sup>28</sup>	AD (n=39), VaD (n=30), DLB (n=30), PDD (n=40) vs C (n=38)	SI	SI	NO	FFT	5min (clinostatismo)	TP, LF, HF, R	Ai test autonomici deficit OS in AD, deficit OS e PS in altre demenze. All'analisi HRV deficit OS in DLB, deficit OS e PS in PDD, senza alterazione del bilancio SV
De Vilhena Toledo et al. 2008 <sup>29</sup>	AD (n=22) vs C (n=24)	NO	SI	Ortostatismo attivo	FFT	5 min (clinostatismo) +5 min (ortostatismo)	TP, LF, HF, LFn, HFn, R	In AD iperattivazione OS a riposo, tendenza a deficit PS durante ortostatismo

**Legenda:** AD=demenza di Alzheimer, C=controlli, MCI=mild cognitive impairment, VaD=demenza vascolare, DLB=demenza a corpi di Lewy, PDD=Parkinson-demenza, AR=autoregressivo, FFT= Fast Fourier Transform, TP=Potenza totale, LF=Low Frequency Power (assoluta), HF=High Frequency Power (assoluta), LFn=Low Frequency Power (normalizzata), HFn=High Frequency Power (normalizzata), R=rapporto LF/HF, OS=ortosimpatico, PS=parasimpatico, SV=simpatovagale. Nota: per la definizione di R<sub>A</sub> e R<sub>B</sub> (indici autonomici peculiari allo studio di Aharon-Peretz et al. ) si rimanda al testo.



### **1.3.2 Cognitività e funzione autonoma in assenza di demenza**

In letteratura vi sono sporadici studi che indagano l'associazione tra funzione cognitiva e funzione autonoma in soggetti non dementi. Un piccolo studio Cinese (n=63) dimostra che in soggetti anziani non dementi il punteggio ad un test cognitivo (CASI) correla positivamente con alcuni indici autonomi derivanti da una registrazione di 2 ore (SDNN, SDANN, VLF) [32]. Un più recente e ampio studio condotto su uomini di mezza età (n=416, età media 55 anni) rileva che il punteggio ad un test di memoria verbale correla positivamente con alcuni indici autonomi (TP, ULF e VLF) derivanti da una registrazione Holter di 24 ore [33].

### **1.3.3 MCI e disautonomia**

Vi è un solo studio in letteratura che ha confrontato soggetti cognitivamente integri e MCI per indagare la presenza di disautonomia negli MCI. Si tratta di uno studio del 2005, condotto da Zulli et al. [26] all'Università di Brescia, che ha consecutivamente reclutato 39 MCI e 29 soggetti cognitivamente integri (oltre a 33 soggetti con AD). I pazienti sono stati sottoposti a Holter delle 24 ore e l'analisi dell'HRV è stata effettuata in modo differenziale: gli indici nel dominio del tempo (SDNN, SDANN, SDNN index, RMSSD) sono stati ottenuti valutando l'intera registrazione, in accordo con le raccomandazioni della Task Force [16], mentre l'analisi spettrale (FFT), da cui si sono ricavati LF, HF e R, è stata effettuata su un periodo prefissato di un'ora (dalle 3 alle 4 del pomeriggio) durante il quale si era raccomandato al paziente di rimanere supino in stato di veglia. Lo studio non ha evidenziato differenze significative tra MCI e controlli in nessuno degli indici considerati, mentre ha confermato le differenze tra AD e controlli già rilevate da Giubilei et al. [25]: riduzione di LF e HF senza modifiche di R. È possibile che l'esito negativo dello studio non rifletta l'assenza di disautonomia negli MCI ma sia invece dovuto a questioni metodologiche. Innanzitutto l'analisi spettrale richiede condizioni stazionarie, cioè la stabilità delle modulazioni

autonomiche nel periodo di registrazione, tanto che la Task Force [16] ne indica l'esecuzione solo su registrazioni elettrocardiografiche brevi (5 min). La stazionarietà presuppone quindi la stabilità del paziente e delle condizioni ambientali. Nello studio di Zulli et al. [26] non era possibile verificare quanto il paziente si attenesse alle raccomandazioni di mantenere una posizione supina né era possibile controllare le condizioni ambientali che non solo devono essere stabili (per assicurare la stazionarietà) ma anche uniformi tra paziente e paziente (per consentire il confronto dei risultati). Una registrazione basale effettuata in clinostatismo durante un protocollo sperimentale rigorosamente controllato garantirebbe invece la necessaria stazionarietà e standardizzazione.

Inoltre, se si sospetta che la disautonomia possa essere modesta, come è verosimile nel caso del MCI, può essere opportuno utilizzare un test provocativo per svelarla. Il cambiamento posturale, per esempio, costituisce un test provocativo il cui utilizzo viene fortemente suggerito nei protocolli di valutazione autonoma [38]. In uno studio condotto su pazienti diabetici senza sintomi di neuropatia autonoma [39] è stato possibile evidenziare differenze negli indici spettrali tra diabetici e controlli solo durante il tilt. Nel caso di una popolazione di anziani fragili l'ortostatismo passivo ha una limitata applicabilità, ma vi sono evidenze che ortostatismo attivo e passivo siano praticamente identici per quanto riguarda le modifiche del bilancio autonomo [40].

Infine, vale la pena di ricordare un recente studio che ha confrontato MCI e soggetti cognitivamente integri per valutare eventuali differenze nella reattività cerebrovascolare in risposta a stimolo ipercapnico e iperventilatorio [41]. Mentre al Doppler transcranico non si sono evidenziate differenze nel flusso ematico cerebrale nei due gruppi, lo studio segnala collateralmente un mancato aumento della frequenza cardiaca dopo stimolo ipercapnico negli MCI, possibile espressione di disautonomia.

## **1.4 Rilevanza clinica della disautonomia**

La rilevanza clinica della disautonomia è legata al fatto che si può associare ad un'umentata mortalità e ad ipotensione ortostatica e che può risentire di interferenze farmacologiche.

### **1.4.1 Disautonomia e mortalità**

Diversi ampi studi di popolazione hanno dimostrato un'associazione tra ridotta HRV e mortalità da tutte le cause in soggetti anziani. Tsuji et al. [42] hanno valutato un subset di età avanzata del Framingham Heart Study (n=736, età 63-93 anni, follow-up 4 anni) tramite registrazione elettrocardiografica di 2 ore e hanno trovato che una riduzione di VLF, LF, HF, TP e SDNN si associava ad un aumento della mortalità da tutte le cause. Dekker et al. [43] e De Bruyne et al. [44] hanno considerato due coorti di soggetti anziani in Olanda (Zuphten Study, n=885 solo uomini , età 65-85 anni, follow-up 5 anni; Rotterdam Study n=5272 , età  $\geq 55$  anni, follow-up medio 4 anni) sottoposti a registrazione elettrocardiografica standard (10-30 secondi) e hanno riportato che una riduzione di SDNN si associava ad un aumento della mortalità da cause sia cardiache che non cardiache. Un più recente studio condotto da Sajadieh et al. [45] su una popolazione danese sottoposta ad Holter delle 24 ore (Copenhagen Holter study, n=638, età 55-75 anni, follow-up 5 anni) ha evidenziato che una riduzione di SDNN indexes associava ad un aumento della mortalità da tutte le cause e da infarto miocardico. L'associazione tra disautonomia e mortalità è intuitiva: il sistema nervoso autonomo regola le funzioni vegetative in risposta alle esigenze di un ambiente interno ed esterno in continuo cambiamento in modo da mantenere l'omeostasi, una disfunzione autonoma compromette quindi quella capacità dell'organismo di adattarsi all'ambiente che è alla base della sopravvivenza [46].

Di fatto diversi studi hanno evidenziato che nei soggetti MCI, rispetto ai soggetti cognitivamente integri, la mortalità è aumentata da 1.5 a 2.2 volte a seconda della popolazione studiata e alla durata

del follow-up . Il Canadian Study of Health and Aging [47] ha riportato un raddoppio della mortalità negli MCI ad un follow-up di 5 anni, il Religious Order Study [48] un incremento della mortalità di 1.7 volte ad un follow-up medio di 4.5 anni, uno studio Svedese [49] un aumento del rischio di mortalità variabile da un minimo di 1.5 ad un massimo di 2.2 in 8 anni di follow-up, uno studio Olandese [50] un aumento della mortalità di 1.8 volte in 7 anni di follow-up. Uno studio della Mayo Clinic [51] ha evidenziato che il sottotipo amnesico di MCI (aMCI o mdMCI+) si associa ad un aumento del 69% della mortalità rispetto ai controlli.

E' quindi possibile che l'aumentata mortalità sia mediata dalla disautonomia, per quanto non esistano dati in proposito. Anche per le demenze, caratterizzate da una disautonomia accertata e da un aumento della mortalità [50], mancano studi in letteratura che abbiano indagato l'effetto diretto della disautonomia sulla mortalità. Solo un recentissimo piccolo studio prospettico (follow-up 3 anni) condotto in soggetti con DLB e PDD (n=30) ha evidenziato che la sopravvivenza è significativamente ridotta nei pazienti con ipotensione ortostatica persistente (definita in base al numero dei valori pressori alterati durante test ortostatico ripetuto a tre successive valutazioni), soprattutto se questa si associa ad altre manifestazioni disautonomiche quali incontinenza urinaria e stipsi [52].

#### **1.4.2 Disautonomia e ipotensione ortostatica**

La disautonomia può produrre un'ipotensione ortostatica neurogena [53] e l'ipotensione ortostatica può determinare cadute o una ipoperfusione e un danno cerebrale che peggiorano il deficit cognitivo. In effetti un recente studio [54] ha evidenziato negli MCI una prevalenza di ipotensione ortostatica tripla rispetto ai soggetti cognitivamente integri (12% vs 4%). Negli anziani le cadute sono importante causa di morbidità, istituzionalizzazione e mortalità [55]; non vi sono studi sulle cadute negli MCI ma è noto che la demenza si accompagna ad un rischio di caduta che è fino a 5 volte maggiore di quello dei soggetti cognitivamente integri [56]. A proposito della possibilità che

l'ipotensione ortostatica determini una ipoperfusione e un danno cerebrale che peggiorano il deficit cognitivo, i dati in letteratura sono più controversi. Gli studi che hanno mostrato un'associazione tra ipotensione ortostatica e compromissione cognitiva [54,57,58] sono trasversali e non consentono quindi di stabilire una direzione di causalità, mentre i rari studi prospettici danno risultati discrepanti [59,60]. A sostegno dell'ipotesi che l'ipotensione ortostatica possa produrre deficit cognitivo vanno citati due studi. Il primo è un piccolo studio prospettico che ha arruolato donne anziane non dementi e le ha sottoposte ad un test ortostatico: ad un follow-up di 5 anni lo sviluppo di demenza si associava ad una maggiore riduzione pressoria al test ortostatico [60]. Il secondo è un recentissimo studio [61] che ha indagato il fenomeno in acuto: soggetti cognitivamente integri con ipotensione ortostatica neurogena sottoposti a tilt-test hanno prestazioni significativamente peggiori ad una batteria di test cognitivi in posizione di tilt rispetto alla posizione supina. Si può quindi almeno ipotizzare che l'MCI si associ a una disautonomia che produce ipotensione ortostatica che a sua volta aggrava l'MCI e la disautonomia in un circolo vizioso. Infine, a prescindere dall'ipotensione ortostatica, la disautonomia può manifestarsi con un aumento della variabilità della pressione arteriosa (BPV) [62,63] che pure potrebbe portare a ipoperfusione e danno cerebrale. Il condizionale è d'obbligo perché diversi studi hanno trovato un'associazione tra aumentata BPV e compromissione cognitiva [26, 64-67] ma, ancora una volta, si tratta di studi trasversali che non consentono di stabilire un nesso di causalità.

### **1.4.3 Disautonomia e farmaci**

La disautonomia può essere influenzata in senso positivo o negativo da numerosi farmaci, come quelli cardioattivi i cui effetti sull'HRV sono ben documentati [16]. Nel caso del MCI può però essere particolarmente appropriato considerare l'effetto degli inibitori dell'acetilcolinesterasi. Infatti, per quanto una terapia farmacologica di routine non sia indicata (efficacia scarsa e limitata nel tempo, effetti collaterali) [68] il trattamento può essere riservato ai pazienti a più alto rischio di

progressione (presenza di ApoE4, atrofia ippocampale, riduzione della captazione di glucosio temporoparietale, quadro liquorale compatibile con AD) [69]. In letteratura vi è un numero molto limitato di studi che indaga l'effetto degli inibitori dell'acetilcolinesterasi sull'HRV in pazienti affetti da AD [25, 70-72] e DLB [70], con risultati in parte conflittuali. McLaren et al. [70] e Masuda et al. [71] valutano l'effetto del donepezil e, nonostante diverse durate di registrazione (5 min e 24 ore rispettivamente) riportano entrambi una riduzione di LF e HF (quest'ultima più marcata) da cui derivano una riduzione di HFn e un aumento di LFn e R. Considerando il quadro autonomico basale negli AD, come descritto nel complesso da Giubilei et al. [25], Zulli et al. [26] e De Vilhena et al. [29] (riduzione di LF e HF, aumento di LFn e R) l'effetto è quello di un peggioramento della disautonomia. Al contrario, Giubilei et al. [25], che valutano l'effetto dell'eptastigmina sia in basale che dopo tilt, non osservano alcuna differenza nei parametri spettrali in basale, ma un miglioramento della risposta al tilt, concludendo quindi per una parziale attenuazione della disautonomia. Siepmann et al. [72] considerano un solo indice autonomico nel dominio del tempo (RMSSD) e indagano sia il donepezil che la rivastigmina orale: solo per quest'ultima trovano una riduzione di RMSSD. Secondo Zulli et al. [26] RMSSD è ridotto nell'AD, quindi il farmaco sembrerebbe peggiorare la disautonomia. La frammentarietà dei dati disponibili e l'assenza di studi negli MCI delineano un potenziale indirizzo di futura ricerca.

