



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI GENOVA
SCUOLA DI SCIENZE MEDICHE E FARMACEUTICHE

COORDINATORE:
Prof. Gianluca Damonte

“Cut-off semiquantitativi per il supporto alla diagnosi di malattia di Malattia di Parkinson e Demenza a Corpi di Lewy con la DaT SPECT”

“Different cut-offs of z-score for Striatal Binding Ratio (SBR) of DaT SPECT are needed to support the diagnosis of Parkinson’s Disease (PD) and Dementia with Lewy Body (DLB)”

STUDENTE:
Chiara Calcagno

RELATRICE:
Prof.ssa Silvia Morbelli

CORRELATORE:
Dott. Matteo Bauckneht

Anno accademico 2022-2023

Ringraziamenti

Giunta al termine del mio percorso universitario, desidero ringraziare la mia relatrice, la professoressa Silvia Morbelli, che con le sue lezioni appassionate ha catturato il mio interesse e mi ha guidato nella scelta dell'argomento e nella stesura della tesi.

Inoltre ringrazio i miei genitori e il mio fidanzato Giovanni, che mi hanno sempre sostenuto, soprattutto nei momenti di difficoltà.

Sommario

Ringraziamenti	2
CAPITOLO 1 INTRODUZIONE	4
1.1 Criteri diagnostici e clinica della malattia di Parkinson	6
1.2 Criteri diagnostici e clinica della demenza a corpi di Lewy	9
1.3 L'imaging dopaminergico nei parkinsonismi.....	13
CAPITOLO 2 STUDIO SPERIMENTALE	23
2.1 Background.....	23
2.2 Materiali e metodi	25
2.3 Risultati	30
CAPITOLO 3 DISCUSSIONE.....	36
3.1 Implicazioni della semiquantificazione della DaT SPECT in ambito clinico e di ricerca	37
3.2 Implicazioni dell'imaging DaT SPECT nella DBL.....	39
3.3 Implicazioni dell'uso clinico del rapporto tra putamen e caudato (PCR)	40
BIBLIOGRAFIA.....	42

Capitolo 1

INTRODUZIONE

Le sindromi parkinsoniane sono un gruppo di malattie caratterizzate da segni di parkinsonismo, come bradicinesia, rigidità, tremore e instabilità posturale. La malattia di Parkinson idiopatica (IPD) è la causa più comune di parkinsonismo, ma quest'ultimo può essere presente in tutte le alfa sinucleinopatie, che includono le malattie a corpi di Lewy, accomunate dall'accumulo di inclusioni citoplasmatiche, composte da aggregati di alfa-sinucleina e altre proteine, come l'ubiquitina (1). Le alfa sinucleinopatie comprendono anche l'atrofia multisistemica (MSA), che fa parte dei parkinsonismi atipici, insieme alla degenerazione cortico-basale (CBD) (2) e alla paralisi sopranucleare progressiva (PSP) (3). Le sindromi parkinsoniane neurodegenerative entrano in diagnosi differenziale con il tremore essenziale (ET) e con i parkinsonismi secondari (iatrogeni, vascolari e psicogeni). Il tremore essenziale è caratterizzato dalla presenza di tremore durante il movimento volontario, non a riposo. In alcuni pazienti la diagnosi differenziale dei parkinsonismi basata sulla clinica è relativamente semplice (1). Tuttavia un aumento dell'accuratezza diagnostica è possibile usando l'imaging dopaminergico (4), utile soprattutto nei pazienti con sindromi incomplete o atipiche, insufficiente risposta alla terapia e negli stadi iniziali della malattia. Attualmente le indagini di medicina nucleare possono valutare la funzione sia presinaptica che postsinaptica delle sinapsi dopaminergiche. L'imaging dopaminergico presinaptico aiuta a chiarire la diagnosi differenziale tra le sindromi parkinsoniane neurodegenerative e le cause di parkinsonismo non dipendenti da un deficit di dopamina (4-5).

La funzione presinaptica dopaminergica può essere riassunta nel modo seguente. La dopamina deriva da due amminoacidi. Prima L-tirosina viene idrossilata per formare L-Dopa, che viene decarbossilata a dopamina. Poi la dopamina viene

portata dentro vescicole intracellulari dal trasportatore VMAT2. Come risultato della depolarizzazione neuronale, le vescicole sono svuotate nello spazio intersinaptico, dove la dopamina si lega ai recettori postsinaptici. Successivamente la dopamina può essere recuperata dalla fessura intersinaptica al neurone presinaptico grazie al trasportatore DAT. I recettori postsinaptici della dopamina possono essere divisi in due tipi: D1 e D2 (6). Ad oggi sono state pubblicate da EANM e SNMMI (rispettivamente nel 2009 e nel 2011) quattro linee guida /procedure standard sull'imaging del trasportatore della dopamina con la SPECT(6,7;8;9). In alcuni centri di medicina nucleare dotati di PET e privi di ciclotrone, la PET con fluorodopa viene eseguita per i pazienti con parkinsonismo, anche se le linee guida che mirano a definire le procedure standard per l'imaging con fluorodopa in questo contesto sono ancora carenti.

1.1 Criteri diagnostici e clinica della malattia di Parkinson

Secondo la MDS (Movement Disorder Society) ⁽¹⁰⁾, il prerequisito per la diagnosi di malattia di Parkinson è la presenza di parkinsonismo, definito da tre manifestazioni cardinali: bradicinesia, in combinazione con almeno uno tra tremore a riposo e rigidità.

La bradicinesia è la lentezza nell'esecuzione di movimenti ripetitivi e automatici. Spesso si associa all'ipocinesia (riduzione dell'ampiezza del movimento) e all'acinesia (riduzione dei movimenti spontanei e ritardo nell'iniziare movimenti volontari).

La rigidità è l'aumento del tono muscolare, che oppone resistenza alla mobilizzazione passiva. Interessa soprattutto i muscoli flessori. Spesso è interrotta dal fenomeno della ruota dentata, che consiste nella percezione di piccole scosse d'arresto durante i movimenti passivi di flesso-estensione del segmento di un arto su quello adiacente.

Il tremore a riposo è un'oscillazione ritmica involontaria, che interessa soprattutto le parti distali del corpo (mani e piedi). Sparisce o si attenua con l'inizio del movimento.

Una volta stabilito che il paziente ha il parkinsonismo, bisogna stabilire che questo sia causato dalla malattia di Parkinson.

