

Università degli Studi di Genova

Scuola di Scienze Mediche e Farmaceutiche
Corso di Laurea Magistrale in Medicina e Chirurgia



Tesi di Laurea

Caratterizzazione clinica e strumentale dello spettro fenotipico associato a RFC1 nella sindrome CANVAS

Relatrice: **Prof.ssa Marina Grandis**

Correlatrice: **Dott.ssa Sara Massucco**

Candidata: **Matilde Bianchi**

Anno Accademico 2025-2026

A Barbara e Gabriele

Sommario

Riassunto.....	9
1. Introduzione	12
1.1 Il sistema nervoso periferico	12
1.1.1 Generalità e anatomia.....	12
1.1.2 Fisiologia e funzioni.....	13
1.2 Cervelletto: anatomia e organizzazione funzionale	15
1.3 Le neuropatie periferiche	17
1.3.1 Inquadramento clinico	17
1.3.2. Epidemiologia	17
1.3.3. Eziologia e classificazione.....	18
1.4 Neuropatie ad esordio tardivo	22
1.4.1 Modificazioni del SNP correlate all'età	22
1.4.2 Polineuropatia assonale idiopatica cronica (CIAP) e substrato genetico.....	23
1.5 Sindrome CANVAS	27
1.5.1 Definizione.....	27
1.5.2 Epidemiologia	27
1.5.3 Eziologia	28
1.5.4. Quadro clinico	30
1.5.5 Indagini diagnostiche	31
1.5.6 Diagnosi Differenziale	35
1.5.7 Fenotipi atipici associati a espansioni patogenetiche bialleliche nel gene <i>RFC1</i>	42
1.6 Razionale e scopo dello studio.....	49

2. Materiali e metodi	51
2.1 Criteri di inclusione e di esclusione.....	51
2.2 Raccolta delle informazioni anamnestiche	52
2.3 Esame neurologico e scale cliniche	52
2.3.1 Scala clinica per la neuropatia	53
2.3.2 Scala per l'atassia	54
2.3.3 Scale e questionari per sintomi e segni autonomici.....	54
2.4 Indagini neurofisiologiche per lo studio delle grandi fibre	55
2.5 Indagini neurofisiologiche per lo studio delle piccole fibre	56
2.6 Valutazione della funzione sudomotoria (Sudoscan).....	57
2.7 Biopsia di cute.....	58
2.8 Test neuropsicologici	58
2.9 Elettroencefalografia (EEG)	60
2.10 Risonanza magnetica (MRI) cerebrale	61
2.11 [18F] FDG PET cerebrale.....	62
2.12 Raccolta dei dati e creazione del dataset	63
2.13 Analisi dei dati	63
3. Risultati	67
3.1 Caratteristiche demografiche e cliniche della popolazione studiata	67
3.2 Scale per la valutazione della gravità di neuropatia e atassia	70
3.2 Questionari per la valutazione dei sintomi e segni autonomici	72
3.3 Profilo neurofisiologico.....	74

3.4 Il coinvolgimento delle piccole fibre	78
3.4.1 Dolore neuropatico	78
3.4.2 Potenziali evocati nocicettivi (NEP) e potenziali evocati dolore-correlati (PREP)	79
3.4.3 Valutazione della funzione sudomotoria (Sudoscan)	80
3.4.4 Biopsia di cute e densità di fibre nervose intraepidermiche (IENFD)	82
3.5 Profilo neuropsicologico	83
3.6 EEG	86
3.7 MRI cerebrale	87
3.8 [¹⁸F] FDG PET	91
4. <i>Discussione</i>	92
4.1 Le piccole fibre sono coinvolte nella CANVAS/malattia correlata a RFC1	93
4.2 Segni di coinvolgimento del motoneurone superiore o inferiore non escludono una diagnosi di CANVAS/malattia correlata a RFC1	96
4.3 Deficit cognitivi subclinici potrebbero essere sottostimati nella CANVAS/malattia correlata a RFC1	98
4.4 I pazienti con CANVAS/malattia correlata a RFC1 presentano un pattern di atrofia cerebellare regionale	100
4.5 Limiti dello studio e prospettive future	104
5. <i>Conclusione</i>	105
<i>Bibliografia</i>	106
<i>Appendice</i>	1
<i>Ringraziamenti</i>	1

Riassunto

La CANVAS (*Cerebellar Ataxia, Neuropathy, Vestibular Areflexia Syndrome*) è una sindrome neurodegenerativa geneticamente determinata ad esordio tardivo, tradizionalmente definita dalla triade di atassia cerebellare, neuronopatia sensitiva e areflessia vestibolare bilaterale. La causa più frequente è l'espansione di una sequenza pentanucleotidica a livello dell'introne 2 del gene *Replication Factor C subunit 1 (RFC1)*.

Obiettivo del presente studio è caratterizzare in modo multidimensionale lo spettro fenotipico della CANVAS/malattia RFC1-correlata in una coorte di pazienti con diagnosi geneticamente confermata, con attenzione alle manifestazioni che vanno oltre la triade classica.

Il protocollo valutativo comprendeva esame neurologico con scale cliniche per la quantificazione della gravità di neuropatia e atassia, questionari per la valutazione dei sintomi autonomici, studio neurofisiologico della velocità di conduzione nervosa periferica, elettromiografia, potenziali evocati motori, Sudoscan per la valutazione della funzione sudomotoria, potenziali evocati dolore-correlati e potenziali evocati nocicettivi per la valutazione delle fibre nervose di piccolo calibro, biopsia di cute per la quantificazione della densità di fibre nervose intraepidermiche (IENFD), valutazione neuropsicologica standardizzata, elettroencefalografia, risonanza magnetica (MRI) cerebrale con sub-segmentazione volumetrica cerebellare e tomografia a emissione di positroni con [^{18}F]fluorodesossiglucosio ([^{18}F] FDG-PET) cerebrale.

La coorte comprendeva 22 pazienti (14 di sesso maschile), con età media di $70,9 \pm 8,5$ anni e durata media di malattia di $12,3 \pm 5,7$ anni. La tosse secca cronica era presente nel 100% dei casi. Tutti i pazienti avevano una neuropatia sensitiva assonale non lunghezza-dipendente; il 31,8% mostrava segni elettromiografici di denervazione e il 18,2% presentava

prolungamento del tempo di conduzione centrale motoria. Il coinvolgimento delle piccole fibre era diffuso: l'IENFD era ridotta in tutti i pazienti sottoposti a biopsia cutanea, sia in sede prossimale che distale, i potenziali evocati nocicettivi e dolore-correlati non erano registrabili nella metà dei casi, e il Sudoscan risultava alterato nel 62,5%. La valutazione neuropsicologica (n = 11) ha evidenziato un profilo alterato in almeno un dominio nel 63,6% dei pazienti, con compromissione prevalente della memoria episodica, della fluenza fonemica e delle funzioni esecutive. Le analisi di MRI cerebrale hanno evidenziato un coinvolgimento cerebellare regionale, con interessamento prevalente delle regioni vermiane e del lobulo X, piuttosto che una riduzione volumetrica cerebellare uniforme. In particolare, si è osservato un coinvolgimento prevalente di regioni cerebellari con ruolo vestibolo-posturale e motorio, quali il lobulo X, le regioni vermiane posteriori e il lobulo V, insieme a un possibile interessamento di aree cerebellari posteriori associative, come il lobulo VIIb. La [¹⁸F] FDG-PET (n = 9) ha evidenziato ipometabolismo cerebellare isolato nel 33,3% dei casi.

I risultati confermano che la malattia RFC1-correlata è uno spettro fenotipico multisistemico che va ben oltre la triade classica. Il coinvolgimento autonomico è probabilmente più grave e frequente di quanto inizialmente ipotizzato e le piccole fibre sembrano essere compromesse almeno quanto le fibre di grosso calibro. Anche se tradizionalmente considerata una neuropatia sensitiva isolata, la presenza di segni di motoneurone superiore o inferiore non esclude la diagnosi di CANVAS e una lieve compromissione cognitiva sembra essere presente nella maggior parte dei pazienti quando ricercata specificamente. La dimostrazione di associazioni specifiche tra domini clinici e volumi di particolari regioni cerebellari potrebbe contribuire a chiarire le basi anatomiche dell'eterogeneità clinica osservata nei pazienti con espansione di RFC1. Un protocollo

valutativo esteso e standardizzato è indispensabile per cogliere la reale complessità della malattia e porre le basi per studi longitudinali e futuri interventi terapeutici.

1. Introduzione

1.1 Il sistema nervoso periferico

1.1.1 Generalità e anatomia

Il sistema nervoso periferico (SNP) è costituito da nervi e gangli situati al di fuori del sistema nervoso centrale (SNC); rappresenta l'interfaccia tra il SNC e i tessuti periferici, garantendo la trasmissione bidirezionale degli impulsi nervosi.

Anatomicamente, il SNP comprende le radici nervose spinali, i gangli sensitivi e autonomi, i plessi brachiale e lombosacrale, i nervi spinali e periferici, le ramificazioni del sistema nervoso vegetativo e i nervi cranici (ad eccezione del secondo paio) (Loeb and Favale, 2003; Anastasi et al., 2012).

Il nervo periferico presenta un'organizzazione microscopica complessa, in cui le fibre nervose sono raccolte in fasci paralleli, protetti da tre guaine di tessuto connettivo (Anastasi et al., 2012): 1) epinevrio, che rappresenta la parte connettivale più esterna e consiste in una guaina avventizia che riveste l'intero nervo e gli conferisce resistenza meccanica; 2) perinevrio, che circonda ogni singolo fascicolo nervoso ed è costituito da lamelle cellulari di fibroblasti alternate a fibre collagene unite da giunzioni occludenti, che contribuiscono a formare la barriera emato-nervosa; e 3) endonevrio, che consiste in una fine trama connettivale tra le singole fibre nervose, che accompagna i vasi sanguigni e linfatici e contribuisce al mantenimento dell'omeostasi del microambiente assonale.

Le fibre nervose vengono classificate sulla base di diametro e velocità di conduzione (**Tabella 1**) (Anastasi et al., 2012).

Tipo di fibra	Diametro (µm)	Velocità(m/s)	Funzione
Fibre mieliniche di classe A (Aa)	12-20	72-120	Sensibilità propriocettiva e tattile superficiale
Fibre mieliniche di classe A (Ab)	6-12	36-72	Sensibilità propriocettiva e tattile superficiale
Fibre mieliniche di classe A (Ad)	1-6	5-40	Nocicezione termica, meccanica e chimica
Fibre mieliniche di classe B	1-3	3-15	Sensibilità viscerale e fibre effettrici viscerali
Fibre amieliniche di classe C	0,5-1,5	0,6-1,5	Sensibilità dolorifica e termica; fibre effettrici viscerali postgangliari

Tabella 1 – Classificazione delle fibre nervose, sul modello di Anastasi et al., Trattato di Anatomia Umana-Volume Terzo (Anastasi et al., 2012).

Le fibre nervose mieliniche presentano una guaina mielinica formata dall'avvolgimento concentrico delle cellule di Schwann attorno all'assone. Queste cellule si dispongono in successione longitudinale, lasciando scoperti brevi tratti assionali chiamati nodi di Ranvier. Tali interruzioni rivestono un ruolo fondamentale dal punto di vista funzionale: consentono infatti la conduzione saltatoria dell'impulso nervoso incrementando drasticamente la velocità di conduzione (Loeb and Favale, 2003; Anastasi et al., 2012).

1.1.2 Fisiologia e funzioni

Il SNP svolge un ruolo cruciale nella comunicazione tra l'organismo e l'ambiente esterno, ma anche nella sua regolazione interna.

È fondamentale la distinzione tra impulsi afferenti (sensitivi, diretti verso il SNC) e impulsi efferenti (motori, diretti verso la periferia) (Loeb and Favale, 2003; Anastasi et al., 2012).

Gli impulsi afferenti riguardano sia la sensibilità somatica che quella viscerale; questi vengono captati dalle cellule pseudo-unipolari dei gangli encefalospinali, il cui assone si

divide a T; il ramo periferico si dirige in periferia per raccogliere gli stimoli, mentre il ramo centrale penetra nel nevrasse per trasmettere lo stimolo a livello centrale.

Gli impulsi efferenti nel sistema somatico sono trasmessi alla periferia da un unico neurone (il motoneurone inferiore); nel sistema viscerale sono invece necessari due neuroni in serie: il neurone pregangliare, con sede nel nevrasse, e il neurone postgangliare, che dal ganglio raggiunge l'organo effettore (Anastasi et al., 2012).

In sintesi, le principali funzioni del SNP sono:

- Trasmissione sensoriale – i nervi sensitivi trasmettono al SNC le informazioni provenienti dai recettori sensoriali (meccanocettori, termocettori e nocicettori);
- Trasmissione motoria – i segnali motori partono dal SNC e raggiungono i muscoli tramite l'unità motoria, costituita dal motoneurone inferiore e dalle fibre muscolari da esso innervate;
- Regolazione autonoma – mediata dal sistema nervoso vegetativo (simpatico e parasimpatico), per il controllo delle funzioni viscerali (Kumar et al., 2010).

1.2 Cerevelletto: anatomia e organizzazione funzionale

Il cervelletto è una struttura del sistema nervoso centrale situata nella fossa cranica posteriore, costituita da due emisferi laterali e da una porzione mediana denominata verme. La corteccia cerebellare è organizzata in dieci lobuli (I–X), tradizionalmente suddivisi in tre lobi: il lobo anteriore (lobuli I–V), separato dal lobo posteriore dalla fissura primaria; il lobo posteriore (lobuli VI–IX), separato dal lobo flocculonodulare dalla fissura posterolaterale; e il lobo flocculonodulare (lobulo X) (Stoodley and Schmahmann, 2010).

Ciascun lobulo è composto da una porzione emisferica e da una porzione vermiana corrispondente; le estensioni emisferiche dei lobuli VI e VII (denominate Crus I, Crus II e lobulo VIIb) costituiscono la porzione filogeneticamente più recente del cervelletto (neocerebellum), espansasi in parallelo con le aree di associazione corticali (Stoodley and Schmahmann, 2010).

Al di sotto della corteccia cerebellare si trovano i nuclei profondi cerebellari, tra i quali il nucleo dentato è il più rilevante dal punto di vista clinico. Le proiezioni di feedback dal cervelletto verso la corteccia cerebrale viaggiano attraverso i nuclei profondi e terminano nel talamo, che a sua volta invia proiezioni alle aree corticali; neuroni situati nella porzione dorsale del nucleo dentato proiettano verso la corteccia motoria e l'area motoria supplementare, mentre neuroni situati nella porzione ventrolaterale, filogeneticamente più recente ed espansasi in parallelo con le aree prefrontali, proiettano verso la corteccia prefrontale (Stoodley and Schmahmann, 2010).

Il cervelletto è incorporato in circuiti distribuiti che connettono regioni corticali, tronco encefalico e midollo spinale attraverso vie afferenti ed efferenti, e presenta un'organizzazione funzionale regionale che riflette la diversità di tali connessioni (Stoodley and Schmahmann, 2010). Il lobo anteriore (lobuli I–V) e il lobulo VIII costituiscono il

cervelletto sensoriomotorio, deputato al controllo della coordinazione dei movimenti e dell'andatura; le proiezioni cortico-pontine originate dalle aree motorie e premotorie raggiungono preferenzialmente questi lobuli, e lesioni in queste regioni producono la classica sindrome motoria cerebellare con atassia e dismetria (Stoodley and Schmahmann, 2010). Il lobo posteriore (lobuli VI–VII, inclusi Crus I, Crus II e lobulo VIIb) rappresenta il cervelletto cognitivo, interconnesso con le aree di associazione prefrontali, parietali e temporali attraverso circuiti cerebro-cerebellari a doppio senso; lesioni in queste regioni possono determinare deficit delle funzioni esecutive, della fluenza verbale e delle abilità visuospatiali, configurando la sindrome cognitivo-affettiva cerebellare (CCAS) (Schmahmann and Sherman, 1998). Il verme posteriore è la sede del cervelletto limbico, interconnesso con strutture paralimbiche implicate nella modulazione del tono affettivo e del comportamento (Stoodley and Schmahmann, 2010). Il lobulo X costituisce il vestibolocerebellum, dedicato all'integrazione vestibolare e al controllo dell'equilibrio posturale attraverso connessioni dirette con i nuclei vestibolari del tronco encefalico (Stoodley and Schmahmann, 2010).

1.3 Le neuropatie periferiche

1.3.1 Inquadramento clinico

Le neuropatie periferiche sono un gruppo di patologie causate da un danno alle fibre nervose, che può interessare il corpo cellulare, l'assone e/o la guaina mielinica.

Il quadro clinico si manifesta con una forte variabilità dipendente da fattori come l'entità e la rapidità del danno, le aree anatomiche colpite e il meccanismo patogenetico; influiscono in modo determinante anche la localizzazione della lesione e il tipo di struttura nervosa compromessa, sia essa l'assone o la guaina mielinica (Loeb and Favale, 2003).

Clinicamente, i sintomi si dividono in motori e sensitivi. I principali sintomi motori negativi associati a neuropatia periferica sono paralisi flaccida, deficit di forza, areflessia e atrofia muscolare; le fascicolazioni rientrano invece tra i sintomi positivi. Per quanto riguarda i sintomi sensitivi negativi, ipoestesia e anestesia possono interessare una o più modalità sensitive, mentre i tipici sintomi positivi sono rappresentati da parestesie, disestesie e dolore neuropatico (Loeb and Favale, 2003).

1.3.2. Epidemiologia

Le neuropatie periferiche costituiscono un problema neurologico di rilevante impatto clinico.

La loro presentazione clinica varia notevolmente in base alla gravità, alla velocità di progressione, alle strutture anatomiche coinvolte, al tipo di compromissione (assonale o mielinica) e alla patogenesi sottostante; questa eterogeneità, unitamente all'assenza di criteri diagnostici uniformi per le forme subcliniche (identificabili solo mediante indagini elettrofisiologiche), rende complesso l'approccio epidemiologico (Loeb and Favale, 2003).

Le polineuropatie simmetriche considerate nel loro insieme presentano una prevalenza stimata intorno al 2,5%, mentre la prevalenza delle neuropatie clinicamente manifeste si

attesta globalmente intorno al 2,4%, con un netto incremento in funzione dell'età: nei soggetti con più di 55 anni si raggiunge una prevalenza dell'8% (Loeb and Favale, 2003).

Nel mondo occidentale la neuropatia periferica più frequente è la neuropatia diabetica, in ragione dell'elevata prevalenza del diabete mellito nella popolazione e della facilità con cui questa patologia coinvolge vasi e nervi. Nei paesi del Sud-Est Asiatico, dell'Africa e dell'America Centro-Meridionale, la forma più comune è invece la neuropatia lepromatosa. Seguono le neuropatie in contesto di malattie sistemiche, le forme tossico-carenziali, quelle da farmaci, autoimmuni e le neuropatie geneticamente determinate (Loeb and Favale, 2003).

1.3.3. Eziologia e classificazione

La classificazione delle neuropatie segue diversi criteri.

1. In base alla neuropatologia della lesione:

- Neuronopatie = caratterizzate dal coinvolgimento primario del corpo cellulare dei neuroni (motori, sensitivi o autonomici);
- Assonopatie = distinte in degenerazione simil-Walleriana e forme assonali distali.
 - Tra queste ultime si annoverano le neuropatie lunghezza-dipendenti, in cui le fibre nervose vengono danneggiate in misura proporzionale alla loro lunghezza, intesa come distanza dal corpo cellulare di origine. I sintomi esordiscono pertanto a livello distale, tipicamente a livello dei piedi per poi progredire in senso centripeto (England and Asbury, 2004);
- Mielinopatie = caratterizzate da demielinizzazione segmentale;
- Neuropatie interstiziali = solitamente causate da danno di natura infettiva, infiammatoria o ischemica.

2. In base alla topografia del danno:

- Mononeuropatia = interessa un unico tronco nervoso, solitamente a causa di fattori focali come compressioni o traumi;
- Multineuropatia = coinvolgimento asimmetrico e multifocale di vari nervi non contigui, tipico di patologie come le vasculiti o, talvolta, il diabete;
- Polineuropatia = compromissione bilaterale e simmetrica, spesso con progressione lunghezza-dipendente, frequente nelle forme metaboliche o ereditarie;
- Poliradicoloneuropatia = quando il processo patologico estende il danno anche alle radici spinali.

3. In base alla modalità di esordio:

- Acute = esordio in meno di 4 settimane;
- Subacute = esordio in 4-8 settimane;
- Croniche = esordio in più di 8 settimane.

4. In base all'evoluzione:

- A progressione rapida;
- A progressione lenta;
- A ricadute e remissioni.

5. In base alle caratteristiche cliniche del danno:

- Motorie;
- Sensitive;
- Autonomiche;

- Miste.

6. In base a parametri neurofisiologici:

- Assonali;
- Demielinizzanti;
- Miste.

7. In base all'eziologia:

- Neuropatie ereditarie = ampio gruppo con grande eterogeneità genetica e clinica; includono la Malattia di Charcot-Marie-Tooth (CMT), le neuropatie sensitive e autonome (HSAN), le forme motorie distali (dHMN) e quelle associate a degenerazione spinocerebellare;
- Neuropatie infiammatorie e autoimmuni = comprendono forme acute, come la Sindrome di Guillain-Barré (GBS), e forme croniche, come la poliradicoloneuropatia infiammatoria cronica demielinizzante (CIDP) o la neuropatia motoria multifocale (MMN);
- Neuropatie infettive = causate da agenti infettivi, inclusi Mycobacterium leprae, HIV, HCV, e Borrelia burgdorferi;
- Neuropatie associate a malattie sistemiche:
 - Dismetaboliche = le neuropatie metaboliche più frequenti sono quelle associate a diabete mellito, ma esistono anche forme associate a uremia o endocrinopatie (soprattutto malattie della tiroide);
 - Amiloidosi = sia nelle varianti ereditarie sia acquisite;
 - Vasculopatie = neuropatie dovute a vasculiti o ischemia dei vasa nervorum;

- Neuropatie carenziali e tossiche = legate ad abuso di alcol, deficit di vitamina B12 o sostanze tossiche industriali e farmaci (in particolare chemioterapici);
- Neuropatie da agenti fisici e traumi (Loeb and Favale, 2003).

1.4 Neuropatie ad esordio tardivo

1.4.1 Modificazioni del SNP correlate all'età

Il SNP subisce naturali modificazioni legate all'avanzata dell'età. È stato infatti dimostrato che con l'invecchiamento aumenta il numero di fibre nervose con segni di degenerazione o demielinizzazione segmentale, accompagnate da una riduzione dell'8% circa dei neuroni simpatici per ogni decennio di vita (Low and Dyck, 1978).

Sul piano clinico, questa degenerazione età-correlata si manifesta con: a) diminuzione dei riflessi osteotendinei, per ridotta conduzione nelle fibre A α di grosso calibro; b) innalzamento della soglia tattile, per la rarefazione dei recettori cutanei; e c) riduzione della pallestesia distale, espressione del progressivo deterioramento delle fibre mieliniche di grosso calibro. L'interazione tra questi fattori neuronali e la perdita fisiologica di massa muscolare può condurre alla cosiddetta "dinapenia", ossia una significativa perdita di forza ed equilibrio nell'anziano (Clark and Manini, 2012).

Nella popolazione anziana sono inoltre frequenti le neuropatie periferiche e spesso non si riesce a identificarne con precisione la causa. Anche in età avanzata, le neuropatie possono derivare da diversi fattori, come alterazioni metaboliche, cause immunologiche, ereditarie, tossiche, infettive o malattie sistemiche. Quando non è possibile individuare un'eziologia definita, queste forme vengono categorizzate come neuropatie croniche idiopatiche o criptogenetiche.