## **2.Scopo dello studio**

Scopo dello studio è stato valutare la funzione autonoma in soggetti affetti da MCI tramite l'analisi spettrale dell'HRV, prendendo come gruppo di controllo soggetti cognitivamente integri. L'analisi spettrale dell'HRV è stata effettuata in condizioni basali (clinostatismo a respiro libero) e durante test provocativi (ortostatismo attivo= stimolazione ortosimpatica, respirazione metronomica a 12 atti/min = stimolazione parasimpatica).

## **3. Materiali e Metodi**

### **3.1 Popolazione reclutata**

Sono stati consecutivamente reclutati 85 pazienti sottoposti a valutazione neuropsicologica presso l'U.O di Geriatria del Policlinico di Milano, nel periodo compreso tra Gennaio 2011 e Dicembre 2012, la cui diagnosi fosse di integrità cognitiva o di MCI. In particolare, la valutazione neuropsicologica è stata effettuata in modo approfondito tramite un'ampia batteria di test neuropsicologici volti a indagare diversi domini cognitivi (memoria, attenzione, linguaggio, funzioni esecutive e visuospatiali, prassia): test di memoria di prosa [73], test della figura complessa di Rey-Osterreith [74], test delle matrici attentive [73], test delle campanelle [75], test di denominazione visiva [76], test di span di cifre [77], trail-making test [78], test di Weigl [73], test delle stime

cognitive [79], test delle matrici progressive colorate di Raven [80], test di fluenza verbale [81], test di copia di disegni geometrici [73], test per l'aprassia ideomotoria [82]. Criteri di esclusione dello studio sono stati i fattori che potessero significativamente influenzare l'HRV: ritmo non sinusale (fibrillazione atriale, ritmi da pacemaker), cardiopatia ischemica, scompenso cardiaco, diabete mellito anche in sola terapia dietetica [16], depressione maggiore [83], patologie neurologiche (morbo di Parkinson, pregresso ictus) [16], broncopneumopatia cronica ostruttiva moderata-severa [84], patologie gravi (renali, epatiche, autoimmuni, neoplastiche) [85-88], uso di farmaci cardioattivi (beta-bloccanti, calcio-antagonisti ad azione centrale, antiaritmici di classe I e III, digossina) [16] o di farmaci non cardioattivi ma dotati di spiccata attività sul sistema colinergico o adrenergico quali antidepressivi triciclici [89], inibitori selettivi del reuptake della serotonina e della noradrenalina [83], antidepressivi atipici [89], antipsicotici [90], inibitori dell'acetilcolinesterasi [25,70-72], alfa-litici e alfa-agonisti [91]. Il protocollo di studio è stato approvato dal comitato etico locale e i pazienti hanno fornito il loro consenso informato alla partecipazione allo studio.

### **3.2 Valutazione clinica**

Prima della valutazione autonoma i pazienti sono stati sottoposti ad una valutazione clinica costituita da un'accurata raccolta anamnestica, dalla somministrazione di scale per la valutazione multidimensionale geriatrica e dal rilievo dei parametri antropometrici (peso e altezza). Le principali caratteristiche cliniche considerate sono state i dati socioanagrafici (età, sesso, scolarità), antropometrici (Body Mass Index-BMI), la presenza di ipertensione arteriosa, i fattori legati allo stile di vita (fumo, consumo di alcol e caffè, attività fisica), gli esami ematici (glicemia; colesterolo totale, LDL e HDL; trigliceridi), la familiarità per patologie cardiovascolari, l'assunzione di farmaci, lo stato funzionale e cognitivo, la comorbidità, la presenza di sintomatologia ansiosa o depressiva. Inoltre è stata valutata la presenza di danno d'organo: aterosclerosi carotidea



all'EcocolordopplerTSA e ipertrofia ventricolare sinistra (IVS) all'Ecocardiogramma (se disponibile) o all'ECG basale (vedi paragrafo successivo). Il BMI è stato calcolato dividendo il peso (in kg) per il quadrato dell'altezza (in metri). L'ipertensione arteriosa è stata considerata presente in base al dato anamnestico corroborato dall'uso di farmaci anti-ipertensivi. Il consumo di alcol è stato quantificato in unità alcoliche (U.A)/ die ( 1 U.A = 10 g di alcol) [92]e l'attività fisica in MET-ore/sett (1 MET=1kcal/kg x h) [93].La familiarità per patologie cardiovascolari è stata definita come la comparsa di un evento cardiovascolare precoce (<55 anni nell'uomo, <65 anni nella donna) in un familiare di primo grado [94]. Lo stato funzionale è stato indagato tramite le scale per le Activities of Daily Living (ADL) [95]e Instrumental Activities of Daily Living (IADL) [96], lo stato cognitivo tramite il Mini Mental State Examination (MMSE) corretto per età e scolarità [97], la comorbidità tramite la scala Cumulative Illness Rating Scale- severity (CIRS-s) e morbidity (CIRS-m) [98], la sintomatologia ansiosa tramite la State Trait Personality Inventory-Trait Anxiety Subscale (STPI-T) [99], la sintomatologia depressiva tramite la Geriatric Depression Scale short version (GDS-s) [100].

### **3.3. Valutazione autonoma**

La valutazione autonoma è stata condotta in un locale tranquillo, con luce soffusa e temperatura gradevole (22-24°C), nel periodo compreso tra le 8:30 e le 11:30 del mattino per minimizzare l'effetto delle variazioni circadiane dell'attività del sistema nervoso autonomo. I pazienti sono stati istruiti a consumare una colazione leggera e ad astenersi, nelle 12 ore precedenti la registrazione, dall'assunzione di bevande caffeinate e alcol, dal fumo e dagli sforzi fisici intensi.

Il protocollo risultava costituito da tre fasi: una fase basale (clinostatismo a respiro libero), una fase di ortostatismo attivo (stimolazione ortosimpatica) [16,101]e una fase di respirazione metronomica a 12 atti/min (stimolazione parasimpatica) [101-104].

### **3.3.1.Fase basale**

Il paziente veniva invitato ad accomodarsi sul lettino in posizione supina. Dopo l'esecuzione di un ECG standard venivano posizionati gli elettrodi per la registrazione Holter (registratore SpiderView, Sorin, Francia). La durata della fase basale era di 15 minuti: i primi 10 di stabilizzazione e gli ultimi 5 effettivamente sottoposti ad analisi. Al paziente veniva chiesto di rimanere sveglio, di respirare normalmente e di non muoversi né parlare. Dall'ECG veniva valutata la presenza di IVS in base all'indice di Sokolow-Lyon [105].

### **3.3.2 Fase di ortostatismo attivo**

Al termine della fase basale il paziente veniva invitato ad assumere la stazione eretta e a mantenerla per 10 minuti: i primi 5 di stabilizzazione e gli ultimi 5 effettivamente sottoposti ad analisi. Al paziente veniva chiesto di effettuare il cambio posturale nel modo più "fluidico" possibile, di rimanere fermo e di non parlare. Non vi è consenso in letteratura sulla durata della fase di stabilizzazione necessaria dopo ortostatismo, che varia da 1 a 5 minuti nei diversi studi [29,104,106-109], per cui abbiamo deciso di collocarci al limite superiore di questo range.

### **3.3.3.Fase di respirazione metronomica**

Dopo l'ortostatismo il paziente veniva nuovamente invitato ad accomodarsi in posizione supina sul lettino. Per i primi 10 minuti veniva istruito a respirare ad una frequenza respiratoria di 12 atti/min, seguendo le indicazioni vocali dello sperimentatore che era sincronizzato sul ritmo di un metronomo elettronico impostato a 24 segnali acustici al minuto (2.5 sec di inspirazione e 2.5 sec di espirazione). Al paziente veniva raccomandato di respirare il più regolarmente possibile e di mantenere un volume corrente "confortevole". Dopo questa sessione di familiarizzazione con il

protocollo veniva effettuata la registrazione per un periodo di 5 minuti. In letteratura vi è evidenza che il controllo volontario della respirazione nell'ambito del range fisiologico delle frequenze respiratorie, tra 12-20 atti/min, determini una stimolazione parasimpatica [19,102-104,110,111]. La nostra scelta è caduta sulla frequenza respiratoria più bassa perchè abbiamo constatato che era la più semplice da mantenere per i nostri pazienti.

La pressione arteriosa e la frequenza cardiaca sono state misurate al termine della fase basale, durante l'ortostatismo attivo (primo, terzo, quinto e decimo minuto) e al termine della respirazione metronomica tramite sfigmomanometro digitale validato applicato a livello brachiale (OMRON M6) [112]. La presenza di ipotensione ortostatica è stata definita come una riduzione della pressione arteriosa sistolica  $\geq 20$  mm Hg e/o una riduzione della pressione arteriosa diastolica  $\geq 10$  mm Hg rispetto al basale in almeno una delle misurazioni in ortostatismo [113]; è stato considerato un periodo protratto oltre i 3 minuti della definizione classica in quanto le disautonomie meno severe sono spesso associate a ipotensione ortostatica ritardata [114]. La frequenza respiratoria è stata valutata visivamente durante la fase basale e di ortostatismo attivo (a intervalli di un minuto nei 5 minuti corrispondenti alla fase di analisi) ed è riportata come media. Pazienti con una frequenza respiratoria basale  $\leq 9$  atti/min in almeno una di queste valutazioni sono stati esclusi dallo studio per la sovrapposizione tra le bande ad alta e bassa frequenza che impedisce la corretta interpretazione dei risultati dell'analisi spettrale [115]. Al termine di ciascuna fase attiva del protocollo al paziente è stato chiesto di indicare il livello di stress percepito su una scala visuoanalogica (VAS) da 0 (nessuno stress) a 100 (massimo stress).

### **3.4. Analisi dell'HRV**

L'analisi dell'HRV è stata effettuata su tre segmenti elettrocardiografici di 5 min (basale, ortostatismo attivo, respirazione metronomica) nel dominio della frequenza, in accordo con le

raccomandazioni della Task Force [16], utilizzando un software commerciale con modulo dedicato (Elatec V3.03B, Sorin, Francia). Il programma è stato impostato automaticamente per eliminare l'intervallo RR precedente e successivo a ciascun battito ectopico, ma sia il ritmo che la classificazione dei complessi QRS sono stati sempre valutati manualmente da un operatore esperto. L'analisi spettrale viene effettuata dal software tramite Fast Fourier Transform (FFT), dopo interpolazione lineare a 4 Hz e filtraggio con finestra di Hanning. La FFT scompone l'onda che descrive l'andamento temporale degli intervalli RR in tre componenti sinusoidali a diversa frequenza- VLF ( $\leq 0.04$  Hz), LF (0.04-0.15 Hz) e HF (0.15-0.40)- e li raffigura in uno spettro di potenza. Gli indici resi disponibili dal software sono (i) VLF, LF e HF (valori assoluti, espressi in  $\text{ms}^2$ , corrispondenti all'area sotto lo spettro nel range di frequenza specificato) (ii) TP (valore assoluto, espresso in  $\text{ms}^2$ , corrispondente all'area totale sotto lo spettro) (iii) LF normalizzato (LFn) e HF normalizzato (HFn) ottenuti dividendo il valore assoluto di ciascuna componente per TP-VLF e moltiplicando per 100, espressi in unità normalizzate (n.u) (iv) R che è dato dal rapporto LF/HF . Nel nostro studio abbiamo posto particolare attenzione agli indici che meglio esprimono le interazioni tra le due branche del sistema nervoso autonomo : LFn che è indice di modulazione ortosimpatica, HFn che è indice di modulazione parasimpatica e R che è indice di bilancio simpatovagale [17,19]. Questi indici autonomici sono stati valutati in condizioni basali, durante ortostatismo attivo, durante respirazione metronomica e anche nella transizione dalla fase basale alla fase attiva di ciascun protocollo ( $\Delta\text{LFn}$ ,  $\Delta\text{HFn}$ ,  $\Delta\text{R}$ ) in quanto la risposta alla manovra è un indice particolarmente sensibile di modulazione autonoma [116]. VLF (non attendibile per registrazioni  $\leq 5$  minuti) [16] non è stato considerato; TP, LF e HF sono stati considerati solo a titolo di paragone con gli altri studi.

