

**UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI GENOVA  
FACOLTÀ DI MEDICINA E CHIRURGIA**



**CORSO DI LAUREA SPECIALISTICA IN MEDICINA E  
CHIRURGIA  
ANNO ACCADEMICO 2021-2022**

**TESI DI LAUREA**

“Derivazione e validazione di un pattern fenocconversione-  
relato nel disturbo comportamentale del sonno REM”

**CANDIDATO**

Andrea Giberti

**RELATORE**

Prof. Dario Arnaldi

## Sommario

|   |           |
|---|-----------|
| <b>Introduzione</b> .....   | <b>3</b>  |
| <b>1. Disturbo comportamentale del sonno REM</b> .....                    | <b>3</b>  |
| 1.1 Introduzione ed aspetti clinici .....                                 | 3         |
| 1.2 Epidemiologia.....  | 4         |
| 1.3 Fisiopatologia.....   | 4         |
| 1.4 Diagnosi.....   | 5         |
| <b>2. RBD e <math>\alpha</math>-sinucleinopatie</b> .....                 | <b>6</b>  |
| 2.1 Aspetti generali.....   | 6         |
| 2.2 Biomarcatori di conversione.....                                      | 7         |
| 2.3 Alterazioni al neuroimaging nell'RBD.....                             | 8         |
| <b>Scopo dello studio</b> .....   | <b>11</b> |
| <b>Materiali e metodi</b> .....   | <b>12</b> |
| <b>1. Pazienti</b> .....  | <b>12</b> |
| <b>2. <math>^{18}\text{F}</math>-FDG PET</b> .....                        | <b>13</b> |
| <b>3. Registrazione polisonnografica</b> .....                            | <b>13</b> |
| <b>4. Derivazione e validazione di iRBDconvRP</b> .....                   | <b>14</b> |
| <b>5. Analisi statistica</b> .....  | <b>14</b> |
| <b>Risultati</b> .....  | <b>16</b> |
| <b>1. Dati demografici e clinici</b> .....                                | <b>16</b> |
| <b>2. Derivazione e validazione di iRBDconvRP</b> .....                   | <b>18</b> |
| <b>3. Capacità di prevedere la fenocconversione dell'iRBDconvRP</b> ..... | <b>19</b> |
| <b>Discussione</b> .....  | <b>22</b> |
| <b>Bibliografia</b> .....   | <b>25</b> |
| <b>Ringraziamenti</b> .....   | <b>30</b> |

## Introduzione

### 1. Disturbo comportamentale del sonno REM

#### 1.1 Introduzione ed aspetti clinici

Il disturbo comportamentale del sonno REM (RBD, REM sleep behavior disorder), è una parasonnia del sonno REM caratterizzata da comportamenti anomali, costituiti di solito dalla messa in atto dei propri sogni (“sogni agitati”) e dall’assenza di atonia muscolare che contraddistingue il fisiologico sonno REM.<sup>1</sup>

I pazienti affetti hanno presentazioni molto variabili in termini di qualità degli episodi, frequenza e durata degli stessi, spaziando da semplici contrazioni muscolari, a movimenti come il sollevamento di un arto, fino a comportamenti più complessi riconducibili spesso a contenuti onirici spiacevoli o più raramente ad attività quotidiane. Questi ultimi, quando di contenuto violento, sono di solito rappresentati da calci, pugni, afferrare oggetti, talvolta saltare dal letto per fuggire o lottare contro animali e persone nel sogno, mentre quelli non violenti possono essere gesti, quali fumare, mangiare, baciare, raccogliere oggetti o mimare il coito, la danza o altre attività.<sup>2-4</sup> Talvolta possono anche essere presenti vocalizzazioni come parlare, piangere, urlare e raramente ridere. Inoltre, contrariamente a quanto accade nel sonnambulismo, la maggior parte dei pazienti non si alza dal letto né corre o cammina, gli episodi avvengono ad occhi chiusi e portano spesso al risveglio del paziente che ricorda bene il contenuto del sogno e appare ben orientato e coerente.<sup>5</sup> È da notare come un’attività motoria sia presente in media solo nel 9,2% del tempo trascorso in sonno REM dai pazienti, mentre più costante è l’assenza di atonia muscolare (REM sleep without atonia, RSWA).<sup>6,7</sup> Sebbene non ci sia ancora una delineazione precisa dei movimenti più tipici, è stato osservato come tali movimenti siano più frequentemente distali che assiali, elementari come semplici contrazioni delle dita, più rapidi che nella veglia e di carattere pseudo-allucinatorio, non egocentrici e con una scarsa coerenza rispetto all’ambiente circostante (altra differenza rispetto al sonnambulismo).<sup>8</sup> Tali comportamenti possono portare a lesioni a se stessi o a chi dorme con i pazienti e rappresentano infatti il principale motivo per cui i pazienti giungono all’attenzione medica.

L’RBD è distinto in due forme: quella idiopatica (iRBD) e quella cosiddetta sintomatica o secondaria, così chiamata perché associata alla presenza di  $\alpha$ -sinucleinopatie, come la malattia di Parkinson (PD), la demenza a corpi di Lewy (DLB) e l’atrofia multisistemica (MSA). Più raramente si trova insieme ad altre patologie neurologiche o psichiatriche, come la narcolessia di tipo 1, ma in questi casi è di solito in forma più lieve.<sup>4</sup> È stato osservato come la maggior

parte dei pazienti con iRBD convertano nel tempo a un' $\alpha$ -sinucleinopatia,<sup>9,10</sup> precedendo anche di molti anni la comparsa della malattia neurodegenerativa.<sup>11</sup> Per tale ragione la presenza di RBD potrebbe rappresentare un ottimo biomarcatore di fenocconversione e quindi essere utilizzabile nell'ottica di eventuali futuri trial terapeutici modificanti il decorso della malattia.<sup>12</sup>

## 1.2 Epidemiologia

I dati precisi sulla prevalenza dell'iRBD sono molto limitati a causa di due fattori: in primo luogo perché molti pazienti non sono consapevoli del proprio disturbo, specie quelli che vivono da soli, e quindi non si rivolgono all'attenzione medica; in secondo luogo, perché la diagnosi richiede una video-polisonnografia (vPSG), una metodica diagnostica non disponibile in tutti i centri a causa dei costi e del tempo richiesti dalla procedura. Per questi motivi la prevalenza varia da stime del 3-10% globalmente, se ci si basa solo su test di screening<sup>13</sup> (generalmente si tratta di questionari), a valori più realistici intorno all'1% se ci si basa su diagnosi di certezza con vPSG.<sup>14</sup> Uno studio molto esteso ha inoltre dimostrato come non ci sia differenza di prevalenza tra i due sessi, nonostante nella pratica clinica vengano riconosciuti più pazienti di sesso maschile, probabilmente perché questi ultimi tendono ad avere più facilmente manifestazioni aggressive durante i sogni.<sup>14</sup>

Per quanto riguarda invece le forme secondarie, è stimato che tra il 30 e il 50% dei pazienti affetti da PD abbia anche un RBD, valore che arriva ad oltre il 70% tra i pazienti con DLB e MSA.<sup>4,15</sup> Tra gli individui con narcolessia invece la prevalenza è del 50%, tra RBD e RSWA.<sup>9,16</sup>

## 1.3 Fisiopatologia

La normale atonia muscolare del sonno REM è spiegata da due meccanismi: il primo consiste nella minore attività di scarica dei neuroni serotoninergici discendenti ai nuclei dei nervi cranici e ai motoneuroni del midollo spinale, che riduce il tono muscolare progressivamente dalle fasi iniziali di sonno NREM a quelle più profonde. Il secondo meccanismo invece dipende da una diretta inibizione dei motoneuroni spinali, tramite una via parallela alle vie motorie discendenti costituita da fibre glicinerigiche e gabaergiche con origine nella formazione reticolare bulbare (in particolare il nucleo magno del rafe, il nucleo gigantocellulare e il laterale paragigantocellulare) che porterebbero a una iperpolarizzazione dei motoneuroni spinali e quindi a completa atonia. I somi di queste fibre ricevono afferenze glutammatergiche da un nucleo pontino, chiamato Sublaterodorsal tegmental nucleus (SLD), localizzato ventralmente al locus coeruleus, coinvolto nella generazione di atonia muscolare nel sonno REM.<sup>9,17,18</sup>

La neurodegenerazione specifica di questi nuclei della formazione reticolare bulbare viene attualmente considerata la causa più plausibile di RBD per una serie di evidenze: 1) lesioni di questa regione nel modello felino inducono RSWA<sup>19</sup>, 2) l'inattivazione del trasportatore vescicolare di GABA e glicina nel ratto porta a RSWA e RBD e infine 3) è stato osservato come pazienti con lesioni focali, ad esempio infiammatorie o vascolari, a carico delle regioni tronco encefaliche mostravano RBD<sup>20</sup>. In aggiunta, studi post-mortem su pazienti affetti da RBD hanno dimostrato una deposizione di corpi di Lewy a carico della regione del locus coeruleus/subcoeruleus.<sup>9,20</sup>

Al momento non c'è nulla di certo per quanto riguarda altre aree del SNC coinvolte: si pensa che potrebbero essere interessate aree attivanti SLD, come il grigio periacqueduttale o il nucleo preottico dell'ipotalamo, anche se queste aree influenzano la comparsa o meno del sonno REM, piuttosto che l'atonìa muscolare<sup>21</sup>. Oppure, si pensa ad altre zone del tronco encefalico in grado di generare movimenti complessi arcaici, come reazioni di difesa o attacco di fronte a una minaccia, visto che la stimolazione di determinate aree del tronco encefalico di topi e scimmie produce comportamenti motori complessi molto simili a quelli osservabili nei pazienti con RBD.<sup>22</sup>

Parallelamente a questo, si ritiene che l'attivazione motoria corticale in assenza di inibizione tonica possa avere un ruolo centrale nella generazione di questi movimenti patologici.<sup>9,23</sup> A supporto di questa ipotesi è il fatto che i pazienti con RBD sono in grado di eseguire movimenti complessi durante gli episodi, come gestualità apprese (fumare, pedalare, giocare a calcio) o discorsi. Anche la corteccia limbica potrebbe rivestire un ruolo importante, confermato dall'attivazione di aree come la corteccia entorinale mediale, il cingolato anteriore, la corteccia retrosplenica e il giro dentato ed è quindi possibile che queste aree attivate portino all'eccitazione delle aree motorie in risposta all'attività onirica.<sup>9</sup> Infine, si pensa che i circuiti dei gangli basali siano bypassati, perché i pazienti con RBD e malattia di Parkinson non dimostrano bradicinesia e rigidità durante gli episodi.<sup>24</sup>

#### 1.4 Diagnosi

La diagnosi di RBD si basa sulla Classificazione Internazionale dei Disturbi del Sonno, terza edizione (ICSD-3), secondo la quale devono essere presenti i seguenti criteri:

- Episodi ripetuti di vocalizzazioni o comportamenti motori complessi durante il sonno;
- Tali episodi avvengono durante la fase REM del sonno, documentato sulla base di video-polisonnografia (vPSG) o sull'anamnesi;

- La PSG dimostra la presenza di RSWA;
- Il disturbo non è meglio spiegato da altri disturbi del sonno, disturbi psichiatrici, terapie assunte o abuso di sostanze.