La diagnosi di malattia di Parkinson clinicamente accertata richiede:

- 1 Assenza di criteri di esclusione assoluta
- 2 Almeno due criteri di supporto
- 3 Assenza di segnali d'allarme

La diagnosi di malattia di Parkinson clinicamente probabile richiede:

- 1 Assenza di criteri di esclusione assoluta
- 2 Presenza di segnali d'allarme controbilanciati da criteri di supporto (se è presente un segnale d'allarme deve esserci almeno un criterio di

supporto; se ci sono due segnali d'allarme sono necessari almeno due segnali di supporto; non più di due segnali d'allarme sono consentiti per questa categoria)

Criteria di supporto:

- 1 Risposta alla terapia dopaminergica.
- 2 Presenza di discinesia indotta da levodopa
- 3 Tremore a riposo di un arto, documentato dall'esame obiettivo
- 4 Presenza di anosmia o di denervazione simpatica cardiaca alla scintigrafia con MIBG

Criteria di esclusione assoluta:

- 1 Anomalie cerebellari inequivocabili, come andatura cerebellare, atassia degli arti o anomalie oculomotorie cerebellari (ad esempio, nistagmo evocato dallo sguardo sostenuto, saccadi ipermetriche)
- 2 Paralisi dello sguardo sopranucleare verticale verso il basso, o rallentamento selettivo delle saccadi verticali verso il basso
- 3 Diagnosi di probabile demenza frontotemporale con variante comportamentale o di afasia progressiva primaria entro i primi cinque anni di malattia
- 4 Caratteristiche parkinsoniane limitate agli arti inferiori per più di tre anni
- 5 Trattamento con un bloccante dei recettori della dopamina o con un agente dopaminergico in dosi e tempi compatibili con il parkinsonismo indotto da farmaci.
- 6 Assenza di risposta osservabile alla levodopa ad alte dosi nonostante una gravità della malattia almeno moderata
- 7 Perdita corticale sensoriale inequivocabile (ad esempio, grafestesia, stereognosia con modalità sensoriali primarie intatte), chiara aprassia ideomotoria degli arti, o progressiva afasia
- 8 Neuroimmagini funzionali normali del sistema dopaminergico presinaptico

- 9 Documentazione di una condizione alternativa nota per produrre parkinsonismo e plausibilmente collegata ai sintomi del paziente, oppure, il medico valutatore esperto, sulla base di una valutazione diagnostica completa, ritiene che una sindrome alternativa sia probabile rispetto alla PD

Segnali d'allarme

- 1 Rapida progressione della disabilità di deambulazione che richiede l'uso regolare della sedia a rotelle entro cinque anni dall'esordio della malattia
- 2 Assenza completa di progressione dei sintomi o dei segni motori nell'arco di cinque o più anni, a meno che la stabilità non sia correlata al trattamento
- 3 Disfunzione bulbare precoce: disfonia, disartria o disfagia grave (che richiede cibo morbido o nutrizione parenterale) nei primi cinque anni della malattia
- 4 Disfunzione respiratoria: stridore inspiratorio diurno o notturno o frequenti sospiri inspiratori
- 5 Severa disfunzione autonoma (ipotensione ortostatica, ritenzione o incontinenza urinaria) nei primi cinque anni della malattia
- 6 Cadute ricorrenti (>1/a) per compromissione dell'equilibrio entro 3 anni dall'esordio
- 7 Antecollo sproporzionato (distonico) o contratture delle mani o dei piedi nei primi dieci anni di malattia
- 8 Assenza di caratteristiche non motorie della malattia, che includono disturbi del sonno, disfunzioni autonome, iposmia o sintomi psichiatrici
- 9 Segni del tratto piramidale altrimenti non spiegati, definiti come debolezza piramidale o iperreflessia patologica (ad esclusione di una lieve asimmetria del tratto piramidale e della risposta estensoria plantare isolata)
- 10 Sintomi simmetrici e bilaterali, senza predominanza di lato

1.2 Criteri diagnostici e clinica della demenza a corpi di Lewy

La diagnosi clinica probabile e possibile di Demenza a corpi di Lewy (DLB) si basa sui criteri revisionati nel 2017 dal DLB Consortium ⁽¹¹⁾:

Caratteristica essenziale

- Demenza, definita come declino cognitivo progressivo di entità tale da interferire con le normali attività sociali o lavorative
- Un deficit mnesico dominante o persistente non è necessariamente presente nelle fasi iniziali della malattia, ma compare con la sua progressione.
- I deficit nei test di attenzione, delle funzioni esecutive e delle abilità visuo-spaziali possono essere particolarmente evidenti.

Caratteristiche tipiche (le prime tre tipicamente esordiscono precocemente e persistono nel corso del tempo)

- Fluttuazioni delle abilità cognitive con spiccate variazioni dell'attenzione e della vigilanza
- Allucinazioni visive ricorrenti, tipicamente ben strutturate e dettagliate
- Disturbo comportamentale del sonno REM, che può precedere il declino cognitivo
- Una o più caratteristiche del parkinsonismo spontaneo, che sono bradicinesia (lentezza e riduzione dell'ampiezza del movimento), tremore a riposo o rigidità

Caratteristiche di supporto (presenti comunemente, ma di non provata specificità diagnostica)

- Ipersensibilità agli anti-psicotici
- Instabilità posturale
- Cadute e sincopi ricorrenti
- Transitori episodi di perdita di coscienza non altrimenti spiegabili

- Grave disfunzione autonoma (ipotensione ortostatica, instabilità cardiaca, incontinenza urinaria, costipazione, etc.)
- Ipersonnia
- Iposmia
- Allucinazioni in modalità differenti da quelle visive
- Deliri sistematizzati
- Apatia
- Ansia
- Depressione

Biomarcatori indicativi

- Ridotta captazione del trasportatore della dopamina (DAT) nei nuclei della base, dimostrata tramite PET o SPECT (DAT- scan)
- Ridotta captazione alla scintigrafia miocardica del radiofarmaco meta-iodio-benzil-guanidina (MIBG) marcato con iodio123
- Conferma alla polisonnografia del disturbo comportamentale del sonno REM (perdita di atonia nel sonno REM)

Biomarcatori di supporto

- Relativo risparmio delle strutture temporali mesiali alla TC e alla RM
- Diminuzione diffusa della captazione di traccianti di perfusione/metabolismo (SPECT/PET), con ridotta attività occipitale
- Predominante attività EEG lenta posteriore con rallentamento del ritmo di fondo e transitoria comparsa di onde delta in sede temporale

La **diagnosi probabile** di DLB può essere fatta in presenza di :

- Due o più caratteristiche tipiche, con o senza i biomarcatori indicativi
- Solo una caratteristica tipica con uno o più biomarcatori indicativi
- Non può essere fatta in presenza dei soli biomarcatori

La **diagnosi possibile** di DLB può essere fatta in presenza di:

- Solo una caratteristica tipica senza biomarcatori indicativi
- Uno o più biomarcatori indicativi, senza caratteristiche tipiche

La diagnosi di DLB è **meno probabile**

- In presenza di una patologia cerebrovascolare evidenziata da segni neurologici focali o dalle neuroimmagini
- In presenza di ogni altra malattia fisica o del SNC sufficiente a spiegare in parte o completamente il quadro clinico
- Se il parkinsonismo si manifesta solo nella fase avanzata della demenza

Successione temporale dei sintomi:

- La DLB dovrebbe essere diagnosticata quando la demenza si manifesta prima o in concomitanza di un parkinsonismo (se presente).
- Dovrebbe passare massimo un anno fra l'inizio della demenza e l'inizio del parkinsonismo

Sintomatologia ⁽¹²⁾

Le caratteristiche cliniche principali della DLB sono rappresentate da un declino cognitivo fluttuante, allucinazioni visive ricorrenti e parkinsonismo.