### **3.5. Analisi statistica**

Il confronto tra i due gruppi è stato effettuato tramite il test di Student per campioni indipendenti per le variabili continue e tramite il test chi-quadrato o il test esatto di Fisher per le variabili categoriche. Il possibile effetto delle variabili confondenti sulla distribuzione degli indici autonomici nei due gruppi è stato corretto tramite analisi della covarianza (ANCOVA), assumendo come variabile dipendente l'indice autonomico e come covariate le variabili confondenti che ad un'analisi di correlazione di Pearson risultavano ad esso significativamente associate; quando non si sono rilevate associazioni significative l'ANCOVA non è stata eseguita. Un valore di  $p \leq 0.05$  è stato considerato statisticamente significativo. L'analisi statistica è stata effettuata tramite il software statistico SPSS 19.0 per Windows.

## 4. Risultati

Degli 85 pazienti arruolati 5 sono stati esclusi in fase di protocollo o di analisi: 1 per tachicardia parossistica sopraventricolare, 2 per eccessiva ectopia sopraventricolare o ventricolare (battiti ectopici >1% del totale) [29,117,118], 1 per frequenza respiratoria basale < 9 atti/min, 1 per comparsa in ortostatismo di reazione vasovagale da ipovolemia dovuta a terapia diuretica incongrua. Tutti gli altri pazienti hanno completato sia la fase di ortostatismo attivo che quella di respirazione metronomica. In quest'ultima, in particolare, tutti presentavano all'analisi spettrale un picco nella banda HF corrispondente alla corretta frequenza respiratoria (0.2 Hz). Nello studio sono stati quindi considerati 80 pazienti, 40 cognitivamente integri (gruppo di controllo) e 40 affetti da MCI (gruppo MCI).

La **Tabella 5** mostra le caratteristiche cliniche basali dei due gruppi di soggetti. Non si osservano differenze significative tra i due gruppi nelle caratteristiche socioanagrafiche e antropometriche, nei fattori di rischio cardiovascolare e nei farmaci assunti, sia in termini di numero complessivo che delle principali classi di anti-ipertensivi, antidepressivi e ansiolitici. Va sottolineato anche il fatto che la frequenza respiratoria basale è paragonabile nei due gruppi. Nel gruppo MCI si evidenzia una maggiore frequenza cardiaca basale e un minore punteggio alle scale CIRS-s e CIRS-m. Come atteso, i punteggi al MMSE e alla scala IADL sono più elevati nel gruppo di controllo.

**Tabella 5. Caratteristiche cliniche basali dei due gruppi di soggetti**

Variabile	N (n=40)	MCI (n=40)	p
Sesso F	33 (82.5)	27 (67.5)	NS
Età (anni)	77.3 (5.3)	79.6 (5.3)	NS
Scolarità (anni)	11.4 (4.4)	10.5 (4.4)	NS
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	24.1 (3.0)	24.6 (3.2)	NS
IPA	21 (52.5)	24 (60.0)	NS
Fumo	2 (5.0)	1 (2.5)	NS
Alcol (U.A./die)	1.3 (1.6)	1.3 (1.5)	NS
Caffè (n/die)	1.5 (1.0)	1.3 (1.1)	NS
Attività fisica (MET-ore/sett)	68.4 (39.3)	57.6 (39.8)	NS
Glicemia (mg/dl)	87.7 (9.8)	91.5 (10.0)	NS
Col-tot (mg/dl)	222.9 (37.8)	227.0 (33.9)	NS
Col-LDL (mg/dl)	137.6 (33.0)	139.7 (28.0)	NS
Col-HDL (mg/dl)	69.2 (20.5)	65.8 (18.2)	NS
TG (mg/dl)	104.0 (32.4)	106.7 (36.4)	NS
Familiarità	7 (17.5)	7 (17.5)	NS
N farmaci	3.3 (1.7)	3.8 (2.2)	NS
ACE-i/ARB	16 (40.0)	23 (57.5)	NS
Diuretici	7 (17.5)	9 (22.5)	NS
CCB	3 (7.5)	8 (20.0)	NS
SSRI	9 (22.5)	13 (32.5)	NS
BDZ	8 (20.0)	7 (17.5)	NS
ECG IVS	1 (2.5)	0 (0)	NS
ECO IVS	6/18 (33.3)	8/17 (47.1)	NS
ECOTSA			
IMT >0.9 mm	27/30 (90.0)	25/35 (71.4)	NS
no placche	5/30 (16.7)	9/36 (25.0)	NS
placche ns	25/30 (83.3)	27/36 (75.0)	NS
ADL	5.5 (0.5)	5.6 (0.6)	NS
<b>IADL</b>	<b>7.4 (1.2)</b>	<b>6.7 (1.6)</b>	<b>0.019</b>
<b>MMSE</b>	<b>28.6 (1.0)</b>	<b>26.8 (2.0)</b>	<b>&lt;0.001</b>
<b>CIRS-s</b>	<b>1.6 (0.2)</b>	<b>1.4 (0.2)</b>	<b>0.029</b>
<b>CIRS-m</b>	<b>2.5 (1.3)</b>	<b>1.7 (1.1)</b>	<b>0.007</b>
STPI-T	19.5 (5.7)	19.6 (5.7)	NS
GDS-s	3.4 (3.1)	3.2 (2.8)	NS
PAS b (mm Hg)	134.8 (19.2)	129.0 (17.4)	NS
PAD b (mm Hg)	75.2 (8.7)	73.6 (8.3)	NS
<b>FC b (bpm)</b>	<b>65.2 (8.7)</b>	<b>69.6 (9.6)</b>	<b>0.035</b>
FR b (cpm)	14.0 (2.4)	15.1 (3.1)	NS

Variabili continue espresse come media (ds), variabili categoriche espresse come n (%). Le variabili significative sono indicate in grassetto e le corrispondenti p sono indicate in rosso.

**Legenda:**N=normale funzione cognitiva (controlli), MCI=mild cognitive impairment, BMI=Body Mass Index, IPA=ipertensione arteriosa, U.A=unità alcoliche (1 U.A=10 g di alcol),Col-tot=colesterolo totale, Col-LDL=colesterolo LDL (Low Density Lipoprotein), Col-HDL=colesterolo HDL (High Density Lipoprotein), TG=trigliceridi, MET=Metabolic Equivalent (indice di dispendio energetico, 1 MET= 1 kcal/kgxh), familiarità= familiarità per patologie cardiovascolari, ACE-i=ACE-inibitori, ARB=bloccanti dei recettori dell'Angiotensina II, CCB=calcio antagonisti ad azione periferica, SSRI=Selective Serotonin Reuptake Inhibitors, BDZ=benzodiazepine, ECG=Elettrocardiogramma, IVS=Ipertrofia ventricolare sinistra, ECO=Ecocardiogramma, ECOTSA=Ecocolor DopplerTSA, IMT=Intima-Media Thickness, placche ns=placche non emodinamicamente significative, ADL=Activities of Daily Living (punteggio 0-8, punteggi più alti indicano maggiore autonomia funzionale), IADL=Instrumental Activities of Daily Living (punteggio 0-8, punteggi più alti indicano maggiore autonomia funzionale), MMSE=Mini Mental State Examination (punteggio 0-30, punteggi più alti indicano maggiore efficienza cognitiva), CIRS-s=Cumulative Illness Rating Scale severity (punteggio 1-5, punteggi più alti indicano maggiore comorbidità), CIRS-m=Cumulative Illness Rating Scale morbidity (punteggio 0-13, punteggi più alti indicano maggiore comorbidità), STPI-T= State Trait Personality Inventory- Trait Anxiety Subscale (punteggio 10-40, punteggi più alti indicano maggiore ansia di tratto), GDS-s=Geriatric Depression Scale Short Form (punteggio 0-15, punteggi più alti indicano maggiore depressione), PASb=pressione arteriosa sistolica basale, PAD b=pressione arteriosa diastolica basale, FC b=frequenza cardiaca basale, FR b=frequenza respiratoria basale.

La **Tabella 6** mostra le caratteristiche cliniche dei due gruppi di soggetti durante l'intervento sperimentale. Va in particolare rilevata l'assenza di differenze significative nella frequenza respiratoria, sia in ortostatismo che nella transizione dal basale all'ortostatismo. Nel gruppo MCI si osserva una riduzione delle pressioni arteriose sistoliche al terzo e al decimo minuto di ortostatismo, un aumento della frequenza cardiaca al terzo minuto di ortostatismo e alla fine della respirazione. Inoltre, nel gruppo MCI risulta minore il punteggio alle scale VAS per ortostatismo e respirazione.

**Tabella 6. Caratteristiche cliniche dei due gruppi di soggetti durante l'intervento sperimentale**

Variabile	N (n=40)	MCI (n=40)	p
PAS 1 (mm Hg)	134.7 (20.3)	127.2 (18.0)	NS
PAD1 (mm Hg)	82.1 (10.0)	78.1 (10.1)	NS
FC1 (bpm)	71.6 (11.0)	75.7 (11.3)	NS
<b>PAS3 (mm Hg)</b>	<b>137.7 (18.9)</b>	<b>129.0 (16.7)</b>	<b>0.034</b>
PAD3 (mm Hg)	82.1 (10.4)	78.7 (8.5)	NS
<b>FC3 (bpm)</b>	<b>68.8 (9.6)</b>	<b>73.3 (10.0)</b>	<b>0.047</b>
PAS5 (mm Hg)	134.8 (20.5)	128.1 (16.6)	NS
PAD5 (mm Hg)	81.7 (10.1)	78.6 (9.0)	NS
FC5 (bpm)	69.5 (11.3)	73.6 (9.8)	NS
<b>PAS10 (mm Hg)</b>	<b>135.2 (21.4)</b>	<b>124.4 (16.0)</b>	<b>0.012</b>
PAD10 (mm Hg)	82.2 (11.2)	78.7 (8.8)	NS
FC10(bpm)	70.9 (10.6)	74.5 (9.9)	NS
OH	4 (10)	7 (17.5)	NS
PAS r (mm Hg)	146.0 (19.9)	139.1 (20.5)	NS
PAD r (mm Hg)	84.3 (9.8)	81.6 (10.6)	NS
<b>FC r (bpm)</b>	<b>57.9 (6.9)</b>	<b>63.7 (8.1)</b>	<b>0.001</b>
FR b (cpm)	14.0 (2.4)	15.1 (3.1)	NS
FR o (cpm)	14.9 (2.7)	15.8 (3.2)	NS
$\Delta$ FR (cpm)	0.9 (1.9)	0.7 (1.6)	NS
<b>VAS orto</b>	<b>33.7 (22.4)</b>	<b>20.4 (20.4)</b>	<b>0.007</b>
<b>VAS resp</b>	<b>42.2 (23.6)</b>	<b>28.5 (23.3)</b>	<b>0.011</b>

Variabili continue espresse come media (ds), variabili categoriche espresse come n (%). Le variabili significative sono indicate in grassetto e le corrispondenti p sono indicate in rosso.

**Legenda:** N=normale funzione cognitiva (controlli), MCI=mild cognitive impairment, \*PAS=pressione arteriosa sistolica, \*PAD=pressione arteriosa diastolica, \*FC=frequenza cardiaca, OH=ipotensione ortostatica, FRb=frequenza respiratoria basale, FR o=frequenza respiratoria in ortostatismo,  $\Delta$ FR=FR o-FR b, VAS=Visual Analogue Scale (punteggio 0-100, punteggi più alti indicano maggiore stress), orto=ortostatismo attivo, resp=respirazione metronomica.

\*Nota: I numeri 1, 3, 5 e 10 fanno riferimento ai minuti di ortostatismo attivo, la lettera r fa riferimento al termine della respirazione metronomica.



La **Tabella 7** mostra i risultati dell'analisi spettrale dell' HRV nei due gruppi di soggetti. Gli indici autonomici sono stati considerati in condizioni basali, durante ortostatismo attivo, durante respirazione metronomica e nella transizione dalla fase basale alla fase attiva di ciascun protocollo. Nella tabella sono inclusi solo gli indici autonomici che meglio esprimono le interazioni tra le due branche del sistema nervoso autonomo (LFn, HFn, R), ma nell'analisi sono stati valutati anche TP, LF e HF che tuttavia non sono risultati significativamente diversi tra i due gruppi ( $p=0.156-1.000$ ). All'analisi univariata si evidenziano numerose differenze significative tra i due gruppi che vengono poi confermate all'analisi multivariata, dopo correzione per i fattori confondenti individuati all'analisi di correlazione di Pearson. In particolare, per gli indici autonomici ortostatici sono stati considerati potenziali fattori confondenti la frequenza cardiaca basale e al terzo minuto di ortostatismo, le pressioni arteriose sistoliche al terzo e al decimo minuto di ortostatismo, i punteggi alle scale CIRS-s, CIRS-m e VAS per l'ortostatismo. Per gli indici autonomici respiratori sono stati considerati potenziali fattori confondenti la frequenza cardiaca basale e alla fine della respirazione, i punteggi alle scale CIRS-s, CIRS-m e VAS per la respirazione. Dato che all'analisi di correlazione di Pearson, due indici autonomici ortostatici (HFn e R) e tutti gli indici autonomici respiratori non hanno mostrato significative associazioni con i potenziali confondenti, questi indici non sono stati sottoposti a correzione.