Gli esami elettrofisiologici sono fondamentali nell'approccio diagnostico alle neuropatie periferiche, ma nell'anziano i parametri fisiologici possono risultare lievemente alterati anche in assenza di patologie. In particolare, si osserva spesso una riduzione dell'ampiezza dei potenziali sensitivi e motori. Dal momento che le neuropatie assonali rappresentano le forme più frequenti in età avanzata e vengono identificate proprio attraverso la diminuzione

di ampiezza dei potenziali, confermare elettrofisiologicamente una polineuropatia nell'anziano può risultare complesso (Taylor, 1984; Vrancken et al., 2008).

1.4.2 Polineuropatia assonale idiopatica cronica (CIAP) e substrato genetico

La CIAP è la neuropatia più frequente in età avanzata ed è caratterizzata da una progressione molto lenta, con disturbi prevalentemente sensitivi distali agli arti inferiori e possibile dolore neuropatico (Warendorf et al., 2017).

Criteri diagnostici di CIAP

Per poter formulare correttamente una diagnosi di CIAP è necessario soddisfare criteri clinici ed elettrofisiologici ed escludere eziologie definite.

Secondo i criteri standardizzati riportati da Warendorf et al. (Warendorf et al., 2017) la diagnosi richiede la presenza di tutti i seguenti elementi:

1. Sintomi e segni di polineuropatia distale sensitiva o sensitivo-motoria agli arti.
2. Assenza di malattie sistemiche o neurologiche che possano spiegare il quadro clinico.
3. Decorso clinico cronico, con nadir non raggiunto in meno di due mesi.
4. Esclusione di tutte le cause note di polineuropatia, tra cui diabete mellito, insufficienza renale, cirrosi biliare, abuso alcolico, farmaci, esposizione a tossici, patologie tiroidee, deficit vitaminici, neoplasie, gammopatia monoclonale, malattie autoimmuni sistemiche e amiloidosi, mediante anamnesi, esame clinico e indagini di laboratorio.
5. Assenza di indicatori di neuropatia ereditaria.

6. Studi elettrofisiologici compatibili con polineuropatia assonale, senza caratteristiche demielinizzanti (Vrancken et al.,2008).

Davanti a un paziente con sospetta CIAP, il punto di partenza è il riconoscimento del pattern clinico (Russell, 2017). In particolare, il quadro clinico tipico è quello di una polineuropatia simmetrica lunghezza-dipendente con interessamento prevalentemente sensitivo degli arti inferiori, riflessi achillei ridotti o assenti e studi neurofisiologici di tipo assonale (Russell, 2017).

Una volta riconosciuto questo schema, le indagini di primo livello raccomandate dall'American Academy of Neurology comprendono: dosaggio della vitamina B12 e dell'acido metilmalonico, glicemia, immunofissazione sierica delle proteine ed esame elettrodiagnostico (Russell, 2017).

Indagini più approfondite (come ricerca di anticorpi specifici, test genetici, biopsia nervosa o cutanea) sono giustificate solo quando il quadro presenta caratteristiche atipiche, quali: esordio acuto o subacuto, rapida progressione, predominanza motoria, distribuzione non lunghezza-dipendente, disautonomia associata o coinvolgimento di altri organi (Russell, 2017).

Nonostante un work-up completo, tra il 20% e il 50% dei pazienti rimane senza una diagnosi eziologica definita, finendo classificato come CIAP (Russell,2017).

La CIAP rappresenta quindi un gruppo eterogeneo di condizioni con fenotipo clinico simile, ma patogenesi variabile e in larga parte ancora sconosciuta.

Proprio su questo punto si apre una prospettiva diagnostica di grande rilevanza clinica; studi recenti hanno dimostrato che una quota non trascurabile di pazienti classificati come CIAP nasconde in realtà una causa genetica determinata, non identificabile con i tradizionali criteri di esclusione.

Nello studio eseguito da Sendereck et al. (Senderek et al., 2020) in 230 pazienti con neuropatia assonale ad eziologia indeterminata con esordio >35 anni, il sequenziamento dell'intero esoma (*Whole Exome Sequencing* – WES) ha consentito di identificare una variante patogena nel 18,3% dei casi.

Questi dati mettono in discussione il concetto tradizionale di CIAP come entità nosologica definita e omogenea, suggerendo che essa rappresenti in realtà un gruppo eterogeneo di condizioni accomunate da un fenotipo clinico simile, all'interno del quale le neuropatie monogeniche ereditarie ad esordio tardivo occupano uno spazio significativo e verosimilmente sottostimato (Senderek et al., 2020).

Le neuropatie ereditarie costituiscono un gruppo clinicamente e geneticamente eterogeneo, il cui denominatore comune è la presenza di una mutazione trasmissibile responsabile del danno nervoso. La maggior parte delle neuropatie demielinizzanti ereditarie si manifesta nelle prime decadi di vita, mentre un numero crescente di neuropatie ereditarie assonali e ganglionopatie sensitive presentano un esordio tardivo, tipicamente dopo i 35-50 anni (Senderek et al., 2020).

Un esempio paradigmatico è la scoperta di espansioni introniche bialleliche nel gene *Replication Factor C subunit 1 (RFC1)* come causa principale della *Cerebellar Ataxia, Neuropathy, Vestibular Areflexia Syndrome* (CANVAS), ma anche di altre forme di neuropatia sensitiva ad esordio tardivo. Lo studio di Currò et al. ha dimostrato che il 34% dei pazienti con neuropatia sensitiva idiopatica aveva espansioni introniche bialleliche nel gene *RFC1*, una frequenza significativamente più elevata rispetto a quella stimata nelle coorti con atassia (**Figura 1**) (Currò et al., 2021).

Questi dati supportano il cosiddetto “modello iceberg”: la CANVAS nella sua manifestazione completa (atassia cerebellare, neuronopatia sensitiva, areflessia vestibolare

bilaterale) rappresenta la punta emersa, mentre la massa sommersa (ben più ampia) è costituita da pazienti con neuropatia sensitiva isolata, spesso etichettata come CIAP, che si trovano in uno stadio precoce della malattia RFC1 (Currò et al., 2021).

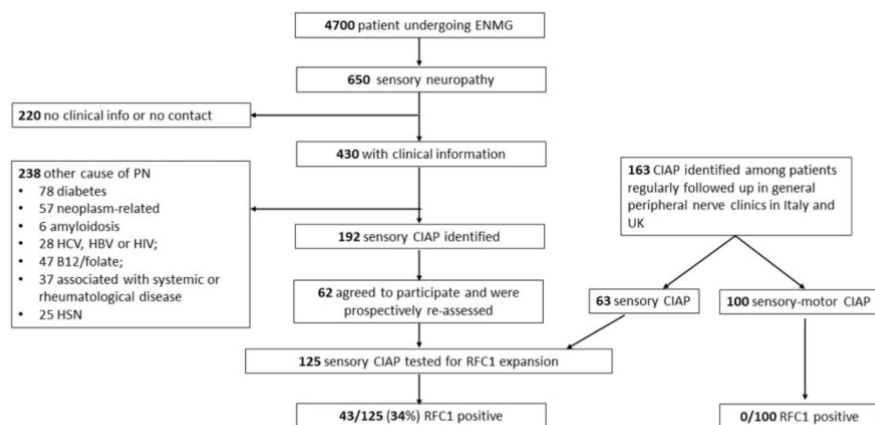


Figure 1 Flow chart for enrolment of patients with sensory and sensory-motor CIAP. ENMG = electroneuromyography; HSN = hereditary sensory neuropathy; PN = polyneuropathy.

Figura 1. Algoritmo di arruolamento dei pazienti con neuropatia sensitiva idiopatica e screening per espansioni RFC1. Figura tratta da: Currò R. et al. RFC1 expansions are a common cause of idiopathic sensory neuropathy. Brain. 2021 (Currò et al., 2021).

1.5 Sindrome CANVAS

1.5.1 Definizione

Il termine CANVAS, che sta per “*Cerebellar Ataxia, Neuropathy, Vestibular Areflexia Syndrome*”, è stato coniato per la prima volta nel 2011, assumendo quindi le caratteristiche di un’entità nosologica distinta (Szmulewicz et al., 2011).

Si tratta di una patologia geneticamente determinata, a trasmissione autosomica recessiva, che presenta una modalità di insorgenza tardiva (solitamente a partire dal 50esimo anno di età) e insidiosa.

1.5.2 Epidemiologia

La CANVAS è un disordine neurodegenerativo progressivo a esordio tardivo. In uno studio su 100 pazienti caucasici con diagnosi di CANVAS geneticamente confermata, la distribuzione per sesso era pressoché uniforme, con 45 pazienti di sesso maschile e 55 di sesso femminile (Cortese, Tozza et al., 2020).

I sintomi neurologici esordivano tipicamente nel sesto decennio di vita; l’età mediana di insorgenza di qualsiasi sintomo neurologico (tosse esclusa) era 52 anni (range 19-76), mentre l’instabilità progressiva, il sintomo d’esordio più comune, compariva a un’età mediana di 55 anni (range 30-80). L’età media dei pazienti al momento della valutazione clinica per lo studio era di 72 anni (Cortese, Tozza et al., 2020).

Tra i pazienti studiati, il 45% presentava una storia familiare positiva con almeno un parente affetto, mentre nel 55% dei casi la malattia si presentava in forma sporadica (Cortese, Tozza et al., 2020).

La frequenza allelica dell'espansione pentanucleotidica AAGGG nel gene *RFC1* varia da 1 a 5% nella popolazione sana di origine europea (Cortese et al., 2019) e la prevalenza stimata alla nascita di individui portatori dell'espansione biallelica AAGGG varia tra 1: 10.000 e 1:400 (Cortese, Tozza et al., 2020).

Questi dati suggeriscono che la CANVAS sia in realtà notevolmente sottodiagnosticata e probabilmente anche misdiagnosticata.

Prima della disponibilità del test genetico per l'espansione in *RFC1*, molti pazienti ricevevano diagnosi alternative; tra cui atassia spino-cerebellare, malattia mitocondriale, atrofia multisistemica di tipo cerebellare o patologie autoimmuni acquisite (Cortese, Tozza et al., 2020).

Nella coorte studiata, CANVAS è stata la diagnosi iniziale in solo 23 dei 100 pazienti (23%); i rimanenti venivano sottoposti a investigazioni lunghe, costose e frequentemente invasive (inclusi molteplici test genetici e biopsie nervose e muscolari) per escludere la presenza di altre patologie acquisite o ereditarie (Cortese, Tozza et al., 2020).

1.5.3 Eziologia

La sindrome CANVAS è causata da espansioni pentanucleotidiche patogenetiche nell'introne 2 del gene *RFC1*, localizzato sul cromosoma 4p14 (Davis et al., 2022). *RFC1* codifica una proteina coinvolta nella replicazione e riparazione del DNA (Davis et al., 2022).

Il locus *RFC1* è naturalmente polimorfico; nella popolazione sana si osservano quattro conformazioni: AAAAG₁₁ (sequenza di riferimento), espansioni non patogeniche AAAAG_(n) e AAAGG_(n), e l'espansione patogena AAGGG_(n) (Davis et al., 2022).

Le espansioni non patogeniche rappresentano il 20% degli alleli nella popolazione generale e vanno da 40 a 1000 ripetizioni per AAAGG_(n) e da 15 a 200 per AAAAG_(n) (Davis et al., 2022).

Le espansioni AAGGG_(n) patogeniche contengono dalle 400 fino a oltre 2000 ripetizioni (Davis et al., 2022).

Ad oggi, definire la soglia critica di espansioni pentanucleotidiche necessaria per scatenare la patologia risulta particolarmente complesso (Davis et al., 2022).

Questa incertezza si riflette sulla comprensione della malattia, il cui meccanismo molecolare esatto rimane ancora da chiarire.

Nonostante la patologia segua una modalità di trasmissione autosomica recessiva, studi preliminari non hanno evidenziato una ridotta espressione di *RFC1* o una perdita di funzione della proteina (Davis et al., 2022).

Questo dato, inatteso per il pattern ereditario classico, può far pensare che la malattia non sia guidata da un meccanismo *loss-of-function*, bensì possa essere mediata dalla tossicità intrinseca della sequenza AAGGG espansa (Davis et al., 2022).

In realtà, però, non è stato dimostrato un meccanismo di guadagno di funzione né sono stati dimostrati accumuli di proteina o RNA e dati su pazienti con eterozigosi composta con variante patogenetica puntiforme ed espansione AAGGG_(n) sull'altro allele del gene *RFC1* sembrano suggerire una perdita di funzione. Ad esempio, è stato descritto un caso di CANVAS causata da un'espansione in *RFC1* e una variante nonsense (c.C1147T; p.R383X) in eterozigosi composta *in trans* e gli studi funzionali hanno dimostrato l'assenza del trascritto di DNA complementare della variante c.C1147T, supportando l'ipotesi del “*nonsense-mediated decay*” del trascritto (King et al., 2022).

Anche in altri due pazienti CANVAS con una variante nonsense o frameshift in *RFC1* (p.Arg388* e c.575delA rispettivamente) e un'espansione di AAGGG in eterozigosi

composta, è stata evidenziata una significativa riduzione dell'mRNA di RFC1 su sangue intero rispetto a pazienti con espansione biallelica e a controlli, suggerendo che una “*bi-allelic RFC1 conditional loss-of-function*” possa rappresentare la causa della malattia (Benkirane et al., 2022). L'identificazione di varianti nonsense o frameshift in *RFC1* associate a CANVAS suggerisce quindi una perdita di funzione biallelica di RFC1 come causa della patologia.

Poiché l'allele mutato è molto comune, la patologia può presentarsi con una trasmissione pseudodominante. Questo fa sì che il disturbo recessivo compaia in più generazioni consecutive anche in assenza di consanguineità, per via della co-segregazione dell'allele da genitori eterozigoti (Davis et al., 2022).

L'assenza di una correlazione consistente tra le dimensioni dell'espansione, la gravità clinica e l'età di insorgenza dei sintomi (Cortese, Tozza and al., 2020) suggerisce il coinvolgimento di fattori modificatori genetici, epigenetici o ambientali nel determinare il fenotipo clinico. Nonostante l'estrema variabilità, studi recenti sembrano comunque identificare un ruolo della dimensione dell'espansione nell'influenzare età di esordio, fenotipo clinico e gravità di malattia (Currò et al., 2024).

1.5.4. Quadro clinico

Aspetto cruciale nella sindrome CANVAS è la sua presentazione fenotipica eterogenea; infatti, non tutti i pazienti presentano la triade sintomatologica completa (atassia cerebellare, neuropatia sensitiva e areflessia vestibolare bilaterale) (Cortese, Tozza and al., 2020).

Quasi tutti i pazienti presentano una neuro(no)patia sensitiva, spesso associata a tosse secca cronica ad insorgenza precoce rispetto al manifestarsi dei disturbi della deambulazione; sono

inoltre presenti, con diversa frequenza, sintomi sensitivi positivi, oscillopsia, disturbi del sistema nervoso autonomo e disartria (Cortese, Tozza and al., 2020).

La storia evolutiva della patologia vede nell'arco di dieci anni una buona percentuale di pazienti dipendenti da un ausilio per la deambulazione, e dopo 15 anni la necessità dell'utilizzo della sedia a rotelle.

In uno studio su 100 pazienti con diagnosi geneticamente confermata pubblicato nel 2020, Cortese e collaboratori hanno dimostrato che due terzi dei pazienti presentavano le caratteristiche complete di CANVAS dopo 10 anni di malattia, 16 pazienti manifestavano una complessa atassia sensitiva con coinvolgimento cerebellare o vestibolare e 15 avevano la neuropatia sensitiva come unica manifestazione clinicamente rilevabile (**Tabella 5**).

Caratteristica clinica	Frequenza di presentazione
Neuropatia sensitiva	100%
Coinvolgimento vestibolare bilaterale	69% (93% se testati)
Tosse cronica	64%
Atassia cerebellare + neuropatia + areflessia vestibolare	63%
Sindrome cerebellare	63%
Disautonomia	32% (50% se eseguiti test specifici)

Tabella 2. Frequenza di alcune caratteristiche cliniche in 100 pazienti con mutazione su RFC1, secondo lo studio di Cortese et al. Cerebellar ataxia, neuropathy, vestibular areflexia syndrome due to RFC1 repeat expansion. Brain 143:480–90 (2020) [14]. (Cortese, Tozza and al.,2020)

1.5.5 Indagini diagnostiche

La ganglionopatia sensitiva (ossia una neuronopatia che colpisce primariamente i corpi cellulari nei gangli delle radici dorsali) rappresenta una delle presentazioni cliniche più

complesse nell'ambito delle neuropatie ad esordio tardivo. La sua identificazione è resa particolarmente ardua dalla coesistenza di più patologie che condividono un quadro clinico sovrapponibile caratterizzato da:

- Neuropatia sensitiva progressiva;
- Disautonomia;
- Coinvolgimento multisistemico;
- Assenza di deficit motori significativi (Currò et al., 2021).

Questa somiglianza clinica ha importanti conseguenze pratiche.

Lo studio di Currò et al. (2021) ha evidenziato che il 26% dei pazienti con espansioni bialleliche in *RFC1* geneticamente confermate aveva ricevuto in precedenza una diagnosi alternativa errata, tra cui più frequentemente patologie infiammatorie (vasculite, CIDP, sindrome di Sjogren), metaboliche o paraneoplastiche; tre di questi avevano addirittura ricevuto terapia immunosoppressiva (steroidi, immunoglobuline endovenose, micofenolato) (Currò et al., 2021).

Analogamente, nello studio di Cortese et al. (2020) su 100 pazienti con CANVAS geneticamente confermata, 32 avevano ricevuto una diagnosi alternativa al primo accesso, tra cui atassia spinocerebellare, malattia mitocondriale e sindrome di Sjogren (Cortese, Tozza and al., 2020).

Riconoscere la difficoltà diagnostica di queste condizioni ha delle dirette implicazioni terapeutiche; somministrare farmaci immunosoppressori a pazienti con CANVAS non solo è inefficace, ma espone a effetti avversi potenzialmente gravi (Currò et al., 2021; Fernández-Eulate et al., 2023)

La diagnosi di CANVAS si fonda su un approccio multimodale che integra valutazioni cliniche, neurofisiologiche, vestibolari e neuroradiologiche con la conferma genetica (Davies et al., 2022).

Lo studio della conduzione nervosa evidenzia tipicamente un pattern di neuronopatia sensitiva, con marcata riduzione o assenza dei potenziali d'azione sensitivi con distribuzione non lunghezza-dipendente e risposte motorie relativamente preservate (Cortese, Tozza and al., 2020).

La valutazione vestibolare mediante test calorico e *video Head Impulse Test* (vHIT) costituisce un passaggio diagnostico importante: la documentazione dell'areflessia vestibolare bilaterale rappresenta un elemento patognomonico, la cui presenza orienta fortemente verso la diagnosi anche nelle forme incomplete della sindrome (Szmulewicz et al., 2011).

Sul piano neuroradiologico, la risonanza magnetica (MRI) encefalica può evidenziare atrofia corticale cerebellare progressiva, mentre la MRI spinale può mostrare atrofia midollare e, talvolta, iperintensità dei cordoni posteriori, in accordo con il substrato neuropatologico della neuronopatia sensitiva (Cortese, Tozza and al., 2020; Davies et al., 2022).

La conferma definitiva, tuttavia, è di natura molecolare e richiede la dimostrazione di espansioni bialleliche del motivo patogenetico AAGGG nell'introne 2 del gene *RFC1* (Cortese et al., 2019).

Il sequenziamento Sanger standard non consente l'identificazione e la caratterizzazione dell'espansione ripetitiva. La diagnosi molecolare si avvale pertanto di metodiche dedicate: la *repeat-primed PCR* (RP-PCR) permette di identificare la presenza dell'espansione intronica, mentre la RP-PCR motivo-specifica permette di identificare e distinguere il tipo di espansione (patogenica AAGGG vs non patogenica AAAGG/AAAAG), mentre l'analisi

Southern blot è necessaria per stimare le dimensioni dell'espansione e confermare lo stato biallelico (Cortese et al., 2019; Davies et al., 2022).

Si può fare diagnosi in caso di:

- Assenza di prodotti amplificabili alla flanking PCR;
- RP-PCR negativa per AAAGG_{exp} e AAAAG_{exp} (motivi non patogenetici);
- RP-PCR positiva per AAGGG_{exp} (motivo patogenetico) con pattern decrementale a dente di sega.

In caso di positività, è poi utile effettuare l'analisi *Southern blot* per confermare la presenza e misurare la dimensione dell'espansione della ripetizione AAGGG.

Un'alternativa alla RT-PCR è il sequenziamento *long-read* che può essere efficace nel rilevare la presenza, la dimensione e la sequenza delle espansioni ripetute in *RFC1* (Nakamura et al., 2020).

La disponibilità di questi accertamenti ha rappresentato un cambio di paradigma: prima della loro introduzione la diagnosi si basava esclusivamente su criteri clinici e strumentali, con un iter spesso lungo e invasivo.

Negli ultimi anni, ulteriori motivi ripetuti patogenetici sono stati identificati nel gene *RFC1*, oltre alla classica espansione pentanucleotidica AAGGG biallelica. Tra questi figurano le espansioni bialleliche ACAGG, le forme eterozigoti composte AAGGG/ACAGG, nonché genotipi più rari come AAGGG/AAAGG₁₅AAGGG e AAGGG/AAAAG con >500 ripetizioni AAAGG (Massucco et al., 2026).

La marcata sovrapposizione fenotipica con numerose condizioni acquisite ed ereditarie che condividono il pattern di neuronopatia sensitiva o l'atassia ad esordio tardivo, documentata anche dalla frequenza con cui tali pazienti ricevono diagnosi alternative errate, rende

pertanto indispensabile un approccio sistematico di diagnosi differenziale (Currò et al., 2021; Cortese, Tozza et al., 2020).

1.5.6 Diagnosi Differenziale

Data la natura multisistemica della malattia RFC1-correlata e il possibile coinvolgimento asincrono dei diversi sistemi nel corso della progressione, la diagnosi differenziale è ampia (Cortese, Reilly et al., 2020).

Le principali diagnosi differenziali comprendono:

- Cause genetiche di atassia;
- Cause genetiche di neuropatia ereditaria;
- Malattie mitocondriali che si manifestano con atassia, neuropatia e, più raramente, areflessia vestibolare bilaterale (Cortese, Reilly et al., 2020).

I principali geni di interesse nella diagnosi differenziale sono:

- *ATXN3* (SCA3, malattia di Machado- Joseph) = può mimare la RFC1-CANVAS nelle fasi precoci, quando i segni extrapiramidali e l'amiotrofia periferica sono assenti; si distingue per la presenza di neuropatia sensitivo-motoria (a differenza della neuropatia puramente sensitiva presente nella CANVAS) e per possibili segni aggiuntivi quali distonia, oftalmoplegia esterna progressiva e fascicolazioni facciali. (Cortese, Reilly et al., 2020).
- *FXN* (Atassia di Friederich) = condivide con la CANVAS la neuronopatia sensitiva, la disfunzione cerebellare e la possibile areflessia vestibolare bilaterale; le forme ad esordio tardivo possono essere clinicamente indistinguibili dalla CANVAS, ma si caratterizzano tipicamente per debolezza muscolare, coinvolgimento

piramidale, deformità scheletriche (piede cavo e scoliosi) e cardiomiopatia associata (Cortese, Reilly et al., 2020).

- *MT-ATP6*, *MT-TL1*, delezioni del mtDNA (sindromi NARP, MIDD/MELAS, Sindrome di Kearns-Sayre) = presentano atassia, neuropatia e, in alcuni casi, areflessia vestibolare bilaterale; si distinguono per esordio più precoce, oftalmoplegia esterna cronica progressiva, ipoacusia, calo del visus e coinvolgimento multisistemico extra neurologico (Cortese, Reilly et al., 2020).