1) Sintomi cognitivi

Il quadro cognitivo è dominato da deficit delle funzioni esecutive, attentive e visuo-spaziali, con episodi ricorrenti di confusione mentale e fluttuazioni dello stato di coscienza nell'arco della stessa giornata.

Le abilità mnesiche sono compromesse, anche se il deficit mnesico non è particolarmente rilevante nella fase iniziale della malattia.

2) Sintomi psichiatrici

Si manifestano nelle fasi iniziali della malattia, sottoforma di allucinazioni visive (immagini vivide, colorate, tridimensionali), apatia, depressione o crisi d'ansia con agitazione psicomotoria.

3) Sintomi neurologici

Segni extrapiramidali (parkinsonismo) sono presenti nel 25-50% dei soggetti al momento della diagnosi e più spesso durante il decorso della malattia. Prevalgono i segni assiali (difficoltà nella deambulazione e instabilità posturale) sul tremore a riposo.

4) Disturbi del sonno

I disturbi comportamentali del sonno REM possono precedere la malattia anche di diversi anni e si manifestano con sogni vividi e spesso terrificanti, associati a movimenti, vocalizzazioni o comportamenti violenti (sogni agiti)

5) Sintomi disautonomici

I più frequenti sono ipotensione ortostatica, sincopi e cadute; ma possono essere presenti anche scialorrea, seborrea e alterazione della sudorazione.

1.3 L'imaging dopaminergico nei parkinsonismi

Tra i traccianti SPECT, solo 123I-FP-CIT è stato approvato sia dalla Food and Drug Administration (FDA) statunitense che dall'Agenzia europea per i medicinali (EMA) per la verifica dell'integrità neuronale dopaminergica in sospette sindromi parkinsoniane. Un'alternativa clinica per l'imaging DAT SPECT è la PET con [18F]fluorodopa. Da un punto di vista fisiopatologico, l'effetto della neurodegenerazione dopaminergica rilevato con la PET con [18F]fluorodopa tende a essere minore rispetto a quello rilevato con la DAT SPECT ⁽¹³⁾. Infatti le riduzioni di DAT e DOPA nella degenerazione nigrostriatale avvengono in tempi diversi: sono due processi paralleli, ma non sincroni. Ciò è presumibilmente dovuto alla presenza, nella fase pre-clinica e in quella sintomatica precoce, di meccanismi compensatori opposti alla riduzione del numero di terminali dopaminergici: da un lato la riduzione del DAT, che aumenta la disponibilità sinaptica di dopamina, dall'altro l'aumento della conversione di DOPA in dopamina da parte della L-amminoacido decarbossilasi aromatica (AADC) nel terminale nervoso ⁽¹⁴⁾. Una recente meta-analisi di 142 studi con PET e SPECT ha dimostrato che il deficit di AADC è minore rispetto ai deficit del trasportatore della dopamina (DAT) e del trasportatore vescicolare della monoammina, suggerendo un'upregolazione della funzione dell'AADC nella malattia di Parkinson. Tuttavia, gli studi disponibili su un piccolo numero di pazienti e controlli hanno dimostrato che la DAT SPECT e la PET con [18F]fluorodopa sono entrambe in grado di diagnosticare i deficit dopaminergici presinaptici nelle fasi iniziali della malattia di Parkinson con un'eccellente sensibilità e specificità ⁽¹⁵⁾.

SPECT utilizzando ligandi del trasportatore della dopamina marcati con iodio-123

Preparazione del paziente e precauzioni

I farmaci che si legano al trasportatore della dopamina con elevata affinità possono interferire con i ligandi del DAT. Ad esempio la cocaina, le anfetamine, l'efedrina (stimolante del SNC), alcuni antidepressivi (bupropione), anestetici (ketamina), oppioidi (fentanyl) e anticolinergici (benzatropina) possono diminuire il legame dei ligandi con il DAT; mentre gli inibitori del reuptake della serotonina (antidepressivi) e la norepinefrina (agonista adrenergico) lo possono aumentare. Non è stato dimostrato che la sospensione di questi farmaci prima della somministrazione del tracciante possa minimizzare l'interferenza. I benefici e i rischi dell'interruzione dei farmaci che possono interferire con l'affidabilità delle immagini devono essere valutati caso per caso. Tuttavia, in generale, si raccomanda di evitare che i pazienti assumano farmaci o droghe d'abuso che potrebbero influenzare in modo significativo l'analisi visiva e semiquantitativa dei ligandi del DAT (tranne nel caso in cui l'obiettivo specifico dello studio sia quello di valutare l'effetto di tali farmaci sul legame con il DAT) ⁽¹⁶⁾.

Per ridurre l'esposizione della tiroide all'irradiazione con iodio-123, una soluzione orale di ioduro di potassio o di Lugol (equivalente a 100mg di ioduro) o una compressa di ioduro di potassio, perclorato di potassio (400mg) o perclorato di sodio (600mg) deve essere somministrata almeno un'ora prima dell'iniezione di [123I]-FP-CIT (a meno che non siano segnalate sensibilità note a questi prodotti). In assenza di questi agenti bloccanti, la dose radiante la tiroide dev'essere bassa. L'iniezione dei traccianti è controindicata in caso di ipersensibilità nota al principio attivo o ai suoi eccipienti. Tuttavia, l'allergia allo iodio non è una controindicazione alla somministrazione di questo tracciante. La premedicazione antiallergica può essere presa in considerazione in casi specifici.

È obbligatoria la supervisione continua dei pazienti durante l'acquisizione delle immagini. Questo è particolarmente importante per soggetti non collaboranti a causa di sintomi cognitivi/comportamentali, che possono verificarsi in presenza di alcune sindromi parkinsoniane.

L'iniezione del radiofarmaco deve essere effettuata (entro i tempi indicati dal produttore) come bolo lento seguito da un lavaggio con soluzione fisiologica endovena

Protocollo di acquisizione

La SPECT deve essere iniziata quando il rapporto tra il legame del tracciante striatale e quello occipitale è stabile ⁽¹⁷⁾. Infatti, l'attesa della stabilità del rapporto garantisce dati più affidabili da un punto di vista semiquantitativo ed è ottimale per la valutazione visiva quando è necessaria una bassa interferenza di fondo. Ogni centro deve iniziare l'imaging dopo 3-6 ore dall'iniezione del tracciante [¹²³I]FP-CIT.