#### *Condizioni basali*

Non si evidenziano differenze significative tra i due gruppi di soggetti negli indici autonomici in condizioni basali.

#### *Ortostatismo attivo*

Nel gruppo MCI rispetto al gruppo di controllo si osserva una riduzione di LFn, un aumento di HFn e, conseguentemente, una riduzione di R. Queste differenze si confermano all'esame delle

variazioni tra fase basale e ortostatismo attivo: negli MCI  $\Delta$ LFn è meno positivo,  $\Delta$ HFfn è meno negativo e  $\Delta$ R è meno positivo.

### *Respirazione metronomica*

Nel gruppo MCI rispetto al gruppo di controllo si osserva un aumento di LFn e una riduzione di HFfn. Solo la differenza in LFn si conferma all'esame delle variazioni tra fase basale e respirazione metronomica: negli MCI  $\Delta$ LFn è meno negativo (significatività borderline,  $p=0.053$ ).

**Tabella 7. Analisi spettrale dell'HRV nei due gruppi di soggetti, in condizioni basali, durante i test provocativi e nella transizione ( $\Delta$ ) da fase basale a test provocativo**

Variabile	N (n=40)	MCI (n=40)	P <sub>unadj</sub>	P <sub>adj</sub> *
LFn basale (n.u)	48.7 (18.1)	49.2 (20.0)	0.910	
HFfn basale (n.u)	30.9 (15.7)	27.5 (13.1)	0.297	
R basale	2.4 (2.2)	2.7 (2.7)	0.573	
<b>LFn orto (n.u)</b>	<b>65.8 (17.0)</b>	<b>52.7 (20.0)</b>	<b>0.002</b>	<b>0.010</b>
<b>HFfn orto (n.u)</b>	<b>18.5 (10.3)</b>	<b>26.2 (14.3)</b>	<b>0.007</b>	
<b>R orto</b>	<b>5.2 (3.8)</b>	<b>3.4 (3.3)</b>	<b>0.030</b>	
<b><math>\Delta</math>LFn orto(n.u)</b>	<b>17.1 (16.8)</b>	<b>3.6 (25.7)</b>	<b>0.006</b>	<b>0.019</b>
<b><math>\Delta</math>HFfn orto (n.u)</b>	<b>-12.5 (14.2)</b>	<b>-1.4 (13.4)</b>	<b>0.001</b>	<b>0.008</b>
<b><math>\Delta</math>R orto</b>	<b>2.8 (2.6)</b>	<b>0.7 (3.0)</b>	<b>0.001</b>	<b>0.010</b>
<b>LFn resp (n.u)</b>	<b>38.1 (18.2)</b>	<b>49.1 (19.3)</b>	<b>0.012</b>	
<b>HFfn resp (n.u)</b>	<b>47.8 (18.7)</b>	<b>38.2 (17.7)</b>	<b>0.024</b>	
R resp	1.2 (1.5)	1.9 (1.6)	0.067	
<b><math>\Delta</math>LFn resp (n.u)</b>	<b>-10.8 (20.9)</b>	<b>-0.7 (24.0)</b>	<b>0.053</b>	
$\Delta$ HFfn resp (n.u)	17.3 (20.0)	11.0 (17.4)	0.149	
$\Delta$ R resp	-1.2 (2.0)	-0.8 (2.9)	0.475	

Valori espressi come media (ds). Le variabili significative (o al limite della significatività) sono indicate in grassetto e le corrispondenti p sono indicate in rosso.

**Legenda:**N=normale funzione cognitiva (controlli), MCI=mild cognitive impairment, n.u=unità normalizzate, LFn=Low Frequency Power (normalizzata), HFfn=High Frequency Power (normalizzata), R=rappporto LF/HF, orto= ortostatismo attivo, resp= respirazione metronomica,  $\Delta$ LFn orto=LFn orto-LFn basale, $\Delta$ HFfn orto=HFfn orto-HFfn basale,  $\Delta$ R orto=R orto-R basale,  $\Delta$ LFn resp=LFn resp-LFn basale,  $\Delta$ HFfn resp=HFfn resp-HFfn basale,  $\Delta$ R resp=R resp-R basale.

\*correzione tramite ANCOVA (vedi testo per dettagli).

La **Tabella 8** mostra le pressioni arteriose sistoliche al terzo e al decimo minuto di ortostatismo nei controlli e negli MCI, dopo correzione per i fattori confondenti. Sono stati considerati potenziali fattori confondenti i punteggi alle scale CIRS-s, CIRS-m eVAS per l'ortostatismo. Nel caso della pressione arteriosa sistolica al terzo minuto di ortostatismo l'analisi di correlazione di Pearson non ha evidenziate associazioni significative con i potenziali confondenti per cui non è stata effettuata alcuna correzione; nel caso della pressione arteriosa sistolica al decimo minuto di ortostatismo è stata effettuata una correzione per il punteggio alla scala CIRS-s. Si conferma quindi la riduzione delle pressioni arteriose sistoliche al terzo e al decimo minuto di ortostatismo nei soggetti MCI rispetto ai controlli.

**Tabella 8. Valori pressori durante ortostatismo attivo**

Variabile	N (n=40)	MCI (n=40)	P <sub>unadj</sub>	P <sub>adj</sub> *
PAS 3(mm Hg)	137.7 (18.9)	129.0 (16.7)	0.034	
PAS 10 (mm Hg)	135.2 (21.4)	124.4 (16.0)	0.012	0.033

Valori espressi come media (ds).

**Legenda:** N=normale funzione cognitiva(controlli), MCI=mild cognitive impairment, PAS 3=pressione arteriosa sistolica al 3° minuto di ortostatismo, PAS 10=pressione arteriosa sistolica al 10°minuto di ortostatismo.

\* correzione tramite ANCOVA (vedi testo per dettagli).

La **Tabella 9** si riferisce al gruppo MCI e rappresenta una matrice di correlazione di Pearson tra i valori pressori (pressioni arteriose sistoliche al terzo e al decimo minuto di ortostatismo), gli indici autonomici ortostatici (LFn, HFn, R,  $\Delta$ LFn,  $\Delta$ HFn,  $\Delta$ R) e i potenziali confondenti (punteggi alle scale CIRS-s, CIRS-m eVAS per l'ortostatismo). Nel gruppo MCI i valori pressori non sono associati ai fattori confondenti ma sono associati in modo inverso a  $\Delta$ HFn, debolmente la pressione arteriosa sistolica al terzo minuto di ortostatismo ( $r = -0.030$ ,  $p=0.060$ ), fortemente la pressione arteriosa sistolica al decimo minuto di ortostatismo ( $r = -0.368$ ,  $p=0.019$ ).

**Tabella 9. Matrice di correlazione di Pearson tra valori pressori, indici autonomici e potenziali confondenti nel gruppo con Mild Cognitive Impairment (MCI)**

	LFn orto	HFn orto	R orto	$\Delta$ LFn orto	$\Delta$ HFn orto	$\Delta$ R orto	CIRS-s	CIRS-m	VAS orto
PAS 3	0.152 (0.351)	-0.167 (0.302)	0.186 (0.250)	0.175 (0.281)	<b>-0.300</b> <b>(0.060)</b>	0.232 (0.149)	0.026 (0.876)	0.028 (0.863)	0.069 (0.673)
PAS 10	0.172 (0.288)	-0.178 (0.271)	0.176 (0.278)	0.263 (0.101)	<b>-0.368</b> <b>(0.019)</b>	0.266 (0.097)	0.034 (0.837)	-0.016 (0.923)	0.072 (0.657)

Valori espressi come coefficiente di correlazione di Pearson (p-value). Le associazioni significative (o al limite di significatività) sono indicate in grassetto.

**Legenda:** PAS3=pressione arteriosa sistolica al 3° minuto di ortostatismo, PAS10=pressione arteriosa sistolica al 10° minuto di ortostatismo, orto=ortostatismo attivo, LFn=Low Frequency Power (normalizzata), HFn=High Frequency Power (normalizzata), R=rappporto LF/HF,  $\Delta$ LFn orto=LFn orto-LFn basale,  $\Delta$ HFn orto=HFn orto-HFn basale,  $\Delta$ R orto=R orto-R basale, CIRS-s=Cumulative Illness Rating Scale-severity (punteggio 1-5, punteggi più alti indicano maggiore comorbidità), CIRS-m=Cumulative Illness Rating Scale-morbidity (punteggio 0-13, punteggi più alti indicano maggiore comorbidità), VAS= Visual Analogue Scale (punteggio 0-100, punteggi più alti indicano maggiore stress).

## 5. Discussione

E' verosimile ritenere che l'MCI – fase preclinica della demenza caratterizzata da compromissione cognitiva lieve- si associ a disautonomia, in base ai dati in letteratura che mostrano associazione tra demenza e disautonomia [20-31] e tra cognitivita e funzione autonoma nei soggetti non dementi [32,33]. Tuttavia, l'unico studio che ha indagato, tramite l'analisi dell'HRV, la presenza di disautonomia nei soggetti MCI rispetto ad un gruppo di controllo non e riuscito ad evidenziarla, forse a causa di alcune lacune metodologiche (condizioni non rigorosamente standardizzate, assenza di test provocativi) [26]. Scopo di questo studio e stato quindi valutare la funzione autonoma nei soggetti MCI tramite l'analisi spettrale dell'HRV, confrontandoli con soggetti cognitivamente integri e utilizzando un protocollo sperimentale che prevedeva condizioni ambientali strettamente controllate e due test provocativi (ortostatismo attivo=stimolazione ortosimpatica e respirazione metronomica a 12 atti/min=stimolazione parasimpatica). Abbiamo trovato che in condizioni basali non vi erano differenze significative nello stato autonomo dei due gruppi di soggetti, mentre la disautonomia negli MCI risultava evidente durante i test provocativi. Questo risultato conferma i dati di Zulli et al.[26] sull'assenza di differenze tra MCI e controlli in condizioni basali ed e in contrasto con quanto osservato invece nei soggetti AD che risultano significativamente diversi dai controlli gia in condizioni basali, seppure con qualche discrepanza tra i diversi studi negli indici autonomi implicati [25,26,29]. E' logico quindi ipotizzare che una disautonomia piu lieve possa essere smascherata solo quando il sistema nervoso autonomo viene sollecitato.

Durante ortostatismo negli MCI, LFn e minore, HFn e maggiore e R e conseguentemente minore, a indicare uno shift del bilancio simpatovagale verso il parasimpatico. In particolare, nella transizione da basale a ortostatismo  $\Delta LFn$  (che dovrebbe essere positivo) e meno positivo,  $\Delta HFn$  (che dovrebbe

essere negativo) è meno negativo e  $\Delta R$  (che dovrebbe essere positivo) è meno positivo. Queste variazioni sono espressione di una risposta fisiologica attenuata all'ortostatismo, con l'ortosimpatico che si attiva meno e inibisce meno il parasimpatico. Durante la respirazione metronomica negli MCI, LFn è maggiore e HFn è minore, a indicare uno shift del bilancio simpatovagale verso l'ortosimpatico. In particolare, nella transizione da basale a respirazione metronomica  $\Delta LFn$  (che dovrebbe essere negativo) è meno negativo. Questo suggerisce che il parasimpatico inibisca meno l'ortosimpatico conservando però la capacità di attivarsi normalmente (nessuna differenza significativa in  $\Delta HFn$ ). Dall'analisi di queste variazioni sembra configurarsi un quadro di disautonomia caratterizzato da un deficit completo dell'ortosimpatico (nella sua duplice funzione di attivarsi e inibire il parasimpatico durante ortostatismo) e un deficit parziale del parasimpatico (solo nella sua funzione di inibire l'ortosimpatico durante respirazione). Si tratta di uno scenario completamente diverso rispetto a quello della neuropatia autonoma diabetica in cui la compromissione del parasimpatico precede quella dell'ortosimpatico [119], così come è probabile che sia completamente diverso anche il meccanismo patogenetico. Infatti, la neuropatia autonoma diabetica è caratterizzata da una degenerazione delle fibre nervose autonome periferiche che esordisce in quelle più lunghe (cioè quelle vagali) [120], mentre in questo caso si può ipotizzare un meccanismo centrale da alterazione del CAN. In particolare, vi sono evidenze convincenti che nelle fasi precliniche della demenza ci sia un coinvolgimento precoce delle insule, soprattutto dell'insula destra [121] che si ritiene prevalentemente responsabile del controllo dell'ortosimpatico [121-126] e questo si accorda con i risultati da noi ottenuti. In generale, la predominanza ortosimpatica dell'emisfero destro è stata dimostrata da procedure di inattivazione emisferica destra, tramite iniezione intracarotidea di amobarbitale, che riducevano la pressione arteriosa e aumentavano HF [122]. Nello specifico, il ruolo preferenziale dell'insula destra nella regolazione dell'ortosimpatico è stato evidenziato da diversi studi. Negli epilettici la stimolazione intraoperatoria dell'insula destra aumentava frequenza cardiaca e pressione arteriosa più spesso di quanto non le riducesse [123]. Nei volontari sani sottoposti a stimoli ortosimpatici (contrazione

muscolare isometrica, compiti cognitivi stressanti) le tecniche di neuroimaging funzionale (PET, RMNf) mostravano, prevalentemente a livello dell'insula destra, un aumento del flusso ematico cerebrale che correlava con l'aumento di frequenza e pressione [124] e con un indice di attivazione simpatica (la conduttanza cutanea) [125,126]. Soggetti anziani non dementi con una riduzione del flusso ematico a livello dell'insula destra sperimentavano una maggiore riduzione della pressione arteriosa sistolica nel passaggio dalla posizione seduta alla stazione eretta [121].