La diagnosi esclusivamente su base clinica è piuttosto difficile, sia perché, come detto precedentemente, molti pazienti sono ignari del proprio disturbo, sia perché la sintomatologia riferita entra in diagnosi differenziale con altri disturbi come parasonnie NREM, epilessia sonno-relata o movimenti associati alla risoluzione di una apnea morfeica. Inoltre, i pazienti potrebbero non ricordare il contenuto onirico o avere un deficit cognitivo tale da non poterlo riferire con certezza.<sup>9</sup>

La diagnosi definitiva, pertanto, richiede una vPSG che documenti all'elettromiografia un eccesso di tono muscolare e/o di attività fasica durante il sonno REM e, avendo la RSWA una notevole stabilità tra una notte e l'altra, una singola registrazione è considerata sufficiente per porre diagnosi.<sup>25</sup> In particolare, i muscoli più indicativi per effettuare tali registrazioni sarebbero il mentoniero e il flessore superficiale delle dita. In alcuni casi si può rilevare RSWA in assenza di storia clinica di iRBD, soprattutto in pazienti anziani e pazienti con PD: questo potrebbe rappresentare un segno precoce di iRBD e come tale essere un fattore di rischio per malattie neurodegenerative. Importante ai fini della diagnosi differenziale è infine che tutte le altre caratteristiche del sonno REM siano mantenute.<sup>5</sup>

## 2. RBD e $\alpha$ -sinucleinopatie

### 2.1 Aspetti generali

Le ripercussioni più significative dell'RBD riguardano la sua associazione con le malattie neurodegenerative, in particolare con le  $\alpha$ -sinucleinopatie, prevalentemente PD, DLB e MSA.<sup>26</sup> È stato dimostrato da numerosi studi osservazionali come la maggioranza dei pazienti con RBD sviluppi nel tempo una di queste malattie,<sup>27-29</sup> rendendo questo disturbo il marker prodromico più significativo rispetto a tutti gli altri sintomi precoci correlati alle  $\alpha$ -sinucleinopatie, come l'anosmia, la costipazione, l'ipotensione ortostatica. In particolare, in uno studio è stato visto come il 38% dei pazienti con iRBD abbia sviluppato PD dopo una media di  $3,7 \pm 1,4$  anni dalla diagnosi ( $12,7 \pm 7,3$  dall'esordio)<sup>27</sup>, per poi aumentare all'80,8% dopo un follow-up di 16 anni<sup>30</sup>. In un altro studio, il rischio di sviluppare una malattia neurodegenerativa era del 17,7% a cinque anni, del 40,6% a dieci anni e del 52,4% a 12 anni<sup>29</sup>. Infine, un altro gruppo ha dimostrato come il 45% dei pazienti abbia convertito dopo 11,5 anni

di media dalla comparsa di RBD e 5,1 dalla diagnosi, arrivando al 76% dopo 14 anni di follow-up.<sup>28</sup> In tutti questi casi, circa la metà dei pazienti convertiti sviluppa PD, poco meno della metà DLB e solo una percentuale ristretta MSA.

Un aspetto rilevante di questo elevato tasso di conversione è che in questi pazienti si può vedere l'evoluzione della patologia neurodegenerativa e nel caso intervenire, quando sarà possibile, con terapie neuroprotettive. Infatti, i pazienti con iRBD sono il target ideale per eventuali trials modificanti il decorso di malattia, perché da un lato si potrebbe limitare la progressione di malattia, intervenendo in una fase molto precoce di neurodegenerazione, dall'altro non ci sarebbero fattori confondenti derivanti dalle terapie sintomatiche per PD e DLB.<sup>31</sup> Al tempo stesso però si solleva un quesito etico non da poco, ovvero in che modo e quando dare l'informazione al paziente con iRBD riguardo alla possibilità di sviluppare una  $\alpha$ -sinucleinopatia.<sup>32</sup>

## 2.2 Biomarcatori di conversione

Esistono numerosi sintomi prodromici nelle  $\alpha$ -sinucleinopatie, che precedono l'esordio anche di cinque o più anni. Molti di questi perdurano anche una volta che si manifesta la malattia e dipendono da un interessamento precoce sia a livello centrale che periferico e sono rappresentati soprattutto da disturbi olfattivi, enterici (scarsa motilità, stipsi), disautonomici (ipotensione ortostatica), ansietà, depressione e deficit cognitivo lieve (MCI, Mild Cognitive Impairment)<sup>31</sup>. Comprendere quali tra questi siano più correlati a PD, DLB o MSA sarebbe molto utile nell'ottica di intervenire precocemente sul processo degenerativo, tuttavia nessuno è sufficientemente specifico da giustificare questo approccio terapeutico. Il disturbo comportamentale del sonno REM, al contrario, si è dimostrato ben più specifico, dipendendo probabilmente, come detto prima, dalla neurodegenerazione delle strutture ponto-bulbari deputate al controllo dell'atonia muscolare nel sonno REM, e permette quindi di selezionare con maggiore accuratezza soggetti a rischio di sviluppare una malattia neurodegenerativa; inoltre, andando a studiare determinati biomarcatori in pazienti affetti da iRBD, si può capire quale di questi sia maggiormente associato al rischio di conversione.

Un importante studio del 2019<sup>33</sup> ha voluto indagare proprio questo aspetto, esaminando dati provenienti da 24 centri diversi dell'International RBD Study Group, riguardanti 1280 pazienti con iRBD confermato da vPSG; di questi, il 28% ha convertito in un intervallo medio di tempo dalla diagnosi di  $4,6 \pm 3,5$  anni, con un rischio di conversione del 6,25% annuo. Analizzando vari biomarcatori, è emerso che i più indicativi del rischio di conversione sono: test motori (UPDRS 3 con HR=3,03, Quantitative Motor Testing con HR=3,16), test cognitivi (soprattutto

test neuropsicologici approfonditi con HR=2,37) e l'ipo/anosmia (HR=2,62). Un altro risultato degno di nota è come nessun biomarcatore permetta di escludere la conversione, visto che molti pazienti risultati negativi a tutti i test, hanno comunque sviluppato parkinsonismo o demenza, confermando ulteriormente il ruolo dell'iRBD come manifestazione prodromica di sinucleinopatia.

### 2.3 Alterazioni al neuroimaging nell'RBD

Nel corso degli anni sono stati studiati numerosi markers di PD o DLB prodromici con tecniche di neuroimaging<sup>34</sup>, con lo scopo di riconoscere precocemente eventuali cambiamenti correlati a fenomeni neurodegenerativi e quindi avere maggiori informazioni circa il rischio di fenocconversione. Tra quelle utilizzate, le indagini di imaging funzionale si sono rivelate le più utili, anche perché nelle malattie neurodegenerative i cambiamenti funzionali generalmente precedono quelli anatomici/strutturali. Essendo l'iRBD una manifestazione precoce delle  $\alpha$ -sinucleinopatie, è ragionevole pensare che all'imaging potrebbero essere già presenti segni di degenerazione tipici di queste malattie, in particolare indagando la via nigrostriatale, con la <sup>123</sup>I-FP-CIT SPECT (Single Photon Emission Tomography), o sull'attività metabolica glucidica, con la <sup>18</sup>F-FDG PET (Positron Emission Tomography).

#### 2.3.1 <sup>123</sup>I-FP-CIT SPECT

Il tracciante utilizzato nella <sup>123</sup>I-FP-CIT SPECT è in grado di legare la proteina trasportatrice della dopamina (DAT) localizzata sul versante presinaptico<sup>35</sup>. Pertanto, tale metodica permette di indagare l'integrità dei terminali dopaminergici presinaptici e di conseguenza verificare in maniera indiretta l'integrità della via dopaminergica nigro-striatale. È stato osservato infatti che sia nel PD che nella DLB, c'è una riduzione della captazione di <sup>123</sup>I-FP-CIT, e quindi della densità di DAT<sup>36</sup>.

Per quanto riguarda l'RBD, molti studi hanno mostrato una riduzione progressiva della densità del DAT a livello presinaptico, dai controlli sani, che avevano la captazione maggiore, agli iRBD e poi ai PD, che invece avevano la captazione minore rispetto agli altri gruppi.<sup>37-40</sup> Inoltre, è stato osservato come la riduzione della captazione del tracciante con <sup>123</sup>I-FP-CIT SPECT nei pazienti iRBD progredisca nel tempo, a causa del progressivo deficit nigrostriatale in questi soggetti<sup>41</sup>. Infine, la riduzione nella captazione <sup>123</sup>I-FP-CIT SPECT rappresenta un indice di un aumentato rischio di conversione, capace di predire la conversione a breve termine<sup>42-44</sup>. Recentemente, uno studio retrospettivo multicentrico internazionale ha investigato, in 344 pazienti iRBD e 256 controlli, i fattori di rischio di fenocconversione clinici

e  $^{123}\text{I-FP-CIT-SPECT}$ <sup>45</sup>. I risultati trovati mostrano che la migliore combinazione di fattori di rischio (ovvero quella con il più alto potere predittivo di conversione) è data dalla riduzione della captazione di  $^{123}\text{I-FP-CIT}$  a livello putaminale nell'emisfero più colpito, la presenza di costipazione e l'età superiore ai 70 anni, che insieme danno un Hazard Ratio (HR) di 5,71. In aggiunta, gli autori hanno cercato di determinare se fosse possibile distinguere i pazienti che avrebbero convertito a PD da quelli che avrebbero sviluppato DLB, e hanno visto come chi avesse punteggi più elevati al Mini Mental State Examination (MMSE) e minore asimmetria della captazione di  $^{123}\text{I-FP-CIT}$  a livello dei caudati, avesse anche maggiori probabilità di convertire a PD, viceversa a DLB. Questo è in accordo con quanto dimostrato da studi precedenti, che mostrano come i pazienti iRBD con MCI convertono più facilmente a demenza<sup>46</sup>.

### *2.3.2 $^{18}\text{F-FDG PET}$ e SSM-PCA*

Un altro approccio per studiare l'attività neuronale è tramite la PET con  $^{18}\text{F-FDG}$ , il quale rappresenta un marcatore indiretto di attività sinaptica. Siccome le aree cerebrali non lavorano singolarmente, ma sono interconnesse influenzandosi a vicenda, nelle malattie neurodegenerative si tende a studiare le modificazioni a livello di network, piuttosto che a livello di aree cerebrali singole<sup>45</sup>. Lo studio di queste modifiche di network si basa sulla ricerca di pattern malattia relati (Disease Related Pattern) tramite analisi statistiche multivariate, eseguite sulle immagini PET dei pazienti, che cercano una correlazione statisticamente significativa tra variazioni di intensità di segnale nelle diverse aree cerebrali<sup>47</sup>. Il vantaggio di questo approccio è che, una volta individuato il disease related pattern, si può valutare quanto questo viene espresso nelle PET di altri pazienti, risultando quindi un efficace strumento di diagnosi differenziale e di ricerca, ipoteticamente utilizzabile anche a livello di singolo individuo e non solo di gruppo.