Non ci sono restrizioni dietetiche. Se il paziente soffre di claustrofobia o non è in grado di stare fermo, una leggera sedazione con una benzodiazepina a breve durata d'azione può essere data prima dell'imaging e non influisce sulla qualità della scansione. In questa circostanza, il paziente non deve utilizzare macchinari o guidare l'auto per il resto della giornata.

Il paziente deve svuotarsi immediatamente prima della diagnostica per immagini. Deve essere sdraiato sul lettino in posizione supina con la testa appoggiata al supporto in posizione comoda. Sebbene sia preferibile un corretto allineamento della testa, il comfort del paziente deve essere privilegiato per evitare che si muova durante l'acquisizione delle immagini. L'inclinazione e l'orientamento possono essere regolati. Le braccia devono essere sostenute lateralmente o davanti al paziente. Legare le spalle può impedire il movimento e può consentire di ridurre il raggio di rotazione della telecamera. Il corpo striato e i lobi occipitali devono essere presenti nel campo visivo. L'inclusione del cervelletto potrebbe essere omessa, per

ottimizzare il raggio di rotazione e la risoluzione spaziale, solo nei pazienti con un posizionamento difficile della testa (18). Tuttavia, quando il cervelletto non è nel campo visivo, l'accuratezza del riorientamento e la registrazione spaziale potrebbero essere influenzate.

Interpretazione visiva

I pazienti diventano sintomatici in seguito alla degenerazione di un numero significativo di sinapsi. Di conseguenza, l'interpretazione visiva delle immagini è sufficiente per il referto clinico nella maggior parte dei casi. La valutazione dei dati deve considerare l'età e le informazioni morfologiche rilevanti (TC, RM). Le lesioni strutturali nei gangli della base e nel mesencefalo dovrebbero essere considerate con grande attenzione, soprattutto se presenti in strutture selezionate come regione di riferimento per la valutazione semiquantitativa. Infatti le lesioni anatomiche e l'atrofia centrale possono alterare il legame del tracciante, la posizione o la forma delle strutture striatali. Nelle immagini transassiali, i corpi striati normali dovrebbero apparire a forma di virgola con bordi simmetrici e ben delineati (anche se una lieve asimmetria può essere presente anche nei controlli normali). Occorre prestare attenzione all'allineamento della testa, in particolare sul piano coronale, per evitare artefatti di asimmetria destra-sinistra, che potrebbe portare a un'errata interpretazione visiva della scansione. Si raccomanda, pertanto, di visualizzare tutte le fette transassiali contenenti il segnale striatale in modo da poter differenziare l'asimmetria reale da una inclinazione della testa non sufficientemente corretta. Nelle scansioni anormali, gli striati presentano un'intensità ridotta su uno o entrambi i lati, con forma ovale o circolare. Il livello di attività striatale deve essere confrontato con l'attività di fondo.

Panoramica dei risultati della DAT SPECT nei pazienti con parkinsonismo

Malattia	Risultati	Referenze
Malattia di Parkinson idiopatica	La forma a puntino è tipica fin dalle prime fasi della malattia. Il putamen (in particolare la parte posteriore) dell'emisfero più colpito è affetto più gravemente del nucleo caudato, mentre il putamen dell'emisfero meno colpito tende a essere coinvolto precocemente (spesso prima del nucleo caudato del lato più colpito).	(19,20,21,22)
Tremore essenziale, Parkinsonismo psicogeno e indotto da farmaci, Malattia di Alzheimer	Normale forma a virgola	(23,24)
Parkinsonismo vascolare	Nei pazienti con piccole lesioni vascolari nei gangli della base la captazione del tracciante DAT è normale o solo leggermente ridotta. Il parkinsonismo vascolare vero e proprio deve includere documentate lesioni ischemiche o emorragiche nella sostanza nera o nella via nigrostriatale che portano a un deficit di DAT presinaptico striatale.	(25,26,27,28,29)
Demenza a corpi di Lewy	Riduzione della captazione con caratteristiche sovrapponibili a quelle dell'IPD. Circa il 10% dei pazienti con DLB accertata	(30,31,11,32,33,34)

	mostra una DAT SPECT normale al momento della diagnosi clinica (eventualmente diventa anormale dopo 1,5-2 anni).	
Atrofia multisistemica	Riduzione della captazione con caratteristiche sovrapponibili a quelle dell'IPD. (la riduzione della ricaptazione tende ad essere più simmetrica in confronto a IPD)	(35)
Paralisi sopranucleare progressiva	Riduzione della captazione con caratteristiche sovrapponibili a quelle dell'IPD. (la riduzione della ricaptazione tende ad essere più simmetrica ed a includere più precocemente il nucleo caudato rispetto a IPD)	
Degenerazione corticobasale	Riduzione della captazione con caratteristiche sovrapponibili a quelle dell'IPD (la riduzione della ricaptazione a volte è più asimmetrica e spesso coinvolge sia il putamen che la testa del caudato rispetto a IPD)	(36,37,38,39)
Demenza frontotemporale	Riduzione della captazione nel 30-60% dei paziente (mento pronunciata rispetto a IPD)	(39,40,41,42, 43)

Semiquantificazione

Alcuni studi hanno dimostrato che l'aggiunta di informazioni quantitative all'interpretazione visiva si traduce in migliori prestazioni diagnostiche (44,45,46). Nel campo della ricerca, i metodi semiquantitativi sono considerati in grado di fornire una valutazione più precisa della densità dei trasportatori di dopamina, consentendo misurazioni più riproducibili della malattia e della risposta alla terapia. Il parametro semiquantitativo più comunemente utilizzato sia in ambito clinico che di ricerca è il rapporto di legame specifico (SBR), calcolato come rapporto tra la concentrazione di legame specifico nello striato e il legame non specifico di fondo (47,48). L'SBR è correlato alla densità dei trasportatori di dopamina; tuttavia non è una misura diretta della densità di DAT (Bmax), della densità sinaptica o del numero di neuroni. Molti fattori, che non sono correlati alla densità dei trasportatori di dopamina, influenzano la determinazione dell'SBR (ad esempio l'età e il genere del paziente, la farmacocinetica, la genetica, i farmaci che competono con il tracciante, ecc.). La potenziale correlazione tra le variabili cliniche e i parametri semiquantitativi che esprimono la perdita di neuroni dopaminergici presinaptici è un ulteriore valore aggiunto (49). Le tecniche basate sulle regioni di interesse (ROI) possono essere utilizzate per valutare il legame specifico del DAT nello striato e nelle regioni substriatali. Le fette trasversali con la massima captazione striatale o l'intero volume del corpo striato possono essere considerati regioni d'interesse. L'uso di ROI standardizzate è utile per limitare la variabilità dell'operatore nel compito di posizionamento. Le regioni di riferimento con densità del DAT assente (o bassa) sono utilizzate per valutare il legame non specifico, come il cervelletto, che non contiene neuroni dopaminergici. La corteccia occipitale può essere utilizzata soprattutto quando il campo visivo assiale è limitato. Se sono disponibili scansioni anatomiche (RM o TC), possono essere usate le regioni volumetriche che comprendono l'estensione anatomica dei gangli della base. Questo è particolarmente importante quando si prevede un basso legame specifico (ad esempio, nel caso di una grave perdita o blocco del DAT), soprattutto in assenza di un metodo automatizzato. Una volta posizionate le ROI volumetriche (VOI), i valori di SBR sono generalmente ottenuti come segue.