Un'altra struttura interessata nelle primissime fasi dell'MCI è il locus coeruleus [127], che attiva l'ortosimpatico e inibisce il parasimpatico [128], e per quanto non vi siano dati altrettanto specifici in letteratura, si può speculare che sia implicato nel deficit di attivazione dell'ortosimpatico e di inibizione del parasimpatico durante ortostatismo.

Dato che non esistono in letteratura studi che abbiano utilizzato test provocativi negli MCI, i risultati ottenuti durante ortostatismo attivo e respirazione metronomica possono solo essere confrontati con quelli di test simili effettuati nei soggetti AD. Per quello che riguarda l'ortostatismo, Giubilei et al. [25] hanno trovato una significativa attenuazione della risposta al tilt negli AD; De-Vilhena et al. [29] hanno descritto solo una riduzione borderline di HF negli AD durante ortostatismo attivo senza valutare le variazioni negli indici autonomici nella transizione da basale a ortostatismo, ma una rapida ispezione dei dati consente di apprezzare che negli AD non ci sono modificazioni significative di LFn e HFn durante ortostatismo. Queste osservazioni sono quindi in accordo con quanto evidenziato da noi negli MCI. Per quello che riguarda la respirazione, negli studi condotti sui soggetti AD non sono stati utilizzati protocolli di respirazione metronomica con analisi dell'HRV, ma solo il test autonomico della respirazione profonda che costituisce un analogo stimolo parasimpatico (respirazione profonda a 6 atti/min per un minuto con valutazione elettrocardiografica delle variazioni degli intervalli RR e della frequenza cardiaca) [15]. Di quattro studi [20,21,23,28], solo uno ha rilevato differenze significative tra AD e controlli. Nello specifico, Wang et al. [21] hanno utilizzato come indice di modulazione parasimpatica un indice particolare

di variazione degli intervalli RR (RRIV) e hanno trovato che sia a riposo che durante respirazione profonda era più basso nei soggetti AD. Se assimiliamo RRIV a HF<sub>n</sub>, i risultati di Wang et al. [21] sugli AD sono in linea con i nostri sugli MCI per quanto riguarda la respirazione; in basale, ancora una volta, gli AD mostrano invece alterazioni che sono assenti negli MCI. Purtroppo non sono state valutate le variazioni in RRIV dalla fase basale alla respirazione e, per quanto dalla rappresentazione grafica sia evidente che RRIV aumenta durante la respirazione in entrambi i gruppi, non è possibile dedurre se vi siano differenze significative nell'entità di questo aumento. L'esistenza di tre studi che hanno dimostrato un'uguale risposta alla respirazione profonda negli AD e nei controlli potrebbe far sorgere il dubbio che il deficit parasimpatico da noi evidenziato negli MCI durante la respirazione in qualche modo si corregga nella evoluzione verso la demenza. In realtà non è probabile che la disautonomia migliori, ma è invece altamente probabile che ci sia un problema di sensibilità dei test autonomici. In effetti nella neuropatia diabetica l'analisi dell'HRV ha dimostrato maggiore sensibilità dei test autonomici nell'individuare disfunzioni autonome [36], tanto più se effettuata durante test provocativo [39] come in questo caso. Inoltre, due degli studi che non hanno trovato differenze tra AD e controlli alla respirazione profonda [20,23], hanno comunque evidenziato negli AD un deficit parasimpatico ad un altro test autonomico (risposta della frequenza cardiaca all'ortostatismo).

Va però anche considerato il fatto che la respirazione metronomica è più impegnativa dell'ortostatismo attivo e che quindi il deficit parasimpatico rilevato negli MCI può essere in parte dovuto ad una minore collaborazione. E' giusto sottolineare che sono state prese tutte le precauzioni per assicurare una corretta collaborazione del paziente (sessione di familiarizzazione con il protocollo della durata di 10 minuti, ritmo respiratorio sincronizzato non su un metronomo meccanico o elettronico ma su indicazioni vocali fornite da un operatore "in tempo reale" e quindi con possibilità di aggiustamento della frequenza respiratoria nel caso di piccole deviazioni da quella prefissata) e che in effetti all'analisi spettrale tutti i pazienti presentavano nei 5 minuti di



respirazione un picco nella banda dell'HF corrispondente alla corretta frequenza respiratoria (0.2 Hz). Non si può però escludere che negli MCI nell'arco dei 5 minuti ci fossero maggiori irregolarità della frequenza respiratoria che potessero interferire con la piena attivazione dei recettori vagali polmonari che richiede invece un pattern respiratorio regolare [19].

Per ciò che riguarda le possibili conseguenze della disautonomia (mortalità, ipotensione ortostatica, interferenza con farmaci) noi abbiamo considerato esclusivamente l'effetto sulla pressione, valutando il profilo pressorio in ortostatismo. Non abbiamo rilevato differenze significative tra i due gruppi nella prevalenza di ipotensione ortostatica, a differenza dello studio di Mehrabian et al. [54] che però ha arruolato un campione molto più ampio (n=139 MCI, n=89 controlli). Tuttavia, abbiamo trovato che negli MCI rispetto ai soggetti cognitivamente integri la pressione arteriosa sistolica al terzo e al decimo minuto di ortostatismo era significativamente ridotta, seppure sempre nell'ambito dei valori di normalità. Questa osservazione può avere importanza clinica per diverse ragioni. Primo, può significare che i soggetti MCI sono a rischio di ipotensione ortostatica in condizioni maggiormente avverse (disidratazione, aumento della temperatura ambientale, pasto abbondante, assunzione di alcol, ortostatismo più prolungato, modifica o introduzione di terapie antiipertensive [129]. Secondo, la riduzione della pressione in ortostatismo può essere indice del futuro sviluppo di ipotensione ortostatica; la neuropatia autonoma diabetica, per esempio, è caratterizzata da una lunga fase preclinica in cui manca l'ipotensione ortostatica ma in cui la disautonomia è già evidente all'analisi spettrale dell'HRV [130] soprattutto se condotta durante test provocativo come il tilt-test [39]. Terzo, a prescindere dall'ipotensione ortostatica, si può speculare che la riduzione delle pressioni arteriose in ortostatismo possa rivestire di per sé rilevanza clinica in soggetti anziani. Nell'anziano c'è un deficit del sistema dell'equilibrio per cui modeste alterazioni emodinamiche che non sono sufficienti a provocare sincope possono dare cadute [131]. Soprattutto, nell'anziano c'è una compromissione del meccanismo di autoregolazione del flusso cerebrale, cioè la curva di autoregolazione si sposta verso destra e aumenta quindi la pressione

soglia al di sotto della quale si può avere ipoperfusione [132]. Questo può far sì che piccole riduzioni nella pressione ortostatica, al di sotto dei livelli che definiscono l'ipotensione ortostatica, possano produrre una ipoperfusione cerebrale [132] e un peggioramento del deficit cognitivo tramite un danno alle strutture cerebrali più vulnerabili, in particolare la sostanza bianca profonda che si trova al confine tra i territori di distribuzione delle principali arterie cerebrali [133]. Non vi sono in letteratura dati precisi sull'entità del calo pressorio in ortostatismo o sui valori assoluti delle pressioni in ortostatismo che possono determinare ipoperfusione cerebrale nell'anziano (anche perché dipenderanno dalla variabile efficienza dell'autoregolazione cerebrale nei diversi individui), ma vi sono evidenze che si possa avere ipoperfusione cerebrale anche in assenza di ipotensione ortostatica e che deficit cognitivi possano associarsi a riduzioni della pressione arteriosa sistolica modeste e nell'ambito dei valori di normalità. Nello specifico, uno studio effettuato su soggetti giovani e anziani senza ipotensione ortostatica ha mostrato solo negli anziani una significativa riduzione dell'ossigenazione cerebrale in 10 minuti di ortostatismo attivo [134]. Di tre ampi studi prospettici di popolazione condotti su soggetti anziani per indagare il rapporto tra pressione e cognitivtà, uno ha trovato che un aumento della pressione arteriosa sistolica di 10 mm Hg in anziani ipertesi in terapia riduceva il rischio di demenza (RR=0.93) ad un follow-up di due anni [135], gli altri hanno dimostrato un peggioramento della performance ai test cognitivi ad un follow-up di tre anni nei soggetti con pressione arteriosa sistolica inferiore a 130 mm Hg [136] o 110 mm Hg [137]. Esiste quindi la possibilità che negli MCI la disautonomia possa determinare una disregolazione della pressione arteriosa e un danno cerebrale che può peggiorare il deficit cognitivo. Per verificare questa ipotesi sarà necessario uno studio prospettico con follow-up degli MCI per valutare se quelli più gravemente disautonomici progrediscono più rapidamente verso la demenza.

A proposito della matrice di correlazione, la correlazione inversa rilevata nel gruppo MCI tra pressioni arteriose al terzo e al decimo minuto di ortostatismo e l'indice autonomico ortostatico  $\Delta HF_n$  sottende un noto meccanismo fisiologico: tanto meno è negativo  $\Delta HF_n$ , tanto meno il

parasimpatico viene inibito dall'ortosimpatico durante l'ortostatismo e tanto minore è la pressione. Il riscontro poi che l'associazione sia forte per la pressione arteriosa sistolica al decimo minuto e debole per la pressione arteriosa sistolica al terzo minuto è congruo con lo scenario di una disautonomia non severa. Infatti le disautonomie meno severe, sono spesso caratterizzate da un'ipotensione ortostatica ritardata, con calo della pressione arteriosa sistolica dopo i primi tre minuti di ortostatismo. Questo è stato dimostrato da uno studio [114] che ha sottoposto a tilt-test soggetti con patologie del sistema nervoso centrale e periferico: ha trovato che nel 54% dei casi si aveva ipotensione ortostatica dopo i primi tre minuti di ortostatismo (fino a oltre 10 minuti) e che i pazienti con ipotensione ortostatica ritardata erano quelli con disfunzioni meno gravi ai test autonomici. Quindi, nell'ambito di un gruppo con disautonomia verosimilmente non severa, appare ragionevole la forte associazione tra un indice di funzione autonoma e una pressione arteriosa sistolica dopo i primi tre minuti di ortostatismo, anche se va sempre sottolineato che in questo caso il contesto non è perlopiù quello di un' ipotensione ortostatica.

Non esistono studi in letteratura che abbiano valutato la presenza di ipotensione ortostatica ritardata negli MCI, ma vi è uno studio che ha indagato l'andamento temporale dell' ipotensione ortostatica nei soggetti dementi (AD, VaD, FTD) [138]. In particolare, ha riportato che in quasi il 50% dei casi il massimo calo pressorio sistolico si verificava dopo i primi tre minuti di ortostatismo (al quinto o al decimo minuto), evidenziando così una tendenza all'ipotensione ortostatica tardiva nelle disautonomie da demenza.