- *POLG* (SANDO = *sensory ataxic neuropathy, dysarthria, and ophthalmoparesis*) = caratterizzato da neuropatia sensitiva e disfunzione cerebellare con esordio nella seconda-quarta decade di vita e frequente oftalmoplegia esterna cronica progressiva (Cortese, Reilly et al., 2020).

- *PRNP* (malattia di Gerstmann-Straussler-Scheinker) = presenta neuropatia, atassia e disautonomia, ma si distingue per la presenza di demenza e per una progressione clinica più rapida (Cortese, Reilly et al., 2020).

- *RNF170* (atassia sensitiva autosomica dominante con areflessia vestibolare) = condivide con la CANVAS neuropatia sensitiva e areflessia vestibolare bilaterale; si distingue dalla CANVAS per la conservazione cerebellare, per la possibile normalità dei potenziali d'azione sensitivi, e per la modalità di trasmissione autosomica dominante (Cortese, Reilly et al., 2020).

Neuropatia sensitiva

Poiché la neuropatia sensitiva rappresenta la manifestazione pressoché universale della malattia RFC1-correlata e tende a comparire precocemente nel corso della malattia, la diagnosi differenziale deve inizialmente includere le principali cause acquisite di neuropatia sensitiva, in particolare:

- Sindromi paraneoplastiche;
- Sindrome di Sjogren;
- Disordini immunomediati acuti e cronici;
- Disturbi metabolici (diabete mellito, deficit di vitamina B12, deficit di rame);
- Cause tossiche (alcol, piridossina, derivati del platino) (Cortese, Reilly et al., 2020).

Atassia cerebellare a esordio tardivo

L'atrofia multisistemica di tipo cerebellare (MSA-c) rappresenta la principale diagnosi differenziale nei pazienti con atassia cerebellare a esordio tardivo (**Tabella 3**) (Cortese, Reilly et al., 2020).

Ulteriori cause di atassia cerebellare a esordio tardivo da considerare sono:

- Sindromi paraneoplastiche;
- Cause tossiche e nutrizionali;
- Cause vascolari;
- Cause infiammatorie;
- Atassia idiopatica a esordio tardivo;
- Malattia di Wernicke da carenza di B1 nel contesto di abuso alcolico (Cortese, Reilly et al., 2020).

Disease	CANVAS	Friedreich ataxia	Spino-cerebellar ataxia	Multi system atrophy
Gene	RFC1	FXN	ATXN1-2-3, CACNA1, several others	No definite gene identified
Cerebellar ataxia	Frequent	Yes	Yes	Yes (MSA-C)
Neuropathy	Sensory neuropathy always present	Frequent sensory or sensory-motor neuropathy	Possible sensory or sensory-motor neuropathy depending on subtype	Usually absent
Vestibular areflexia	Frequent	Possible	Possible (SCA2)	Usually absent
Dysautonomia	Mild	Usually absent	Usually absent	Severe
Onset	Usually late onset	Usually early onset, but late onset possible	Usually early onset, but late onset possible	Usually late onset
Additional neurological features	Cough	Optic atrophy, hearing loss, pyramidal tracts involvement	Pyramidal tracts involvement, parkinsonism, cognitive impairment, visual impairment, variably associated depending on subtype	Parkinsonism, rapid progression, REM behaviour disorder
Extra neurological involvement	No	Cardiomyopathy, diabetes, scoliosis	No	No

CANVAS, FA, SCA and MSA patients share a number of complaints which may include ataxia, sensory neuropathy, dysarthria and dysphagia [5–9, 22–25]

Tabella 3. Principali diagnosi differenziali della sindrome CANVAS. Tabella presa da Dominik et al. (2021); CANVAS: a late onset ataxia due to biallelic intronic AAGGG expansions. J Neurol (Dominik et al., 2021).

Areflessia vestibolare bilaterale

La diagnosi differenziale dell'areflessia vestibolare bilaterale comprende principalmente:

- Ototossicità da aminoglicosidi;
- Malattia di Ménière;
- Nevrite vestibolare bilaterale;
- Schwannomi bilaterali nella neurofibromatosi di tipo 2 (tumori che comprimono bilateralmente i nervi vestibolari);
- Patologie sistemiche infettive o infiammatorie (Cortese, Reilly et al., 2020).

Un'ipofunzione vestibolare bilaterale può inoltre essere riscontrata in diverse condizioni neurodegenerative ereditarie, tra cui:

- Atassie spino-cerebellari (SCA3, SCA1, SCA2 e SCA6);
- Atassia di Friederich;
- Malattia di Gaucher;
- Malattia di Charcot-Marie-Tooth (Cortese, Reilly et al., 2020).

Qualora l'ipofunzione vestibolare bilaterale si associ a ipoacusia e calo del visus, vanno considerate la sindrome di Usher di tipo I e di tipo II (Cortese, Reilly et al., 2020).

La sovrapposizione fenotipica della CANVAS con condizioni clinicamente simili è particolarmente rilevante nei confronti dell'atrofia multisistemica di tipo cerebellare (MSA-c), che rappresenta la principale diagnosi differenziale quando l'esordio avviene in età medio-adulta (Horowitz et al., 2024).

Entrambe le patologie condividono infatti un esordio nell'età adulta-avanzata e una progressione multisistemica che, nelle fasi precoci, rende la distinzione clinica particolarmente insidiosa (Azvedo Kauppila et al., 2022).

La difficoltà viene ulteriormente documentata dall'evidenza di alcuni casi di CANVAS con espansioni bialleliche di *RFC1* geneticamente confermate che mimano clinicamente la MSA di tipo C, con risposte variabili alla levodopa, tanto da essere stati inizialmente inquadrati come MSA o come Parkinson idiopatico (Record et al., 2022).

Tra le caratteristiche cliniche condivise, la CANVAS presenta atassia cerebellare ad esordio tardivo, disartria cerebellare con parola scandita, anomalie oculomotorie cerebellari e iperreflessia; tutti elementi che replicano fedelmente il fenotipo della MSA-c (Azvedo Kauppila et al., 2022).

Inoltre, il fenotipo della CANVAS si è dimostrato negli anni sempre più eterogeneo, con inclusione progressiva di bradicinesia, rigidità e disautonomia significativa, complicando ulteriormente la diagnosi differenziale con MSA-c (Horowitz et al., 2024).

Le manifestazioni autonome, storicamente considerate tipiche della MSA, sono state ampiamente documentate anche nella CANVAS legata a RFC1: la prevalenza di disfunzione autonoma in pazienti con malattia RFC1-correlata geneticamente confermata è riportata tra il 23% e il 62% (Record et al., 2022).

Il profilo autonomo in questi pazienti può configurarsi come una sindrome da insufficienza autonoma mista pre- e postgangliare con progressivo coinvolgimento cardiovascolare simpatico e parasimpatico e della funzione sudomotoria, del tutto sovrapponibile a quanto descritto nella MSA, anche se solitamente più lieve (Record et al., 2022).

Il parkinsonismo — bradicinesia associata a rigidità e/o tremore — potrebbe costituire un ulteriore elemento di sovrapposizione, essendo tipico della MSA, ma essendo stato documentato anche in alcuni casi di malattia RFC1-correlata. Il parkinsonismo può inoltre essere fonte di confusione diagnostica anche con il Parkinson idiopatico (Azvedo Kauppila et al., 2022).

In un caso paradigmatico di malattia RFC1-correlata con espansioni bialleliche AAGGG_(n) confermate da *Southern blot*, il parkinsonismo era simmetrico, ad esordio subacuto, e non rispondeva alla levodopa (dosaggio: 400 mg/die); l'imaging dei trasportatori della dopamina (DATscan) mostrava una riduzione marcata dell'uptake dei gangli della base bilateralmente, compatibile con degenerazione nigrostriatale (Record et al., 2022).

La velocità di progressione rappresenta il primo e più rilevante fattore distintivo: la MSA-c è un parkinsonismo atipico da alfa-sinucleinopatia associato a prognosi sfavorevole, mentre l'aspettativa di vita nella CANVAS non risulta ad oggi ridotta (Horowitz et al., 2024).

Sul piano semeiologico, tosse secca spasmodica, vestibulopatia bilaterale e ganglionopatia sensitiva costituiscono red flag che orientano verso la CANVAS, insieme a un decorso di

malattia prolungato; al contrario, vestibulopatia bilaterale e ganglionopatia sensitiva sono inusuali nella MSA-c (Horowitz et al., 2024; Azvedo Kauppila et al., 2022).

L'assenza di disturbi comportamentali del sonno REM (RBD) e la mancanza di atrofia del tronco encefalico alla MRI encefalica (che nella CANVAS può essere normale o mostrare solo atrofia cerebellare) orientano contro la MSA-c (Azvedo Kauppila et al., 2022).

La presenza di rapida progressione, disautonomia invalidante, RBD, parkinsonismo e specifici pattern neuroradiologici alla RM encefalo (atrofia putaminale, pontina e del peduncolo cerebellare medio) orientano invece verso la diagnosi di MSA (Cortese, Reilly et al., 2020).

Sul versante del neuroimaging molecolare, la PET con ^{18}F -FDG nella CANVAS mostra prevalentemente ipometabolismo cerebellare con metabolismo del tronco encefalico e dello striato conservato, in netto contrasto con il pattern caratteristico della MSA-c e della SCA3 (Horowitz et al., 2024).

L'imaging dei trasportatori della dopamina mostra risultati variabili nella CANVAS, da un esame normale a una denervazione dopaminergica marcata correlata ai sintomi clinici, senza pertanto rivestire un ruolo discriminante nel processo diagnostico differenziale rispetto alla MSA-c (Horowitz et al., 2024).

È importante però notare che nessun caso di espansione biallelica di *RFC1* è stato identificato in una coorte di 336 casi di MSA patologicamente confermata, suggerendo che le espansioni in *RFC1* non causino la deposizione di alfa-sinucleina neuronale e gliale tipica della MSA, quanto piuttosto una sindrome MSA-simile fenotipicamente indistinguibile nelle fasi iniziali (Record et al., 2022).

Data la possibile sovrapposizione clinica iniziale tra CANVAS e le forme di atrofia multisistemica e atrofia spinocerebellare, il test genetico per l'espansione del gene *RFC1* si configura come l'unico standard di certezza diagnostica. È stato proposto che il test *RFC1*

faccia parte di un pannello genetico esteso comprensivo di SCA (1-2-3-6-7-17), DRPLA, FXTAS e SPG7, da eseguire in tutti i casi con fenotipo MSA-c-simile (Azvedo Kauppila et al., 2022).

In conclusione, i pazienti con una sindrome MSA-like e segni concomitanti di insufficienza vestibolare o neuropatia sensitiva dovrebbero essere sistematicamente testati per l'espansione ripetuta di *RFC1*, prima di attribuire la diagnosi definitiva di MSA (Record et al., 2022).

Allo stesso modo, il test genetico per le espansioni bialleliche di *RFC1* dovrebbe essere considerato anche nei pazienti con neuropatia sensitiva idiopatica isolata, comunemente classificata come CIAP sensitiva: nello studio di Currò et al. su 125 pazienti con neuropatia sensitiva idiopatica, il 34% risultava portatore di espansioni bialleliche AAGGG in *RFC1*, e il 42% dei casi *RFC1*-positivi presentava un fenotipo di neuropatia sensitiva isolata (talvolta associata a tosse secca cronica) in assenza di coinvolgimento vestibolare o cerebellare clinicamente identificabile (Currò et al., 2021); analogamente, nello studio di Cortese et al. su 100 portatori geneticamente confermati, la neuropatia sensitiva isolata era la sola manifestazione clinicamente rilevabile nel 15% dei pazienti (Cortese, Tozza et al., 2020).

1.5.7 Fenotipi atipici associati a espansioni patogenetiche bialleliche nel gene *RFC1*

Con l'ampliarsi delle casistiche geneticamente confermate, è diventato chiaro che la malattia *RFC1*-correlata va oltre la classica triade CANVAS.

Accanto alla neuronopatia sensitiva, all'atassia cerebellare e alla vestibolopatia bilaterale, sono stati documentati casi con coinvolgimento del sistema motorio (piramidale ed

extrapiramidale), delle piccole fibre nervose, del sonno e della sfera cognitivo-comportamentale (Massucco et al., 2026; Tomczuk et al., 2025).

Questi fenotipi atipici hanno implicazioni diagnostiche importanti e suggeriscono che la neurodegenerazione RFC1-correlata riguardi circuiti più ampi di quanto inizialmente ipotizzato.

1.5.7.1 Coinvolgimento extrapiramidale

Il parkinsonismo è la manifestazione extrapiramidale più documentata nello spettro RFC1.

Nella metanalisi di Massucco e collaboratori, la prevalenza aggregata è circa l'8%, con bradicinesia, rigidità e tremore a riposo come segni più frequenti; una buona risposta alla levodopa è stata osservata in una parte rilevante dei casi testati (Massucco et al., 2026).

La scintigrafia cardiaca con [¹²³I] MIBG ha mostrato denervazione postganglionare in circa l'80% dei pazienti valutati, inclusi soggetti senza parkinsonismo clinico (Massucco et al., 2026).

Dal punto di vista neuropatologico, Huin e collaboratori hanno descritto in un paziente RFC1 con parkinsonismo una marcata perdita neuronale nella substantia nigra e corpi di Lewy neocorticali diffusi, dimostrando che la patologia di Lewy può coesistere con la malattia RFC1 nonostante i biomarker della sinucleina risultino spesso negativi in vivo (Huin et al., 2022).

Sono stati segnalati anche distonia e movimenti coreici, compatibili con una disfunzione nei circuiti cerebello-gangli della base (Massucco et al., 2026).

Questi dati vanno interpretati con cautela: la prevalenza del parkinsonismo varia molto a seconda della casistica analizzata, e l'età avanzata dei pazienti costituisce un importante fattore confondente. La qualità dell'evidenza è stata valutata come bassa secondo il sistema GRADE (Grading of Recommendations Assessment, Development and Evaluation) (Massucco et al., 2026).

1.5.7.2 Coinvolgimento del primo e del secondo motoneurone

Segni di primo motoneurone (iperreflessia, spasticità, segno di Babinski) sono stati documentati in una quota non trascurabile di pazienti RFC1, con una prevalenza aggregata del 18% nella metanalisi di Massucco et al. (Massucco et al., 2026).

Questo è interpretativamente rilevante: la conservazione o l'esaltazione dei riflessi, inusuale in una neuropatia con perdita delle grandi fibre, era inizialmente attribuita al risparmio selettivo delle afferenze Ia; la presenza di vera iperreflessia e segni piramidali in alcuni pazienti suggerisce invece un coinvolgimento del tratto corticospinale (Cortese, Tozza et al., 2020).

Il coinvolgimento del secondo motoneurone, valutato come la presenza di fascicolazioni o segni di denervazione all'elettromiografia, aveva una prevalenza stimata del 11% nella stessa metanalisi (Massucco et al., 2026).

I dati neuropatologici sono eterogenei: nella maggior parte dei casi sembra prevalere l'atrofia dei cordoni posteriori del midollo spinale, ma in alcune autopsie è stata descritta perdita di motoneuroni nel nucleo dell'ipoglosso e nei corni anteriori del midollo senza degenerazione corticospinale e in altri casi sono state documentate tumefazioni assonali a livello delle sinapsi tra primo e secondo motoneurone (Massucco et al., 2026; Huin et al., 2022).

Il motivo espanso ACAGG nel gene *RFC1* si associa a un rischio sostanzialmente più elevato di atrofia muscolare, deficit di forza e fascicolazioni rispetto al più comune motivo patogenetico AAGGG, indicando una correlazione genotipo-fenotipo specifica per le forme con coinvolgimento del motoneurone (Massucco et al., 2026).

Infine, nelle grandi coorti di SLA sporadica le espansioni bialleliche AAGGG nel gene *RFC1* risultano rare, ma non assenti (Massucco et al., 2026).

1.5.7.3 Coinvolgimento delle piccole fibre nervose

Tagliapietra e collaboratori hanno studiato sistematicamente il coinvolgimento delle piccole fibre somatiche in 40 pazienti RFC1-positivi mediante biopsia cutanea, questionari validati, potenziali evocati laser e microneurografia (Tagliapietra et al., 2023).

Il dato più rilevante è la quasi completa denervazione epidermica in tutti i pazienti, presente con uguale severità sia in sede prossimale che distale. Questo pattern non lunghezza-dipendente è coerente con il substrato neuronopatico della malattia e si distingue dalla distribuzione distale tipica delle neuropatie periferiche convenzionali (Tagliapietra et al., 2023).

La denervazione era severa già nei pazienti con breve durata di malattia e, in alcuni casi, la perdita di fibre epidermiche era documentabile quando le fibre di grande calibro erano ancora relativamente indenni all'esame neurofisiologico standard.

Questo suggerisce che l'interessamento delle piccole fibre sia un evento precoce, con potenziale valore diagnostico nelle fasi iniziali (Tagliapietra et al., 2023).

Clinicamente, le parestesie sono un sintomo quasi universale, mentre il dolore è spesso lieve.

I disturbi autonomici (prevalentemente intolleranza ortostatica, disfunzione pupillomotoria e secretomotoria) sono frequenti e rilevanti nella gestione clinica, in particolare come fattore di rischio per le cadute (visto che i pazienti presentano già un aumentato rischio di cadute dovuto all'atassia). Il coinvolgimento autonomico è però proporzionalmente più contenuto rispetto alla grave denervazione somatica, un elemento che può essere orientativo per la diagnosi di malattia RFC1-correlata (Tagliapietra et al., 2023).

1.5.7.4 Disturbi del sonno

I disturbi del sonno nella malattia RFC1-correlata sono stati studiati per la prima volta sistematicamente da Funcis e collaboratori mediante polisonnografia e questionari validati in 16 pazienti (Funcis et al., 2025).

L'apnea ostruttiva del sonno (OSA) era il disturbo più frequente, presente nel 94% dei pazienti (15/16), in larga parte in forma moderato-severa. Nessun paziente aveva i classici fattori di rischio per OSA: l'ipotesi patofisiologica principale è la disfunzione vagale, che (analogamente a quanto proposto per la tosse cronica) comprometterebbe il tono della muscolatura faringea durante il sonno (Funcis et al., 2025).

La sindrome delle gambe senza riposo (RLS) era presente nel 75% dei pazienti (12/16), in forma moderato-severa nella grande maggioranza. È stata interpretata come secondaria alla neuropatia periferica, dato il diffuso interessamento delle piccole fibre; anche la disfunzione dopaminergica documentata in una quota di pazienti RFC1 può contribuire (Funcis et al., 2025).

I movimenti periodici degli arti durante il sonno erano presenti nel 63% dei casi (10/16).

Il disturbo comportamentale del sonno REM (RBD) è risultato invece raro alla polisonnografia (un caso, peraltro in trattamento con clomipramina), differenziando il pattern RFC1 da quello delle sinucleinopatie come MSA-c e SCA3, in cui l'RBD è prevalente (Funcis et al., 2025).

La gravità dell'atassia risultava inversamente correlata alla percentuale di sonno N3 e REM, e una maggiore quota di sonno REM si associava a migliori indici di qualità di vita. Questi dati suggeriscono l'instaurarsi di un circolo vizioso tra compromissione motoria, disturbi del sonno e qualità della vita (Funcis et al., 2025).

1.5.7.5 Profilo neuropsicologico

Il deterioramento cognitivo è oggi riconosciuto come parte integrante dello spettro RFC1, anche se si tratta solitamente di forme lievi. Tre studi con valutazione neuropsicologica sistematica ne hanno delineato il profilo in modo convergente (Massucco et al., 2026; Dujardin et al., 2024; Delgado- Alvarez et al., 2026).

Nella metanalisi di Massucco et al. la prevalenza aggregata è circa 31%, con ampia variabilità inter-studio, e la probabilità di riscontrare deficit cognitivi aumenta con la durata di malattia (Massucco et al., 2026).

Nello studio di Dujardin, il 71% dei pazienti aveva un punteggio al *Montreal Cognitive Assessment* (MoCA) inferiore alla soglia e soddisfaceva i criteri per la sindrome cognitivo-affettiva cerebellare (CCAS) di Schmahmann e Sherman (Schmahmann and Sherman, 1998). Un terzo soddisfaceva i criteri per deterioramento cognitivo lieve (MCI) e un ulteriore 14% per demenza; la gravità cognitiva non correlava né con la severità dei sintomi neurologici né con la durata di malattia, indicando una traiettoria parzialmente indipendente (Dujardin et al., 2024).

Il dominio più frequentemente compromesso è la funzione esecutiva: la fluenza fonemica è più deficitaria di quella semantica, in linea con il coinvolgimento dei circuiti fronto-cerebellari (Delgado-Alvarez et al., 2026).

I deficit di memoria episodica sono prevalentemente riconducibili a difficoltà di recupero piuttosto che di consolidazione, come indicato dal miglioramento con gli indici di facilitazione.

È stato documentato anche un coinvolgimento della cognizione sociale (teoria della mente e riconoscimento delle emozioni) con maggiore compromissione delle emozioni negative, in linea con la letteratura sulle lesioni cerebellari focali (Delgado-Alvarez et al., 2026).

La FDG-PET ha evidenziato un ipometabolismo cerebellare bilaterale isolato, senza anomalie in altre aree cerebrali. Questo pattern differenzia la malattia RFC1 dall'MSA-c e dalle SCA e supporta l'ipotesi che il deterioramento cognitivo sia mediato principalmente dalla disfunzione dei circuiti cerebello-corticali, piuttosto che da un processo neurodegenerativo diffuso (Horowitz et al., 2024; Delgado-Alvarez et al., 2026).

Sul versante psichiatrico, ansia e depressione sono i sintomi più frequenti, mentre apatia, disinibizione e allucinazioni sono meno comuni.

Il profilo non configura una sindrome frontotemporale, ma è compatibile con l'alterazione dei circuiti fronto-cerebellari e dei gangli della base (Massucco et al., 2026; Dujardin et al., 2024).

Questi dati supportano l'indicazione a uno screening neuropsicologico sistematico in tutti i pazienti con espansione intronica biallelica nel gene *RFC1* (con strumenti come la MoCA o la scala CCAS) indipendentemente dalla gravità delle manifestazioni motorie (Dujardin et al., 2024).

1.6 Razionale e scopo dello studio

Come emerge dalla rassegna della letteratura presentata nei paragrafi precedenti, la malattia RFC1-correlata si trova oggi in una fase peculiare della sua storia naturale: geneticamente definita dal 2019, ma fenotipicamente ancora mal caratterizzata nella sua interezza.

La maggior parte dei dati disponibili sui fenotipi atipici (cognitivi, motori, extrapiramidali, delle piccole fibre) proviene da studi disegnati per rispondere a domande singole e circoscritte, spesso su coorti di piccole dimensioni e con strumenti valutativi eterogenei, rendendo di fatto impossibile un confronto sistematico tra le diverse componenti dello spettro nella stessa popolazione (Massucco et al., 2026; Tomczuk et al., 2025).

Questo approccio frammentato ha prodotto stime di prevalenza molto variabili e una comprensione ancora incompleta di come le diverse manifestazioni si distribuiscano, siano correlate tra loro e progrediscano nel tempo in uno stesso paziente (Massucco et al., 2026).

Rimane ancora da chiarire, in modo sistematico e su coorti adeguatamente caratterizzate, con quale frequenza e con quali caratteristiche si presentino manifestazioni quali il coinvolgimento delle piccole fibre somatiche e autonome, i segni di motoneurone superiore e inferiore, le manifestazioni extrapiramidali e le alterazioni cognitivo-comportamentali.