Semiquantificazione automatica

I volumi di interesse (VOI) predefiniti vengono posizionati automaticamente sulla regione striatale e sulle regioni di fondo (50-56). I VOI possono essere definiti anche per le strutture substriatali, permettendo di quantificare l'SBR per il caudato e il putamen, oltre ad altri parametri come l'asimmetria tra putamen e caudato di destra e di sinistra, il rapporto putamen-caudato (PCR) e il rapporto caudato-putamen (CPR). La disponibilità di questi parametri può essere utile nei casi complessi o borderline. In particolare, il PCR è più sensibile nei casi borderline e in fase iniziale, grazie al maggior grado di indipendenza dalla telecamera, dall'algoritmo di ricostruzione e dalla regione di fondo. Tutti i parametri numerici dipendono dai parametri di acquisizione e di ricostruzione e dalle correzioni applicate (44,57). Di conseguenza, non esistono valori di riferimento universali (dipendenti dall'età) normali o anormali (58-60). Ogni sito dovrebbe stabilire il proprio riferimento utilizzando un gruppo di controllo sano. Le differenze di SBR dipendono anche dai VOI. Due approcci sono comunemente utilizzati. Il primo incorpora il caudato e il putamen sui lati destro e sinistro, cerca di catturare i limiti anatomici di queste strutture. Il secondo approccio utilizza piccole regioni di interesse, campionando la captazione del tracciante nel caudato, nel putamen medio e nel putamen posteriore, sui lati destro e sinistro (61,62). Un approccio diverso per la determinazione dell'SBR è utilizzato nel cosiddetto metodo Southampton (62) basato sulla misura dei punteggi totali di ogni corpo striato. Utilizza VOI striatali di forma geometrica, sufficientemente grandi da catturare tutti i punteggi originati dallo striato, compresi quelli rilevati al di fuori dei suoi confini anatomici, e una regione di fondo derivata dall'intero cervello meno i VOI striatali. Metodi guidati dalla TC o dalla risonanza magnetica (63) e tecniche di apprendimento automatico per il riconoscimento dei modelli sono stati proposti come metodi indipendenti dall'utente per la classificazione dei risultati DAT SPECT. Questi metodi rimangono ancora nel campo della ricerca (64,65). Bisogna fare attenzione quando si utilizzano i dati SBR della letteratura, in quanto in base alle differenze relative al sistema di ripresa, al

modo in cui le immagini sono state acquisite, elaborate e analizzate, si otterranno valori diversi (44, 55, 66, 67). Il QIBA dell'RSNA sta sviluppando un protocollo per la standardizzazione quantitativa di [123I]-FP-CIT SPEC, che i centri di imaging potranno applicare per ottenere un'elevata riproducibilità (58). Negli ultimi anni sono stati forniti due database normativi. Il database ENC-DAT (European Normal Control Database of DaTSCAN) è stato sviluppato a partire dal 2009. Lo studio è stato promosso dal Comitato EANM per il Neuroimaging, nell'ambito di uno sforzo di cooperazione tra i centri europei di Medicina Nucleare. Questo progetto multicentrico mirava a raccogliere un gran numero di scansioni [123I]FP-CIT SPECT di controlli sani, fornendo così immagini di riferimento e valori di DAT di un'ampia fascia di età e di entrambi i sessi. Il database finale comprendeva i dati SPECT di 139 controlli sani (74 uomini e 65 donne di età compresa tra 20 e 83 anni, con una media 53 anni) acquisiti in 13 centri diversi (68). Il secondo database di controlli sani è stato raccolto nell'ambito della Parkinson's Progression Marker Initiative (PPMI), che è uno studio multicentrico, internazionale e longitudinale che valuta le misure cliniche, biochimiche e di imaging della progressione della malattia di Parkinson. Il PPMI si proponeva di confermare la presenza o l'assenza di un deficit di DAT nei pazienti affetti da PD e nei volontari sani arruolati nello studio, di acquisire i dati DAT SPECT con protocolli di acquisizione standard e di elaborare le immagini attraverso una ricostruzione dei dati di proiezione grezzi da mettere a disposizione della comunità degli sperimentatori. Il PPMI comprende 423 pazienti con Parkinson in progressione e 196 controlli di pari età, studiati per 3 o 4 anni con [123I]-FP-CIT SPECT seriale e altri biomarcatori clinici, di imaging e di fluidi (69). I dati forniti da queste due iniziative multicentriche hanno dimostrato che l'invecchiamento normale è associato ad una perdita di segnale del 5,5-6% ogni dieci anni (0,6%/anno). Anche il genere ha un effetto sull'SBR nel caudato e nel putamen (spesso non considerato nei software disponibili per il confronto) (49,63,65). Il controllo seriale del singolo paziente con l'imaging, mediante analisi visiva o semiquantitativa, potrebbe essere utile solo dopo aver dimostrato che la

grandezza del segnale è in grado di catturare la lenta progressione del processo patologico. L'obiettivo è comprendere l'utilità della DAT SPECT come biomarcatore della progressione della PD, dopo la comparsa dei primi segni motori (70). Nello studio PPMI, sono stati misurati gli SBR regionali nel caudato ipsilaterale e controlaterale, putamen anteriore e putamen posteriore al basale e a 1, 2 e 4 anni durante il follow-up dei pazienti con IPD. Durante i 4 anni, si è verificato un cambiamento significativo del legame con il trasportatore di dopamina in tutte le regioni striatali (70). I dati suggeriscono che la riduzione di SBR nell'arco di 1 anno è circa 20 volte superiore al tasso di perdita di segnale osservato nel normale invecchiamento.