L'analisi in questione è la Scaled Subprofile Model Principal Component Analysis (SSM-PCA). Lo Scaled Subprofile Model (SSM) è una metodica di normalizzazione applicata a dati derivati da  $^{18}\text{F-FDG PET}$ , utilizzata per rendere confrontabili tra loro immagini PET di individui diversi. La Principal Component Analysis (PCA) è invece una metodica di analisi statistica che identifica le principali fonti di varianza all'interno di un insieme di dati (in questo caso i valori di captazione del tracciante PET in tutto l'encefalo). Successivamente, vengono calcolate una serie di Principal Components (PCs), chiamate PC1, PC2, PC3, etc., che sono vettori utilizzati per discriminare al meglio i gruppi di studio (ad esempio pazienti e controlli sani). PC1 è quella che generalmente meglio spiega la varianza tra i due gruppi, PC2 descrive

quanto i dati si discostano da PC1 e così via. In questo modo, un gruppo di immagini può essere ridotto a una serie di pattern di covarianza linearmente indipendenti, ciascuno dei quali rappresenta un network di zone cerebrali funzionalmente correlate. I soggetti esprimeranno questi pattern in maniera diversa e il grado di questa espressione può essere quantificato da uno score numerico (subject score): verosimilmente, le PCs che meglio discriminano i pazienti dai controlli, saranno quelle di nostro interesse, e descrivono il pattern di malattia.

Studi che utilizzano questo tipo di analisi sono stati condotti su alcune malattie neurodegenerative, come PD e malattia di Alzheimer (AD), identificando sia pattern in grado di predire la fenocconversione nei pazienti<sup>48,49</sup>, sia pattern specifici malattia-relati<sup>50-52</sup>.

Per quanto riguarda l'iRBD, uno studio condotto su 21 pazienti iRBD sottoposti a <sup>18</sup>F-FDG PET, test olfattivi e DAT-SPECT ha rilevato che i pazienti con iRBD esprimevano maggiormente il PD Related Pattern (PDRP) rispetto ai controlli, ma meno rispetto a pazienti con DLB o PD. Questo pattern è caratterizzato da relativo aumento del metabolismo nelle regioni pallido-talamiche, nel cervelletto e nel ponte, e relativo ipometabolismo nelle cortecce temporo-occipitali e nelle aree associative parietali<sup>53,54</sup>. Inoltre, il PDRP era maggiormente espresso nei soggetti con iposmia e alterazioni DAT-SPECT. Tuttavia, non vi era una correlazione diretta tra le tre variabili (i.e. non tutti i pazienti con alterazioni DAT-SCAN avevano iposmia), un dato che suggerisce la complementarità di queste informazioni sul rischio di conversione<sup>55</sup>.

Altri studi hanno voluto identificare un iRBD Related Pattern (RBDRP): in un primo studio è stato trovato relativo ipermetabolismo in ponte, cervelletto, talamo, ippocampo e nelle regioni frontali mediali e sensorimotorie, e relativo ipometabolismo invece nelle cortecce temporo-occipitali, con un'aumentata espressione di questo pattern nei pazienti PD con malattia in stadio iniziale rispetto a quelli con malattia avanzata<sup>56</sup>. L'RBDRP è stato replicato in un altro studio indipendente, identificando un pattern caratterizzato da relativo ipermetabolismo in cervelletto, tronco encefalico, talamo, corteccia sensorimotoria e ippocampo, e relativo ipometabolismo nelle cortecce temporale, occipitale, parietale e nel cingolo<sup>57</sup>. Inoltre, l'espressione di questo pattern e del PDRP era maggiore nei pazienti con Mild Cognitive Impairment (MCI), suggerendo una associazione con la gravità di malattia. Entrambi i pattern appena citati si sovrappongono parzialmente al PDRP, tuttavia mostrano alcune differenze, sia in termini di regioni interessate che di correlazione con alcune caratteristiche della malattia di Parkinson.<sup>57</sup> L'RBDRP si è però dimostrato inaffidabile nel predire la fenocconversione in questi pazienti,

perché la sua espressione diminuisce con il progredire della malattia e inoltre non è correlata al rischio di fenocconversione<sup>58</sup>.

Un recente studio ha estrapolato un pattern in un gruppo di pazienti PD de novo con una storia di RBD (dnPDRBD-RP) e lo ha applicato a un gruppo di pazienti iRBD, scoprendo come un'elevata espressione del dnPDRBD-RP nei pazienti con iRBD fosse fortemente predittiva di fenocconversione a  $\alpha$ -sinucleinopatia. Inoltre, la capacità predittiva del dnPDRBD-RP era migliore rispetto a quella del PDRP<sup>59</sup>.

### Scopo dello studio

La letteratura ha finora dimostrato come la <sup>18</sup>F-FDG PET possa essere un efficace biomarker di fenocconversione nei pazienti con iRBD, tuttavia è necessario un pattern più affidabile nel predire il rischio di fenocconversione a breve termine. Infatti, come detto precedentemente, gli studi condotti finora si sono concentrati sul valutare l'espressione del PDRP nei pazienti iRBD o sul trovare un iRBD-RP, ma nessuno ha finora cercato un pattern direttamente correlato al rischio di fenocconversione.

Pertanto, lo scopo di questo studio è quello di trovare un pattern specifico legato al rischio di fenocconversione nel breve termine, capace di discriminare i pazienti iRBD che convertiranno da quelli che non convertiranno, indipendentemente dalla  $\alpha$ -sinucleinopatia sviluppata. Questo sarebbe utile in futuro non solo per poter dare maggiori informazioni ai pazienti dal punto di vista clinico, ma anche per selezionare i pazienti adatti a partecipare ad eventuali trials su terapie neuroprotettive modificanti il decorso di malattia, le quali avrebbero un impatto notevole sulla qualità di vita. Per fare questo, lo studio è stato articolato in due fasi: una prima fase di derivazione e validazione di due distinti pattern provenienti da pazienti di due centri diversi. Appurato che questi due pattern siano comparabili, la seconda fase consiste nel trovare un pattern derivato questa volta da tutti i pazienti dei due centri, in modo da ottenere un dato più robusto.

## Materiali e metodi

### 1. Pazienti

Abbiamo reclutato 30 pazienti con iRBD, con un'età media di  $73\pm 6$  anni, 23 uomini, 7 donne, che hanno sviluppato un' $\alpha$ -sinucleinopatia conclamata (RBD converters), e 46 pazienti che non hanno convertito (età media  $69\pm 6$ ), (RBD non-converters) provenienti da due centri: Genova (GE) e Roma Tor Vergata (RTV).

La diagnosi di RBD è stata posta sulla base della raccolta anamnestica circa gli eventi notturni e confermata da video-polisonnografia (vPSG), come indicato dalla Classificazione Internazionale dei Disturbi del Sonno (ICSD-3).<sup>60</sup> Alla prima visita tutti i pazienti sono inoltre stati sottoposti alle seguenti valutazioni: Movement Disorder Society Unified Parkinson Disease Rating Scale, parte motoria (MDS-UPDRS-III), per valutare la presenza di parkinsonismo, il Mini Mental State Examination (MMSE), come valutazione della funzione cognitiva globale, ma anche test neuropsicologici più completi e approfonditi, con almeno due test pertinenti ai principali domini cognitivi (memoria verbale, funzioni esecutive, memoria di lavoro, attenzione, linguaggio e abilità visuospatiali), per valutare l'eventuale presenza di deficit cognitivo lieve (MCI, Mild Cognitive Impairment). I pazienti con demenza o parkinsonismi tali da rispettare i criteri per la diagnosi di PD o DLB<sup>61,62</sup> sono stati esclusi dallo studio. Infine, i pazienti hanno effettuato visite di controllo periodiche ogni sei mesi, con valutazione clinica, motoria, cognitiva e dell'autonomia nelle attività della vita quotidiana (activities of daily living e instrumental activities of daily living ADLs e IADL). La fenocconversione ad  $\alpha$ -sinucleinopatia conclamata (PD, DLB o MSA) è stata valutata secondo i criteri attuali internazionali.<sup>61-63</sup>

Tutti i pazienti hanno fornito il loro consenso scritto allo studio. Il protocollo di studio è stato approvato dal Comitato Etico locale e tutti i partecipanti hanno firmato un modulo di Consenso Informato come stabilito dalla Dichiarazione di Helsinki del 1975.

## 2. <sup>18</sup>F-FDG PET

Tutti i pazienti sono stati sottoposti a una <sup>18</sup>F-FDG PET entro i 12 mesi dalla diagnosi, per valutare il metabolismo glucidico cerebrale, inteso come marker di neurodegenerazione. Le scansioni cerebrali sono state acquisite secondo le linee guida della European Association of Nuclear Medicine.<sup>64</sup>

Nel centro di Genova è stata usata un'apparecchiatura SIEMENS Biograph 16 PET/CT hybrid. La correzione dell'attenuazione è stata basata sulla TC. I dati sono stati ricostruiti utilizzando un algoritmo dedicato con 16 subset e 6 interazioni, ottenendo voxel anisotropici con le seguenti dimensioni di 1.33×1.33×2.00 mm. Nel centro di Roma Tor Vergata, è stato usato un PET/CT system Discovery VCT (GE Medical Systems, Tennessee, USA). La correzione dell'attenuazione è stata basata sulla TC. Per la ricostruzione dei dati è stato utilizzato un algoritmo dedicato, con 20 iterazioni e 4 subset. La dimensione dei voxel anisotropici ricostruiti è stata la seguente: 1.17×1.17×3.27 mm.

Tutte le immagini sono state acquisite in modalità statica e poi sottoposte a normalizzazione spaziale affine e non lineare in uno spazio di Talairach e Tournoux utilizzando SPM12 (Wellcome Department of Cognitive Neurology, London, UK). Sono state seguite tutte le impostazioni di default di SPM, eccetto per la normalizzazione spaziale. Per questo studio il H<sub>2</sub><sup>15</sup>O SPM-default template è stato sostituito da un template ottimizzato per <sup>18</sup>F-FDG PET cerebrale, come descritto da Della Rosa e colleghi.<sup>65</sup> Le immagini normalizzate sono state poi soggette a smoothing con un filtro isotropico gaussiano da 10-mm per attenuare le variazioni interindividuali nella conformazione dei giri corticali e per aumentare il rapporto segnale/rumore (signal-to-noise ratio).

## 3. Registrazione polisonnografica

I pazienti hanno effettuato una video-polisonnografia notturna in ospedale, seguita da tecnici e medici esperti in questo campo; la caratterizzazione del sonno è stata effettuata secondo i criteri attuali dell'American Academy of Sleep Medicine (AASM).<sup>60</sup> Le derivazioni della PSG sono state posizionate secondo quanto raccomandato dall'AASM per valutare le caratteristiche del sonno e gli eventi cardiaci, respiratori e agli arti. Inoltre, ai pazienti è stato richiesto di sospendere eventuali trattamenti con melatonina, farmaci ipnotici e antidepressivi nelle due settimane precedenti la registrazione.