Quest'ultima componente in particolare, insieme ai reperti di neuroimaging strutturale e metabolico, rappresenta un ambito ancora largamente inesplorato in modo prospettico, sebbene il deterioramento cognitivo sia oggi riconosciuto come parte integrante dello spettro RFC1, con un profilo che coinvolge preferenzialmente la funzione esecutiva e la cognizione sociale in linea con la sindrome cognitivo-affettiva cerebellare (Dujardin et al., 2024; Delgado-Alvarez et al., 2026; Schmahmann and Sherman, 1998).

Lo scopo del presente studio è quindi quello di caratterizzare in modo multidimensionale lo spettro fenotipico associato alle espansioni bialleliche di *RFC1* in una coorte di pazienti con diagnosi geneticamente confermata, con attenzione particolare alle manifestazioni che vanno oltre la triade classica.

L'obiettivo non è solo descrittivo: attraverso l'applicazione di un protocollo valutativo sistematico e standardizzato (che integra scale cliniche, neurofisiologia, neuropsicologia e neuroimaging), si intende contribuire a definire un assetto diagnostico ottimale per questi pazienti, identificare possibili correlazioni clinico-strumentali e porre le basi per un follow-up longitudinale strutturato che permetta di cogliere la progressione delle diverse componenti dello spettro nel tempo.

2. Materiali e metodi

Il presente lavoro si inserisce all'interno dello studio osservazionale cross-sectional no-profit chiamato "L'interessamento del Sistema Nervoso Centrale e Periferico nella CANVAS" condotto presso l'IRCCS Azienda Ospedaliera Metropolitana Policlinico San Martino di Genova sotto la responsabilità scientifica della Professoressa Marina Grandis.

Lo studio è stato approvato dal Comitato Etico competente ed è stato condotto in conformità con i principi della Dichiarazione di Helsinki (1997).

2.1 Criteri di inclusione e di esclusione

Sono stati arruolati 22 pazienti con diagnosi geneticamente confermata di CANVAS afferenti all'ambulatorio di Malattie Neuromuscolari della Clinica Neurologica dell'IRCCS Azienda Ospedaliera Metropolitana – Policlinico San Martino di Genova. Sono stati inclusi sia pazienti con diagnosi genetica già nota sia pazienti di nuova diagnosi.

Criteri di inclusione

- Consenso informato firmato;
- Età ≥ 18 anni;
- Diagnosi molecolare confermata di espansione biallelica intronica patogenetica nel gene *RFC1*.

Criteri di esclusione

- Mancanza di consenso informato;

- Presenza di concomitanti patologie neurologiche che potessero influenzare i risultati degli esami, in particolare altre cause note di neuropatia periferica o deterioramento cognitivo.

Tutti i partecipanti hanno ricevuto una spiegazione dettagliata del disegno dello studio e hanno fornito il consenso informato in forma scritta, secondo quanto previsto dalla Dichiarazione di Helsinki (1997) sviluppata dalla *World Medical Association*.

Dopo la firma del consenso informato, in presenza dei criteri di inclusione, i pazienti sono stati ufficialmente arruolati.

2.2 Raccolta delle informazioni anamnestiche

Per ogni paziente sono state raccolte le principali informazioni demografiche e anamnestiche, tra cui: sesso, data di nascita, anamnesi familiare per patologie neurologiche, sintomo di esordio, data di esordio dei sintomi, durata di malattia e comorbidità rilevanti.

2.3 Esame neurologico e scale cliniche

Ogni paziente è stato sottoposto a una visita neurologica completa con somministrazione di scale cliniche validate per la valutazione della neuropatia, dell'atassia e dei sintomi disautonomici. In particolare, sono stati utilizzati i questionari e le scale riportati di seguito.

2.3.1 Scala clinica per la neuropatia

Il punteggio *Charcot-Marie-Tooth Examination Score* (CMTES) (Murphy et al., 2011) è utilizzato routinariamente per il monitoraggio dei pazienti affetti da neuropatia ereditaria. Valuta l'entità dei sintomi sensitivi, sia positivi che negativi, e motori, a livello di arti superiori e inferiori (**Tabella 4**). Il punteggio totale va da 0 a 28 e punteggi più elevati corrispondono a una maggiore compromissione neurologica.

Item	Score				
	0	1	2	3	4
Sensory symptoms	None	Symptoms below or at ankle bones	Symptoms up to the distal half of the calf	Symptoms up to the proximal half of the calf, including knee	Symptoms above knee (above the top of the patella)
Motor symptoms (legs)	None	Trips, catches toes, slaps feet. Shoe inserts	Ankle support or stabilization (AFOs). Foot surgery	Walking aids (cane, walker)	Wheelchair
Motor symptoms (arms)	None	Mild difficulty with buttons	Severe difficulty or unable to do buttons	Unable to cut most foods	Proximal weakness (affecting movements involving the elbow and above)
Pinprick sensibility	Normal	Decreased below or at ankle bones	Decreased up to the distal half of the calf	Decreased up to the proximal half of the calf, including knee	Decreased above knee (above the top of the patella)
Vibration	Normal	Reduced at great toe	Reduced at ankle	Reduced at knee (tibial tuberosity)	Absent at knee and ankle
Strength (legs)	Normal	4+, 4, or 4- on foot dorsiflexion or plantar flexion	≤3 on foot dorsiflexion or ≤3 on foot plantar flexion	≤3 on foot dorsiflexion and ≤3 on plantar flexion	Proximal weakness
Strength (arms)	Normal	4+, 4, or 4- on intrinsic hand muscles	≤3 on intrinsic hand muscles	≤5 on wrist extensors	Weak above elbow

Tabella 4. Parametri valutati dalla scala CMTES.

2.3.2 Scala per l'atassia

La *Scale for the Assessment and Rating of Ataxia* (SARA) (Schmitz-Hubsch et al., 2006) è una scala utilizzata per il monitoraggio dei pazienti affetti da atassia. Consente di valutare l'atassia del tronco e degli arti attraverso otto item: andatura, stazione, seduta, disturbo del linguaggio, inseguimento digitale, test dito-naso, movimenti alternati rapidi delle mani e scorrimento calcagno-tibia.

Il punteggio totale va da 0 a 40 e punteggi più elevati indicano una maggior compromissione.

2.3.3 Scale e questionari per sintomi e segni autonomici

Per la valutazione della disfunzione autonoma sono stati utilizzati due questionari validati, il *Compound Autonomic Dysfunction Test* (CADT) e il *Composite Autonomic Symptom Score-31* (COMPASS-31).

Il questionario CADT (Denver et al., 2007), riportato in **Tabella 5**, ha un punteggio totale che va da 0 a 16 nel sesso femminile e da 0 a 20 nel sesso maschile, dal momento che prevede la valutazione della presenza di disfunzione erettile nei soggetti di sesso maschile. Per rendere il punteggio paragonabile tra pazienti di sesso maschile e di sesso femminile, in questo studio abbiamo utilizzato un punteggio percentuale, con percentuali più basse indicative di una maggior compromissione autonoma.

	4	3	2	1	0
Postural hypotension	No	Asymptomatic	Lipothymia	Postural syncopes	Bedridden
Nausea preventing normal feeding, vomiting	No	Nausea / Slow digestion	Vomiting: Less than once a week	Vomiting: More than once a week	Vomiting: Daily
Diarrhea / Constipation	No	Once a month	Once a week	More than twice a week	Daily
Sphincter disturbances	No	Dysuria	Dysuria + episode of incontinence	Intermittent bladder catheterization	Permanent bladder catheterization
Erectile dysfunction	No	Difficulties	Impotency	—	—
Total					

Tabella 5. *Compound Autonomic Dysfunction Test (CADT)*

Il COMPASS-31 (Treister et al., 2015) è un altro questionario validato per il monitoraggio dei sintomi derivati dall'interessamento del sistema nervoso autonomo. Esplora sei domini: ortostatismo, sistema vasomotorio, sistema sudomotorio, sistema gastrointestinale, funzione vescicale e pupillare. Il punteggio totale va da 0 a 100, dove 0 indica l'assenza di sintomi; il punteggio aumenta all'aumentare dei sintomi autonomici.

2.4 Indagini neurofisiologiche per lo studio delle grandi fibre

Lo studio neurofisiologico eseguito sui pazienti comprendeva:

- *Studio di velocità della conduzione nervosa ed elettromiografia (EMG):* è stato effettuato lo studio della velocità di conduzione sensitiva e motoria ai quattro arti, con misurazione dei parametri di latenza, ampiezza e velocità di conduzione dei principali nervi periferici. Per valutare l'eventuale presenza di denervazione e quindi

valutare la presenza di segni di coinvolgimento del motoneurone inferiore, è stata poi eseguita l'elettromiografia (EMG) ad ago.

- *Potenziali evocati somatosensoriali (SEP)*: è stato eseguito lo studio dei potenziali evocati somatosensoriali ottenuti dopo stimolazione del nervo mediano al polso per la valutazione delle vie sensitive di grosso calibro a livello centrale, misurando in particolare la latenza della risposta N20 registrata con elettrodi ad ago posizionati a livello dello scalpo (derivazione C3'/Fz o C4'/Fz).
- *Potenziali evocati motori (MEP)*: per valutare l'eventuale coinvolgimento del motoneurone superiore, è stato eseguito lo studio dei MEP tramite stimolazione magnetica transcranica (TMS) con calcolo del tempo di conduzione centrale motorio (CMCT).

2.5 Indagini neurofisiologiche per lo studio delle piccole fibre

Una sottopopolazione di pazienti è stata sottoposta alla registrazione dei Potenziali Evocati Dolore-Correlati (PREP, *Pain-Related Evoked Potentials*) e dei Potenziali Evocati Nocicettivi (NEP, *Nociceptive Evoked Potentials*) ottenuti dopo stimolazione del dorso della mano dominante con un elettrodo con un peculiare micropattern interdigitato che consente la stimolazione selettiva delle terminazioni nervose intraepidermiche (Massucco et al., 2025; Leandri et al., 2021).

Questi esami permettono di valutare l'integrità delle fibre nervose di piccolo calibro (fibre Aδ e C) attraverso risposte corticali evocate da stimolazione nocicettiva cutanea.

Dal momento che i PREP sono potenziali endogeni e dipendono dalla risposta cognitivo-comportamentale al dolore e tendono a ridursi in ampiezza con stimolazioni successive

(*habituation*), i PREP sono stati registrati dopo stimolazione a intervalli casuali (intervallo variabile tra 1 e 14 secondi tra uno stimolo e il successivo). La risposta N1 è stata registrata con la derivazione C3'-C4'/Fz, mentre il complesso N2-P2 è stato registrato a livello del vertice (derivazione Cz-Au_c).

I NEP riflettono invece l'arrivo dello stimolo doloroso a livello della corteccia somatosensitiva primaria e non risentono dell'*habituation*, per cui sono stati registrati dopo stimolazione del dorso della mano con elettrodo interdigitato con treni di 10 impulsi separati da intervalli regolari (stimolazione ritmica; parametri riportati nello studio di Massucco et al.) (Massucco et al., 2025). La risposta lateralizzata N40 è stata registrata a livello dello scalpo con elettrodi ad ago (derivazione C3'-C4'/Fz).

2.6 Valutazione della funzione sudomotoria (Sudoscan)

La funzione sudomotoria, espressione dell'attività delle fibre nervose amieliniche di piccolo calibro (fibre C), è stata valutata mediante il dispositivo Sudoscan (Casellini et al., 2013).

Questo strumento misura la conduttanza elettrochimica cutanea (ESC, *Electrochemical Skin Conductance*), che dipende dalla concentrazione di ioni cloro nella cute, in risposta a una corrente continua a bassa tensione applicata localmente (<4 V).

Per eseguire la misurazione, viene chiesto al paziente di posizionare mani e piedi su grandi elettrodi in acciaio inossidabile. Durante la registrazione, che dura 2-3 minuti, anodo e catodo si invertono continuamente e l'anodo fornisce una corrente a bassa intensità che determina una differenza di potenziale (<4 V) rispetto al catodo. L'ESC, espressa in microsiemens (μS), viene determinata sulla base della corrente associata alla tensione applicata.

L'esame consente quindi di valutare la funzione sudomotoria a livello del palmo delle mani e della pianta dei piedi, riflettendo principalmente l'integrità delle fibre C amieliniche.

2.7 Biopsia di cute

Nei pazienti con alterazioni del Sudoscan e/o sintomi suggestivi di neuropatia delle piccole fibre (in particolare ipoestesia termica e/o dolorifica o disturbi autonomici), è stata poi eseguita una biopsia di cute con punch monouso del diametro di 3-4 mm, previa anestesia locale con lidocaina (protocollo come da informativa aziendale dell'IRCSS Azienda Ospedaliera Metropolitana Policlinico San Martino). I prelievi sono stati effettuati in due sedi: a livello della faccia laterale della coscia (15-20 cm sopra il ginocchio) e a livello della faccia laterale della gamba (10 cm sopra il malleolo esterno). Su ciascun campione è stata quantificata la densità lineare di fibre nervose intraepidermiche (IENFD), espressa come numero di fibre per millimetro, per la valutazione delle fibre nervose di piccolo calibro. Il valore riportato di IENFD a livello di gamba distale e coscia distale rappresenta il valore medio di tre sezioni (tre sezioni analizzate per ogni campione – tre per la gamba e tre per la coscia).

2.8 Test neuropsicologici

Per la valutazione cognitiva, ogni paziente è stato sottoposto a una batteria di test neuropsicologici. I test sono stati somministrati da personale esperto in un ambiente silenzioso e standardizzato. Prima della somministrazione, è stato determinato l'indice di destrimanità di Annett per la valutazione della dominanza emisferica.

La batteria comprendeva i seguenti test neuropsicologici:

- *Mini Mental State Examination* (MMSE, 0-30): test composto da 11 domande per la valutazione delle funzioni cognitive globali, in particolare orientamento, memoria, attenzione e calcolo, linguaggio, richiamo e abilità visuospatiali (Folstein et al., 1975).
- *Montreal Cognitive Assessment* (MoCA, 0-30): strumento per un rapido screening del deterioramento cognitivo lieve, che comprende prove di funzioni visuospatiali/esecutive, denominazione, attenzione, linguaggio, astrazione, rievocazione differita e orientamento (Nasreddine et al., 2005).
- *Trail Making Test* (TMT A, TMT B e TMT B-A): test per la valutazione delle funzioni esecutive e visuospatiali, con misurazione del tempo impiegato per completare ciascuna parte e calcolo della differenza (B-A) come indice della componente esecutiva (Reitan, 1958).
- *Frontal Assessment Battery* (FAB, 0-18): batteria per la valutazione delle funzioni controllate dai lobi frontali, composta da prove cognitive e comportamentali (Dubois et al., 2000).
- *Digit Span* avanti: valutazione della memoria a breve termine e dell'attenzione, attraverso la ripetizione immediata di sequenze di cifre in ordine diretto (Monaco et al., 2013).
- *Digit Span* indietro: analogo al test precedente, ma le cifre vanno riportate in ordine inverso, con maggiore impegno delle funzioni esecutive (Monaco et al., 2013).
- 15 Parole di Rey (rievocazione immediata e differita): valutazione dell'apprendimento verbale e della memoria a breve e lungo termine anterograda (Carleismo et al., 1996).

- *Clock Drawing Test* (CDT): il paziente disegna il quadrante di un orologio posizionando numeri e lancette; consente di valutare le funzioni esecutive e le abilità prassico-costruttive e visuo-spaziali (Siciliano et al., 2017).
- Prassia copia semplice: copia di figure geometriche semplici per la valutazione della prassia visuocostruttiva. (Carleismo et al., 1996).
- Figura complessa di Rey-Osterrieth (copia e rievocazione differita libera): copia di una figura complessa e sua riproduzione differita, con analisi delle abilità prassiche visuocostruttive e della memoria spaziale (Caffarra, Vezzadini et al., 2002a).
- Fluenza semantica: il paziente elenca il maggior numero di parole di una categoria semantica nel minor tempo possibile; valuta l'estensione e la fruibilità del patrimonio lessicale (Novelli et al., 1986).
- Fluenza fonemica: il paziente elenca il maggior numero di parole inizianti per una lettera prestabilita dell'alfabeto; valuta le funzioni esecutive e l'accesso al lessico (Novelli et al., 1986).
- Test di Stroop (versione breve): test esecutivo per la valutazione dell'inibizione della risposta e della velocità di processamento delle informazioni (Caffarra et al., 2002b).

2.9 Elettroencefalografia (EEG)

Tutti i pazienti sono stati sottoposti a elettroencefalografia (EEG) con registrazione a 64 canali della durata di 20 minuti, allo scopo di registrare l'attività elettrica cerebrale e identificare eventuali anomalie di ritmo o di attività di fondo, quali rallentamenti diffusi o focali, e attività epilettiforme subclinica.

2.10 Risonanza magnetica (MRI) cerebrale

Per la valutazione dell'eventuale atrofia cerebellare e/o di altre aree cerebrali, un sottogruppo di 10 pazienti è stato sottoposto a imaging cerebrale strutturale ad alta risoluzione su un apparecchio 3 T.

La segmentazione dell'encefalo e la seguente estrazione dei dati di volumetria sono stati effettuati con la pipeline automatizzata basata su deep learning FastSurfer (Henschel et al., 2020) su sequenze T1-pesate MPRAGE. All'interno di questo tool il modulo CerebNet è stato utilizzato per la sub-segmentazione lobulare del cervelletto (**Figura 2**) (Faber et al., 2022; Lobo et al., 2025).

Il tool consente l'estrazione di volumi regionali comprendenti lobuli cerebellari emisferici, sottoregioni del verme. I volumi regionali sono stati successivamente normalizzati per la misura volumetrica globale intra-soggetto; per le strutture pari e simmetriche, sono state inoltre calcolate misure bilaterali sommate destro-sinistro, al fine di ridurre la dimensionalità delle analisi.

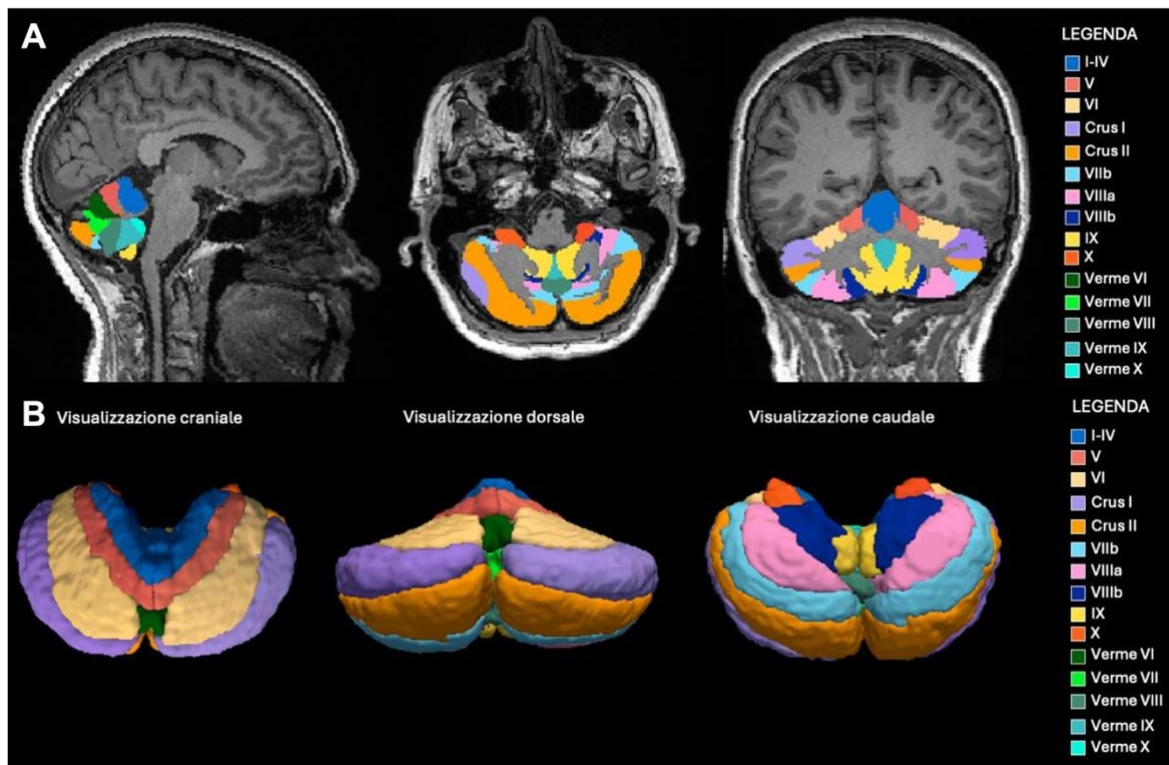


Figura 2. Segmentazione lobulare del cervelletto con il modulo CerebNet.

La segmentazione volumetrica delle restanti aree cerebrali è stata eseguita mediante FastSurfer (Henschel et al., 2020).

2.11 [18F] FDG PET cerebrale

Per la valutazione del metabolismo cerebrale, un sottogruppo di pazienti è stato sottoposto a [18F] FDG PET cerebrale, effettuata secondo le linee guida internazionali EANM (versione 3 del 2022) (Guedj et al., 2022).

2.12 Raccolta dei dati e creazione del dataset

I dati sono stati raccolti nel corso di valutazioni cliniche dedicate presso l'ambulatorio di Malattie Neuromuscolari della Clinica Neurologica dell'IRCCS Azienda Ospedaliera Metropolitana – Policlinico San Martino di Genova. Per ciascun paziente, le informazioni sono state ottenute attraverso l'anamnesi strutturata, l'esame neurologico completo con somministrazione delle scale cliniche validate, e l'integrazione con i referti delle indagini strumentali eseguite nell'ambito dello studio. Per i pazienti con diagnosi genetica già nota al momento dell'arruolamento, alcune informazioni anamnestiche sono state integrate mediante revisione della documentazione clinica pregressa.

I dati raccolti sono stati inseriti in un database strutturato su foglio elettronico (Microsoft Excel), organizzato in modo da includere le variabili demografiche, le informazioni anamnestiche, i punteggi delle scale cliniche, i parametri neurofisiologici, i risultati delle indagini per le piccole fibre, i punteggi neuropsicologici e i dati di neuroimaging strutturale e metabolico. Poiché non tutti i pazienti hanno completato l'intero protocollo valutativo, alcune variabili presentano dati mancanti.

2.13 Analisi dei dati

Trattandosi di uno studio esplorativo, non è stato eseguito alcun calcolo della dimensione del campione a priori.

2.13.1 Analisi delle caratteristiche demografiche e cliniche

Le variabili continue sono state riportate come mediane e intervalli interquartile (IQR) in caso di distribuzione non normale, o come medie e deviazioni standard (DS) in caso di distribuzione assimilabile a una gaussiana, mentre le variabili categoriche sono state riportate come numeri assoluti e percentuali sul totale dei pazienti. La normalità della distribuzione è stata esplorata con il test di Shapiro-Wilk.

Le relazioni tra variabili cliniche, neurofisiologiche e neuropsicologiche sono state esplorate con l'analisi di correlazione, utilizzando il coefficiente di correlazione r di Pearson o il coefficiente rho di Spearman a seconda della distribuzione delle variabili.

2.13.2 Analisi di risonanza magnetica strutturale

Per valutare le differenze volumetriche regionali cerebellari tra pazienti e controlli sani e le correlazioni cliniche sono stati utilizzati modelli lineari a effetti misti sui volumi regionali standardizzati mediante z-score. Abbiamo testato la correlazione fra i volumi cerebellari e la gravità clinica dell'atassia, del coinvolgimento vestibolare e della neuropatia sensitiva.