Capitolo 2

STUDIO SPERIMENTALE

2.1 Background

L'imaging del trasportatore di dopamina (DaT) con ioflupano marcato con iodio-123 mediante tomografia computerizzata a emissione di singoli fotoni (SPECT) permette di valutare l'espressione presinaptica del DaT nel corpo striato (71). La DaT SPECT è capace di supportare la diagnosi differenziale tra parkinsonismo neurodegenerativo e il tremore essenziale (ET) o i parkinsonismi secondari (ad esempio vascolari o indotti da farmaci), che non sono associati ad una progressiva degenerazione dei neuroni dopaminergici (72). Inoltre la DaT SPECT è un biomarcatore indicativo nei criteri diagnostici di Demenza a corpi di Lewy (DLB) e può differenziare accuratamente DLB dalla malattia di Alzheimer (11). L'analisi qualitativa delle immagini DaT SPECT è spesso sufficiente a identificare una scansione anomala ed è mandatoria per il controllo della qualità delle immagini (11). Tuttavia, specialmente nei casi borderline, la valutazione visiva può essere aiutata in modo affidabile dalla semiquantificazione con strumenti automatici (73). Molti strumenti includono il calcolo dei punteggi Z (Z scores) del rapporto tra la concentrazione di legami specifici nello striato e la concentrazione di legami non specifici nel resto del cervello (SBR), rispetto al database di captazione di Ioflupano marcato con iodio-123 della popolazione normale (74,75,55). Diverse raccolte di dati dei soggetti normali, come "European Normal Control Database of DaTSCAN" (ENC-DAT) (68) e "Parkinson's Progression Markers Initiative" (PPMI) (76), sono state incluse negli strumenti gratuiti o a pagamento. Tuttavia, ad oggi, mancano valori soglia definiti sperimentalmente per lo z-score dell' SBR nello striato o nelle regioni substriatali (77,78,79). Un cut-off conservativo di -2 (o anche -2.5) z-score per SBR di striato o putamen rispetto ai controlli di pari età è stato arbitrariamente proposto e largamente usato per identificare i pazienti con malattia di Parkinson (74,75,80,81). Ad oggi solo uno studio metodologico ha arruolato pazienti con malattie a corpi di Lewy, senza distinzione tra malattia di Parkinson e Demenza a corpi di

Lewy, con lo scopo di valutare il parametro più accurato rispetto ai controlli normali (77). In questo studio è stato individuato un cut-off di z-score meno conservativo (-1.8). Tuttavia, invece che rispetto ai controlli normali, sarebbe meglio identificare valori soglia di SBR rispetto ad entità cliniche, come il tremore essenziale e la malattia di Alzheimer, che tipicamente entrano nella diagnosi differenziale dei pazienti candidati alla DaT SPECT. D'altra parte, uno z-score completamente diverso e anche meno conservativo (-0.82) è stato identificato sperimentalmente in un solo studio eseguito in 12 pazienti con DBL con conferma autoptica post-mortem, suggerendo ulteriormente la necessità di considerare diversi cut off per i pazienti con malattia di Parkinson e Demenza a corpi di Lewy (78). Infine, altri parametri, come il rapporto tra putamen e nucleo caudato (PCR) e le regioni substriatali, come il putamen anteriore e posteriore, sono forniti da molti software e altri cut-offs di z-score potrebbero richiedere questi parametri con potenziali variazioni, anche considerando l'emisfero meno affetto (LAH) o quello più affetto (MAH) (74,82). Fatte queste premesse, vogliamo identificare sperimentalmente sensibilità e specificità dei più accurati cut-off di z-score di SBR dello striato, regioni substriatali e il PCR per discriminare pazienti con PD e DLB, rispetto ai loro controlli "naturali", rispettivamente pazienti con tremore essenziale e malattia di Alzheimer. A questo scopo abbiamo usato l'ultima versione di Datquant®, disponibile in commercio, un software largamente usato che include una raccolta di dati dei soggetti normali reclutati nel Parkinsons' Progression Markers Initiative (PPMI).

2.2 Materiali e metodi

Pazienti

Duecentoventicinque pazienti sottoposti a DaT SPECT nel nostro centro tra gennaio 2015 e maggio 2021 sono stati arruolati in questo studio monocentrico. I pazienti sono stati candidati alla DaT SPECT per supportare la diagnosi differenziale clinica tra PD ed ET o tra DLB e AD. In particolare sono stati inclusi 75 pazienti con PD, 80 pazienti con ET, 50 pazienti con DLB e 20 pazienti con AD. Tutti i pazienti affetti da PD, DLB e AD sono stati seguiti nell'ambulatorio neurologico del nostro istituto e la loro diagnosi è stata confermata al follow-up sulla base di criteri clinici (11,10,83). Sono stati inclusi solo pazienti con nuova diagnosi di PD che non assumevano farmaci dopaminergici o serotoninergici. Sono stati esclusi tutti i pazienti con altre comorbidità neuropsichiatriche precedentemente diagnosticate, con condizioni mediche acute e caratteristiche cliniche o di risonanza magnetica di un parkinsonismo secondario. I pazienti sono stati informati del fatto che le loro immagini sarebbero state utilizzate per scopi di ricerca e hanno dato il loro consenso scritto per l'uso e la pubblicazione in forma anonima.

Acquisizione e ricostruzione di immagini DaT SPECT

Le immagini sono state acquisite con una telecamera a due teste, a fori paralleli e collimatore ad alta risoluzione. I pazienti hanno ricevuto per via endovenosa 150-185 Mbq di [¹²³I]Ioflupane e sono stati scansionati per 40 minuti tra le 3 e le 5 ore dopo l'iniezione, secondo le linee guida dell'Associazione Europea di Medicina Nucleare (72). Per la valutazione visiva, le immagini sono state ricostruite utilizzando la workstation Xeleris®. Tutte le immagini sono state analizzate visivamente da due esperti per la valutazione della qualità.

Semiquantificazione delle immagini

Le immagini DaT SPECT sono state valutate usando il software Datquant®. Per l'analisi semiquantitativa, le immagini sono state ricostruite con lo stesso algoritmo e gli stessi parametri dei filtri utilizzati per il database normale incluso nel software. Il software fa un'analisi del volume di interesse (VOI) del legame del radiotracciante nello striato e nelle regioni substriatali bilateralmente (striato, caudato, putamen, putamen anteriore e putamen posteriore). Un VOI disegnato nella corteccia occipitale funge da regione di sfondo. Il rapporto di legame striatale (SBR) viene calcolato per ogni regione. Datquant® fornisce anche una misura di PCR e asimmetria dello striato, del caudato e del putamen. Il set di dati normali incluso nel software è basato su 118 volontari sani (senza parenti di primo grado affetti da PD; 73 uomini e 45 donne, di età compresa tra 31 e 84 anni) appartenenti al database PPMI. Datquant® calcola automaticamente e fornisce i punteggi z di SBR dei pazienti rispetto al database della popolazione normale. Nei pazienti con PD e ET, il MAH è stato definito come quello controlaterale al lato del corpo con prevalenza di sintomi motori (come tremore, rigidità o compromissione motoria) nei casi in cui è stato possibile stabilire chiaramente un lato dominante (altrimenti sia per i pazienti con PD che per quelli con ET sono stati utilizzati i risultati della semiquantificazione per definire il MAH). Date le diverse caratteristiche cliniche e di imaging dei pazienti affetti da DLB rispetto a quelli affetti da PD, la DaT SPECT dei pazienti con DLB è stata confrontata con quella di pazienti con AD senza capovolgere le scansioni. Tuttavia, per un'esplorazione completa della DaT SPECT nella DLB, le analisi sono state eseguite anche facendo la media tra il lato destro e quello sinistro per ogni parametro. Infine, per una maggiore coerenza tra i dati forniti nella PD e nella DLB, quando l'intero gruppo di pazienti con malattie a corpi di Lewy (PD e DLB) è stato confrontato con i loro controlli naturali (AD ed ET), le analisi sono state eseguite dopo aver capovolto le scansioni di DLB, per avere il MAH sullo stesso lato (come per i pazienti con PD). In assenza di chiare indicazioni cliniche, il MAH è stato definito come l'emisfero con la maggiore riduzione di SBR nel putamen.