#### 4. Derivazione e validazione di iRBDconvRP

Il pattern metabolico correlato alla fenocconversione dei pazienti con iRBD (iRBDconvRP) è stato ricavato utilizzando un algoritmo basato sul metodo SSM-PCA di Spetsieris ed Eidelberg<sup>66</sup>, implementato su Matlab (version 2020a; MathWorks, Natick, MA), sui dati <sup>18</sup>F-FDG PET dei due centri (GE e RTV) separatamente, per verificare che i due patterns fossero comparabili tra loro. L'algoritmo è stato prima utilizzato su un set di derivazione composto dai pazienti di GE, 16 converters e 27 non-converters. Il pattern così ottenuto, chiamato iRBDconvRP, è stato successivamente applicato a un set di validazione, composto dai pazienti di RTV (14 converters e 19 non-converters), per confermare la sua capacità di distinguere tra converters e non-converters. Dopodiché, il metodo SSM-PCA è stato nuovamente applicato sui pazienti di RTV come set di derivazione, mentre quelli di GE erano invece il set di validazione. Risultando i due iRBDconvRP comparabili tra loro, abbiamo cercato un iRBDconvRP in tutta la coorte, confrontando tutti i pazienti converters e non-converters, indipendentemente dal centro di provenienza. Il metodo di derivazione è descritto nel dettaglio in altri lavori.<sup>67,68</sup> Non essendo disponibile un gruppo di validazione per il pattern derivato dall'intera coorte, abbiamo utilizzato un sistema di cross-validazione leave-one-out (LOOCV) sulle analisi SSM-PCA. Il LOOCV prevede di utilizzare come set di derivazione l'intero gruppo in esame, escludendo ogni volta un soggetto, modificando quindi la composizione del campione. Questo processo viene ripetuto n volte, con n=numero di soggetti nel gruppo. Considerando la nota eterogeneità dei dati <sup>18</sup>F-FDG PET nei pazienti iRBD<sup>69</sup>, abbiamo effettuato anche un bootstrap resampling (200 ripetizioni) per ottenere le regioni più stabili nell'iRBDconvRP. Il bootstrap resampling è un metodo di ricampionamento che permette di calcolare l'espressione dell'iRBDconvRP (z-score) senza conoscere se la sua sia una distribuzione normale o meno.

#### 5. Analisi statistica

Le caratteristiche demografiche, cliniche ed epidemiologiche dei gruppi sono state comparate utilizzando il t-test per le variabili continue e il chi-quadrato per quelle categoriche.

Per determinare sensibilità e specificità dell'iRBDconvRP è stata tracciata una curva ROC basata sugli z-scores dell'iRBDconvRP originale e dopo il LOOCV. È stato scelto come soglia il valore che dava le migliori sensibilità e specificità per tutta la coorte, utilizzando il metodo di Youden.

Dopodiché, è stata tracciata una curva Kaplan-Meyer di sopravvivenza per stimare il rischio di fenocconversione da iRBD ad  $\alpha$ -sinucleinopatia conclamata, utilizzando i valori di espressione dell'iRBDconvRP (LOOCV z-scores), categorizzati come al di sopra o al di sotto della soglia empirica stabilita precedentemente. Il tempo di sopravvivenza è stato stabilito come l'intervallo di tempo, espresso in mesi, tra la data della  $^{18}\text{F}$ -FDG PET e l'ultima visita di follow-up per i pazienti non-converter, e tra la data della  $^{18}\text{F}$ -FDG PET e la data di fenocconversione per i pazienti converters. L'Hazard Ratio (HR) è stato calcolato con una regressione di Cox, utilizzando età, sesso e centro come covariate.

Infine, è stata effettuata un'analisi di correlazione tra l'espressione del pattern (z-scores) e il tempo di sopravvivenza, utilizzando l'età come variabile confondente.

Tutte le analisi sono state eseguite utilizzando R versione 4.1.1 (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria) e Stata software (StataCorp. 2013. Stata Statistical Software: Release 13. College Station, TX: StataCorp LP).

## Risultati

### 1. Dati demografici e clinici

Come atteso, i pazienti non-converter erano più giovani, avevano punteggi più alti al MMSE, più bassi nel MDS-UPDRS III e presentavano più difficilmente MCI, rispetto ai converters. Inoltre, i pazienti di RTV avevano un punteggio MDS-UPDRS III più alto rispetto ai pazienti di GE. I dati demografici e clinici dei pazienti sono riportati in tabella 1 e 2.

**Tabella 1:** Caratteristiche demografiche e cliniche dei pazienti iRBD. I valori sono mostrati come media  $\pm$  deviazione standard; mediana [range].

|                        | Pazienti RBD convertiti | Pazienti RBD non convertiti | p value         |
|------------------------|-------------------------|-----------------------------|-----------------|
|                        | n = 30                  | n = 46                      |                 |
| Età (yr)               | 73 $\pm$ 6; 72 [61-84]  | 69 $\pm$ 6; 70 [56-82]      | <b>0.02</b>     |
| Anni di studio (yr)    | 10 $\pm$ 4; 8 [5-18]    | 11 $\pm$ 3.8; 8 [5-18]      | 0.85            |
| Sesso (uomini)         | 23 (76.7%)              | 38 (82.6%)                  | 0.53            |
| Punteggio MMSE         | 28 $\pm$ 2; 28 [24-30]  | 29 $\pm$ 1.3; 29 [24-30]    | <b>0.06</b>     |
| MCI (presenza)         | 19 (63.3%)              | 15(32%)                     | <b>&lt;0.01</b> |
| MDS-UPDRS-III          | 3 $\pm$ 1; 3 [0-8]      | 1 $\pm$ 2; 0 [0-7]          | <b>0.02</b>     |
| <b>Fenoconversione</b> |                         |                             |                 |
| Survival time (mesi)   | 21 $\pm$ 14; 18 [3-55]  | 33 $\pm$ 19; 29 [7-137]     | <b>&lt;0.01</b> |
| PD                     | 14 (46.7%)              | /                           |                 |
| DLB                    | 16 (53.3%)              | /                           |                 |
| MSA                    | 0                       | /                           |                 |

**Legenda:** DLB = Dementia with Lewy Bodies; MDS-UPDRS-III = Movement Disorders Society-sponsored revision of the Unified Parkinson's Disease Rating Scale, motor section; MMSE = Mini Mental State Examination; PD = Parkinson's Disease; iRBD = idiopathic REM sleep behaviour disorder; REM = Rapid eyes movements; MCI = Mild Cognitive Impairment

**Tabella 2:** Caratteristiche demografiche e cliniche dei pazienti iRBD di Genova (GE) e Roma Tor Vergata (RTV). I valori sono mostrati come media  $\pm$  deviazione standard; mediana [range].

|                        | pazienti RBD convertiti |                        | p-value         | pazienti RBD non convertiti |                        | p-value         |
|------------------------|-------------------------|------------------------|-----------------|-----------------------------|------------------------|-----------------|
|                        | GE                      | RTV                    |                 | GE                          | RTV                    |                 |
|                        | n = 16                  | n = 14                 |                 | n = 27                      | n = 19                 |                 |
| Età (yr)               | 74 $\pm$ 6; 73 [64-84]  | 71 $\pm$ 6; 71 [61-83] | 0.32            | 70 $\pm$ 6; 70 [56-82]      | 68 $\pm$ 5; 69 [58-78] | 0.18            |
| Anni di studio (yr)    | 10 $\pm$ 5; 8 [8-17]    | 11 $\pm$ 4; 11 [8-18]  | 0.53            | 10 $\pm$ 3.6; 8 [5-17]      | 11 $\pm$ 4; 11 [5-18]  | 0.50            |
| Sesso (donne)          | 12                      | 12                     | 0.51            | 2                           | 2                      | 0.74            |
| Punteggio MMSE         | 27 $\pm$ 2; 28 [25-30]  | 28 $\pm$ 2; 29 [24-30] | 0.40            | 29 $\pm$ 1.3; 29 [25-30]    | 28 $\pm$ 1; 28 [24-30] | 0.46            |
| MCI (presenza)         | 9 (56.3%)               | 10 (71.4%)             | 0.38            | 8 (29.6%)                   | 7 (36.8%)              | 0.61            |
| MDS-UPDRS-III score    | 2 $\pm$ 2; 0 [0-8]      | 4 $\pm$ 2; 4 [0-6]     | <b>&lt;0.01</b> | 1 $\pm$ 1; 0 [0-6]          | 2 $\pm$ 2; 1 [0-7]     | <b>&lt;0.01</b> |
| <b>Fenoconversione</b> |                         |                        |                 |                             |                        |                 |
| Survival Time          | 22 $\pm$ 15; 23 [3-55]  | 20 $\pm$ 12; 15 [8-45] | 0.65            | 33 $\pm$ 23; 26 [14-137]    | 32 $\pm$ 12; 30 [7-54] | 0.80            |
| PD                     | 5 (31.2%)               | 9 (64.3%)              |                 | /                           | /                      |                 |
| DLB                    | 11 (68.7%)              | 5 (35.7%)              |                 | /                           | /                      |                 |
| MSA                    | 0                       | 0                      |                 | /                           | /                      |                 |

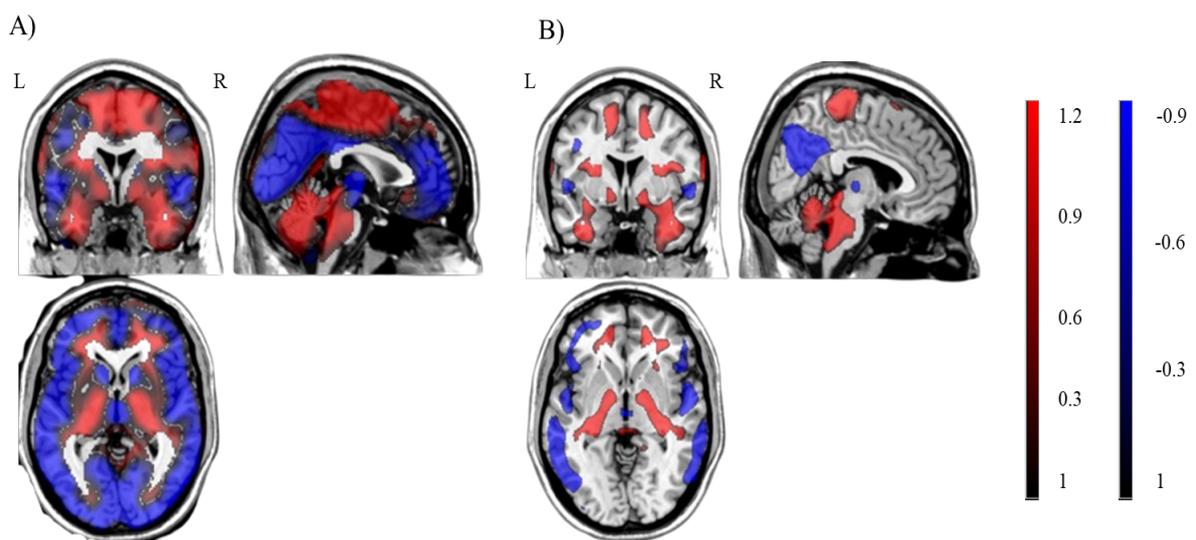
**Legenda:** DLB = Dementia with Lewy Bodies; MDS-UPDRS-III = Movement Disorders Society-sponsored revision of the Unified Parkinson's Disease Rating Scale, motor section; MMSE = Mini Mental State Examination; PD = Parkinson's Disease; iRBD = idiopathic REM sleep behaviour disorder; REM = Rapid eyes movements; MCI = Mild Cognitive Impairment