Per evitare l'eccesso di covariate nei modelli lineari, anche in considerazione della ridotta potenza statistica legata alla numerosità campionaria ridotta, sono stati calcolati indici compositi per ogni caratteristica clinica di interesse in modo da ottenere una singola covariata per ogni caratteristica testata.

L'atassia è stata rappresentata dalla scala clinica SARA.

Per valutare l'associazione tra compromissione vestibolare e volumi cerebellari, è stato costruito un indice composito di danno vestibolare mediante Multiple Correspondence Analysis applicata a cinque variabili cliniche categoriali binarie: nistagmo, oscillopsia, riflesso vestibolo-oculare visivamente aumentato, pursuit saccadico e segno di Romberg. Le coordinate della prima dimensione sono state estratte e utilizzate come punteggio continuo di danno vestibolare, con valori più elevati indicativi di maggiore compromissione.

Per valutare l'associazione tra compromissione sensitiva e volumi cerebellari, è stato costruito un indice composito di neuropatia sensitiva mediante analisi delle componenti principali applicata alle variabili neurofisiologiche continue di danno assonale (ampiezze dei potenziali sensitivi dei nervi ulnare, radiale e surale bilateralmente, all'ampiezza del potenziale sensitivo del nervo mediano sinistro e alle ampiezze dei potenziali evocati nocicettivi e laser/termici, inclusi NEP N40, PREP N1 e PREP N2). La prima componente principale è stata mantenuta e invertita di segno, in modo che valori più elevati riflettessero una maggiore severità della compromissione sensitiva.

Nel primo modello lineare (A), per garantire la comparabilità tra le diverse regioni cerebellari, nel confronto tra pazienti CANVAS e controlli sani i volumi sono stati standardizzati mediante z-score sull'intero campione, ma separatamente all'interno di ciascuna ROI. Tale procedura elimina le differenze dimensionali intrinseche tra regioni e consente di valutare se le differenze tra gruppi in una specifica ROI si discostino dal pattern medio osservato nel cervelletto. Nei modelli utilizzati per indagare correlazioni fra le volumetrie cerebrali e i dati clinici i volumi sono stati standardizzati utilizzando media e deviazione standard del gruppo di controllo, permettendo di esprimere ogni misura come deviazione dalla normalità anatomica e di interpretare le associazioni con le variabili cliniche in termini di perdita di volume rispetto all'attesa distribuzione dei sani. (modelli B, C e D).

Il modello A includeva come effetti fissi età standardizzata, sesso, volume cerebrale globale standardizzato, una variabile categorica rappresentante la regione cerebellare di interesse (ROI), il gruppo diagnostico (pazienti-controlli) e l'interazione $ROI \times$ gruppo, mentre il soggetto è stato incluso come effetto casuale per tenere conto della non indipendenza delle misure ripetute derivanti dalle diverse ROI dello stesso individuo

$$\text{Volume_z_CI} \sim \text{età_z} + \text{sesso} + \text{Vol_cerebrale_z} + \text{ROI} * \text{PT_HC} + (1 \mid \text{soggetto})$$

I modelli B, C e D includevano come effetti fissi età standardizzata, sesso, la variabile categorica rappresentante le regioni cerebellari, la variabile clinica di interesse e l'interazione fra questa e le regioni cerebellari. La variabile clinica inserita era rispettivamente la scala per l'atassia SARA nel modello B, la variabile latente rappresentante il coinvolgimento vestibolare nel modello C e la variabile latente rappresentante la gravità della neuropatia periferica in D.

$$\text{Volume_z_HC} \sim \text{età_z} + \text{sesso} + \text{ROI} * \text{score_clinico_z} + (1 \mid \text{soggetto})$$

In tutti i modelli le ROI sono state codificate come contrasto di deviazione, una strategia che consente di interpretare gli effetti di ciascuna regione rispetto alla media di tutte le regioni cerebellari considerate, evitando la scelta arbitraria di una singola ROI di riferimento e favorendo una valutazione più generalizzata della distribuzione topografica dell'atrofia.

L'effetto della covariata di interesse nelle varie regioni è riportato come test F per gli effetti ANOVA omnibus globali e come coefficienti β standardizzati per gli effetti fissi e per le rette semplici regionali stimate post hoc.

La significatività statistica delle differenze regionali è stata valutata applicando una correzione *False Discovery Rate* (FDR) per confronti multipli e i risultati sono stati considerati statisticamente significativi in presenza di $p\text{-value} < 0.05$ a due code.

Le analisi statistiche sono state eseguite parzialmente con il software open source Jamovi versione 2.6.45.0 e con R versione 4.5.1.

3. Risultati

3.1 Caratteristiche demografiche e cliniche della popolazione studiata

La coorte di pazienti affetti da malattia correlata ad espansione biallelica intronica di *RFC1* presa in esame nel presente studio comprende 22 individui, 14 di sesso maschile (64%) e 8 di sesso femminile (36%), con un rapporto maschi: femmine di circa 2:1.

L'età media della coorte alla valutazione era $70,9 \pm 8,5$ anni (mediana, 72,9; range, 52–87).

L'età media di esordio dei sintomi neurologici è stata di $58,2 \pm 10,2$ anni (mediana, 58,5; range, 38–70).

La durata media di malattia (calcolata come tempo intercorso dall'esordio dei primi sintomi neurologici all'ultima valutazione, escludendo la tosse stizzosa) è risultata di $12,3 \pm 5,7$ anni (mediana, 10,4; range, 5–22.7).

Per quanto riguarda la modalità di presentazione, nel 68% dei pazienti (16/22) il sintomo d'esordio è stato di tipo sensitivo, con parestesie e/o ipoestesia prevalentemente nei settori distali degli arti inferiori. Nel 27% dei pazienti (6/22) l'esordio è avvenuto con disturbi dell'equilibrio, instabilità posturale o disturbo della marcia di grado variabile; in un solo caso (5%) l'esordio è stato a carattere cognitivo-comportamentale, con cambiamenti della personalità e apatia.

Un'anamnesi familiare positiva per neuropatia e atassia è stata riscontrata nel 27% dei pazienti (6/22). In 3 casi il familiare affetto aveva ricevuto una diagnosi geneticamente confermata di malattia da espansione intronica di *RFC1*, mentre nei restanti 3 la storia familiare era riferibile ad atassia o neuropatia sensitiva ad esordio tardivo senza tipizzazione genetica.

La tosse secca stizzosa era presente in tutti e 22 i pazienti della coorte (100%). Nei 17 pazienti per i quali era disponibile l'informazione sull'epoca di insorgenza, l'età media di esordio della tosse è risultata di $39,4 \pm 10,8$ anni (range, 24–60). La tosse ha preceduto la comparsa della sintomatologia neurologica di $17,5 \pm 14,6$ anni in media (mediana, 20 anni; range, –11–39 anni).

Il nistagmo è stato rilevato all'esame obiettivo nel 55% dei pazienti (12/22) e il 64% (14/22) presentava una scomposizione delle saccadi e pursuit saccadico. In particolare, in 11 pazienti il pursuit saccadico si associava alla presenza di nistagmo; in 3 pazienti erano presenti saccadi durante l'inseguimento in assenza di nistagmo, mentre un solo paziente presentava nistagmo senza anomalie del pursuit.

La disartria è stata rilevata all'esame obiettivo nel 24% dei pazienti (5/21). In un caso si trattava in realtà di rinolalia.

La disfagia è stata riferita o documentata nel 45% dei pazienti (10/22). Le modalità di presentazione erano variabili: la maggior parte dei pazienti presentava disfagia per i solidi con necessità di dieta morbida, mentre in alcuni casi si osservava anche disfagia per i liquidi, con necessità di assumerli a piccoli sorsi o addensati. In un caso, la disfagia è stata formalizzata mediante valutazione foniATRica (*Dysphagia Outcome and Severity Scale* - DOSS grado 1, livello 5).

Per quanto riguarda la capacità deambulatoria, la maggior parte dei pazienti manteneva una deambulazione autonoma al momento della valutazione: 15 pazienti su 22 (68%) non necessitavano di alcun ausilio. Tra i restanti, 4 pazienti (18%) facevano ricorso al bastone e 2 (9%) necessitavano di deambulatore. Un solo paziente (5%) era in sedia a rotelle al momento dell'ultimo follow-up, testimonianza della possibile progressione verso una disabilità severa in una minoranza dei casi.

Le principali caratteristiche demografiche e cliniche della coorte studiata sono riportate in **Tabella 6**.

Caratteristica	n/N, %
Dati demografici	
Sesso maschile	14/22, 64%
Anamnesi familiare positiva	6/22, 27%
Modalità di esordio	
Sensitivo (parestesie/ipoestesia arti inferiori)	15/22, 68%
Disturbi dell'equilibrio/marcia	6/22, 27%
Cognitivo-comportamentale	1/22, 5%
Tosse secca stizzosa	
Presenza	22/22, 100%
Segni all'esame neurologico	
Nistagmo	12/22, 55%
Disartria	5/21, 24%
Di cui rinolalia	1/21, 5%
Disfagia	10/22, 45%
Capacità deambulatoria	
Deambulazione autonoma	15/22, 68%
Singolo appoggio	4/22, 18%
Deambulatore	2/22, 9%
Sedia a rotelle	1/22, 5%

Tabella 6. Caratteristiche demografiche e cliniche della coorte (n = 22).

3.2 Scale per la valutazione della gravità di neuropatia e atassia

La scala CMTES (range, 0-28) è stata somministrata a 17 pazienti su 22. Il punteggio medio è risultato di $11,6 \pm 4,2$ (mediana, 11,0; range, 3–17), indicativo di una neuropatia di grado moderato.

Per quanto riguarda l'atassia, la scala SARA (range, 0-40) è stata somministrata a 17 pazienti su 22. Il punteggio medio è risultato di $10,3 \pm 7,0$ (mediana, 10,0; range, 1–25).

I punteggi delle scale nei singoli pazienti sono riportati in **Tabella 7**.

I pazienti con neuropatia più grave presentavano tendenzialmente anche un'atassia più severa, dal momento che è emersa una correlazione statisticamente significativa tra i punteggi CMTES e SARA (ρ di Spearman = 0,702, $p = 0,002$, $n = 17$).

Il punteggio alla scala SARA era più alto all'aumentare dell'età dei pazienti ($\rho = 0,594$, $p = 0,012$, $n = 17$), mentre il punteggio CMTES aveva una tendenza analoga, pur non raggiungendo la significatività statistica ($\rho = 0,439$, $p = 0,078$, $n = 17$).

Paziente	Punteggio CMTES (0–28)	Punteggio SARA (0–40)
1	10	4,5
2	17	21
3	17	12
4	6	8
5	14	11
6	10	2
7	14	21
8	9	11
9	16	25
10	10	5

Paziente	Punteggio CMTES (0–28)	Punteggio SARA (0–40)
11	11	1
12	8	8
13	3	3
14	8	5,5
15	17	16
16	14	11
20	14	10

Tabella 7. Punteggi delle scale CMTES e SARA nei pazienti CANVAS.

3.2 Questionari per la valutazione dei sintomi e segni autonomici

La disfunzione autonoma è stata valutata mediante due strumenti complementari: il COMPASS-31 (*Composite Autonomic Symptom Score 31*), questionario self-report con range 0–100 in cui punteggi più elevati indicano una maggiore gravità dei sintomi autonomici, e il CADT (*Composite Autonomic Dysfunction Test*), espresso come punteggio percentuale in cui valori più bassi indicano una compromissione autonoma più severa.

Il COMPASS-31 è stato somministrato a 17 pazienti su 22. Il punteggio medio è risultato di $21,1 \pm 11,4$ (mediana, 18,0; range, 7–46), indicativo di una disfunzione autonoma di entità variabile ma globalmente moderata.

Il CADT è stato eseguito negli stessi 17. Il punteggio percentuale medio è risultato di $67,6 \pm 15,1$ (mediana, 70,0; range, 45–100).

I risultati dei questionari COMPASS-31 e CADT sono riportati in **Tabella 8**.

È stata evidenziata una correlazione statisticamente significativa tra il punteggio COMPASS-31 e il punteggio percentuale CADT ($\rho = -0,735$, $p < 0,001$, $n = 17$): come atteso, a una maggiore gravità sintomatologica riportata al COMPASS-31 corrispondeva una peggiore performance al CADT.

I punteggi COMPASS-31 e CADT non hanno mostrato correlazioni significative con la gravità della neuropatia (CMTES) né con quella dell'atassia (SARA) (tutti $p > 0,10$).

Paziente	COMPASS-31 (0-100)	CADT (%)
1	7	85
2	24	70
3	8	80
4	14	100
5	7	85
6	15	68.75
7	31	50
8	36	45
9	46	45
10	30	65
11	24	70
12	34	70
13	10	75
14	14	65
15	23	56.25
16	17	50
20	18	70

Tabella 8. Punteggi dei questionari per i sintomi autonomici COMPASS-31 e CADT nella coorte CANVAS.

3.3 Profilo neurofisiologico

L'esame neurofisiologico è stato eseguito in tutti e 22 i pazienti della coorte.

Lo studio di conduzione nervosa (ENG) ha confermato la presenza di una neuropatia sensitiva in tutti i soggetti (22/22, 100%). La neuropatia sensitiva assonale rappresentava il quadro predominante, presente in 19/22 pazienti (86,4%); in 2/22 pazienti (9,1%) la neuropatia era di tipo sensitivo-motorio assonale, mentre in 1/22 (4,5%) è stata identificata una neuropatia sensitiva demielinizzante.

Per quanto riguarda la distribuzione del danno sensitivo, tra i 20 pazienti con dati ENG sensitivi dettagliati disponibili, il coinvolgimento risultava diffuso, con anomalie dei potenziali d'azione sensitivi (SAP) sia agli arti superiori sia agli arti inferiori in 19/20 pazienti (95,0%). In un paziente le anomalie erano confinate agli arti inferiori, con risposte sensitive conservate agli arti superiori (5,0%).

Le risposte sensitive erano non evocabili agli arti inferiori nel 55% dei pazienti (11/20) e, tra questi, non registrabili anche agli arti superiori nell'82% (9/11) (**Tabella 9**).

Paziente	SAP AASS	SAP AAIL	SAP surale dx (μV)	SAP surale sn (μV)
1	↓ Ampiezza	↓ Ampiezza	2,7	1,4
2	↓ Ampiezza	NR	NR	—
3	NR	NR	NR	NR
4	NR	NR	NR	NR
5	NR	NR	NR	NR
6	↓ Ampiezza	↓ Ampiezza	2,4	4,8
7	NR	NR	NR	NR
8	NR	NR	—	NR
9	NR	NR	—	NR
10	NR	NR	NR	NR
11	↓ Ampiezza	NA	—	—
12	↓ Amp + ↓ VCS	↓ Amp. + ↓ VCS	1,6	1,1
13	↓ Ampiezza	↓ Ampiezza	1,0	0,7
15	NR	NR	NR	NR
16	↓ Ampiezza	↓ Ampiezza	2,8	—
17	Nella norma	↓ VCS	NR	NR
18	NR	NR	NR	NR
20	↓ Ampiezza	↓ Ampiezza	0,8	NR
21	↓ Ampiezza	↓ Ampiezza	3,6	3,5
22	↓ Ampiezza	NR	NR	—

Tabella 9. Risultati dello studio delle velocità di conduzione dei nervi sensitivi e ampiezza dei potenziali d'azione sensitivi (nervo surale). AAIL = arti inferiori; AASS = arti superiori; dx = destra; NR = non registrabile; SAP = *Sensory Action Potential*; sn = sinistra; VCS = velocità di conduzione sensitiva.

Alterazioni all'ENG motoria erano presenti in 7/20 pazienti (35%). Le anomalie comprendevano riduzioni di ampiezza dei CMAP e/o rallentamento della velocità di conduzione motoria (MCV), di entità e distribuzione variabili (**Tabella 10**). In 2 casi la neuropatia era classificata come sensitivo-motoria; nei restanti 5 pazienti le alterazioni motorie erano elementi aggiuntivi a fronte di una neuropatia sensitiva prevalente.

Paziente	Nervo	CMAP dx (mV)	CMAP sx (mV)	MCV dx (m/s)	MCV sn (m/s)	Conclusione
3	Peroneo	2,0	1,9	43,0	45,0	↓ Ampiezza CMAP – sensitivo motorio assonale
4	Peroneo	3,5	4,8	37,6	35,6	↓ Ampiezza + ↓ MCV – sensitivo motorio assonale
5	Peroneo	2,7	4,0	44,2	39,1	↓ Ampiezza – UMN+LMN
8	Peroneo	—	4,7	—	35,0	↓ Ampiezza + ↓ MCV – assonale
9	Ulnare	0,7	—	24,1	—	↓ Ampiezza severa – assonale
17	Peroneo	5,1	3,8	40,0	39,0	↓ MCV bilat. – demielinizzante
22	Peroneo	1,1	3,7	35,0	35,0	↓ Ampiezza + rall. distale

Tabella 10 - Valori di ampiezza dei *Compound Motor Action Potential* – CMAP e velocità di conduzione motoria (MCV) nei pazienti con anomalie all'elettroencefalografia motoria (7/20 pazienti).

L'EMG ad ago è stata eseguita in 10/22 pazienti (45,5%). Segni di denervazione attiva (fibrillazioni e/o *positive sharp wave*, PSW) erano presenti in 4 pazienti, con distribuzione prevalente ai muscoli distali degli arti inferiori. Segni di denervazione cronica (potenziali di unità motoria – MUP di ampiezza e durata aumentate) erano rilevabili in 5 pazienti. In 2 pazienti coesistevano segni di denervazione attiva e cronica. Complessivamente, 7/10 pazienti sottoposti ad EMG (31,8% della coorte totale) presentavano almeno un reperto suggestivo di denervazione (**Tabella 11**).

Paziente	Reclutamento	MUP	Attività spontanea	Den. attiva	Den. cronica
1	Ridotto	Normale	Assente	No	No
2	Povero	↑ Ampiezza e durata	Assente	No	Sì
3	Povero	↑ Ampiezza e durata	Fib + PSW (TA bilat.)	Sì	Sì
4	NA	↑ Ampiezza	Assente	No	Sì
5	Ridotto	Normale	Fib (TA dx, gastroc. sx)	Sì	No
8	Ridotto	↑ Ampiezza e durata	Assente	No	Sì
9	NA	NA	PSW	Sì	No
16	Ridotto	↑ Ampiezza e durata	Fib + PSW	Sì	Sì
17	Ridotto	Normale	Assente	No	No
21	Ridotto	Normale	Assente	No	No

Tabella 11. Reperti all'elettromiografia ad ago nei 10 pazienti esaminati-Abbreviazioni: Den. = denervazione; Eib. = fibrillazioni; MUP = potenziale d'azione di unità motoria; NA = non analizzabile; PSW = onda positiva appuntita; TA = tibiale anteriore.

I MEP agli arti inferiori sono stati registrati in 11/22 pazienti (50,0%; **Tabella 12**). Quattro pazienti presentavano alterazioni dei MEP, con prolungamento del CMCT (18,2%). Nei restanti 7 pazienti, il CMCT era nei limiti di norma (range, 10,52-15,00 ms).

Paziente	MEP arti inferiori	CMCT dx (ms)	CMCT sn (ms)
1	Normale	12,5	12,5
2	Patologico	19,6	17,1
3	Normale	10,5	11,8
4	Normale	14,3	15,0
5	Patologico	20,3	20,0
7	Normale	NA	NA
8	Patologico	NA	NA
9	NA	NA	NA
16	Normale	12,2	12,0
17	Normale	NA	NA
18	Patologico	NA	NA
21	Normale	11,3	13,6

Tabella 12. Potenziali evocati motori registrati agli arti inferiori con tempo di conduzione centrale motoria (CMCT) negli 11 pazienti esaminati.

Tra i pazienti con segni di coinvolgimento motorio, il Paziente 9 presentava fascicolazioni clinicamente evidenti, atrofia muscolare e lieve deficit di forza nei settori distali dei quattro arti, con MEP patologici agli arti inferiori, in un contesto di durata di malattia di 21 anni, punteggio SARA di 25/40 e CMTES di 16/28.

3.4 Il coinvolgimento delle piccole fibre

3.4.1 Dolore neuropatico

Il dolore neuropatico era presente nel 77,3% dei pazienti (17/22). Le caratteristiche qualitative erano eterogenee: il 41,2% dei pazienti (7/17) presentava disestesie urenti, il 29,4% (5/17) sensazione di puntura di spillo e/o scarica elettrica, l'11,8% (2/17) sensazione

di costrizione o fasciatura e il 17,6% (3/17) aveva allodinia. Un paziente presentava prurito associato al dolore.

3.4.2 Potenziali evocati nocicettivi (NEP) e potenziali evocati dolore-correlati (PREP)

In un sottogruppo di 16 pazienti è stato effettuato lo studio di NEP e PREP (**Tabella 13**).

Per quanto riguarda i NEP, la risposta N40 è risultata non registrabile nel 43,8% (7/16) dei pazienti. La latenza media della risposta N40 era di $46,18 \pm 2,75$ ms (valore di riferimento nella popolazione sana: $41,21 \pm 3,13$ ms (Massucco et al., 2025)), mentre l'ampiezza media era di $0,43 \pm 0,49$ μ V.

Per quanto riguarda i PREP, sia la risposta lateralizzata N1 che la risposta al vertice N2 sono risultate non registrabili nel 50% dei pazienti (8/16).

La latenza media della componente N1 era $136,35 \pm 6,02$ ms (valore di riferimento nella popolazione sana: $124,09 \pm 31,77$ ms (Massucco et al., 2025)), mentre l'ampiezza media era $3,72 \pm 5,66$ μ V.

La latenza media della componente N2 era $205,25 \pm 21,21$ ms (valore di riferimento nella popolazione sana: $192,79 \pm 53,93$ ms (Massucco et al., 2025)), mentre l'ampiezza media era $7,23 \pm 7,08$ μ V.

Pz	IENFD coscia (fibre/mm)	IENFD gamba (fibre/mm)	Latenza NEP (ms)	Latenza PREP (ms)		Latenza SEP (ms)	ESC
			N40	N1	N2	N20	
1	3.8	1.3	nr	nr	183.0	25.9	red.
2	3.7	4.1	nr	nr	nr	24.7	red.
3	0.3	0.5	nr	nr	nr	24.1	red.
4	0.5	0.4	nr	nr	nr	29.5	red.
5	0.4	0.0	51.6	136.8	221.4	32.5	n
6	-	-	45.2	142.0	206.0	27.9	n
7	-	-	46.8	nr	nr	20.5	red.
8	0.2	1.0	nr	136.6	239.2	Nr	red.
9	2.2	1.2	nr	nr	nr	41.1	red.
10	-	-	46.0	131.4	202.8	26.9	n
11	0.3	0.5	44.6	138.8	179.8	20.7	n
12	0.4	0.4	48.2	142.6	222.0	22.5	n
13	0.4	0.3	44.0	124.2	187.8	24.3	red.
14	4.7	4.0	42.0	138.4	nr	24.5	n
15	0.0	1.1	nr	nr	nr	30.1	red.
16	0.3	1.1	47.2	nr	nr	28.3	red.

Tabella 13. Densità di fibre nervose intraepidermiche, latenza di potenziali evocati nocicettivi, dolore-correlati e somatosensoriali e conduttanza elettrochimica cutanea della popolazione studiata. ESC = conduttanza elettrochimica cutanea; IENFD = densità di fibre nervose intraepidermiche; NEP = potenziali evocati nocicettivi; PREP = potenziali evocati dolore-correlati; Pz = paziente. Risultato: n = normale, nr = non registrabile, red. = ridotta rispetto al limite inferiore della norma.