SBR e Z-score per tutti i parametri forniti dal software di semiquantificazione nei gruppi dei pazienti con PD, ET, DLB e AD

	PD (n = 75)	ET (n = 80)	P value
MAH striatum SBR	1.30 ± 0.57	2.82 ± 0.60	p < 0.0001
MAH striatum z-score	-2.46 ± 1.23	1.04 ± 1.45	p < 0.0001
LAH striatum SBR	1.48 ± 0.65	2.94 ± 0.59	p < 0.0001
LAH striatum z-score	-1.92 ± 1.28	1.38 ± 1.42	p < 0.0001
MAH caudatus SBR	1.81 ± 0.78	3.12 ± 0.63	p < 0.0001
MAH caudatus z-score	-1.44 ± 1.49	1.05 ± 1.31	p < 0.0001
LAH caudatus SBR	2.01 ± 0.82	3.31 ± 0.67	p < 0.0001
LAH caudatus z-score	-0.93 ± 1.44	1.49 ± 1.37	p < 0.0001
MAH putamen SBR	1.07 ± 0.50	2.68 ± 0.60	p < 0.0001
MAH putamen z-score	-2.90 ± 1.08	0.97 ± 1.51	p < 0.0001
LAH putamen SBR	1.22 ± 0.60	3.03 ± 2.34	p < 0.0001
LAH putamen z-score	-2.39 ± 1.20	1.23 ± 1.43	p < 0.0001
MAH anterior putamen SBR	1.25 ± 0.58	2.82 ± 0.60	p < 0.0001
MAH anterior putamen z-score	-2.64 ± 1.20	0.95 ± 1.41	p < 0.0001
LAH anterior putamen SBR	1.41 ± 0.67	2.92 ± 0.59	p < 0.0001
LAH anterior putamen z-score	-2.12 ± 1.29	1.23 ± 1.39	p < 0.0001
MAH posterior putamen SBR	0.71 ± 0.39	2.39 ± 0.66	p < 0.0001
MAH posterior putamen z-score	-3.10 ± 0.86	0.97 ± 1.65	p < 0.0001
LAH posterior putamen SBR	0.84 ± 0.51	2.44 ± 0.62	p < 0.0001
LAH posterior putamen z-score	-2.68 ± 1.01	1.11 ± 1.47	p < 0.0001
MAH PCR value	0.75 ± 0.09	0.89 ± 0.07	p < 0.0001
MAH PCR z-score	-2.68 ± 1.49	-0.40 ± 1.05	p < 0.0001
LAH PCR value	0.75 ± 0.11	0.88 ± 0.07	p < 0.0001
LAH PCR z-score	-2.59 ± 1.59	-0.62 ± 1.15	p < 0.0001
	DLB (n = 50)	AD (n = 20)	P value
Right striatum SBR	1.41 ± 0.70	2.72 ± 0.67	p < 0.0001
Right striatum z-score	-1.94 ± 1.73	1.09 ± 1.47	p < 0.0001
Left striatum SBR	1.50 ± 0.80	2.75 ± 0.62	p < 0.0001
Left striatum z-score	-1.58 ± 1.79	1.39 ± 1.46	p < 0.0001
Mean striatum SBR	1.47 ± 0.74	2.74 ± 0.64	p < 0.0001
Mean striatum z-score	-1.76 ± 1.71	1.24 ± 1.45	p < 0.0001
Right caudatus SBR	1.74 ± 0.78	2.91 ± 0.77	p < 0.0001

Right caudatus z-score	-1.51 ± 1.51	0.92 ± 1.59	p < 0.0001
Left caudatus SBR	1.88 ± 0.92	3.04 ± 0.70	p < 0.0001
Left caudatus z-score	-0.96 ± 1.74	1.44 ± 1.41	p < 0.0001
Mean caudatus SBR	1.81 ± 0.83	2.98 ± 0.72	p < 0.0001
Mean caudatus z-score	-1.24 ± 1.58	1.18 ± 1.47	p < 0.0001
Right putamen SBR	1.30 ± 0.70	2.60 ± 0.60	p < 0.0001
Right putamen z-score	-2.22 ± 1.68	1.12 ± 1.44	p < 0.0001
Left putamen SBR	1.31 ± 0.77	2.58 ± 0.61	p < 0.0001
Left putamen z-score	-1.86 ± 1.79	1.46 ± 1.25	p < 0.0001
Mean putamen SBR	1.31 ± 0.73	2.59 ± 0.60	p < 0.0001
Mean putamen z-score	-2.04 ± 1.71	1.29 ± 1.27	p < 0.0001
Right anterior putamen SBR	1.42 ± 0.72	2.76 ± 0.64	p < 0.0001
Right anterior putamen z-score	-2.14 ± 1.61	1.06 ± 1.44	p < 0.0001
Left anterior putamen SBR	1.46 ± 0.82	2.76 ± 0.64	p < 0.0001
Left anterior putamen z-score	-1.73 ± 1.83	1.30 ± 1.46	p < 0.0001
Mean anterior putamen SBR	1.44 ± 0.76	2.76 ± 0.63	p < 0.0001
Mean anterior putamen z-score	-1.94 ± 1.69	1.18 ± 1.42	p < 0.0001
Right posterior putamen SBR	1.04 ± 0.68	2.24 ± 0.57	p < 0.0001
Right posterior putamen z-score	-2.08 ± 1.68	1.03 ± 1.34	p < 0.0001
Left posterior putamen SBR	1.03 ± 0.70	2.24 ± 0.60	p < 0.0001
Left posterior putamen z-score	-1.92 ± 1.60	1.03 ± 1.42	p < 0.0001
Mean posterior putamen SBR	1.04 ± 0.67	2.24 ± 0.56	p < 0.0001
Mean posterior putamen z-score	-2.00 ± 1.60	1.03 ± 1.32	p < 0.0001
Right PCR value	0.85 ± 0.14	0.93 ± 0.11	p < 0.05
Right PCR z-score	-1.21 ± 2.37	0.18 ± 1.79	p < 0.05
Left PCR value	0.81 ± 0.13	0.88 ± 0.08	p < 0.05
Left PCR z-score	-1.52 ± 1.92	-0.41 ± 1.28	p < 0.05
Mean PCR value	0.83 ± 0.13	0.91 ± 0.08	p < 0.05
Mean PCR z-score	-1.37 ± 2.05	-0.12 ± 1.37	p < 0.05