## 2. Derivazione e validazione di iRBDconvRP

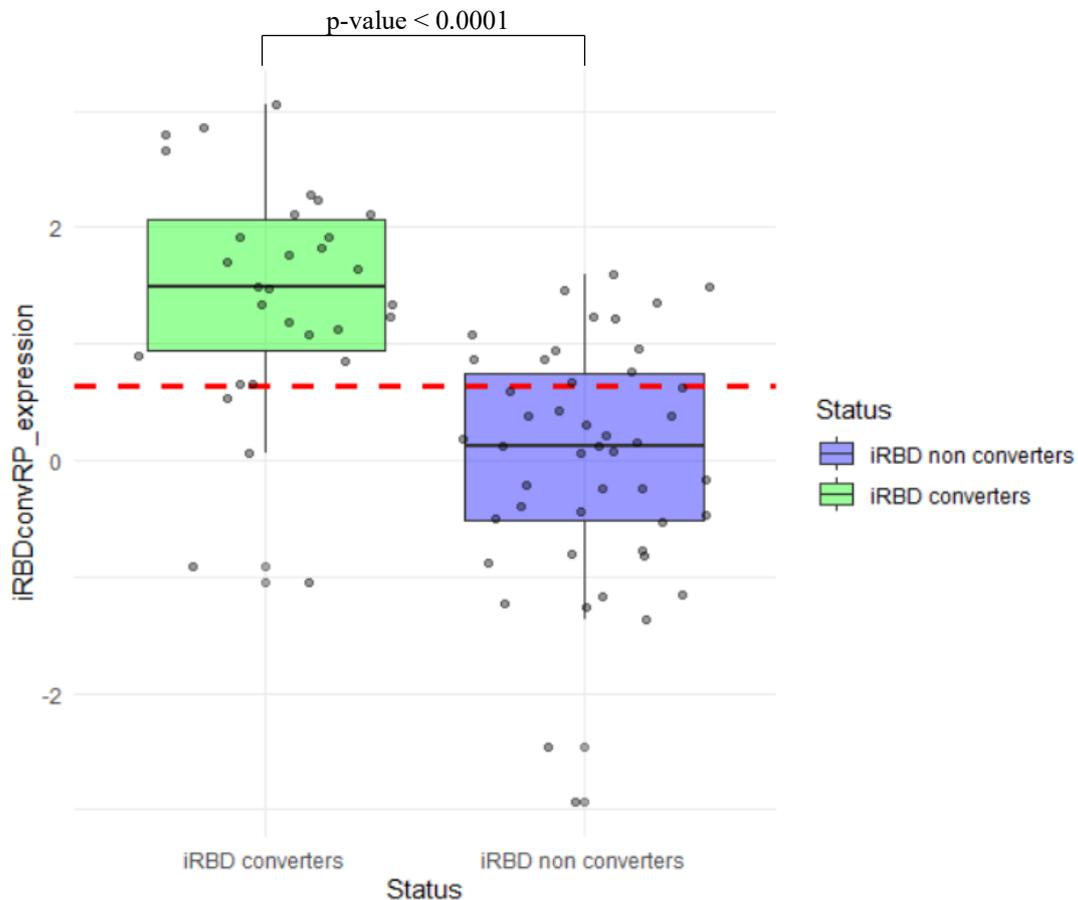
Dopo aver applicato l'algoritmo all'intera coorte di studio, le prime due componenti principali (PCs) erano in grado di spiegare il 50% della varianza. Una combinazione lineare costruita con PC1 e PC2 (varianza spiegata: 36.42% e 10.59% rispettivamente) poteva discriminare al meglio tra converters e non-converters nel modello di regressione logistica e veniva quindi chiamata iRBDconvRP. Ogni voxel presente nell'iRBDconvRP contribuisce all'iRBDconvRP subject score (**Figura 1A**). I voxel con valori che, dopo il bootstrap, rientravano ancora nell'intervallo di confidenza del 95% sono stati sovrapposti a un modello MRI in T1 per avere una rappresentazione visiva del pattern (**Figura 1B**), che mostra: relativo ipermetabolismo in cervelletto, tronco encefalico, corteccia cingolata anteriore, aree temporali media e mesiale, area postcentrale e nucleo lenticolare. Relativo ipometabolismo invece nel cingolato posteriore, precuneo, giro frontale medio e aree parietali.

I subject z-scores LOOCV dell'iRBDconvRP erano nettamente più elevati nei pazienti che avevano convertito ad una  $\alpha$ -sinucleinopatia conclamata, rispetto a quelli che non avevano convertito ( $p$ -value < 0,0001). (**Figura 2**).

**Figura 1:** Risultati dell'analisi con SSM-PCA. A) Rappresentazione dell'iRBDconvRP post SSM-PCA sovrapposto a un modello MRI in T1, senza l'applicazione di una soglia per l'intervallo di confidenza. B) Rappresentazione dei voxel stabili dell'iRBDconvRP sovrapposti a un modello MRI in T1, dopo l'applicazione del bootstrap con un intervallo di confidenza del 95% escludente lo zero. Il rosso indica i voxel positivi, il blu i voxel negativi.



**Figura 2:** Distribuzione dei subject z-scores LOOCV dell'iRBDconvRP nei due gruppi. La linea rossa tratteggiata rappresenta la soglia di discriminazione ottimale (cutoff empirico = 0.6414).



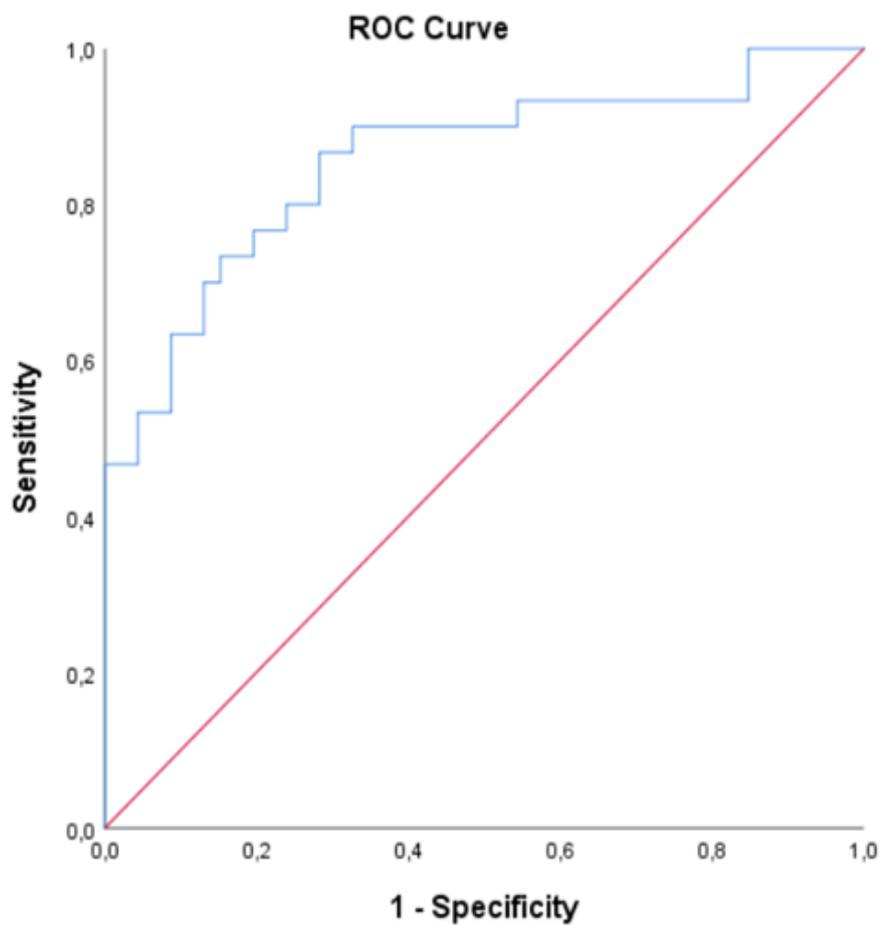
### 3. Capacità di prevedere la fenocconversione dell'iRBDconvRP

È stata tracciata una curva ROC sulla base dei subject z-scores LOOCV dei converters e dei non-converters, con un'area sotto la curva (AUC) di 0.85 (sensibilità: 87%, specificità: 72%, **Figura 3**). Le curve di sopravvivenza di Kaplan-Meier sono riportate in **Figura 4**. Il modello predittivo era statisticamente significativo ( $p < 0.001$ ).

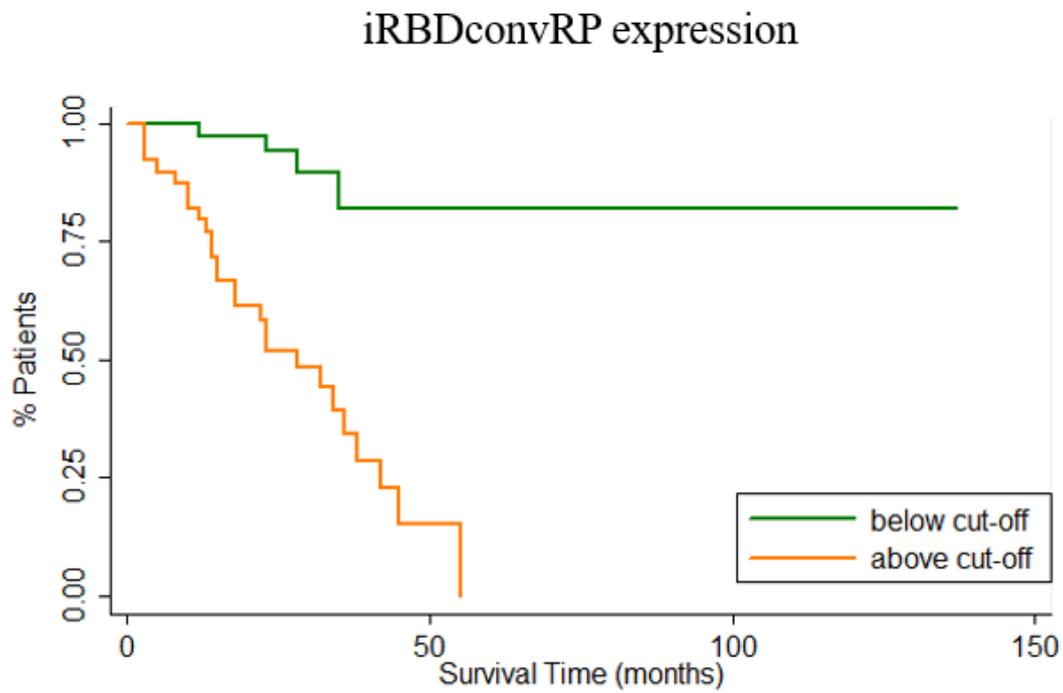
Effettuando un'analisi di regressione di Cox, iRBDconvRP ha mostrato un elevato potere predittivo nell'identificare pazienti che avrebbero convertito, con un HR corretto di 7.42 (C.I. 95%: 2.5-21.4).