3.4.3 Valutazione della funzione sudomotoria (Sudoscan)

Il Sudoscan è stato eseguito nel 72,7% dei pazienti (16/22) e risultava alterato nel 62,5% dei pazienti esaminati (10/16; **Tabella 13**). In particolare, il test è stato considerato alterato in presenza di valori di ESC inferiori al limite inferiore della norma in almeno una sede (valori di riferimento: $ESC \geq 60 \mu S$ per le mani e $\geq 70 \mu S$ per i piedi (Casellini et al., 2013)).

I valori medi di ESC erano: mano destra $53,3 \pm 22,1 \mu S$ (mediana, 55,0; range, 13–83 μS), mano sinistra $55,5 \pm 20,8 \mu S$ (mediana, 61,0; range, 15–85 μS), piede destro $59,6 \pm 25,2 \mu S$

(mediana, 69,5; range, 23–94 μ S), piede sinistro 59,4 $\pm$ 23,6 μ S (mediana, 67,0; range, 18–93 μ S). I risultati per ciascun paziente sono riportati in **Tabella 14**.

È emersa una correlazione statisticamente significativa tra il punteggio percentuale CADT e i valori di ESC al piede destro (rho di Spearman = 0,588, p = 0,017, n = 16) e al piede sinistro (rho di Spearman = 0,544, p = 0,029, n = 16).

Paz.	Sudoscans	ESC mano dx (μ S)	ESC mano sn (μ S)	ESC piede dx (μ S)	ESC piede sn (μ S)
1	Alterato	52	53	84	84
2	Alterato	13	15	25	34
3	Alterato	35	50	81	78
4	Alterato	42	42	66	62
5	Normale	72	69	75	75
6	Normale	76	76	73	69
7	Alterato	58	66	59	65
8	Alterato	44	49	23	22
9	Alterato	52	56	26	35
10	Normale	71	71	75	70
11	Normale	74	69	76	75
12	Normale	83	85	94	93
13	Alterato	66	70	65	64
14	Normale	73	71	79	76
15	Alterato	22	21	24	30
16	Alterato	20	25	28	18

Tabella 14. Risultati del Sudoscans (Alterato/Normale; ESC mani e piedi in μ S) per ciascun paziente esaminato (n = 16). Il Sudoscans è stato classificato come alterato in presenza di ESC < 60 μ S alle mani o < 70 μ S ai piedi [41]. ESC = conduttanza elettrochimica cutanea; Paz. = paziente; dx = destra; sn = sinistra.

3.4.4 Biopsia di cute e densità di fibre nervose intraepidermiche (IENFD)

La biopsia di cute è stata eseguita nel 59,1% dei pazienti (13/22). La IENFD media alla gamba distale è risultata di $1,22 \pm 1,32$ fibre/mm (mediana, 1,00; range, 0–4,10 fibre/mm), mentre la IENFD media alla coscia era $1,32 \pm 1,67$ fibre/mm (mediana, 0,40; range, 0–4,70 fibre/mm). I risultati per ciascun paziente sono riportati in **Tabella 13**.

Un paziente (paziente15) ha iniziato a presentare disestesie urenti nei settori distali degli arti inferiori e allodinia diffusa all'età di 57 anni. Le velocità di conduzione dei nervi sensitivi e motori ai quattro arti erano risultate inizialmente nella norma, ma una biopsia di cute eseguita all'età di 60 anni ha dimostrato una IENFD ridotta rispetto ai valori di riferimento per sesso e età. Vista la normalità degli esami di laboratorio, al paziente era stata inizialmente diagnosticata una neuropatia delle piccole fibre idiopatica. All'età di 62 anni, dopo la comparsa di una lieve riduzione di ampiezza dei potenziali d'azione sensitivi del nervo surale, è stata effettuata la ricerca di espansioni introniche in *RFC1* ed è stata confermata la diagnosi di CANVAS/malattia correlata a RFC.

3.5 Profilo neuropsicologico

La valutazione neuropsicologica è stata eseguita in 11 dei 22 pazienti (50,0%) della coorte.

Tutti i pazienti valutati erano destrimani (indice di Annett = 24).

Per ciascun test, i punteggi grezzi sono stati corretti per età e scolarità. I punteggi corretti sono stati quindi convertiti in punteggi equivalenti, espressi su una scala da 0 a 4, in cui 0 indica una prestazione patologica e valori più elevati indicano prestazioni progressivamente migliori. Vengono di seguito riportati i punteggi corretti ed equivalenti dei test.

Il punteggio corretto medio alla scala *Montreal Cognitive Assessment* (MoCA, range 0-30) è risultato di $26,27 \pm 2,49$ (mediana 27; range 22–30). In 4 pazienti su 11 (36,4%) il punteggio corretto era inferiore a 26.

La rievocazione immediata (Rey 15 parole – IR) è stata valutata in tutti gli 11 pazienti, con un punteggio corretto medio di $40,15 \pm 9,24$ (mediana 38,1; range 26,3–59,3); il punteggio equivalente era 0 o 1 in 2 pazienti su 11 (18,2%). La rievocazione differita (Rey 15 parole – DR) è stata anch'essa valutata in tutti gli 11 pazienti, con un punteggio corretto medio di $7,97 \pm 3,90$ (mediana 8,1; range 0,0–15,8); il punteggio equivalente era 0 o 1 in 3 pazienti su 11 (27,3%).

Al *Trail Making Test* parte A (TMT-A), disponibile con punteggio corretto ed equivalente in 6 pazienti, il tempo corretto medio è risultato di $31,00 \pm 17,94$ s (mediana 29,5 s; range 12–53 s); nessun paziente (0/6) presentava un punteggio equivalente di 0 o 1. Al TMT-B, disponibile con punteggio corretto ed equivalente in 6 pazienti, il tempo corretto medio è risultato di $92,83 \pm 69,88$ s (mediana 59,5 s; range 27–188 s); il punteggio equivalente era 0 o 1 in 1 paziente su 6 (16,7%). La differenza B-A (TMT-B-A), disponibile con punteggio corretto ed equivalente in 6 pazienti, mostrava un tempo corretto medio di $62,00 \pm 59,08$ s (mediana 34,5 s; range 15–151 s); il punteggio equivalente era 0 o 1 in 2 pazienti su 6 (33,3%).

Alla *Frontal Assessment Battery* (FAB, 0-18), il punteggio equivalente era disponibile in 6 pazienti, risultando 0 o 1 in 2 pazienti su 6 (33,3%); il punteggio corretto, disponibile in 5 pazienti, presentava una media di $15,74 \pm 1,28$ (range 13,9–17,5).

Il *Digit Span* avanti, valutato in 6 pazienti, mostrava un punteggio corretto medio di $6,21 \pm 0,46$; nessun paziente (0/6) presentava un punteggio equivalente di 0 o 1. Il *Digit Span* indietro, anch'esso valutato in 6 pazienti, mostrava un punteggio corretto medio di $4,30 \pm 0,78$; il punteggio equivalente era 0 o 1 in 1 paziente su 6 (16,7%).

Il *Clock Drawing Test* (CDT), disponibile in tutti gli 11 pazienti, mostrava un punteggio equivalente di 0 o 1 in nessun paziente (0/11). La Copia di Figura Semplice, disponibile in 10 pazienti, presentava un punteggio corretto medio di $9,68 \pm 0,86$ (mediana 9,8; range 7,9–11,0); il punteggio equivalente era 0 o 1 in 1 paziente su 10 (10,0%).

La fluenza semantica, valutata in tutti gli 11 pazienti, mostrava un punteggio corretto medio di $44,45 \pm 9,36$ (mediana 44,0; range 31,0–60,0); nessun paziente (0/11) presentava un punteggio equivalente di 0 o 1. La fluenza fonemica, anch'essa valutata in tutti gli 11 pazienti, mostrava un punteggio corretto medio di $31,28 \pm 10,33$ (mediana 32,6; range 10,9–47,2); il punteggio equivalente era 0 o 1 in 3 pazienti su 11 (27,3%).

Complessivamente, un profilo neuropsicologico alterato in almeno un dominio (punteggio equivalente ≤ 1) era presente in 7 degli 11 pazienti valutati (63,6%); i domini più frequentemente compromessi erano la memoria episodica a lungo termine (rievocazione differita delle 15 Parole di Rey; 3/11, 27,3%), la fluenza fonemica (3/11, 27,3%) e la componente esecutiva del Trail Making Test (TMT-B-A; 2/6, 33,3%).

I punteggi equivalenti per ciascun paziente sono riportati in **Tabella 15**.

Paz.	MoCA	TMT-A eq.	TMT-B eq.	TMT-B-A eq.	FAB eq.	DS↑ eq.	DS↓ eq.	Rey IR eq.	Rey DR eq.	CDT eq.	SFC eq.	Flu. Sem.	Flu. Fon.
Paz.1	22	4	4	4	3	4	1	1	3	4	3	4	1
Paz. 2	25	4	1	1	1	4	4	3	1	4	1	3	4
Paz. 3	27	NA	NA	NA	NA	NA	NA	4	4	4	NA	4	4
Paz. 4	30	NA	NA	NA	NA	NA	NA	3	1	4	3	4	4
Paz. 5	23	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0	0	4	2	4	0
Paz. 8	26	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2	4	4	3	2	1
Paz. 9	27	3	4	4	4	4	4	3	3	3	4	4	4
Paz. 10	30	4	4	4	1	4	4	4	4	4	3	4	4
Paz. 12	27	NA	NA	NA	NA	NA	NA	4	4	4	3	4	4
Paz. 16	25	4	4	4	3	4	3	4	3	4	3	3	4
Paz. 17	27	2	2	1	3	4	3	4	4	4	3	3	4

Tabella 15. Punteggi equivalenti ai test neuropsicologici per ciascun paziente valutato (n = 11). I punteggi equivalenti sono stati derivati dai punteggi corretti per età e scolarità e sono espressi su una scala da 0 a 4, in cui 0 indica una prestazione patologica e valori più elevati indicano prestazioni progressivamente migliori. NA = non eseguito. DS↑ = Digit Span avanti; DS↓ = Digit Span indietro; Rey IR/DR = Lista di Parole di Rey rievocazione immediata/differita; SFC = Copia di Figura Semplice; Flu. Sem. = Fluenza Semantica; Flu. Fon. = Fluenza Fonemica.

3.6 EEG

L'elettroencefalogramma (EEG) è stato eseguito in 13 dei 22 pazienti (59,1%) della coorte. In tutti i 13 pazienti esaminati era identificabile un ritmo posteriore dominante. Il ritmo 8–9 Hz era il più frequente, presente in 9 pazienti su 13 (69,2%), incluso un paziente con ritmo 8,5–9 Hz; un ritmo 9–10 Hz era presente nei restanti 4 pazienti (30,8%). Quando esplicitamente riportato (n = 11), il gradiente anteroposteriore era conservato nel 90,9% dei casi (10/11) ed assente in un paziente (9,1%). Quattro pazienti su 13 (30,8%) hanno presentato fluttuazioni del livello di vigilanza durante la registrazione. In 6 pazienti (46,2%) si sono osservate brevi sequenze di onde a 5–7 Hz di media ampiezza in sede fronto-temporale, bilaterali o lateralizzate, mentre in 3 pazienti (23,1%) era presente un rallentamento diffuso dell'attività di fondo correlato alle fluttuazioni del livello di vigilanza. Nessun paziente presentava grafoelementi epilettiformi. I risultati per ciascun paziente sono riportati in **Tabella 16**.

Paz.	Ritmo posteriore dominante	Gradiente antero-posteriore	Fluttuazioni di vigilanza
Paz. 1	9–10 Hz	Presente	No
Paz. 2	8,5–9 Hz	Presente	No
Paz. 3	9–10 Hz	Presente	Sì
Paz. 5	8–9 Hz	Presente	No
Paz. 8	9–10 Hz	Presente	No
Paz. 9	9–10 Hz	NA	No
Paz. 10	8–9 Hz	Presente	Sì
Paz. 12	8–9 Hz	Assente	No
Paz. 13	8–9 Hz	Presente	No
Paz. 15	8–9 Hz	Presente	Sì
Paz. 16	8–9 Hz	Presente	Sì
Paz. 17	8–9 Hz	NA	No
Paz. 21	8–9 Hz	Presente	No

Tabella 16. Risultati dell'EEG per ciascun paziente esaminato (n = 13). NA = dato non disponibile

3.7 MRI cerebrale

Nel modello A, i pazienti hanno dimostrato una significativa riduzione dei volumi cerebellari ($\beta = -0.78$ SD, $p = 0.002$) e una significativa modulazione regionale ($F = 11.38$, $p = 0.003$). Sono infatti emerse differenze volumetriche regionali tra pazienti e controlli (**Figura 3**). Dopo correzione FDR per confronti multipli, i pazienti con CANVAS mostravano una riduzione significativa dei volumi in specifiche regioni cerebellari. Le differenze più marcate sono state osservate a livello del lobulo X bilaterale ($\beta = -1.84$ SD, $pFDR < 0.001$) e del verme VIII ($\beta = -1.43$ SD, $pFDR < 0.001$). Riduzioni significative erano inoltre presenti nel lobulo V bilaterale ($\beta = -1.04$ SD, $pFDR = 0.02$), nel verme IX ($\beta = -1.01$ SD, $pFDR = 0.02$), nel verme X ($\beta = -1.00$ SD, $pFDR = 0.02$) e nel lobulo VIIb bilaterale ($\beta = -0.91$ SD, $pFDR = 0.03$). Nel complesso quindi, il pattern di atrofia risultava particolarmente pronunciato nelle strutture vestibolo-cerebellari, con il maggiore effetto osservato nel lobulo X bilaterale, seguito dal verme VIII.

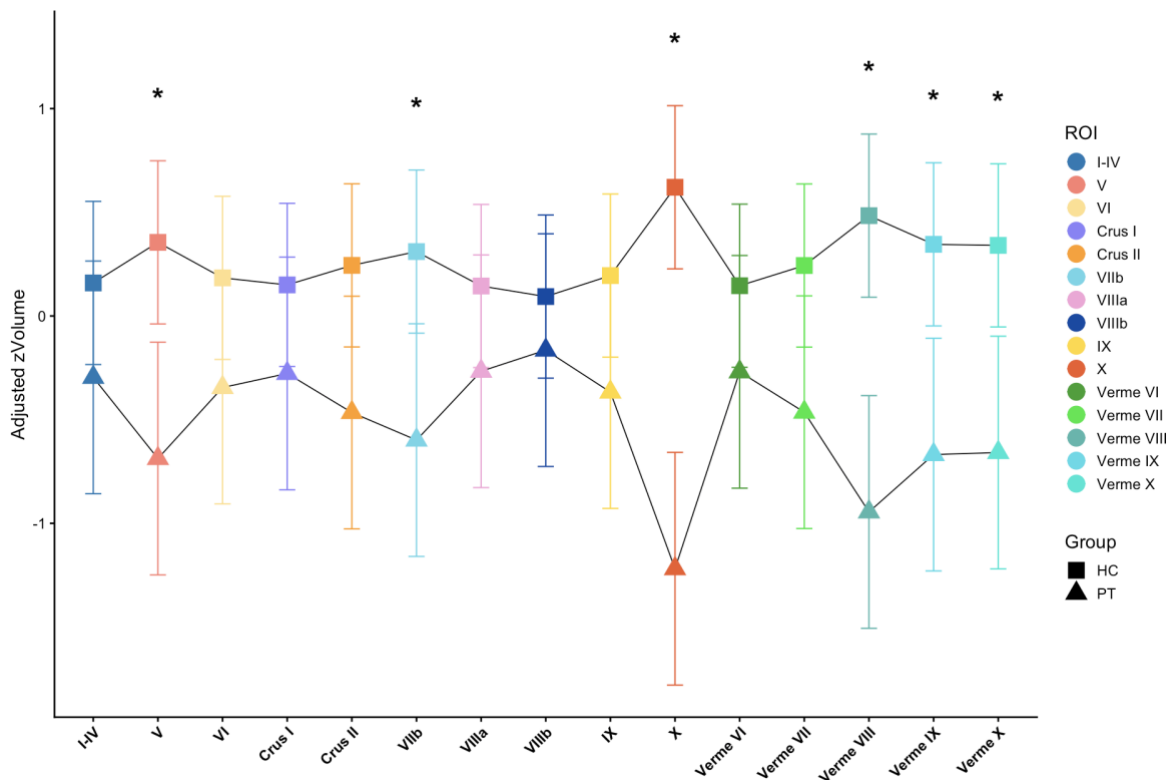


Figura 3. Medie marginali stimate dei volumi cerebellari regionali tra controlli sani e pazienti con CANVAS/malattia correlata a RFC1. La figura mostra le differenze stimate tra controlli sani (HC) e pazienti (PT) nei volumi z-score delle regioni cerebellari di interesse (ROI) aggiustati per le covariate e l'effetto random. Le stime sono state ottenute mediante un modello lineare misto, aggiustato per età, sesso e volume cerebrale totale, includendo il soggetto come intercetta casuale. Le barre verticali rappresentano gli intervalli di confidenza al 95%. *= confronti pazienti – controlli significativi.

Nel modello B, è stata evidenziata un'associazione significativa tra il punteggio SARA e il volume cerebellare complessivo ($\beta = -0.79$, $p = 0,036$), indicando che una maggiore gravità dell'atassia si associa a minori volumi cerebellari. L'interazione $\text{ROI} \times \text{SARA}$ non è risultata significativa ($F = 0,99$, $p = 0,473$), suggerendo che l'associazione tra SARA e volume non differisca in modo statisticamente robusto tra le diverse ROI. Tuttavia, le analisi regionali hanno evidenziato associazioni negative significative tra il punteggio SARA e il volume di specifiche ROI, che hanno mantenuto la significatività dopo correzione FDR per confronti

multipli, in particolare nel lobulo X bilaterale ($\beta = -1.28$; $pFDR = 0.042$), nel lobulo V bilaterale ($\beta = -1.17$; $pFDR = 0.042$), nel lobulo VI bilaterale ($\beta = -1.16$; $pFDR = 0.042$) e nel verme VI ($\beta = -1.30$; $pFDR = 0.042$). Questi risultati suggeriscono che la maggiore compromissione atassica sia associata a una riduzione volumetrica cerebellare più marcata, con coinvolgimento soprattutto di regioni implicate nei circuiti motori e sensori-motori cerebellari.

Nel modello C, l'effetto principale del danno vestibolare ha mostrato un effetto significativo sui volumi cerebellari ($\beta = -0.8839$, $p=0.02$). L'interazione ROI $\times$ danno vestibolare non è risultata significativa ($F = 1,11$, $p = 0,395$), non consentendo di affermare che l'effetto del danno vestibolare differisca in modo statisticamente robusto tra le diverse ROI. Tuttavia, le analisi regionali hanno evidenziato associazioni negative dopo correzione FDR per confronti multipli nel lobulo X bilaterale ($\beta = -1,52$; $pFDR = 0,015$), nel lobulo V bilaterale ($\beta = -1,17$; $pFDR = 0,039$), nel lobulo VI bilaterale ($\beta = -1,17$; $pFDR = 0,039$), nel Crus I bilaterale ($\beta = -1,04$; $pFDR = 0,049$) e nei lobuli I–IV bilaterale ($\beta = -1,04$; $pFDR = 0,049$). Nel complesso, questi risultati indicano che una maggiore compromissione vestibolare si associa a una più marcata riduzione dei volumi cerebellari, con un coinvolgimento particolarmente evidente del lobulo X, principale regione del circuito vestibolo-cerebellare, pur in assenza di differenze statisticamente significative dell'effetto tra le diverse ROI.

Nel modello relativo alla neuropatia sensitiva, la severità del deficit non è risultata significativamente associata al volume cerebellare complessivo ($F = 0,13$; $p = 0,735$), suggerendo l'assenza di una relazione globale tra compromissione sensitiva e grado di atrofia cerebellare. Tuttavia, l'interazione tra ROI e neuropatia sensitiva è risultata significativa ($F = 2,76$; $p = 0.002$), suggerendo una modulazione regionale del pattern di atrofia cerebellare. Nessuno degli effetti regionali semplici è sopravvissuto alla correzione FDR per confronti multipli. L'esame dei coefficienti di interazione regionali ha evidenziato alcune deviazioni

significative rispetto all'effetto medio cerebellare, in particolare con effetti negativi nel Crus II bilaterale ($\beta = -0,93$; $p = 0,011$) e nel lobulo X bilaterale ($\beta = -0,84$; $p = 0,021$), ed effetti positivi nel verme VI ($\beta = 0,77$; $p = 0,036$) e soprattutto nel verme VIII ($\beta = 1,46$; $p < 0,001$). Nel complesso, questi risultati indicano che la neuropatia sensitiva non si associa a una maggiore perdita cerebellare globale, ma potrebbe invece associarsi a una ridistribuzione topografica dell'atrofia, ipotesi che rimane speculativa anche per la scarsa numerosità campionaria.

3.8 [¹⁸F] FDG PET

La [¹⁸F] FDG PET cerebrale è stata eseguita in 9 dei 22 pazienti della coorte (40,9%). Tra questi, 3 (33,3%) presentavano ipometabolismo localizzato a livello della corteccia cerebellare, mentre nei restanti 6 (66,7%) il metabolismo glucidico risultava nella norma (Tabella 17).

Al confronto tra i pazienti con e senza ipometabolismo, non è stata osservata alcuna differenza statisticamente significativa in termini di età (mediana 66 vs 74 anni; U di Mann-Whitney = 4,0; p = 0,243), durata di malattia (mediana 15,6 vs 11,6 anni; U = 11,0; p = 0,714) o gravità dell'atassia valutata mediante scala SARA (mediana 12 vs 9,5 punti, disponibile in 3/3 pazienti con ipometabolismo e in 4/6 senza; U = 8,5; p = 0,476).

Paz.	FDG-PET	Sede ipometabolismo
Paz. 1	Negativa	—
Paz. 2	Negativa	—
Paz. 3	Positiva	Corteccia cerebellare (ipofissazione moderata)
Paz. 4	Negativa	—
Paz. 5	Negativa	—
Paz. 6	Positiva	Corteccia cerebellare (ipofissazione severa)
Paz. 7	Positiva	Corteccia cerebellare (ipofissazione moderata bilaterale)
Paz. 8	Negativa	—
Paz. 9	Negativa	—

Tabella 17. Risultati della [¹⁸F] FDG PET cerebrale nei pazienti esaminati (n = 9). Paz. = paziente.

4. Discussione

I risultati del presente studio contribuiscono a delineare l'ampiezza e la complessità dello spettro fenotipico associato alle espansioni bialleliche introniche nel gene *RFC1*, confermando che la malattia RFC1-correlata va ben oltre la classica triade di atassia cerebellare, neuronopatia sensitiva e areflessia vestibolare bilaterale.

La CANVAS/malattia RFC1-correlata, geneticamente definita dal 2019, presenta infatti ancora oggi uno spettro fenotipico non completamente caratterizzato, con dati sui fenotipi atipici provenienti da studi frammentati, su coorti ridotte e con metodologia eterogenea, che hanno prodotto stime di prevalenza variabili e una comprensione ancora incompleta delle diverse manifestazioni.

Scopo del presente studio è stato pertanto quello di caratterizzare in modo multidimensionale e sistematico tale spettro, con attenzione particolare alle manifestazioni che vanno oltre la triade classica, applicando un protocollo valutativo standardizzato (integrando scale cliniche, neurofisiologia delle grandi e piccole fibre, neuropsicologia e neuroimaging strutturale e metabolico) a una coorte di 22 pazienti con diagnosi geneticamente confermata, con l'obiettivo non solo descrittivo ma anche di identificare possibili correlazioni clinico-strumentali.

4.1 Le piccole fibre sono coinvolte nella CANVAS/malattia correlata a RFC1

I risultati del presente studio documentano un coinvolgimento diffuso delle piccole fibre nella malattia RFC1-correlata, attraverso un protocollo valutativo integrato che combina approccio clinico, neurofisiologico, funzionale e istopatologico.