Per concludere, alcune annotazioni sulle caratteristiche cliniche e sui parametri cardiorespiratori (frequenze cardiache e respiratorie) dei due gruppi. Il fatto che MCI e controlli fossero paragonabili per fattori di rischio cardiovascolare e danno d'organo ipertensivo riveste particolare rilevanza perché minimizza la probabilità che le differenze riscontrate nello stato autonomico siano da attribuirsi a una differente prevalenza di patologia coronarica occulta. Anche se i due gruppi non differiscono nella distribuzione per genere va sottolineata la spiccata predominanza femminile della

popolazione complessiva (75% donne vs 25% uomini) che verosimilmente è da attribuirsi alla maggiore longevità delle donne [4] ed è in linea sia con quanto osservato da Zulli et al. [26] che con i dati demografici degli ultrasessantacinquenni residenti nel comune di Milano [139]. La più elevata comorbidità trovata nei controlli potrebbe essere legata al contesto clinico dell'U.O di Geriatria: l'ambulatorio ha un indirizzo prevalentemente cognitivo per cui i pazienti non cognitivi che vi approdano lo fanno più spesso per polipatologia. Avendo noi escluso dallo studio i portatori di patologie con forte impatto sull'HRV (cardiache, neurologiche, endocrine, polmonari, autoimmuni, neoplastiche, renali ed epatiche severe) rimane tutto l'ampio spettro delle patologie croniche dell'apparato osteomuscolare e gastroenterico e degli organi di senso. Merita un commento anche il riscontro negli MCI di un punteggio più basso alle scale visuoanalogiche (VAS) utilizzate per quantificare lo stress durante le fasi attive del protocollo. Questo potrebbe essere dovuto alla difficoltà di utilizzo dello strumento, alla tendenza a minimizzare lo stress o ad una reale minore percezione di stress. La prima ipotesi è poco verosimile perché la VAS viene impiegata ampiamente e con successo nella valutazione della qualità di vita nei pazienti con AD lieve-moderato [140]. La seconda sembra contraddetta dal fatto che nei due gruppi non abbiamo trovato differenze significative nel punteggio alla Marlowe-Crowne Social Desirability Scale (MCSD), versione corta di Strahan e Gerbasi [141], una scala a 8 item (punteggio 8-24) che valuta la propensione del soggetto a rispondere in modo socialmente desiderabile ( $19.7 \pm 2.6$  nei controlli vs  $20.1 \pm 2.8$  negli MCI,  $p=0.539$ ). E' possibile quindi che i soggetti MCI sperimentino effettivamente un livello di stress minore, in accordo con i risultati di un recente studio che ha evidenziato un carico più elevato di stress psicosociale nei soggetti cognitivamente integri rispetto agli MCI [142].

A proposito della frequenza respiratoria va sottolineata l'assenza di differenze significative nella frequenza respiratoria dei due gruppi, valutata sia in condizioni basali che in ortostatismo che come variazione nel passaggio dal basale all'ortostatismo. Dato che la frequenza respiratoria è un potente

determinante di HF questo è importante per escludere che le differenze osservate negli indici autonomici tra MCI e controlli siano riconducibili all'effetto della frequenza respiratoria piuttosto che allo stato cognitivo. Per ciò che riguarda le frequenze cardiache, negli MCI risultano modestamente aumentate sia la frequenza cardiaca basale che la frequenza cardiaca alla fine della respirazione. Considerando che sia la condizione di riposo che la respirazione sono dominate dal parasimpatico si può in generale speculare che l'aumento della frequenza cardiaca sia dovuto ad un deficit del parasimpatico che non riesce ad inattivare l'ortosimpatico. Mentre questo è sicuramente vero per la respirazione (come dimostrato da un  $\Delta LFn$  meno negativo) per la condizione di riposo la situazione è più complessa da un punto di vista interpretativo. Infatti l'analisi spettrale dell'HRV non evidenzia differenze nel profilo autonomico dei due gruppi in condizioni basali e appare inverosimile che un indice grossolano di stato autonomico come la frequenza cardiaca [143] possa aver colto un'iniziale disautonomia. E' quindi probabile che si tratti di un rilievo sporadico privo di rilevanza fisiologica, tanto più che i due studi in letteratura che hanno indagato gli MCI per valutare l'HRV [26] e la reattività cerebrovascolare [41] non riportano differenze significative tra MCI e controlli nella frequenza cardiaca di riposo. Inoltre, anche gli studi condotti sugli AD (in cui la disautonomia è già evidente in condizioni basali) trovano in questi soggetti frequenze cardiache basali paragonabili a quelle dei controlli [21,23,25,26,29]. Tuttavia, dato che la frequenza cardiaca è un indice di stato autonomico [144], per quanto considerato poco affidabile [143], non si può del tutto escludere che, essendo una variabile con minore dispersione rispetto alle variabili autonome, abbia in questo caso mostrato maggiore sensibilità.

Infine, un brevissimo cenno al fatto che la prevalenza dei diversi sottotipi di MCI riscontrata nel nostro campione (in particolare aMCI 15%, mdMCI 52.5%) è in linea con quanto riportato da uno studio di popolazione statunitense [145].

## 6. Limiti dello studio e prospettive

Lo studio presenta alcuni limiti. Primo, si tratta di uno studio trasversale che consente di stabilire un'associazione tra MCI e disautonomia ma non dà informazioni sulla direzione della causalità che potrà essere chiarita solo da studi longitudinali. Infatti è possibile che l'MCI produca disautonomia (per coinvolgimento del sistema nervoso autonomo), ma è anche possibile che la disautonomia determini lo sviluppo di MCI (per disregolazione della pressione arteriosa con ipoperfusione e danno cerebrale). Secondo, la numerosità del campione è relativamente limitata, per l'adozione di criteri di esclusione piuttosto stringenti, ma è comunque in linea [26,28] o superiore [24,25,29] a quella di studi simili su MCI e AD. Terzo, la natura del campione studiato (pazienti afferenti ad un ambulatorio di geriatria) potrebbe limitare l'applicabilità dei nostri risultati alla popolazione anziana generale. Quarto, trattandosi di soggetti anziani con polipatologia non è stato possibile eliminare del tutto le influenze farmacologiche sull'HRV. Tuttavia, abbiamo escluso i farmaci con effetto certo e rilevante sui parametri autonomici e non abbiamo trovato differenze significative tra i due gruppi nella prevalenza di farmaci di comune utilizzo quali gli anti-ipertensivi (ACE-inibitori/sartanici, diuretici, bloccanti dei canali del calcio ad azione periferica) e gli ansiolitici-antidepressivi (SSRI, benzodiazepine). Quinto, durante il protocollo respiratorio non abbiamo controllato il volume corrente ma semplicemente istruito i pazienti a respirare ad un volume soggettivamente "confortevole". Per quanto questo sia teoricamente un limite metodologico ci sono diverse ragioni per cui non è probabile che abbia influito in modo rilevante sulla affidabilità dei risultati ottenuti. Innanzitutto non vi è motivo di ritenere che il volume "confortevole" sia diverso nei due gruppi di soggetti; poi è noto che il volume corrente è un determinante dell'HF molto meno potente della frequenza respiratoria [146] con effetti quasi trascurabili alle comuni frequenze respiratorie [115];

inoltre la misurazione del volume corrente tramite spirometria avrebbe potuto introdurre un notevole elemento di stress durante il protocollo con il rischio di compromettere la stimolazione parasimpatica per concomitante attivazione dell'ortosimpatico [115,146]. Sulla base di queste considerazioni la stragrande maggioranza degli studi che prevedono protocolli di respirazione metronomica per valutare la funzione autonoma in soggetti affetti da diverse patologie non ha, analogamente, utilizzato un volume respiratorio prefissato [84, 104, 147-150].

Possibili future direzioni di ricerca sono quelle volte a meglio precisare la rilevanza clinica della disautonomia. Innanzitutto sarà importante indagare se negli MCI la disautonomia possa contribuire ad aggravare i deficit cognitivi, effettuando il follow-up dei soggetti MCI per valutare se quelli più gravemente disautonomici evolvano più rapidamente verso la demenza. Il follow-up consentirà anche di determinare se la disautonomia aumenta la mortalità e se prelude allo sviluppo di ipotensione ortostatica. La questione della potenziale influenza della terapia con inibitori dell'acetilcolinesterasi sul profilo autonomo potrebbe essere affrontata estendendo lo studio per includere soggetti MCI prima e dopo terapia.

## 7. Conclusioni

Tramite l'analisi spettrale dell'HRV, applicata ad un protocollo sperimentale rigorosamente standardizzato che prevedeva due test provocativi (ortostatismo attivo =stimolazione ortosimpatica, respirazione metronomica a 12 atti/min=stimolazione parasimpatica), abbiamo dimostrato la presenza di disautonomia nei soggetti affetti da MCI. In particolare, la disautonomia non era evidente in condizioni basali ma veniva smascherata dalla risposta ai test provocativi. Negli MCI durante ortostatismo attivo si assisteva ad una risposta fisiologica attenuata in tutte le sue componenti ( $\Delta LFn$ ,  $\Delta HFn$ ,  $\Delta R$ ), caratterizzata cioè da un deficit dell'ortosimpatico nella sua duplice funzione di attivarsi e di inibire il parasimpatico (deficit completo). Durante la respirazione metronomica si osservava invece una risposta fisiologica attenuata che era limitata alla componente di inibizione dell'ortosimpatico ( $\Delta LFn$ ), configurando così il quadro di un deficit del parasimpatico nella sua funzione di inattivare l'ortosimpatico ma non nella sua funzione di attivarsi (deficit parziale).La patogenesi della disautonomia nel MCI è verosimilmente riconducibile ad una compromissione delle strutture cerebrali appartenenti al CAN (Central Autonomic Network) che regola l'output del sistema nervoso autonomo tramite proiezioni sui neuroni pregangliari parasimpatici e ortosimpatici: particolarmente probabile è l'ipotesi di un interessamento dell'insula destra che sarebbe deputata prevalentemente al controllo dell'ortosimpatico, ma vi sono anche dati a favore di un precoce coinvolgimento del locus coeruleus.

Inoltre, valutando il profilo pressorio in ortostatismo, abbiamo riscontrato negli MCI una riduzione della pressione arteriosa sistolica al terzo e al decimo minuto di ortostatismo, possibile conseguenza della disautonomia. La riduzione era modesta, ma potrebbe ugualmente rivestire significato clinico



in soggetti anziani in cui è compromesso il sistema di autoregolazione del flusso cerebrale, determinando ipoperfusione e danno cerebrale con peggioramento del deficit cognitivo.

Le dimensioni relativamente ridotte del campione richiedono la conferma dei nostri risultati da parte di studi più ampi. Inoltre, la natura trasversale dello studio consente di stabilire un'associazione tra MCI e disautonomia ma non dà informazioni sulla direzione della causalità che potrà essere chiarita solo da studi longitudinali. Questi potranno anche meglio precisare la rilevanza clinica della disautonomia in termini di mortalità e di progressione verso la demenza.

# Bibliografia

1. Mariani E, Monastero R, Mecocci P. Mild Cognitive Impairment: a Systematic Review. *J Alzheimer's Dis* 2007; 12(1):23-35.
2. Bruscoli M, Lovestone S. Is MCI really just early dementia? A systematic review of conversion studies. *Int Psychogeriatr* 2004; 16(2):129-40.
3. Mitchell AJ, Shiri-Feshki M. Temporal trends in the long term risk of progression of mild cognitive impairment: a pooled analysis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2008; 79(12):1386-1391.
4. Istituto Nazionale di Statistica (ISTAT)-Indicatori demografici. [www.istat.it](http://www.istat.it) (ultimo accesso il 25/01/2013).
5. Global health and Ageing. WHO, US National Institute of Ageing (ed); 2010, p 2.
6. Graham JE, Rockwood K, Beattie LB et al. Prevalence and severity of cognitive impairment with and without dementia in an elderly population. *Lancet* 1997; 349 (9068):1793-96.
7. Di Carlo, Baldereschi M, Amaducci L et al. Cognitive impairment without dementia in older people: prevalence, vascular risk factors, impact on disability. The Italian Longitudinal Study on Aging. *J Am Geriatr Soc* 2000; 48(7):775-82.
8. Winblad B, Palmer K, Kivipelto M et al. Mild cognitive impairment--beyond controversies, towards a consensus: report of the International Working Group on Mild Cognitive Impairment. *J Intern Med* 2004;256(3):240-6.
9. Portet F, Ousset PJ, Visser PJ et al. Mild cognitive impairment (MCI) in medical practice: a critical review of the concept and new diagnostic procedure. Report of the MCI Working

- Group of the European Consortium on Alzheimer's Disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2006;77(6):714-8.
10. Albert MS, DeKosky ST, Dickson D et al. The diagnosis of mild cognitive impairment due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease *Alzheimer's Dement* 2011;7(3):270-9.
  11. Petersen RC. Mild cognitive impairment as a diagnostic entity. *J Intern Med* 2004;256(3):183-94.
  12. Fischer P, Jungwirth S, Zehetmayer et al. Conversion from subtypes of mild cognitive impairment to Alzheimer dementia. *Neurology* 2007; 68(4):288-291.
  13. Rountree SD, Waring SC, Chan WC et al. Importance of subtle amnesic and nonamnesic deficits in mild cognitive impairment: prognosis and conversion to dementia. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2007;24(6):476-82.
  14. Hainsworth R. The control and physiological importance of heart rate. In: Malik M, Camm AJ (ed), *Heart rate variability*. Armonk, New York: Futura Publishing Co, Inc; 1995, p 3-19
  15. Ewing DJ, Clarke BF. Diagnosis and management of diabetic autonomic neuropathy. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1982;285(6346):916-8.
  16. Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. *Circulation* 1996; 93(5):1043-1065.
  17. Lombardi F, Malliani A, Pagani M et al. Heart rate variability and its sympathovagal modulation *Cardiovasc Res*. 1996;32(2):208-16.
  18. Kleiger RE, Stein PK, Bigger JT. Heart rate variability: measurement and clinical utility. *Ann Noninvasive Electrocardiol*. 2005;10(1):88-101.