L'espressione di iRBDconvRP ha mostrato una significativa correlazione inversa con il tempo di sopravvivenza ( $r = -0.320$ ;  $p = 0.005$ , **Figura 5**).

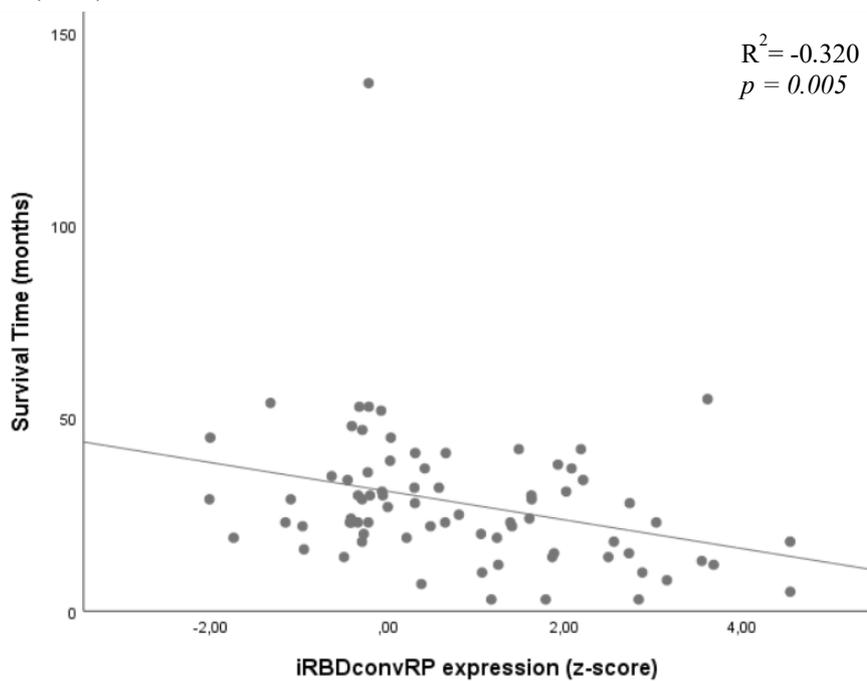
**Figura 3:** Risultati dell'analisi ROC condotta tra subject scores LOOCV di converters e non-converters. (AUC = 0.85, sensibilità: 87%; specificità: 72%)



**Figura 4:** Risultati dell'analisi di sopravvivenza dell'espressione di iRBDconvRP (LOOCV z-scores)  
Linea verde = espressione di iRBDconvRP (LOOCV z-scores) al di sotto del cut-off empirico ottimale.  
Linea arancione = espressione di iRBDconvRP (LOOCV z-scores) al di sopra del cut-off empirico ottimale.



**Figura 5:** Risultati della correlazione tra espressione di iRBDconvRP (LOOCV z-scores) e tempo di sopravvivenza (mesi).



## Discussione

In questo studio, abbiamo derivato e validato un pattern metabolico cerebrale che mostra i cambiamenti nel metabolismo glucidico associati a fenocconversione da iRBD ad  $\alpha$ -sinucleinopatia conclamata, e l'abbiamo denominato iRBDconvRP. Al fine di ottenere il pattern, è stato applicato l'algoritmo SSM-PCA sui dati  $^{18}\text{F}$ -FDG PET di 30 pazienti con iRBD, che hanno convertito ad  $\alpha$ -sinucleinopatia (14 PD e 16 DLB), e 46 che invece non hanno convertito. iRBDconvRP si è mostrato in grado di predire la fenocconversione nel tempo da iRBD a PD o DLB, con un elevato HR (7.42).

In questo studio, l'iRBDconvRP è risultato essere caratterizzato da relativo iper-metabolismo glucidico in cervelletto, tronco encefalico, corteccia cingolata anteriore, corteccia temporale media e mesiale, aree postcentrali e nucleo lenticolare, e di relativo ipo-metabolismo in precuneo, corteccia cingolata posteriore, giro frontale medio e nelle aree parietali. Tale pattern si sovrappone parzialmente con il PDRP descritto in alcuni studi precedenti, che mostrava relativo iper-metabolismo in putamen/pallido, talamo, ponte e corteccia motoria, e ipo-metabolismo invece nella corteccia premotoria, nelle aree associative parietali e nell'area supplementare motoria.<sup>67,70,71</sup> Al tempo stesso, mostra alcuni aspetti comuni al pattern glucidico cerebrale tipico dei pazienti con DLB.<sup>72</sup>

È ampiamente riconosciuto che molte malattie neurodegenerative, come PD<sup>33,45,73</sup>, DLB<sup>72</sup> e anche iRBD<sup>67</sup>, siano caratterizzate da pattern metabolici specifici per ciascuna di esse, derivati utilizzando dati  $^{18}\text{F}$ -FDG PET.

In particolare, è stato dimostrato come il PDRP sia maggiormente espresso nei pazienti con iRBD, rispetto ai controlli sani,<sup>74</sup> e come tale espressione sia superiore durante il follow-up, rispetto alla prima visita.<sup>75</sup> Questo dato suggerisce che la rappresentazione del pattern nei pazienti aumenti con il passare del tempo, andando di pari passo con la progressione di malattia, a mano a mano che si passa da uno stato prodromico a uno di patologia conclamata. Infatti, è stato supposto che il PDRP corrisponda a uno stadio più avanzato dell'RBD RP, vista la loro parziale sovrapposizione topografica.<sup>70</sup> In accordo con questa teoria, in un altro recente lavoro, è stato visto che l'espressione dell'RBD RP diminuisce con il progredire della malattia, mentre quella del PDRP aumenta.<sup>76</sup> Questo dato sottolinea come la scelta del pattern da utilizzare sia cruciale nel monitorare la progressione di malattia.

Holtbernd et al. hanno evidenziato un aumento nel tempo dell'espressione del PDRP in due gruppi di pazienti con iRBD (10 e 17 individui rispettivamente), rispetto a controlli sani. In

aggiunta, l'espressione del PDRP in quei pazienti che al follow up (5 anni) sono successivamente fenocconvertiti a PD/DLB era maggiore rispetto a chi non era fenocconvertito.<sup>77</sup> Tuttavia, i pazienti con iRBD sono fortemente eterogenei<sup>69</sup> e circa metà di essi fenocconverte a DLB. Per tale motivo il PDRP potrebbe non essere l'opzione migliore per identificare la fenocconversione. In questo studio si è voluto tentare un approccio diverso, cercando un pattern che rispecchiasse il rischio di conversione ad  $\alpha$ -sinucleinopatia a medio-breve termine, indipendentemente dalla patologia sviluppata (PD o DLB). Parliamo di rischio a medio-breve termine perché, essendo il tempo medio di conversione nei nostri pazienti inferiore ai 2 anni, è molto probabile che il pattern derivato in questo studio rifletta questo e non un rischio complessivo di fenocconversione. Infatti, tra i pazienti con iRBD che non convertono ci sono verosimilmente sia quelli che rimarranno effettivamente stabili (RBD isolato o idiopatico), sia quelli che fenocconvertiranno più tardivamente (late-converters).

Un recente studio multicentrico ha indagato i correlati metabolici degli aspetti clinici caratteristici di DLB, trovando che la presenza di RBD è associata ad alterazioni metaboliche bilaterali nelle corteccie parieto-occipitali, ventro-laterali frontali e nel precuneo,<sup>78</sup> in accordo con il pattern osservato in questo studio con l'iRBDconvRP. È da notare inoltre come l'iRBDconvRP si sovrapponga solo parzialmente con l'RBD RP precedentemente descritto, che include componenti positive in cervelletto, ippocampo, tronco encefalico e corteccia sensorimotoria, e componenti negative nelle corteccie parietali, temporali e occipitali.<sup>67,76</sup> Nel nostro studio infatti, per derivare iRBDconvRP, abbiamo usato come gruppo di controllo i pazienti iRBD non-converters, invece che soggetti sani, in modo da ottenere un pattern privo delle componenti RBD RP, verosimilmente espresse in entrambi i gruppi, e che evidenziasse piuttosto lo stadio della malattia.

Nel nostro gruppo di pazienti, l'espressione di iRBDconvRP è stata in grado di predire efficacemente la fenocconversione, con un HR corretto di 7.42, superiore ai fattori di rischio finora noti. Infatti, i fattori di rischio clinici mostrano HRs tra 2 e 5<sup>33</sup>, mentre le alterazioni dopaminergiche presinaptiche hanno un HR di 5.71 secondo un recente studio multicentrico<sup>45</sup>. Questo risultato, se confermato in ulteriori studi, più grandi e multicentrici, significherebbe che la <sup>18</sup>F-FDG PET potrebbe essere uno tra i biomarkers più precisi di fenocconversione a medio-breve termine nei pazienti con iRBD, di conseguenza rappresenterebbe un importante criterio di inclusione in trials clinici su terapie modificanti il decorso di malattia. In aggiunta, l'espressione di iRBDconvRP ha mostrato una correlazione inversa con il tempo di sopravvivenza (inteso come mesi passati tra l'acquisizione della <sup>18</sup>F-FDG PET e la diagnosi di fenocconversione o la data dell'ultima visita di follow-up). Pertanto, questo potrebbe significare

che l'iRBDconvRP sarebbe utilizzabile anche come marker di progressione. Per confermare quest'ultima ipotesi sono tuttavia necessari ulteriori dati da osservazioni longitudinali.

In questo studio le caratteristiche cliniche e demografiche dei pazienti con iRBD sono in accordo con quanto emerso finora dalla letteratura: chi converte ha generalmente un'età più avanzata e maggiori alterazioni motorie e cognitive, rispetto a chi non converte<sup>33</sup>.

È da notare come i pazienti di RTV avessero alterazioni motorie più marcate, rispetto ai pazienti di GE, nonostante non ci fossero differenze in termini di età, istruzione, sesso, punteggi al MMSE o presenza di MCI tra i due gruppi. In accordo con questo dato alla base, i pazienti di RTV tendevano a convertire maggiormente a PD, mentre i pazienti di GE a DLB, anche se questa tendenza non ha raggiunto alcuna significatività statistica. In ogni caso, nonostante queste differenze, l'iRBDconvRP discrimina efficacemente tra converters e non-converters in entrambi i centri, suggerendo una certa affidabilità del pattern indipendentemente dall' $\alpha$ -sinucleinopatia sviluppata, una scoperta che richiede però conferma in campioni indipendenti. Questo studio presenta alcuni limiti. Il primo, è la limitata dimensione del campione, anche se il lavoro rappresenta il più grande studio longitudinale con <sup>18</sup>F-FDG PET condotto su pazienti iRBD finora. Il secondo, è che, mancando un gruppo di validazione per l'intera popolazione presa in esame (GE e RTV), abbiamo dovuto applicare un'analisi LOOCV per validare i risultati, come già fatto in precedenza in altri studi<sup>68,79</sup>. Il terzo, è l'assenza di una ulteriore analisi specificatamente mirata a studiare i pazienti iRBD che sono convertiti a DLB, rispetto a quelli che sono fenocconvertiti a PD, sia per il numero ristretto di pazienti, sia perché lo scopo dello studio era trovare un pattern legato al rischio di fenocconversione a medio-breve termine ma indipendente dalla patologia sviluppata. Infine, un'altra limitazione è data dalle differenti apparecchiature utilizzate nei due centri per l'acquisizione dei dati <sup>18</sup>F-FDG PET. Nonostante questi aspetti, trovare due iRBDconvRP da due centri separati, senza armonizzazione in fase di acquisizione, potrebbe anche corroborare i nostri risultati, indicando la solidità dei dati. In ogni caso, il centro di appartenenza è stato usato come una variabile confondente durante l'analisi statistica. Ulteriori studi longitudinali sono sicuramente necessari per confermare questi risultati ed eventualmente anche per differenziare pattern specifici per il rischio di conversione a una determinata  $\alpha$ -sinucleinopatia.