L'elevata prevalenza di dolore neuropatico (77,3%) conferma che il coinvolgimento delle piccole fibre somatiche rappresenta una componente clinicamente rilevante della malattia, coerentemente con quanto riportato in letteratura (Tagliapietra et al., 2023).

In questo quadro, merita una riflessione la tosse secca cronica spasmodica, presente nel 100% della nostra coorte e insorta in media circa 17 anni prima dei sintomi neurologici. È stato ipotizzato che la tosse costituisca un'espressione precoce di una neuropatia delle piccole fibre a carico delle afferenze vagali (Tagliapietra et al., 2023; Funcis et al., 2025) e la tosse rappresenta verosimilmente la prima espressione clinica della malattia.

Sul piano istopatologico, nella nostra coorte, la biopsia cutanea ha evidenziato una marcata riduzione dell'IENFD rispetto ai limiti normativi, con un pattern di denervazione equivalente tra sede distale e prossimale. Questa distribuzione non lunghezza-dipendente rappresenta la firma istopatologica del meccanismo neuronopatico della malattia RFC1-correlata, e distingue nettamente la CANVAS dalla maggior parte delle neuropatie periferiche ereditarie (Tagliapietra et al., 2023). In accordo con quanto descritto da Tagliapietra e collaboratori, la perdita di piccole fibre epidermiche appare un evento precoce che può precedere le alterazioni delle grandi fibre all'esame neurofisiologico standard (Tagliapietra et al., 2025), conferendo alla biopsia cutanea un potenziale valore diagnostico nelle fasi iniziali della malattia, rilevante soprattutto nei pazienti che si presentano con neuropatia sensitiva isolata, fenotipo sempre più riconosciuto nello spettro RFC1 (Cortese, Tozza et al., 2020).

Di particolare interesse è il Paziente 14, che ha esordito all'età di 57 anni con disestesie urenti agli arti inferiori e allodinia diffusa, in presenza di uno studio delle velocità di conduzione nervosa periferica inizialmente nella norma; la biopsia cutanea eseguita a 60 anni ha documentato una riduzione dell'IENFD rispetto ai valori normativi per sesso ed età, conducendo a una diagnosi iniziale di neuropatia delle piccole fibre idiopatica. Solo a 62 anni, con la comparsa di una lieve riduzione dell'ampiezza dei potenziali d'azione sensitivi del nervo surale, è stata avviata la ricerca delle espansioni introniche in *RFC1*, confermando la diagnosi di CANVAS/malattia correlata a RFC1. Questo caso suggerisce che la denervazione cutanea somatica possa rappresentare un marker precoce della malattia RFC1-correlata, in grado di precedere le alterazioni delle grandi fibre di anni e di orientare la diagnosi in una fase in cui la neurofisiologia standard risulta ancora nella norma.

Le alterazioni neurofisiologiche di NEP e PREP, documentate in circa la metà dei pazienti esaminati nel nostro studio, confermano il coinvolgimento delle vie nocicettive A δ , e la concordanza tra le due metodiche rafforza l'affidabilità del dato in un ambito in cui gli strumenti neurofisiologici dedicati alle piccole fibre rimangono ancora limitati.

I risultati più originali del presente studio riguardano la valutazione della funzione autonoma. La maggior parte dei pazienti presentava infatti sintomi autonomici. Tra questi, l'ipotensione ortostatica assume particolare rilevanza nei pazienti con CANVAS, poiché può aggravare un'instabilità posturale già presente e contribuire ulteriormente al rischio di cadute. La forte correlazione tra COMPASS-31 e punteggio percentuale CADT ($\rho = -0,735$, $p < 0,001$) conferma la coerenza tra i due strumenti clinici nel catturare la gravità dei sintomi autonomici. Ancora più rilevante è la correlazione significativa tra i valori di ESC ai piedi e il punteggio CADT ($\rho = 0,588$, $p = 0,017$): questo dato dimostra che il SudoScan non si limita a rilevare una riduzione della funzione sudomotoria, ma che tale riduzione correla con il burden autonomico globale percepito dal paziente, conferendo allo

strumento un valore clinico che va oltre il semplice dato neurofisiologico. Considerata la scarsità di dati sistematici sul Sudoscan nella malattia RFC1-correlata (Cortese, Tozza et al., 2020; Tagliapietra et al., 2023), questo rappresenta un contributo originale del presente studio. Quasi due terzi dei nostri pazienti presentavano valori ridotti di ESC, indicativi di un interessamento delle fibre colinergiche postgangliari. Questa prevalenza è paragonabile a quella delle alterazioni al *quantitative sudomotor axon reflex test*–QSART riportate da Da Silva-Schmitt et al. (56%) (da Silvia et al., 2022) sebbene superiore rispetto ai dati descritti in altri studi basati su Sudoscan, in cui le percentuali variavano dal 20% al 42% (Tagliapietra et al., 2023; Malaquias et al., 2023; Calezis et al., 2024). Poiché la CANVAS può mimare clinicamente l'MSA, il Sudoscan potrebbe aiutare nella diagnosi differenziale, in quanto l'ESC valuta le fibre postgangliari, che risultano relativamente preservate nelle fasi iniziali della MSA (Lipp et al., 2009).

Nel loro insieme, questi risultati dimostrano che il coinvolgimento delle piccole fibre nella malattia RFC1-correlata è un fenomeno precoce, diffuso e clinicamente rilevante, che richiede un approccio valutativo multimodale per essere adeguatamente caratterizzato.

4.2 Segni di coinvolgimento del motoneurone superiore o inferiore non escludono una diagnosi di CANVAS/malattia correlata a RFC1

Questo studio documenta la presenza di segni di coinvolgimento del sistema motorio in una percentuale non trascurabile dei pazienti. La conservazione o l'esaltazione dei riflessi osteotendinei era stata inizialmente interpretata come espressione del risparmio selettivo delle afferenze Ia di grosso calibro che innervano i fusi muscolari (Cortese, Tozza et al., 2020); tuttavia, la presenza di vera iperreflessia e segni piramidali in un sottogruppo di pazienti suggerisce un coinvolgimento del tratto corticospinale che va oltre tale meccanismo, come evidenziato dalla metanalisi di Massucco e collaboratori (Massucco et al., 2026).

Nella nostra coorte, il CMCT risultava prolungato in 4 degli 11 pazienti sottoposti a MEP (18,2%). L'assenza di spasticità e di un franco segno di Babinski (con riflesso cutaneo-plantare indifferente o in flessione in tutti i pazienti) è coerente con quanto osservato in letteratura, dove i segni piramidali nella malattia RFC1-correlata tendono a manifestarsi in forma frusta, senza necessariamente configurare una sindrome piramidale completa (Massucco et al., 2026).

Sul versante del motoneurone inferiore, le fascicolazioni erano clinicamente evidenti in 2 pazienti (9,1%), e i segni di denervazione all'EMG ad ago erano presenti in 7 su 10 pazienti esaminati, con una prevalenza nella coorte complessiva del 31,8%. Questi dati sono coerenti con quanto riportato in letteratura, dove la prevalenza aggregata di segni di secondo motoneurone è stimata all'11% (Massucco et al., 2026). La discrepanza suggerisce che il coinvolgimento del secondo motoneurone possa essere sottostimato in assenza di una valutazione elettromiografica sistematica.

Di particolare interesse è il Paziente 9, che presentava la combinazione più completa di segni motori nell'intera coorte: fascicolazioni clinicamente evidenti, atrofia muscolare e deficit di

forza nei settori distali degli arti, associati a MEP patologici con prolungamento del CMCT agli arti inferiori, in un contesto di durata di malattia di 21 anni, punteggio SARA di 25/40 e CMTES di 16/28. La coesistenza di segni di primo e secondo motoneurone in questo paziente, in assenza di Babinski e con riflesso cutaneo-plantare indifferente, è emblematica della complessità e variabilità del fenotipo motorio nella malattia RFC1-correlata.

Nel complesso, questi dati sottolineano che la presenza di fascicolazioni, ipostenia, atrofia muscolare o CMCT prolungato non deve essere interpretata come argomento contro la diagnosi di CANVAS, ma, al contrario, come espressione dell'eterogeneità fenotipica e della complessità clinica che caratterizza la malattia RFC1-correlata. Rimane ancora però da chiarire la rilevanza clinica del coinvolgimento motoneuronale nella CANVAS, dal momento che la maggior parte dei pazienti, pur presentando riflessi osteotendinei conservati o aumentati, non ha deficit stenici e l'atassia ha sicuramente il maggior impatto sulla deambulazione e sulla progressiva perdita delle autonomie.

4.3 Deficit cognitivi subclinici potrebbero essere sottostimati nella CANVAS/malattia correlata a RFC1

La valutazione neuropsicologica ha evidenziato un profilo alterato in almeno un dominio nel 63,6% dei pazienti esaminati. Il pattern di compromissione coinvolgeva prevalentemente le funzioni esecutivo-attentive e la memoria episodica verbale, con particolare interessamento del richiamo differito e della fluenza fonemica. Le abilità visuo-costruttive e la fluenza semantica risultavano invece preservate in tutti i pazienti.

Questo profilo è in accordo con quanto descritto da Dujardin e collaboratori nel primo studio sistematico sul coinvolgimento cognitivo nella CANVAS/malattia RFC1-correlata, in cui il 71% dei pazienti mostrava deficit alla MoCA e la grande maggioranza soddisfaceva i criteri per la sindrome cognitivo-affettiva cerebellare (CCAS) di Schmahmann, con le funzioni esecutive e la fluenza fonemica come domini prioritariamente compromessi e le abilità visuospatiali generalmente risparmiate (Dujardin et al., 2024).

La coerenza tra i due studi rafforza l'ipotesi che il deterioramento cognitivo nella malattia RFC1-correlata segua un pattern consistente, riconducibile alla disfunzione dei circuiti cerebello-prefrontali.

Nel complesso, i nostri dati suggeriscono che il coinvolgimento cognitivo nella CANVAS/malattia RFC1-correlata sia una componente reale ma frequentemente sottovalutata, che rischia di passare inosservata in un contesto clinico dominato dalle manifestazioni sensitive e atassiche.

La stima meta-analitica di Massucco e collaboratori, che riporta una prevalenza *pooled* del 31% (Massucco et al., 2026), è verosimilmente sottostimata. Questo è probabilmente dovuto all'inclusione di studi che non prevedevano una valutazione neuropsicologica dedicata, a

conferma di come questa componente tenda a essere sistematicamente messa in secondo piano.

I nostri risultati supportano pertanto la necessità di integrare uno screening neuropsicologico nel follow-up routinario di questi pazienti, indipendentemente dalla gravità delle manifestazioni motorie.

4.4 I pazienti con CANVAS/malattia correlata a RFC1 presentano un pattern di atrofia cerebellare regionale

In letteratura esistono pochi studi quantitativi di imaging cerebrale nella CANVAS/malattia correlata a RFC1. Matos e collaboratori, in uno studio *cross-sectional* su 22 pazienti, hanno descritto un pattern di atrofia cerebellare diffusa e relativamente simmetrica (Matos et al., 2021).

I nostri risultati suggeriscono un coinvolgimento cerebellare regionale, con interessamento prevalente delle regioni vermiane e del lobulo X, piuttosto che una riduzione volumetrica cerebellare uniforme. Il pattern osservato appare compatibile con un coinvolgimento prevalente di regioni cerebellari con ruolo prevalentemente vestibolo-posturale e motorio, quali il lobulo X, le regioni vermiane posteriori e il lobulo V, insieme a un possibile interessamento di aree cerebellari posteriori associative, come il lobulo VIIb.

Nel complesso, le analisi di associazione clinico-radiologica suggeriscono che la degenerazione cerebellare nella CANVAS/malattia correlata a RFC1 non rifletta semplicemente un processo atrofico diffuso, ma possa associarsi in modo parzialmente distinto ai diversi domini clinici della malattia. In particolare, la gravità dell'atassia, misurata mediante il punteggio SARA, è risultata significativamente associata a una riduzione del volume cerebellare complessivo, indicando che l'atrofia cerebellare rappresenta un correlato strutturale rilevante della disabilità atassica. Sebbene l'interazione ROI $\times$ SARA non abbia raggiunto la significatività statistica, le analisi regionali hanno evidenziato associazioni negative significative soprattutto a carico del lobulo X bilaterale, dei lobuli V e VI bilaterali e del verme VI. Questo pattern appare coerente con il coinvolgimento di regioni cerebellari implicate nel controllo motorio, nell'integrazione sensori-motoria e nella regolazione dell'equilibrio e della postura.

Un dato particolarmente interessante riguarda l'associazione tra danno vestibolare e riduzione dei volumi cerebellari. Anche in questo caso, l'effetto principale è risultato significativo, mentre l'interazione $\text{ROI} \times \text{danno vestibolare}$ non ha mostrato una modulazione regionale statisticamente robusta. Tuttavia, le analisi regionali hanno indicato un coinvolgimento particolarmente evidente del lobulo X bilaterale, che rappresenta una delle principali componenti del vestibolo-cervelletto. Questo risultato rafforza l'ipotesi che, nella CANVAS, la compromissione vestibolare possa associarsi anche a un interessamento strutturale delle reti cerebellari deputate all'integrazione vestibolare. Le associazioni osservate anche nei lobuli V, VI, Crus I e I-IV suggeriscono inoltre che il danno vestibolare possa inserirsi in un più ampio quadro di disfunzione cerebellare, coinvolgendo circuiti motori e sensori-motori necessari al mantenimento della stabilità posturale.

Diverso appare invece il quadro relativo alla neuropatia sensitiva. La severità del deficit sensitivo non è risultata associata a una riduzione globale del volume cerebellare. Tuttavia, la presenza di una significativa interazione $\text{ROI} \times \text{neuropatia sensitiva}$ indica che il rapporto tra neuropatia e volume cerebellare potrebbe variare a seconda della regione considerata. In particolare, i coefficienti di interazione hanno mostrato deviazioni negative nel Crus II bilaterale e nel lobulo X bilaterale, e deviazioni positive nel verme VI e soprattutto nel verme VIII. Poiché nessuna delle associazioni regionali semplici è sopravvissuta alla correzione FDR, questi dati devono essere interpretati con cautela. Tuttavia, essi potrebbero suggerire che la neuropatia sensitiva si associ non tanto a una maggiore perdita volumetrica cerebellare globale, quanto piuttosto a una diversa distribuzione topografica dell'atrofia.

Nel loro insieme, questi risultati supportano l'idea che le diverse componenti cliniche della CANVAS possano riflettere, almeno in parte, il coinvolgimento di circuiti cerebellari distinti. L'atassia e il danno vestibolare sembrano mostrare un'associazione più diretta con la riduzione volumetrica cerebellare, con un ruolo particolarmente rilevante del lobulo X e

delle regioni motorie/sensori-motorie. Al contrario, la neuropatia sensitiva potrebbe contribuire al fenotipo clinico attraverso meccanismi più complessi, nei quali la perdita di input propriocettivi periferici interagisce con la funzione cerebellare senza necessariamente tradursi in una maggiore atrofia globale.

In modo complementare, nel primo studio di MRI quantitativa longitudinale su CANVAS/RFC1, Lobo e collaboratori hanno dimostrato che la progressione dell'atassia nel tempo (misurata mediante variazione del punteggio SARA) correla con la riduzione volumetrica del tronco encefalico ($r = -0,873$, $p = 0,019$), suggerendo che strutture diverse (cervelletto e tronco encefalico) contribuiscano entrambe al substrato strutturale dell'atassia nella CANVAS, verosimilmente in fasi o con modalità patofisiologicamente distinte (Lobo et al., 2024).

Nel complesso, i nostri risultati supportano un modello secondo cui le principali componenti cliniche della CANVAS si associano preferenzialmente a sottoreti cerebellari anatomicamente distinte. La disfunzione vestibolare appare strettamente legata alla degenerazione del vestibolocerebello, in particolare del lobulo X; la disabilità motoria dovuta all'atassia, misurata mediante SARA, risulta prevalentemente associata all'atrofia di regioni cerebellari motorie, come il lobulo V; mentre la neuropatia sensitiva mostra una relazione più selettiva con strutture vermiane posteriori, con stime negative nelle pendenze regione-specifiche che tuttavia non raggiungono la significatività statistica, a fronte di un test F complessivo significativo. Pertanto, più che rappresentare un processo neurodegenerativo omogeneo, le correlazioni tra imaging e dati clinici suggeriscono che il fenotipo complesso della CANVAS derivi dal coinvolgimento combinato di molteplici sistemi cerebellari funzionalmente specializzati.

Un ulteriore elemento di interesse riguarda il possibile coinvolgimento di strutture extracerebellari implicate nella regolazione autonoma e nella modulazione dei circuiti

cerebello-diencefalici. In un recente studio *cross-sectional* su 19 pazienti con CANVAS/RFC1 e 19 controlli sani, Souza e collaboratori hanno infatti descritto una riduzione significativa del volume ipotalamico totale e, in particolare, del segmento tubolare superiore sinistro, che risultava inversamente correlato con la severità dell'atassia misurata mediante SARA (Miranda Souza et al., 2025).

Questi dati, insieme ai nostri risultati indicativi di un coinvolgimento cerebellare regionale e funzionalmente organizzato, suggeriscono che la CANVAS/malattia correlata a RFC1 possa interessare non solo sottoreti cerebellari specifiche, ma anche strutture diencefaliche potenzialmente connesse ai circuiti cerebellari e autonomici. Pertanto, studi futuri su coorti più ampie potrebbero integrare la segmentazione cerebellare con una valutazione quantitativa dell'ipotalamo, al fine di chiarire se l'atrofia ipotalamica rappresenti un marker aggiuntivo di severità di malattia, di disfunzione autonoma o di coinvolgimento multisistemico nella CANVAS.

Sul piano del neuroimaging differenziale, Lobo e collaboratori hanno inoltre dimostrato come l'assottigliamento del nervo trigemino (diametro $\leq 2,2$ mm) e del ramo vestibolare dell'VIII nervo rappresenti un segno neuroradiologico altamente specifico della CANVAS rispetto ad altre atassie ad esordio tardivo, configurando un biomarker complementare a quello cerebellare qui descritto (Lobo et al., 2025).

4.5 Limiti dello studio e prospettive future

Il principale limite del presente studio è il ridotto numero di pazienti ($n = 22$), inevitabile nel contesto di uno studio monocentrico su una patologia rara. La dimensione campionaria limita la potenza statistica delle analisi, in particolare per le indagini di neuroimaging strutturale (MRI, $n = 10$) e metabolico (FDG-PET, $n = 9$), i cui risultati devono pertanto essere interpretati come preliminari ed esplorativi.

Un ulteriore limite è rappresentato dalla natura *cross-sectional* dello studio, che non consente di valutare la progressione nel tempo delle diverse componenti dello spettro fenotipico né di distinguere le manifestazioni precoci da quelle tardive.

Infine, non tutti i pazienti hanno completato l'intero protocollo valutativo, con conseguenti dati mancanti in diverse sezioni e analisi condotte su sottogruppi ulteriormente ridotti.

Per quanto riguarda la MRI, la ridotta numerosità campionaria impone prudenza nell'interpretazione dei risultati, soprattutto per le analisi regionali e per i modelli di interazione. Studi futuri su coorti più ampie e longitudinali saranno necessari per confermare questi dati e per valutare se specifici pattern di atrofia cerebellare possano rappresentare biomarcatori strutturali di progressione clinica nella CANVAS.

Le prospettive future si orientano in due direzioni principali: l'avvio di un follow-up longitudinale strutturato della coorte, che permetterà di valutare la progressione nel tempo delle diverse manifestazioni e di identificare possibili predittori di progressione; e l'ampliamento della coorte attraverso l'arruolamento di nuovi pazienti, al fine di aumentare la potenza statistica e consolidare le correlazioni clinico-strumentali descritte in questo studio.

5. Conclusione

La CANVAS/malattia correlata a RFC1 è tradizionalmente definita dalla triade di atassia cerebellare, neuronopatia sensitiva e areflessia vestibolare bilaterale. I risultati del presente studio, condotto su una coorte di 22 pazienti con diagnosi geneticamente confermata mediante un protocollo valutativo multidimensionale, dimostrano che il quadro clinico è sostanzialmente più ampio e complesso di quanto la sola triade classica suggerisca.

L'applicazione sistematica di indagini neurofisiologiche, valutazione neuropsicologica e neuroimaging strutturale e metabolico ha permesso di documentare un coinvolgimento multisistemico che include le fibre nervose di piccolo calibro, coinvolte in modo diffuso e non lunghezza-dipendente, i motoneuroni superiori e inferiori, le funzioni cognitive (in particolare esecutive e mnesiche) e un pattern di atrofia cerebellare regionale con correlati clinici specifici. Questi dati confermano che la malattia RFC1-correlata non è confinata alla triade cardinale, ma rappresenta uno spettro fenotipico in cui manifestazioni aggiuntive sono frequenti e clinicamente rilevanti.

I dati di imaging sono coerenti con una visione della CANVAS come malattia multisistemica, nella quale il fenotipo clinico deriva dall'interazione tra degenerazione cerebellare, deficit vestibolare e neuropatia sensitiva. La dimostrazione di associazioni specifiche tra domini clinici e volumi di particolari regioni cerebellari potrebbe contribuire a chiarire le basi anatomiche dell'eterogeneità clinica osservata nei pazienti con espansione di RFC1.

Nel complesso, questi risultati sottolineano la necessità di un approccio valutativo esteso e standardizzato in tutti i pazienti con malattia RFC1-correlata, che vada oltre la semplice conferma della triade classica. Solo attraverso protocolli multidimensionali e studi longitudinali su coorti più ampie sarà possibile definire con precisione la storia naturale della

malattia, identificare biomarcatori di progressione e porre le basi per futuri interventi terapeutici mirati.

Bibliografia

- Anastasi G, et al. Trattato di Anatomia Umana. Volume Terzo. Quarta edizione. Milano: Edi-Ermes; 2012
- Azvedo Kauppila L, Ten Holter S, Van de Warrenburg B, Bloem BR. A Guide for the Differential Diagnosis of Multiple System Atrophy in Clinical Practice. *J Parkinsonism Dis.* 2022;12. doi:10.3233/JPD-223392
- Benkirane M, Da Cunha D, Marelli C, et al. RFC1 nonsense and frameshift variants cause CANVAS: clues for an unsolved pathophysiology. *Brain.* 2022;145:3770-3775. doi:10.1093/brain/awac280
- Caffarra P, Vezzadini G, Dieci F, Zonato F, Venneri A. Rey-Osterrieth complex figure: normative values in an Italian population sample. *Neurol Sci.* 2002;22(6):443-447. doi:10.1007/s100720200003
- Caffarra P, Vezzadini G, Dieci F, Zonato F, Venneri A. Una versione abbreviata del test di Stroop: dati normativi nella popolazione italiana. *Neurol Sci.* 2002;23(3):135-137. doi:10.1007/s100720200063
- Calezis C, Bonello-Palot N, Verschueren A, et al. Electrophysiological features of the peripheral neuropathy in patients with pathologic biallelic RFC1 repeat expansions. *Muscle Nerve.* 2024;70:1046-1052. doi:10.1002/mus.28257
- Carlesimo GA, Caltagirone C, Gainotti G and the Group for the Standardization of the Mental Deterioration Battery. The Mental Deterioration Battery: normative data, diagnostic reliability and qualitative analyses of cognitive impairment. *Eur Neurol.* 1996;36(6):378-384. doi:10.1159/000117297
- Casellini CM, Parson HK, Richardson MS, Nevoret ML, Vinik AI. Sudoscan, a noninvasive tool for detecting diabetic small fiber neuropathy and autonomic dysfunction. *Diabetes Technol Ther.* 2013;15(11):948-953.