19. Pagani M, Lombardi F, Guzzetti S et al. Power spectral analysis of heart rate and arterial pressure variabilities as a marker of sympatho-vagal interaction in man and conscious dog. *Circ Res* 1986 ;59(2):178-93.
20. Elmståhl S, Petersson M, Lilja B et al. Autonomic cardiovascular responses to tilting in patients with Alzheimer's disease and in healthy elderly women. *Age Ageing*. 1992 ;21(4):301-7.
21. Wang SJ, Liao KK, Fuh JL et al. Cardiovascular autonomic functions in Alzheimer's disease. *Age Ageing* 1994;23(5):400-4.
22. Algotsson A, Viitanen M, Winblad B et al. Autonomic dysfunction in Alzheimer's disease. *Acta Neurol Scand* 1995 ;91(1):14-8.
23. Idiaquez J, Sandoval E, Seguel A. Association between neuropsychiatric and autonomic dysfunction in Alzheimer's disease. *Clin Auton Res* 2002;12(1):43-6.
24. Aharon-Peretz J, Harel T, Revach M, Ben-Haim SA. Increased sympathetic and decreased parasympathetic cardiac innervation in patients with Alzheimer's disease. *Arch Neurol* 1992 ;49(9):919-22.
25. Giubilei F, Strano S, Imbimbo BP et al. Cardiac autonomic dysfunction in patients with Alzheimer disease: possible pathogenetic mechanisms. *Alzheimer Dis Assoc Disord* 1998; 12(4):356-61.
26. Zulli R, Nicosia F, Borroni B et al. QT dispersion and heart rate variability abnormalities in Alzheimer's disease and in mild cognitive impairment. *J Am Geriatr Soc*. 2005;53(12):2135-9.
27. Allan LM, Kerr SR, Ballard CG, Allen J et al. Autonomic function assessed by heart rate variability is normal in Alzheimer's disease and vascular dementia. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 2005;19(2-3):140-4.
28. Allan LM, Ballard CG, Allen J et al. Autonomic dysfunction in dementia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2007 ;78(7):671-7.

29. De Vilhena Toledo MA, Junqueira LF. Cardiac sympathovagal modulation evaluated by short-term heart interval variability is subtly impaired in Alzheimer's disease. *Geriatr Gerontol Int* 2008;8(2):109-18.
30. Kim DH, Lipsitz LA, Ferrucci L et al. Association between reduced heart rate variability and cognitive impairment in older disabled women in the community: Women's Health and Aging Study I. *J Am Geriatr Soc.* 2006 ;54(11):1751-7.
31. Murakami S, Yamanaka T, Kubo Y et al. Heart rate variability analysis and neurobehavioral function in community-dwelling older people aged 75 or older. *Nihon Ronen Igakkai Zasshi.* 2002 39(5):520-6.
32. Yang AC, Tsai SJ, Hong CJ et al. Association between heart rate variability and cognitive function in elderly community-dwelling men without dementia: a preliminary report. *J Am Geriatr Soc.* 2008; 56(5):958-60.
33. Shah AJ, Su S, Veledar E et al. Is heart rate variability related to memory performance in middle-aged men? *Psychosom Med* 2011;73(6):475-82.
34. Idiaquez J, Roman GC. Autonomic dysfunction in neurodegenerative dementias. *J Neurol Sci* 2011;305(1-2):22-7.
35. Thayer JF, Hansen AL, Saus-Rose E et al. Heart rate variability, prefrontal neural function, and cognitive performance: the neurovisceral integration perspective on self-regulation, adaptation, and health. *Ann Behav Med.* 2009;37(2):141-53.
36. Howorka K, Pumprla J, Schabmann A.J. Optimal parameters of short-term heart rate spectrogram for routine evaluation of diabetic cardiovascular autonomic neuropathy. *J Auton Nerv Syst* 1998; 69(2-3):164-72.
37. De Vilhena Toledo MA, Junqueira LF. Cardiac autonomic modulation and cognitive status in Alzheimer's disease. *Clin Auton Res.* 2010;20(1):11-7.
38. Malik M. Autonomic tests to detect cardiac risk and their clinical practicality. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 2011;22(2):128-30.

39. Pagani M, Malfatto G, Pierini S et al. Spectral analysis of heart rate variability in the assessment of autonomic diabetic neuropathy. *J Auton Nerv Syst* 1988;23(2):143-53.
40. Bloomfield DM, Kaufman ES, Bigger JT et al. Passive head-up tilt and actively standing up produce similar overall changes in autonomic balance. *Am Heart J*. 1997;134(2 Pt 1):316-20.
41. Anzola GP, Galluzzi S, Mazzucco S et al. Autonomic dysfunction in mild cognitive impairment: a transcranial Doppler study. *Acta Neurol Scand*. 2011;124(6):403-9.
42. Tsuji H, Venditti FJ, Manders ES et al. Reduced heart rate variability and mortality risk in an elderly cohort. The Framingham Heart Study. *Circulation*. 1994;90(2):878-83.
43. Dekker JM, Schouten EG, Klootwijk P et al. Heart rate variability from short electrocardiographic recordings predicts mortality from all causes in middle-aged and elderly men. The Zutphen Study. *Am J Epidemiol*. 1997;145(10):899-908.
44. de Bruyne MC, Kors JA, Hoes AW et al. Both decreased and increased heart rate variability on the standard 10-second electrocardiogram predict cardiac mortality in the elderly: the Rotterdam Study. *Am J Epidemiol* 1999;150(12):1282-8.
45. Sajadieh A, Nielsen OW, Rasmussen V et al. C-reactive protein, heart rate variability and prognosis in community subjects with no apparent heart disease. *J Intern Med* 2006 ;260(4):377-87.
46. Pumpura J, Howorka K, Groves D et al. Functional assessment of heart rate variability: physiological basis and practical applications. *Int J Cardiol*. 2002 ;84(1):1-14.
47. Tuokko H, Frerichs R, Graham J et al. Five-year follow-up of cognitive impairment with no dementia. *Arch Neurol* 2003; 60(4):577-82.
48. Bennett DA, Wilson RS, Schneider JA et al. Natural history of mild cognitive impairment in older persons. *Neurology*. 2002;59(2):198-205.
49. Frisoni GB, Fratiglioni L, Fastbom J et al. Mortality in nondemented subjects with cognitive impairment: the influence of health-related factors. *Am J Epidemiol*. 1999;150(10):1031-44.

50. Gussekloo J, Westendorp RG, Remarque EJ et al. Impact of mild cognitive impairment on survival in very elderly people: cohort study. *BMJ* 1997;315(7115):1053-4.
51. Hunderfund AL, Roberts RO, Slusser TC et al. Mortality in amnesic mild cognitive impairment: a prospective community study. *Neurology*. 2006;67(10):1764-8.
52. Stubendorff K, Aarsland D, Minthon L et al. The impact of autonomic dysfunction on survival in patients with dementia with Lewy bodies and Parkinson's disease with dementia. *PLoS One* 2012;7(10):e45451.
53. Mathias CJ. Orthostatic hypotension: causes, mechanisms, and influencing factors. *Neurology* 1995 ;45(4 Suppl 5):S6-11.
54. Mehrabian S, Duron E, Labouree F et al. Relationship between orthostatic hypotension and cognitive impairment in the elderly. *J Neurol Sci*. 2010;299(1-2):45-8.
55. Tinetti ME, Williams CS. Falls, injuries due to falls, and the risk of admission to a nursing home. *N Engl J Med*. 1997;337(18):1279-84.
56. Tinetti ME, Speechley M, Ginter SF. Risk factors for falls among elderly persons living in the community. *N Engl J Med* 1988 ;319(26):1701-7.
57. Matsubayashi K, Okumiya K, Wada T et al. Postural dysregulation in systolic blood pressure is associated with worsened scoring on neurobehavioral function tests and leukoaraiosis in the older elderly living in a community. *Stroke* 1997;28(11):2169-73.
58. Passant U, Warkentin S, Karlson S et al. Cortical blood flow changes related to orthostatic hypotension. *J Cerebral Blood Flow Metabol* 1993;13:388.
59. Yap PL, Niti M, Yap KB et al. Orthostatic hypotension, hypotension and cognitive status: early comorbid markers of primary dementia? *Dement Geriatr Cogn Disord*. 2008;26(3):239-46.

60. Elmstáhl S, Rosén. Postural hypotension and EEG variables predict cognitive decline: results from a 5-year follow-up of healthy elderly women. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 1997;8(3):180-7.
61. Poda R, Guaraldi P, Solieri L et al. Standing worsens cognitive functions in patients with neurogenic orthostatic hypotension. *Neurol Sci*. 2012;33(2):469-73.
62. Sloan RP, Demeersman RE, Shapiro PA et al. Cardiac autonomic control is inversely related to blood pressure variability responses to psychological challenge. *Am J Physiol* 1997;272(5 Pt 2):H2227-32.
63. Sloan RP, DeMeersman RE, Shapiro PA et al. Blood pressure variability responses to tilt are buffered by cardiac autonomic control. *Am J Physiol*. 1997;273(3 Pt 2):H1427-31.
64. Kanemaru A, Kanemaru K, Kuwajima I. The effects of short-term blood pressure variability and nighttime blood pressure levels on cognitive function. *Hypertens Res* 2001;24(1):19-24.
65. Bellelli G, Pezzini A, Bianchetti A et al . Increased blood pressure variability may be associated with cognitive decline in hypertensive elderly subjects with no dementia. *Arch Intern Med*.2002 ;162(4):483-4.
66. Sakakura K, Ishikawa J, Okuno M et al. Exaggerated ambulatory blood pressure variability is associated with cognitive dysfunction in the very elderly and quality of life in the younger elderly. *Am J Hypertens* 2007 ;20(7):720-7.
67. Kim JE, Shin JS, Jeong JH et al. Relationships between 24-Hour Blood Pressures, Subcortical Ischemic Lesions, and Cognitive Impairment. *J Clin Neurol*. 2009 ;5(3):139-45.
68. Russ TC, Morling JR . Cholinesterase inhibitors for mild cognitive impairment. *Cochrane Database Syst Rev* 2012;9:CD009132.
69. Choo IH, Ni R, Schöll M et al. Combination of 18F-FDG PET and Cerebrospinal Fluid Biomarkers as a Better Predictor of the Progression to Alzheimer's Disease in Mild Cognitive Impairment Patients. *J Alzheimers Dis*. 2012[Epub ahead of print].



70. McLaren AT, Allen J, Murray A et al. Cardiovascular effects of donepezil in patients with dementia. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2003;15(4):183-8.
71. Masuda Y, Kawamura A. Acetylcholinesterase inhibitor (donepezil hydrochloride) reduces heart rate variability. *J Cardiovasc Pharmacol* 2003;41 Suppl 1:S67-71.
72. Siepmann M, Mück A, Engel S et al. (2006). The influence of rivastigmine and donepezil on heart rate variability in patients with Alzheimer's Disease. *The German Journal of Psychiatry* 2006; 9(4):133-135.
73. Spinnler H, Tognoni G. Italian standardization and classification of Neuropsychological tests. The Italian Group on the Neuropsychological Study of Aging. *Ital J Neurol Sci* 1987; Suppl 8:1-120.
74. Caffarra P, Vezzadini G, Dieci F et al. Rey-Osterrieth complex figure: normative values in an Italian population sample. *Neurol Sci* 2002;22(6):443-7.
75. Gauthier L, Dehaut F, Joanette Y. The bell test: a quantitative and qualitative test for visual neglect. *Int J Clin Neuropsychol* 1989; 11(2):49-54.
76. Laiacona M, Barbarotto R, Trivelli C et al. Dissociazioni semantiche e intercategoriali: descrizione di una batteria standardizzata e dati normativi. *Arch Psicol Neurol Psichiatr* 1993; 54(2):209-248.
77. Orsini A, Grossi D, Capitani E et al. Verbal and spatial immediate memory span: normative data from 1355 adults and 1112 children. *Ital J Neurol Sci* 1987;8(6):539-48.
78. Giovagnoli AR, Del Pesce M, Mascheroni S et al. Trail making test: normative values from 287 normal adult controls. *Ital J Neurol Sci* 1996;17(4):305-9.
79. Della Sala S, MacPherson SE, Phillips LH et al. How many camels are there in Italy? Cognitive estimates standardised on the Italian population. *Neurol Sci* 2003;24(1):10-5.
80. Basso A, Capitani E, Laiacona M. Raven's coloured progressive matrices: normative values on 305 adult normal controls. *Funct Neurol* 1987;2(2):189-94.