## Bibliografia

1. Schenck CH, Bundlie SR, Ettinger MG, Mahowald MW. *Chronic Behavioral Disorders of Human REM Sleep: A New Category of Parasomnia.*; 1986. <https://academic.oup.com/sleep/article/9/2/293/2747838>
2. Arnulf I. REM sleep behavior disorder: Motor manifestations and pathophysiology. *Movement Disorders*. 2012;27(6):677-689. doi:10.1002/mds.24957
3. Sforza E, Krieger J, Petiau C. REM sleep behavior disorder: clinical and physiopathological findings. *Sleep Medicine Reviews*. 1997;1(1):57-69. doi:10.1016/S1087-0792(97)90006-X
4. Olson EJ, Boeve BF, Silber MH. *Rapid Eye Movement Sleep Behaviour Disorder: Demographic, Clinical and Laboratory Findings in 93 Cases*. Vol 123.; 2000.
5. *REM Sleep Behavior Disorder: Clinical, Developmental, and Neuroscience Perspectives 16 Years After Its Formal Identification-Schenck et Al.* <https://academic.oup.com/sleep/article/25/2/120/2750056>
6. Arnulf I. REM sleep behavior disorder: Motor manifestations and pathophysiology. *Movement Disorders*. 2012;27(6):677-689. doi:10.1002/mds.24957
7. Ne Leclair-Visonneau L, Oudiette D, Gaynard B, Leu-Semenescu S, Arnulf I. Do the eyes scan dream images during rapid eye movement sleep? Evidence from the rapid eye movement sleep behaviour disorder model Abbreviations: EOG = electrooculography; PGO = ponto-geniculo-occipital; REM = rapid eye movement; RBD = REM sleep behaviour disorder. *A JOURNAL OF NEUROLOGY*. doi:10.1093/brain/awq110
8. Oudiette D, Leu-Semenescu S, Roze E, et al. A motor signature of REM sleep behavior disorder. *Movement Disorders*. 2012;27(3):428-431. doi:10.1002/mds.24044
9. Dauvilliers Y, Schenck CH, Postuma RB, et al. REM sleep behaviour disorder. *Nature Reviews Disease Primers*. 2018;4(1). doi:10.1038/s41572-018-0016-5
10. Postuma RB, Gagnon JF, Vendette M, Fantini ML, Massicotte-Marquez J, Montplaisir J. *Quantifying the Risk of Neurodegenerative Disease in Idiopathic REM Sleep Behavior Disorder*. Vol 72.; 2009. [www.neurology.org](http://www.neurology.org).
11. Claassen DO, Josephs KA, Ahlskog MJE, Silber MH, Tippmann-Peikert CM, Boeve BF. *REM Sleep Behavior Disorder Preceding Other Aspects of Synucleinopathies by up to Half a Century.*; 2010. [www.neurology.org](http://www.neurology.org).
12. Videnovic A, Ju YES, Arnulf I, et al. Clinical trials in REM sleep behavioural disorder: Challenges and opportunities. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*. 2020;91(7):740-749. doi:10.1136/JNNP-2020-322875
13. Wong JC, Li J, Pavlova M, et al. *Risk Factors for Probable REM Sleep Behavior Disorder A Community-Based Study.*; 2016.
14. Haba-Rubio J, Frauscher B, Marques-Vidal P, et al. Prevalence and determinants of rapid eye movement sleep behavior disorder in the general population. *SLEEPJ*. Published online 2018:1-8. doi:10.1093/sleep/zsx197
15. *REM Sleep Behavior Disorder-Schenck et Al.* <https://academic.oup.com/sleep/article/25/2/120/2750056>
16. REM Sleep Characteristics in Narcolepsy and RBD.
17. Torontali ZA, Fraigne JJ, Sanghera P, Horner R, Peever J. The Sublaterodorsal Tegmental Nucleus Functions to Couple Brain State and Motor Activity during REM Sleep and Wakefulness. *Current Biology*. 2019;29(22):3803-3813.e5. doi:10.1016/j.cub.2019.09.026

18. Siegel JM. The stuff dreams are made of: anatomical substrates of REM sleep HHS Public Access. doi:10.1038/nn0606-721
19. Holmes CJ, Jones BE. Importance of cholinergic, GABAergic, serotonergic and other neurons in the medial medullary reticular formation for sleep-wake states studied by cytotoxic lesions in the cat. *Neuroscience*. 1994;62(4):1179-1200. doi:10.1016/0306-4522(94)90352-2
20. Iranzo A, Tolosa E, Gelpi E, et al. Neurodegenerative disease status and post-mortem pathology in idiopathic rapid-eye-movement sleep behaviour disorder: An observational cohort study. *The Lancet Neurology*. 2013;12(5):443-453. doi:10.1016/S1474-4422(13)70056-5
21. Hayashi Y, Kashiwagi M, Yasuda K, et al. *Cells of a Common Developmental Origin Regulate REM/Non-REM Sleep and Wakefulness in Mice*. <https://www.science.org>
22. Blumberg MS, Plumeau AM. A new view of “dream enactment” in REM sleep behavior disorder HHS Public Access. *Sleep Med Rev*. 2016;30:34-42. doi:10.1016/j.smrv.2015.12.002
23. de Carli F, Proserpio P, Morrone E, et al. Activation of the Motor Cortex during Phasic Rapid Eye Movement Sleep. doi:10.1002/ana
24. Cochen V, Cock D, Vidailhet M, et al. Restoration of normal motor control in Parkinson’s disease during REM sleep. *Brain*. 2007;130:450-456. doi:10.1093/brain/awl363
25. Kong Chinese H, Zhang J, Ping Lam S, et al. *Diagnosis of REM Sleep Behavior Disorder by Video-Polysomnographic Study: Is One Night Enough?-Zhang et Al*. Vol 31.; 2008. <https://academic.oup.com/sleep/article/31/8/1179/2454262>
26. Boeve B, Silber M, Ferman T, et al. Clinicopathologic correlations in 172 cases of rapid eye movement sleep behavior disorder with or without a coexisting neurologic disorder. *Sleep Med*. 2013;14(8):754-762. doi:10.1016/j.sleep.2012.10.015
27. Schenck CH, Bundlie SR, Mahowald MW. *Delayed Emergence of a Parkinsonian Disorder in 38% of 29 Older Men Initially Diagnosed with Idiopathic Rapid Eye Movement Sleep Behavior Disorder.*; 1996.
28. Iranzo et al. RBD as an early marker for a neurodegenerative disorder. *Lancet neurol*. Published online 2006.
29. Postuma RB, Gagnon JF, Vendette M, Fantini ML, Massicotte-Marquez J, Montplaisir J. *Quantifying the Risk of Neurodegenerative Disease in Idiopathic REM Sleep Behavior Disorder*. Vol 72.; 2009. [www.neurology.org](http://www.neurology.org).
30. Schenck CH, Boeve BF, Mahowald MW. Delayed emergence of a parkinsonian disorder or dementia in 81% of older men initially diagnosed with idiopathic rapid eye movement sleep behavior disorder: a 16-year update on a previously reported series. *Sleep Medicine*. 2013;14(8):744-748. doi:10.1016/J.SLEEP.2012.10.009
31. Goldman JG, Postuma R. Premotor and non-motor features of Parkinson’s disease. doi:10.1097/WCO.0000000000000112
32. Arnaldi D, Antelmi E, st. Louis EK, Postuma RB, Arnulf I. Idiopathic REM sleep behavior disorder and neurodegenerative risk: To tell or not to tell to the patient? How to minimize the risk? *Sleep Medicine Reviews*. 2017;36:82-95. doi:10.1016/j.smrv.2016.11.002
33. Postuma RB, Iranzo A, Hu M, et al. Risk and predictors of dementia and parkinsonism in idiopathic REM sleep behaviour disorder: A multicentre study. *Brain*. 2019;142(3):744-759. doi:10.1093/BRAIN/AWZ030
34. Heller J, Brcina N, Dogan I, et al. Brain imaging findings in idiopathic REM sleep behavior disorder (RBD) – A systematic review on potential biomarkers for