- Clark BC, Manini TM. What is dynapenia? *Nutrition*. 2012;28(5):495-503. doi:10.1016/j.nut.2011.12.002
- Cortese A, Reilly MM, Houlden H. RFC1 CANVAS/Spectrum Disorder. *GeneReviews*. 2020; NBK564656.
- Cortese A, Simone R, Sullivan R, Vandrovcsa J, Tariq H, Yau WY, et al. Biallelic expansion of an intronic repeat in RFC1 is a common cause of late-onset ataxia. *Nat Genet*. 2019;51(4):649-658. doi:10.1038/s41588-019-0372-4
- Cortese A, Tozza S, Yau WY, Rossi S, Beecroft SJ, Jaunmuktane Z, et al. Cerebellar ataxia, neuropathy, vestibular areflexia syndrome due to RFC1 repeat expansion. *Brain*. 2020;143(2):480-490. doi:10.1093/brain/awz418
- Curro R, Dominik N, Facchini S, et al. Role of the repeat expansion size in predicting age of onset and severity in RFC1 disease. *Brain*. 2024;147(5):1887-1898.
- Curro R, Salvalaggio A, Tozza S, Gemelli C, Dominik N, Galassi Deforie V, et al. RFC1 expansions are a common cause of idiopathic sensory neuropathy. *Brain*. 2021;144(5):1542-1550. doi:10.1093/brain/awab072
- da Silva SG, de Lima FD, Matos PCAAP, Martinez AR, Gonzalez-Salazar C, Nucci A, et al. Dysautonomia in RFC1-related disorder: Clinical and neurophysiological evaluation. *Clin Neurophysiol*. 2022;142:68-74. doi:10.1016/j.clinph.2022.07.501
- Davies K, Szmulewicz DJ, Corben LA, Delatycki M, Lockhart PJ. RFC1-related disease: molecular and clinical insights. *Neurol Genet*. 2022;8(5):e200016. doi:10.1212/NXG.0000000000200016
- Delgado-Alvarez A, Matias-Guiu JA, Delgado-Alonso C, et al. Cognitive and behavioral features of RFC1/CANVAS: a neuropsychological and FDG-PET study. *Parkinsonism Relat Disord*. 2026;148:108360. doi:10.1016/j.parkreldis.2026.108360
- Denier C, Ducot B, Husson H, Lozeron P, Adams D, Meyer L, et al. A brief compound test for assessment of autonomic and sensory-motor dysfunction in familial amyloid polyneuropathy. *J Neurol*. 2007;254(12):1684-8. doi:10.1007/s00415-007-0617-5

- Dominik N, Galassi Deforie V, Cortese A, Houlden H. CANVAS: a late onset ataxia due to biallelic intronic AAGGG expansions. *J Neurol*. 2021;268:1119-1126. doi:10.1007/s00415-020-10183-0
- Dubois B, Slachevsky A, Litvan I, Pillon B. The FAB: a frontal assessment battery at bedside. *Neurology*. 2000;55(11):1621-1626. doi:10.1212/WNL.55.11.1621
- Dujardin K, Tard C, Digle E, et al. Cognitive impairment is part of the phenotype of Cerebellar Ataxia, Neuropathy, Vestibular Areflexia Syndrome (CANVAS). *Mov Disord*. 2024;39(5):892-897. doi:10.1002/mds.29750
- England JD, Asbury AK. Peripheral neuropathy. *Lancet*. 2004;363(9466):2151-61.
- Faber J, Kugler D, Bahrami E, Heinz LS, Timmann D, Ernst TM, et al. CerebNet: a fast and reliable deep-learning pipeline for detailed cerebellum sub-segmentation. *Neuroimage*. 2022;264:119703.
- Fernandez-Eulate G, Debs R, Maisonobe T, Latour P, Cohen-Aubart F, Saadoun D, et al. Sjogren syndrome and RFC1-CANVAS sensory ganglionopathy: co-occurrence or misdiagnosis? *J Neurol*. 2023;270(1):460-5. doi:10.1007/s00415-022-11382-7
- 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):189-198. doi:10.1016/0022-3956(75)90026-6
- Funcis A, Brunetti V, Rossi S, et al. Prevalence and Clinical Correlates of Sleep Disorders in RFC1-Spectrum Disorders: A Cross-Sectional Study. *Mov Disord*. 2025;40(9):1990-1995. doi:10.1002/mds.30279
- Guedj E, Varrone A, Boellaard R, Albert NL, Barthel H, van Berckel B, et al. EANM procedure guidelines for brain PET imaging using [18F]FDG, version 3. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2022;49:632-651. doi:10.1007/s00259-021-05603-w
- Henschel L, Conjeti S, Estrada S, Diers K, Fischl B, Reuter M. FastSurfer - A fast and accurate deep learning based neuroimaging pipeline. *Neuroimage*. 2020;219:117012. doi:10.1016/j.neuroimage.2020.117012
- Horowitz T, Guedj E, Eusebio A, et al. Molecular Imaging in CANVAS: A contribution for Differential Diagnosis? *Mov Disord Clin Pract*. 2024;11(7):879-885. doi:10.1002/mdc3.14041

- Huin V, Coarelli G, Guemy C, et al. Motor neuron pathology in CANVAS due to RFC1 expansions. *Brain*. 2022;145(6):2121-2132. doi:10.1093/brain/awab449
- King KA, Wegner DJ, Bucelli RC, et al. Whole-Genome and Long-Read Sequencing Identify a Novel Mechanism in RFC1 Resulting in CANVAS Syndrome. *Neurol Genet*. 2022;8. doi:10.1212/NXG.0000000000200036
- Kumar V, Abbas A, Fausto N, Aster J. Nervo periferico e muscolo scheletrico. In: Robbins e Cotran, le basi patologiche delle malattie. Milano: Elsevier Srl; 2010. pp. 1244-1253.
- Leandri M, Di Stefano G, Truini A, Marinelli L. Early nociceptive evoked potentials (NEPs) recorded from the scalp. *Clin Neurophysiol*. 2021;132(11):2896-2906. doi:10.1016/j.clinph.2021.05.027
- Lipp A, Sandroni P, Low PA. Systemic postganglionic adrenergic studies do not distinguish Parkinson's disease from multiple system atrophy. *J Neurol Sci*. 2009;281:15-19. doi:10.1016/j.jns.2009.03.006
- Lobo CC, Rezende TJR, Pimentel-Silva LR, Jarola GM, Santos NBS, Schmitt GS, et al. Longitudinal Evaluation of Ataxia and Brain Structural Changes in RFC1-Related Disorder. *Mov Disord Clin Pract*. 2025;12(12):2311-2316. doi:10.1002/mdc3.70344
- Lobo CC, Wertheimer GSO, Schmitt GS, Matos PCAAP, Rezende TJR, Silva JM, et al. Cranial nerve thinning distinguishes RFC1-related disorder from other late-onset ataxias. *Mov Disord Clin Pract*. 2024;11(1):45-52. doi:10.1002/mdc3.13930
- Loeb C, Favale E. *Neurologia di Fazio Loeb*. Roma: Societa Editrice Universo; 2003.
- Low PA, Dyck PJ. Splanchnic preganglionic neurons in man. III. Morphometry of myelinated fibers of rami communicantes. *J Neuropathol Exp Neurol*. 1978;37(6):734-740. doi:10.1097/00005072-197811000-00002
- Malaquias MJ, Braz L, Santos Silva C, Damasio J, Jorge A, Lemos JM, et al. Multisystemic RFC1-related disorder: expanding the phenotype beyond cerebellar ataxia, neuropathy, and vestibular areflexia syndrome. *Neurol Clin Pract*. 2023;13(5):e200190. doi:10.1212/CPJ.0000000000200190
- Massucco S, Bruzzone V, Marinelli L, Stara S, Mandich P, Venturi C, Gemelli C, Schenone A, Leandri M, Grandis M. Early nociceptive evoked potentials in symptomatic and

- asymptomatic transthyretin mutation carriers. *Front Neurol.* 2025;16:1677450. doi:10.3389/fneur.2025.1677450
- Massucco S, Hamedani M, Ponzano M, et al. Motor, Extrapyrarnidal, and Cognitive Involvement in RFC1 Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Neurol Genet.* 2026;12:e200393. doi:10.1212/NXG.0000000000200393
- Matos PCAAP, Rezende TJR, Schmitt GS, Bonadia LC, Reis F, Martinez ARM, et al. Brain structural signature of RFC1-related disorder. *Mov Disord.* 2021;36(11):2634-2641. doi:10.1002/mds.28711
- Miranda Souza V, Lobo CC, Rezende TJR, Schmitt GS, Matos PCAAP, Lima FD, Martinez ARM, Barsottini OGP, Pedroso JL, Marques W Jr, Franca MC Jr. Hypothalamic atrophy in CANVAS/RFC1. *J Neurol.* 2025;272:465. doi:10.1007/s00415-025-13194-x
- Monaco M, Costa A, Caltagirone C, Carlesimo GA. Forward and backward span for verbal and visuo-spatial data: standardization and normative data from an Italian adult population. *Neurol Sci.* 2013;34(5):749-754. doi:10.1007/s10072-012-1130-x
- Murphy SM, Herrmann DN, McDermott MP, Scherer SS, Shy ME, Reilly MM, Pareyson D. Reliability of the CMT neuropathy score (second version) in Charcot-Marie-Tooth disease. *J Peripher Nerv Syst.* 2011;16(3):191-198. doi:10.1111/j.1529-8027.2011.00350.x
- Nakamura H, et al. Long-read sequencing identifies the pathogenic nucleotide repeat expansion in RFC1 in a Japanese case of CANVAS. *J Hum Genet.* 2020. doi:10.1038/s10038-020-0733-y
- Nasreddine ZS, Phillips NA, Bedirian V, Charbonneau S, Whitehead V, Collin I, Cummings JL, Chertkow H. The Montreal Cognitive Assessment, MoCA: a brief screening tool for mild cognitive impairment. *J Am Geriatr Soc.* 2005;53(4):695-699. doi:10.1111/j.1532-5415.2005.53221.x
- Novelli G, Papagno C, Capitani E, Laiacona M, Vallar G, Cappa SF. Tre test clinici di ricerca e produzione lessicale: taratura su soggetti normali. *Arch Psicol Neurol Psichiatr.* 1986;47(4):477-506.

- Record CJ, et al. Severe distinct dysautonomia in RFC1-related disease associated with Parkinsonism. Case Report. 2022. doi:10.1111/jns12515
- Reitan RM. Validity of the Trail Making Test as an indicator of organic brain damage. *Percept Mot Skills*. 1958;8:271-276.
- Russell JA. General approach to peripheral nerve disorders. *Continuum (Minneapolis)*. 2017;23(5):1241-1262. doi:10.1212/CON.0000000000000513
- Schmahmann JD, Sherman JC. The cerebellar cognitive affective syndrome. *Brain*. 1998;121(4):561-579. doi:10.1093/brain/121.4.561
- Schmitz-Hubsch T, Tezenas du Montcel S, Baliko L, Berciano J, Boesch S, Depondt C, et al. Scale for the assessment and rating of ataxia: Development of a new clinical scale. *Neurology*. 2006;66(11):1717-1720. doi:10.1212/01.wnl.0000219042.60538.92
- Senderek J, Lassuthova P, Kabzinska D, Abreu L, Baets J, Beetz C, et al. The genetic landscape of axonal neuropathies in the middle-aged and elderly. *Neurology*. 2020;95(24). doi:10.1212/WNL.00000000000011132
- Siciliano M, Santangelo G, D'Iorio A, Basile G, Piscopo F, Grossi D, Trojano L. Rouleau version of the Clock Drawing Test: age- and education-adjusted normative data from a wide Italian sample. *Clin Neuropsychol*. 2017;31(6-7):1100-1117. doi:10.1080/13854046.2016.1241893
- Stoodley CJ, Schmahmann JD. Evidence for topographic organization in the cerebellum of motor control versus cognitive and affective processing. *Cortex*. 2010;46(7):831-844. doi:10.1016/j.cortex.2009.11.008
- Szmulewicz DJ, Waterston JA, MacDougall HG, Mossman S, Chancellor AM, McLean CA, Merchant S, Patrikios P, Halmagyi GM, Storey E. Cerebellar ataxia, neuropathy, vestibular areflexia syndrome (CANVAS): a review of the clinical features and video-oculographic diagnosis. *Ann N Y Acad Sci*. 2011;1233:139-147. doi:10.1111/j.1749-6632.2011.06158.x
- Tagliapietra M, Incensi A, Ferrarini M, et al. Clinical and pathology characterization of small nerve fiber neuro(no)pathy in cerebellar ataxia with neuropathy and vestibular areflexia syndrome. *Eur J Neurol*. 2023;30:3834-3841. doi:10.1111/ene.16018

- Taylor PK. Non-linear effects of age on nerve conduction in adults. *J Neurol Sci.* 1984;66(2-3):223-234. doi:10.1016/0022-510X(84)90011-X
- Tomczuk F, Sulek A, Janik P. CANVAS as example of genetic and clinical complexity of RFC1-related disorders. *Neurol Neurochir Pol.* 2025;59(4):310-322. doi:10.5603/pjnns.103747
- Treister R, O'Neil K, Downs HM, Oaklander AL. Validation of the Composite Autonomic Symptom Scale-31 (COMPASS-31) in patients with and without Small-fiber Polyneuropathy. *Eur J Neurol.* 2015;22(7):1124-1130. doi:10.1111/ene.12717
- Vrancken AFJE, Notermans NC, Wokke JHJ, Franssen H. The realistic yield of lower leg SNAP amplitudes and SRAR in the routine evaluation of chronic axonal polyneuropathies. *J Neurol.* 2008;255(8):1127-35. doi:10.1007/s00415-008-0817-7
- Warendorf J, Vrancken AFJE, van Schaik IN, Hughes RAC, Notermans NC. Drug therapy for chronic idiopathic axonal polyneuropathy. *Cochrane Database Syst Rev.* 2017;(6):CD003456. doi:10.1002/14651858.CD003456.pub3

Appendice

Tabella Supplementare. Caratteristiche demografiche, cliniche e strumentali dei pazienti con CANVAS/malattia correlata a RFC1 (n = 22).

[illegible]

Variabile	# Paziente																					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
Segni cerebellari	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Alterazione VVOR	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	nd	nd	nd	+	-
Tosse cronica	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ESAME NEUROLOGICO																						
Nistagmo	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	-	+	-	+	+	-	+	-	-
Pursuit saccadico	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	-	+	+	+	-	+	-
Oscillopsia	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-
Dismetria AASS	-	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-	+	+	+	-	+	+
Dismetria AAI	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	nd	+
Romberg	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	nd	-	nd	+
Disartria	-	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
Disfagia	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-
Tremore intenzionale	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
Tremore a riposo	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tremore posturale	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Fascicolazioni	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Crampi	+	+	+	+	+	nd	nd	+	+	nd	nd	+	-	nd	nd	+	nd	-	-	-	-	+
Atrofia muscolare	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Variabile	# Paziente																					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
Ipostenia muscolare	–	–	–	–	–	–	–	–	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	–	–
Spasticità	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Riflesso cutaneo plantare	ind.	–	–	–	ind.	–	ind.	ind.	–	–	ind.	–	ind.	–	nd	ind.	–	–	ind.	ind.	ind.	ind.
Segni extrapiramidali	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	–	–	–	–	–	–
Dolore neuropatico	+	+	+	–	+	+	+	–	–	+	+	+	+	+	+	+	–	–	+	+	+	+
ROT vivaci	–	+	+	+	–	+	+	–	+	–	–	–	–	–	–	+	+	+	+	–	–	–
Necessità di ausili per la deambulazione	–	sedia rotelle	bastone	–	–	–	deambulatore	–	deambulatore	–	–	–	–	–	bastone	–	bastone	–	–	–	–	bastone
Ridotto metabolismo alla PET	–	–	+	–	–	nd	nd	nd	+	nd	nd	+	nd	nd	nd	nd	–	nd	nd	nd	–	nd
BIOPSIA DI CUTE — IENFD (FIBRE/MM)																						
Gamba	1.3	4.1	0.5	0.4	0	nd	nd	1	1.2	nd	0.5	0.4	0.3	4	1.1	1.1	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Coscia	3.8	3.7	0.3	0.5	0.4	nd	nd	0.2	2.2	nd	0.3	0.4	0.4	4.7	0	0.3	nd	nd	nd	nd	nd	nd
PICCOLE FIBRE — SUDOSCAN E POTENZIALI EVOCATI																						
ESC mano destra (µS)	52	13	35	42	72	76	58	44	52	71	74	83	66	73	22	20	nd	nd	nd	nd	nd	nd
ESC mano sinistra (µS)	53	15	50	42	69	76	66	49	56	71	69	85	70	71	21	25	nd	nd	nd	nd	nd	nd
ESC piede destro (µS)	84	25	81	66	75	73	59	23	26	75	76	94	65	79	24	28	nd	nd	nd	nd	nd	nd

Variabile	# Paziente																					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
ESC piede sinistro (μS)	84	34	78	62	75	69	65	22	35	70	75	93	64	76	30	18	nd	nd	nd	nd	nd	nd
NEUROFISIOLOGIA																						
ENG sensitiva AASS	↓ amp	↓ amp	NR	NR	NR	↓ amp	NR	NR	NR	NR	↓ amp	↓ amp	↓ amp	nd	NR	↓ amp	N	NR	nd	↓ amp	↓ amp	↓ amp
ENG sensitiva AAI	↓ amp	NR	NR	NR	NR	↓ amp	NR	NR	NR	NR	nd	↓ amp	↓ amp	nd	NR	↓ amp	↓ amp	NR	nd	↓ amp	↓ amp	NR
EMG – Denervazione	–	+	+	+	+	nd	nd	+	+	nd	nd	nd	nd	nd	nd	+	nd	nd	nd	nd	–	nd
MEP — AAI (N / P)	N	P	N	N	P	nd	N	P	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	N	N	P	nd	nd	N	nd
TEST NEUROPSICOLOGICI (PUNTEGGIO EQUIVALENTE)																						
MoCA (corretto)	22	25	27	30	23	nd	nd	26	27	30	nd	27	nd	nd	nd	25	27	nd	nd	nd	nd	nd
TMT-A	4	4	nd	nd	nd	nd	nd	nd	3	4	nd	nd	nd	nd	nd	4	2	nd	nd	nd	nd	nd
TMT-B	4	+	nd	nd	nd	nd	nd	nd	4	4	nd	nd	nd	nd	nd	4	2	nd	nd	nd	nd	nd
TMT-B-A	4	+	nd	nd	nd	nd	nd	nd	4	4	nd	nd	nd	nd	nd	4	+	nd	nd	nd	nd	nd
FAB	3	+	nd	nd	nd	nd	nd	nd	4	+	nd	nd	nd	nd	nd	3	3	nd	nd	nd	nd	nd
Digit Span avanti	4	4	nd	nd	nd	nd	nd	nd	4	4	nd	nd	nd	nd	nd	4	4	nd	nd	nd	nd	nd
Digit Span indietro	+	4	nd	nd	nd	nd	nd	nd	4	4	nd	nd	nd	nd	nd	3	3	nd	nd	nd	nd	nd
Rey 15 parole – IR	+	3	4	3	–	nd	nd	2	3	4	nd	4	nd	nd	nd	4	4	nd	nd	nd	nd	nd
Rey 15 parole – DR	3	+	4	+	–	nd	nd	4	3	4	nd	4	nd	nd	nd	3	4	nd	nd	nd	nd	nd
Clock Drawing Test	4	4	4	4	4	nd	nd	4	3	4	nd	4	nd	nd	nd	4	4	nd	nd	nd	nd	nd

Variabile	# Paziente																					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
Copia di Figura Semplice	3	+	nd	3	2	nd	nd	3	4	3	nd	3	nd	nd	nd	3	3	nd	nd	nd	nd	nd
Fluenza semantica	4	3	4	4	4	nd	nd	2	4	4	nd	4	nd	nd	nd	3	3	nd	nd	nd	nd	nd
Fluenza fonemica	+	4	4	4	–	nd	nd	+	4	4	nd	4	nd	nd	nd	4	4	nd	nd	nd	nd	nd
NEUROIMAGING E LIQUOR																						
MRI cerebrale eseguita	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	+	+	nd	nd	+	nd	nd	nd	nd	+	nd	nd	+	nd	nd
Esame del liquor (CSF)	Normal	Normal	Normal	nd	Normal	nd	nd	Normal	nd	nd	Normal	nd	nd	nd	nd	Lieve iperproteinorracia	Sintesi intratecale IgG	nd	nd	nd	nd	nd

Abbreviazioni: CMTES = Charcot-Marie-Tooth Examination Score; SARA = Scale for the Assessment and Rating of Ataxia; COMPASS-31 = Composite Autonomic Symptom Score 31; CADT = Calgary Autonomic Dysfunction Test; IENFD = Intraepidermal Nerve Fiber Density; ENG = Electroneurografia; AASS = arti superiori; AAIL = arti inferiori; MEP = Potenziali Evocati Motori (N = normale, P = patologico); MoCA = Montreal Cognitive Assessment; TMT = Trail Making Test; FAB = Frontal Assessment Battery; NR = non rilevabile; ↓ = ridotta ampiezza; nd = non disponibile. BMI = Body Mass Index; VVOR = riflesso vestibolo-oculare visivamente aumentato; ESC = conduttanza elettrochimica cutanea; NEP = potenziali evocati nocicettivi; PREP = potenziali evocati dolore-correlati; TMT-B-A = differenza Trail Making Test B meno A; DS = Digit Span; CDT = Clock Drawing Test; SFC = Copia di Figura Semplice; CSF = liquor cerebrospinale; ROT = riflessi osteotendinei; PET = tomografia a emissione di positroni; MRI = risonanza magnetica; + = presente/positivo; – = assente/negativo; ind. = indifferente.

Ringraziamenti

Desidero ringraziare la Prof.ssa Grandis per avermi dato l'opportunità di svolgere questo progetto di tesi e per la disponibilità dimostrata nel corso del suo sviluppo.

Un sentito ringraziamento va inoltre ai Dottori Elena Faedo e Mattia Losa, che mi hanno accompagnata nel percorso clinico con competenza e attenzione, contribuendo in maniera fondamentale alla raccolta, gestione e interpretazione dei dati utilizzati in questo studio.

La loro disponibilità e il loro supporto sono stati per me un importante punto di riferimento.

Ringrazio il Dott. Lorenzo Gualco per il fondamentale contributo nell'analisi dei dati di neuroimaging e per la disponibilità con cui ha sempre risposto ai miei dubbi e alle mie domande, aiutandomi a comprendere e affrontare gli aspetti più complessi del lavoro.

Un ringraziamento speciale va alla Dott.ssa Sara Massucco, correlatrice di questa tesi.

Con professionalità, dedizione e grande disponibilità mi ha accompagnata passo dopo passo lungo tutto il percorso, guidandomi con attenzione in ogni fase del lavoro. La sua presenza costante, il suo supporto e la fiducia che mi ha trasmesso hanno rappresentato un punto di riferimento imprescindibile.

Senza il suo aiuto, i suoi consigli e il tempo che mi ha dedicato, questo percorso non sarebbe stato possibile. Per questo le sono profondamente grata.

Ringrazio poi con tutta me stessa mio padre e mia madre che in tutti questi anni hanno sempre creduto in me.

Ringrazio mia sorella Anita che con la sua vitalità e dolcezza è sempre stata al mio fianco.

Ringrazio i miei nonni, Valter ed Elsa, senza i quali non sarei la persona che sono oggi.

Ringrazio infine Alessandro per aver condiviso con me tutto il suo amore.