81. Novelli G, Papagno C, Capitani E et al. Three clinical tests for the assessment of lexical retrieval and production: norms from 320 normal subjects. *Arch Psicol Neurol Psichiatr* 1986; 47(4):477-506.
82. De Renzi E. Methods of limb apraxia examination and their bearing on the interpretation of the disorder. *Advances in Psychology* 1985; 23: 45-64.
83. Koschke M, Boettger MK, Schulz S et al. Autonomy of autonomic dysfunction in major depression. *Psychosom Med.* 2009;71(8):852-60.
84. Volterrani M, Scalvini S, Mazzuero G et al. Decreased heart rate variability in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Chest* 1994;106(5):1432-7.
85. Christensen JH. Cardiac autonomic dysfunction in hemodialysis patients assessed by heart rate variability. *Minerva Urol Nefrol* 2012;64(3):191-8.
86. Mani AR, Montagnese S, Jackson CD et al. Decreased heart rate variability in patients with cirrhosis relates to the presence and degree of hepatic encephalopathy. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2009;296(2):G330-8.
87. Milovanović B, Stojanović L, Milićević N et al. Cardiac autonomic dysfunction in patients with systemic lupus, rheumatoid arthritis and sudden death risk. *Srp Arh Celok Lek* 2010;138(1-2):26-32.
88. Mouton C, Ronson A, Razavi D et al. The relationship between heart rate variability and time-course of carcinoembryonic antigen in colorectal cancer. *Auton Neurosci* 2012;166(1-2):96-9.
89. van Zyl LT, Hasegawa T, Nagata K. Effects of antidepressant treatment on heart rate variability in major depression: a quantitative review. *Biopsychosoc Med* 2008;2:12.
90. Silke B, Campbell C, King DJ. The potential cardiotoxicity of antipsychotic drugs as assessed by heart rate variability. *J Psychopharmacol* 2002;16(4):355-60.
91. Penttilä J, Kuusela T, Scheinin H. Analysis of rapid heart rate variability in the assessment of anticholinergic drug effects in humans. *Eur J Clin Pharmacol* 2005;61(8):559-65.

92. Whelan G. Alcohol: a much neglected risk factor in elderly mental disorders. *Curr Opin Psychiatry* 2003; 16: 609-614.
93. Ainsworth BE, Haskell WL, Whitt MC et al. Compendium of physical activities: an update of activity codes and METintensities. *Med Sci Sports Exerc* 2000;32(9 Suppl):S498-504.
94. Lloyd-Jones DM, Nam BH, D'Agostino RB et al. Parental cardiovascular disease as a risk factor for cardiovascular disease in middle-aged adults: a prospective study of parents and offspring. *JAMA* 2004 ;291(18):2204-11.
95. Katz S, Downs TD, Cash HR et al. Progress in development of the index of ADL. *Gerontologist* 1970;10(1):20-30.
96. Lawton MP, Brody EM. Assessment of older people: self-maintaining and instrumental activities of daily living. *Gerontologist* 1969;9(3):179-86.
97. 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;12(3):189-98.
98. Parmelee PA, Thuras PD, Katz IR et al. Validation of the Cumulative Illness Rating Scale in a geriatric residential population. *J Am Geriatr Soc* 1995;43(2):130-7.
99. Spielberger CD, Gorsuch RL, Lushene RE. STAI manual for the State-Trait Anxiety Inventory. Palo Alto (CA): Consulting Psychologist Press 1970.
100. Sheikh JJ, Yesavage JA. Geriatric Depression Scale (GDS): recent evidence and development of a shorter version. *Clin Gerontol* 1986;5(1/2):165-173.
101. Malliani A, Pagani M, Lombardi F et al. Cardiovascular neural regulation explored in the frequency domain. *Circulation* 1991;84(2):482-92.
102. Pagani M, Mazzuero G, Ferrari A et al. Sympathovagal interaction during mental stress. A study using spectral analysis of heart rate variability in healthy control subjects and patients with a prior myocardial infarction. *Circulation* 1991;83(4 Suppl):II43-51.

103. Driscoll D, Diccio G. The effects of metronome breathing on the variability of autonomic activity measurements. *J Manipulative Physiol Ther* 2000;23(9):610-4.
104. Folino AF, Tokajuk B, Porta A et al. Autonomic modulation and clinical outcome in patients with chronic heart failure. *Int J Cardiol* 2005;100(2):247-51.
105. European Society of Hypertension-European Society of Cardiology Guidelines Committee. European Society of Hypertension-European Society of Cardiology guidelines for the management of arterial hypertension. *J Hypertens* 2003; 21:1011-1053.
106. Reland S, Ville NS, Wong S et al. Does the level of chronic physical activity alter heart rate variability in healthy older women? *Clin Sci (Lond)* 2004;107(1):29-35.
107. Porto LG, Junqueira LF. Comparison of time-domain short-term heart interval variability analysis using a wrist-worn heart rate monitor and the conventional electrocardiogram. *Pacing Clin Electrophysiol* Jan;32(1):43-51.
108. Vita G, Bellinghieri G, Trusso A et al. Uremic autonomic neuropathy studied by spectral analysis of heart rate. *Kidney Int.* 1999;56(1):232-7.
109. Cacciatori V, Gemma ML, Bellavere F et al. Power spectral analysis of heart rate in hypothyroidism. *Eur J Endocrinol* 2000;143(3):327-33.
110. Pomeranz B, Macaulay RJ, Caudill MA et al. Assessment of autonomic function in humans by heart rate spectral analysis. *Am J Physiol* 1985;248(1 Pt 2):H151-3.
111. Pitzalis MV, Mastropasqua F, Massari F et al. Short- and long-term reproducibility of time and frequency domain heart rate variability measurements in normal subjects. *Cardiovasc Res* 1996;32(2):226-33.
112. Topouchian J, Agnoletti D, Blacher J et al. Validation of four automatic devices for self-measurement of blood pressure according to the international protocol of the European Society of Hypertension. *Vasc Health Risk Manag.* 2011;7:709-17.

113. Consensus statement on the definition of orthostatic hypotension, pure autonomic failure, and multiple system atrophy. The Consensus Committee of the American Autonomic Society and the American Academy of Neurology. *Neurology* 1996;46(5):1470.
114. Gibbons CH, Freeman R. Delayed orthostatic hypotension: a frequent cause of orthostatic intolerance. *Neurology* 2006;67(1):28-32.
115. Pinna GD, Maestri R, La Rovere MT et al. Effect of paced breathing on ventilatory and cardiovascular variability parameters during short-term investigations of autonomic function. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006;290(1):H424-33.
116. Carnethon MR, Liao D, Evans GW et al. Correlates of the shift in heart rate variability with an active postural change in a healthy population sample: The Atherosclerosis Risk In Communities study. *Am Heart J*. 2002 May;143(5):808-13.
117. Piccirillo G, Bucca C, Bauco C et al. Power spectral analysis of heart rate in subjects over a hundred years old. *Int J Cardiol* 1998;63(1):53-61.
118. Paolisso G, Manzella D, Barbieri M et al. Baseline heart rate variability in healthy centenarians: differences compared with aged subjects (>75 years old). *Clin Sci (Lond)* 1999;97(5):579-84.
119. Howorka K, Pumprla J, Schabmann A. Optimal parameters of short-term heart rate spectrogram for routine evaluation of diabetic cardiovascular autonomic neuropathy. *J Auton Nerv Syst* 1998 30;69(2-3):164-72.
120. Vinik AI, Maser RE, Mitchell BD et al. Diabetic autonomic neuropathy. *Diabetes Care* 2003 ;26(5):1553-79.
121. Royall DR, Gao JH, Kellogg DL. Insular Alzheimer's disease pathology as a cause of "age-related" autonomic dysfunction and mortality in the non-demented elderly. *Med Hypotheses*. 2006;67(4):747-58.

122. Hilz MJ, Dütsch M, Perrine K et al. Hemispheric influence on autonomic modulation and baroreflex sensitivity. *Ann Neurol.* 2001;49(5):575-84.
123. Oppenheimer SM, Gelb A, Girvin JP et al. Cardiovascular effects of human insular cortex stimulation. *Neurology* 1992;42(9):1727-32.
124. Critchley HD, Corfield DR, Chandler MP et al. Cerebral correlates of autonomic cardiovascular arousal: a functional neuroimaging investigation in humans. *J Physiol* 2000;523 Pt 1:259-70.
125. Critchley HD, Elliott R, Mathias CJ et al. Neural activity relating to generation and representation of galvanic skinconductance responses: a functional magnetic resonance imaging study. *J Neurosci* 2000 15;20(8):3033-40.
126. Fecher M, Gamer M, Blasius I et al. Functional imaging of sympathetic activation during mental stress. *Neuroimage* 2010;50(2):847-54.
127. Mufson EJ, Binder L, Counts SE et al. Mild cognitive impairment: pathology and mechanisms. *Acta Neuropathol.* 2012;123(1):13-30.
128. Samuels ER, Szabadi E. Functional neuroanatomy of the noradrenergic locus coeruleus: its roles in the regulation of arousal and autonomic function part I: principles of functional organisation. *Curr Neuropharmacol* 2008;6(3):235-53.
129. Benarroch EE. The arterial baroreflex: functional organization and involvement in neurologic disease. *Neurology* 2008;71(21):1733-8.
130. Kuehl M, Stevens MJ. Cardiovascular autonomic neuropathies as complications of diabetes mellitus. *Nat Rev Endocrinol* 2012;8(7):405-16.
131. Brignole M. Distinguishing syncopal from non-syncopal causes of fall in older people. *Age Ageing* 2006;35 Suppl 2:ii46-ii50.
132. van Beek AH, Claassen JA, Rikkert MG et al. Cerebral autoregulation: an overview of current concepts and methodology with special focus on the elderly. *J Cereb Blood Flow Metab* 2008;28(6):1071-85.

133. Brown WR, Thore CR. Review: cerebral microvascular pathology in ageing and neurodegeneration. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2011;37(1):56-74.
134. Mehagnoul-Schipper DJ, Vloet LC, Colier WN et al. Cerebral oxygenation declines in healthy elderly subjects in response to assuming the upright position. *Stroke* 2000;31(7):1615-20.
135. Ruitenberg A, Skoog I, Ott A et al. Blood pressure and risk of dementia: results from the Rotterdam study and the Gothenburg H-70 Study. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2001;12(1):33-9.
136. Guo Z, Fratiglioni L, Winblad B et al. Blood pressure and performance on the Mini-Mental State Examination in the very old. Cross-sectional and longitudinal data from the Kungsholmen Project. *Am J Epidemiol* 1997;145(12):1106-13.
137. Bohannon AD, Fillenbaum GG, Pieper CF et al. Relationship of race/ethnicity and blood pressure to change in cognitive function. *J Am Geriatr Soc* 2002;50(3):424-9.
138. Passant U, Warkentin S, Karlson S et al. Orthostatic hypotension in organic dementia: relationship between blood pressure, cortical blood flow and symptoms. *Clin Auton Res* 1996;6(1):29-36.
139. I risultati del questionario-CGIL Milano. [www.cgil.milano.it](http://www.cgil.milano.it) (ultimo accesso il 25/01/2013).
140. Naglie G, Tomlinson G, Tansey C et al. Utility-based Quality of Life measures in Alzheimer's disease. *Qual Life Res* 2006;15(4):631-43.
141. Strahan R, Gerbasi KC. Short, homogeneous versions of the Marlowe-Crowne social desirability scale. *J Clin Psychol* 1972; 28: 191-193.
142. Elfgrén C, Gustafson L, Vestberg S et al. Subjective memory complaints, neuropsychological performance and psychiatric variables in memory clinic attendees: a 3-year follow-up study. *Arch Gerontol Geriatr* 2010;51(3):e110-4.

143. Malik M, Camm AJ . Components of heart rate variability- what they really mean and what we really measure. *Am J Cardiol* 1993;72(11):821-2.
144. Lauer MS. Autonomic function and prognosis. *Cleve Clin J Med* 2009;76 Suppl 2:S18-22
145. Lopez OL, Jagust WJ, DeKosky ST et al. Prevalence and classification of mild cognitive impairment in the Cardiovascular Health Study Cognition Study: part 1. *Arch Neurol* 2003 ;60(10):1385-9.
146. Berntson GG, Bigger JT, Eckberg DL et al. Heart rate variability: origins, methods, and interpretive caveats. *Psychophysiology* 1997 ;34(6):623-48.
147. Malfatto G, Branzi G, Riva B et al. Recovery of cardiac autonomic responsiveness with low-intensity physical training in patients with chronic heart failure. *Eur J Heart Fail* 2002;4(2):159-66.
148. Kikuchi M, Hanaoka A, Kidani T et al. Heart rate variability in drug-naïve patients with panic disorder and major depressive disorder. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2009;33(8):1474-8.
149. Chow DC, Wood R, Grandinetti A et al. Cardiovagal autonomic dysfunction in relation to HIV-associated lipodystrophy. *HIV Clin Trials* 2006;7(1):16-23.
150. Balachandran JS, Bakker JP, Rahangdale S et al. Effect of mild, asymptomatic obstructive sleep apnea on daytime heart rate variability and impedance cardiography measurements. *Am J Cardiol* 2012;109(1):140-5.