- neurodegeneration. *Sleep Medicine Reviews*. 2017;34:23-33. doi:10.1016/J.SMRV.2016.06.006
35. Nirenberg MJ, Vaughan RA, Uhl GR, Kuhar MJ, Pickeli VM. *The Dopamine Transporter Is Localized to Dendritic and Axonal Plasma Membranes of Nigrostriatal Dopaminergic Neurons*. Vol 76. National Institute on Drug Abuse; 1996.
  36. Brigo F, Turri G, Tinazzi M. 123I-FP-CIT SPECT in the differential diagnosis between dementia with Lewy bodies and other dementias. *Journal of the Neurological Sciences*. 2015;359(1-2):161-171. doi:10.1016/j.jns.2015.11.004
  37. Eisensehr I, Linke R, Tatsch K, et al. *Increased Muscle Activity During Rapid Eye Movement Sleep Correlates with Decrease of Striatal Presynaptic Dopamine Transporters*. Vol 26.; 2003. <https://academic.oup.com/sleep/article/26/5/507/2707883>
  38. Eisensehr I, Linke R, Noachtar S, Schwarz J, Gildehaus FJ, Tatsch K. *Reduced Striatal Dopamine Transporters in Idiopathic Rapid Eye Movement Sleep Behaviour Disorder Comparison with Parkinson's Disease and Controls*. Vol 123.; 2000.
  39. Stiasny-Kolster K, Doerr Y, Möller JC, et al. Combination of “idiopathic” REM sleep behaviour disorder and olfactory dysfunction as possible indicator for a-synucleinopathy demonstrated by dopamine transporter FP-CIT-SPECT. # *Guarantors of Brain*. 2005;128(1):126-137. doi:10.1093/brain/awh322
  40. Bauckneht M, Chincarini A, de Carli F, et al. Presynaptic dopaminergic neuroimaging in REM sleep behavior disorder: A systematic review and meta-analysis. *Sleep Medicine Reviews*. 2018;41:266-274. doi:10.1016/J.SMRV.2018.04.001
  41. Iranzo A, Valldeoriola F, Molinuevo JL, et al. Serial dopamine transporter imaging of nigrostriatal function in patients with idiopathic rapid-eye-movement sleep behaviour disorder: a prospective study. *The Lancet Neurology*. 2011;10:797-805. doi:10.1016/S1474
  42. Iranzo A, Lomeña F, Duch J, et al. Decreased striatal dopamine transporter uptake and substantia nigra hyperechogenicity as risk markers of synucleinopathy in patients with idiopathic rapid-eye-movement sleep behaviour disorder: a prospective study. *The Lancet Neurology*. 2010;9:1070-1077. doi:10.1016/S1474
  43. Iranzo A, Santamaría J, Valldeoriola F, et al. Dopamine transporter imaging deficit predicts early transition to synucleinopathy in idiopathic rapid eye movement sleep behavior disorder. *Annals of Neurology*. 2017;82(3):419-428. doi:10.1002/ana.25026
  44. Li Y, Kang W, Yang Q, et al. *Predictive Markers for Early Conversion of IRBD to Neurodegenerative Synucleinopathy Diseases*.; 2017.
  45. Arnaldi D, Chincarini A, Hu MT, et al. Dopaminergic imaging and clinical predictors for phenoconversion of REM sleep behaviour disorder. *Brain*. 2021;144(1):278-287. doi:10.1093/brain/awaa365
  46. Génier Marchand D, Postuma RB, Escudier F, et al. How does dementia with Lewy bodies start? prodromal cognitive changes in REM sleep behavior disorder. *Annals of Neurology*. 2018;83(5):1016-1026. doi:https://doi.org/10.1002/ana.25239
  47. Friston KJ. Functional and Effective Connectivity: A Review. *Brain Connectivity*. 2011;1(1):13-36. doi:10.1089/brain.2011.0008
  48. Pagani M, Giuliani A, Öberg J, et al. Predicting the transition from normal aging to Alzheimer's disease: A statistical mechanistic evaluation of FDG-PET data. *Neuroimage*. 2016;141:282-290. doi:10.1016/J.NEUROIMAGE.2016.07.043
  49. Pagani M, Nobili F, Morbelli S, et al. Early identification of MCI converting to AD: a FDG PET study. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*. 2017;44(12):2042-2052. doi:10.1007/s00259-017-3761-x
  50. Meles SK, Pagani M, Arnaldi D, et al. The Alzheimer's disease metabolic brain pattern in mild cognitive impairment. doi:10.1177/0271678X17732508

51. Meles SK, Tang CC, Teune LK, et al. Abnormal metabolic pattern associated with cognitive impairment in Parkinson's disease: a validation study. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. 2015;35:1478-1484. doi:10.1038/jcbfm.2015.112
52. Schindlbeck KA, Eidelberg D. Network imaging biomarkers: insights and clinical applications in Parkinson's disease. *The Lancet Neurology*. 2018;17(7):629-640. doi:10.1016/S1474-4422(18)30169-8
53. Ma Y, Tang C, Spetsieris PG, Dhawan V, Eidelberg D. Abnormal metabolic network activity in Parkinson's disease: test-retest reproducibility. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. 2007;27:597-605. doi:10.1038/sj.jcbfm.9600358
54. Eidelberg D. Metabolic brain networks in neurodegenerative disorders: a functional imaging approach. *Trends in Neurosciences*. 2009;32(10):548-557. doi:10.1016/J.TINS.2009.06.003
55. Sanne K. Meles et al. FDG PET, Dopamine TransporterSPECT, and Olfaction: CombiningBiomarkers in REM Sleep Behavior Disorder. *Movement Disorders*. 2017;32(10). doi:10.1002/mds.27094
56. Wu P, Yu H, Peng S, et al. Consistent abnormalities in metabolic network activity in idiopathic rapid eye movement sleep behaviour disorder. *A JOURNAL OF NEUROLOGY*. doi:10.1093/brain/awu290
57. Meles SK, Renken RJ, Janzen A, et al. The Metabolic Pattern of Idiopathic REM Sleep Behavior Disorder Reflects Early-Stage Parkinson Disease. *Journal of Nuclear Medicine*. 2018;59(9):1437-1444. doi:10.2967/jnumed.117.202242
58. Kim R, Lee JY, Kim YK, et al. Longitudinal Changes in Isolated Rapid Eye Movement Sleep Behavior Disorder-Related Metabolic Pattern Expression. *Movement Disorders*. 2021;36(8):2021. doi:10.1002/mds.28592
59. Shin JH, Lee JY, Kim YK, et al. Parkinson Disease-Related Brain Metabolic Patterns and Neurodegeneration in Isolated REM Sleep Behavior Disorder. *Neurology*. 2021;97(4):e378. doi:10.1212/WNL.0000000000012228
60. Berry RB, Budhiraja R, Gottlieb DJ, et al. Rules for Scoring Respiratory Events in Sleep: Update of the 2007 AASM Manual for the Scoring of Sleep and Associated Events. *Journal of Clinical Sleep Medicine*. 2012;8(5):597-619. doi:10.5664/jcsm.2172
61. Postuma RB, Berg D, Stern M, et al. MDS clinical diagnostic criteria for Parkinson's disease. *Movement Disorders*. 2015;30(12):1591-1601. doi:https://doi.org/10.1002/mds.26424
62. McKeith IG, Boeve BF, Dickson DW, et al. Diagnosis and management of dementia with Lewy bodies. *Neurology*. 2017;89(1):88-100. doi:10.1212/WNL.0000000000004058
63. Gilman S, Wenning FG, Low P, et al. *Second Consensus Statement on the Diagnosis of Multiple System Atrophy Background: A Consensus Conference on Multiple System Atrophy (MSA) in 1998 Established.*; 2008.
64. Varrone A, Asenbaum S, vander Borgh T, et al. EANM procedure guidelines for PET brain imaging using [18F]FDG, version 2. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*. 2009;36(12):2103. doi:10.1007/s00259-009-1264-0
65. della Rosa PA, Cerami C, Gallivanone F, et al. A Standardized [18F]-FDG-PET Template for Spatial Normalization in Statistical Parametric Mapping of Dementia. *Neuroinformatics*. 2014;12(4):575-593. doi:10.1007/s12021-014-9235-4
66. Spetsieris PG, Ko JH, Tang CC, et al. Metabolic resting-state brain networks in health and disease. doi:10.1073/pnas.1411011112

67. Meles SK, Renken RJ, Janzen A, et al. The Metabolic Pattern of Idiopathic REM Sleep Behavior Disorder Reflects Early-Stage Parkinson Disease. *J Nucl Med*. 2018;59:1437-1444. doi:10.2967/jnumed.117.202242
68. Meles SK, Kok JG, de Jong BM, et al. The cerebral metabolic topography of spinocerebellar ataxia type 3. *NeuroImage: Clinical*. 2018;19:90-97. doi:10.1016/j.nicl.2018.03.038
69. Arnaldi D, Meles SK, Giuliani A, et al. Brain Glucose Metabolism Heterogeneity in Idiopathic REM Sleep Behavior Disorder and in Parkinson's Disease. *Journal of Parkinson's Disease*. 2019;9:229-239. doi:10.3233/JPD-181468
70. Shin JH, Lee JY, Kim YK, et al. Parkinson Disease-Related Brain Metabolic Patterns and Neurodegeneration in Isolated REM Sleep Behavior Disorder. *Neurology*. 2021;97(4):e378. doi:10.1212/WNL.00000000000012228
71. Meles SK, Tang CC, Teune LK, et al. Abnormal metabolic pattern associated with cognitive impairment in Parkinson's disease: A validation study. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*. 2015;35(9):1478-1484. doi:10.1038/JCBFM.2015.112
72. Morbelli S, Chincarini A, Brendel M, et al. Metabolic patterns across core features in dementia with lewy bodies. *Annals of Neurology*. 2019;85(5):715-725. doi:https://doi.org/10.1002/ana.25453
73. Zhang H, Iranzo A, Högl B, et al. Risk Factors for Phenoconversion in Rapid Eye Movement Sleep Behavior Disorder. *Annals of Neurology*. 2022;91(3):404-416. doi:https://doi.org/10.1002/ana.26298
74. Meles SK, Vadasz D, Renken RJ, et al. FDG PET, dopamine transporter SPECT, and olfaction: Combining biomarkers in REM sleep behavior disorder. *Movement Disorders*. 2017;32(10):1482-1486. doi:https://doi.org/10.1002/mds.27094
75. Kogan R v, Janzen A, Meles SK, et al. Four-Year Follow-up of [18F]Fluorodeoxyglucose Positron Emission Tomography–Based Parkinson's Disease–Related Pattern Expression in 20 Patients with Isolated Rapid Eye Movement Sleep Behavior Disorder Shows Prodromal Progression. *Movement Disorders*. 2021;36(1):230-235. doi:https://doi.org/10.1002/mds.28260
76. Kim R, Lee JY, Kim YK, et al. Longitudinal Changes in Isolated Rapid Eye Movement Sleep Behavior Disorder-Related Metabolic Pattern Expression. *Movement Disorders*. 2021;36(8):2021. doi:10.1002/mds.28592
77. Holtbernd F, Gagnon JF, Postuma RB, et al. Abnormal metabolic network activity in REM sleep behavior disorder. *Neurology*. 2014;82(7):620. doi:10.1212/WNL.0000000000000130
78. Morbelli S, Chincarini A, Brendel M, et al. Metabolic patterns across core features in dementia with lewy bodies. *Annals of Neurology*. 2019;85(5):715-725. doi:https://doi.org/10.1002/ana.25453
79. Teune LK, Renken RJ, Mudali D, et al. Validation of parkinsonian disease-related metabolic brain patterns. *Movement Disorders*. 2013;28(4):547-551. doi:https://doi.org/10.1002/mds.25361

## Ringraziamenti

Vorrei ringraziare il mio relatore, il professor Dario Arnaldi, che mi ha permesso di seguire questo lavoro nel corso dell'ultimo anno e mezzo, sempre con grande disponibilità e comprensione nei miei confronti. Accanto a lui vorrei ringraziare Pietro Mattioli, che è stato un po' il mio punto di riferimento dall'inizio e il cui supporto è stato fondamentale durante la stesura di questa tesi.

Vorrei ringraziare i miei genitori, che mi hanno permesso di affrontare con serenità questi anni essendo sempre fonte di sostegno (si intende psicologico, ma anche economico in realtà) e mai di ulteriori preoccupazioni, e mia sorella Irene, che è sempre stata pronta ad aiutarmi e consigliarmi.

Vorrei ringraziare tanto Anita, che in questi anni è stata il mio punto fermo e una grande fonte di serenità e amore. Soprattutto negli ultimi mesi ha saputo incoraggiarmi e supportarmi come nessun altro.

Un pensiero lo rivolgo alla mia famiglia, ai miei cari nonni, che con la passione con cui mi hanno sempre parlato della propria professione mi saranno sicuramente d'esempio, e specialmente a mia nonna Angela, che è stata con me durante il percorso ma, per poco più di un mese, non al traguardo.

Infine, voglio ringraziare la famiglia di Anita, i miei amici e compagni di studio per aver condiviso con me questi difficili ma appaganti anni.