Analisi statistiche

L'analisi dei dati è stata condotta utilizzando il software SPSS® versione 26. I punteggi Z forniti da Datquant per ciascun parametro sono stati confrontati tra PD e ET e tra DLB e AD utilizzando il t-test di Student. L'analisi della curva ROC è stata utilizzata per calcolare l'area sotto la curva (AUC) con un intervallo di confidenza del 95% (95% CI) per lo z-score di ogni parametro fornito dal software, utilizzando la diagnosi clinica confermata al follow-up gold standard. Le coordinate delle curve sono state utilizzate per determinare i cut-off più accurati per ciascun parametro di semiquantificazione per ogni diagnosi differenziale (PD versus ET; DLB versus AD; PD + DLB versus ET + AD). I migliori cut-off sono stati identificati attraverso il calcolo dell'indice di Youden (YI) ($Se + Sp - 1$) con l'obiettivo di massimizzare la rilevanza di sensibilità e specificità. Questa tecnica permette di determinare il valore di cut-off più appropriato come il punto della curva ROC con la più alta distanza verticale dalla linea diagonale a 45°. In questo punto, la differenza tra il tasso di TP del test (Se) e il tasso di FP ($1 - Sp$) è massima⁽⁸⁴⁾. Con l'approccio descritto ci siamo proposti di identificare i cut-off accurati per lo z-score di SBR per distinguere:

1. PD de novo rispetto all'ET
2. DLB rispetto ad AD (le analisi sono state eseguite senza alcun capovolgimento e dopo aver fatto la media tra i lati destro e sinistro).
3. L'intero gruppo di pazienti con PD e DLB de novo rispetto ai pazienti con ET e AD presi insieme.

Per tutti questi diversi scenari clinici, è stata valutata anche l'accuratezza del cut-off standard di - 2 z-score e, poiché l'ultima versione di Datquant® considera anche - 1,7, - 1,5 e - 1 come cut-off di z-score per tutti i parametri, è stata calcolata e riportata un'esplorazione più ampia della sensibilità e della specificità di questi ulteriori cut-off.

2.3 Risultati

PD versus ET

I pazienti affetti da PD hanno presentato un SBR nei gangli basali e un PCR sia nel MAH che nel LAH significativamente più bassi rispetto ai pazienti affetti da ET. Il putamen posteriore del MAH ha dimostrato la più elevata accuratezza nel distinguere PD da ET. Sette pazienti su 75 (9,3%) con PD de novo hanno mostrato uno z-score compreso tra - 1,28 e - 2 per il putamen posteriore del MAH, mentre un paziente con ET confermato al follow-up clinico ha mostrato uno z-score di - 1,69 per il putamen posteriore del MAH. Il secondo parametro più accurato è stato il putamen posteriore del LAH con un cut-off di z-score di -1.50, seguito dall'intero putamen, lo striato e il PCR. Il PCR sia per il MAH che per il LAH ha mostrato una minore accuratezza rispetto all'SBR del putamen posteriore, dell'intero putamen e anche rispetto all'intero corpo striato. Per svelare ulteriormente il significato fisiopatologico di questi risultati abbiamo condotto un'analisi esplorando l'accuratezza di diversi cut-off per il PCR, dopo aver raggruppato i pazienti affetti da PD in terzili, in base agli z-scores del MAH del putamen posteriore (come potenziale indicatore della gravità della compromissione dopaminergica, indipendentemente dall'esordio dei sintomi). Abbiamo quindi studiato in modo indipendente il miglior cut-off per il PCR per discriminare i pazienti con ET da quelli con PD con valore SBR del putamen posteriore nel terzile più alto (PD lieve) e quelli inclusi nel terzile inferiore (PD grave). IL PCR è risultato più accurato nel discriminare la PD moderata dal ET. I cut-off più accurati sono - 1,5 per il MAH e - 1,7 per il LAH. Nei pazienti affetti da PD grave, il cut-off di z-score con la più alta discriminazione rispetto all'ET era - 1,7 per entrambi gli emisferi.

Esplorazione dei differenti cut-off di Z-score per i più accurati parametri di semiquantificazione per la discriminazione tra PD ed ET

	ZS -2			ZS -1.7			ZS -1.5			ZS -1		
	Sensitivity	Specificity	YI	Sensitivity	Specificity	YI	Sensitivity	Specificity	YI	Sensitivity	Specificity	YI
MAH posterior putamen	0.88	0.95	0.83	0.94	0.95	0.89	0.96	0.94	0.90*	0.97	0.92	0.89
LAH posterior putamen	0.77	0.99	0.76	0.83	0.98	0.80	0.93	0.94	0.87*	0.87	0.96	0.83
MAH putamen	0.81	0.96	0.78	0.88	0.95	0.83	0.91	0.94	0.84	0.93	0.91	0.85
LAH putamen	0.67	0.99	0.65	0.73	0.99	0.72	0.77	0.96	0.74	0.85	0.91	0.77
MAH striatum	0.69	0.96	0.66	0.75	0.95	0.68	0.79	0.95	0.74	0.87	0.91	0.78
LAH striatum	0.48	0.99	0.47	0.57	0.98	0.55	0.65	0.98	0.63	0.80	0.93	0.73
MAH PCR	0.69	0.95	0.64	0.75	0.93	0.67	0.80	0.89	0.69	0.87	0.75	0.61
LAH PCR	0.68	0.93	0.61	0.75	0.90	0.65	0.76	0.84	0.60	0.87	0.64	0.46

DLB versus AD

I pazienti con DLB hanno mostrato valori medi molto più bassi di SBR e di z-scores in tutte le regioni striatali e substriatali rispetto ai pazienti con AD. I valori medi dell'intero putamen hanno mostrato la più alta accuratezza per differenziare la DLB dall' AD quando si è utilizzato uno z-score di -1.01. Considerando ogni regione substriatale e senza capovolgere le immagini, l'intero putamen del lato sinistro con un cut-off di z-score di - 0,96 è stato il parametro più accurato. Otto pazienti su 50(16%) con DLB hanno mostrato uno z-score compreso tra - 0,96 e - 2 per l'intero putamen del lato sinistro, mentre tutti i pazienti con AD hanno mostrato uno z-score > - 0,96. L'accuratezza del PCR era marcatamente più bassa con tutti i cut off di z-score rispetto a quanto evidenziato in precedenza per la diagnosi differenziale tra PD ed ET (il miglior cut-off era - 1 sia per il lato destro che per quello sinistro).

Esplorazione dei differenti cut_off di Z-score per i più accurati parametri di semiquantificazione per differenziare DLB da AD

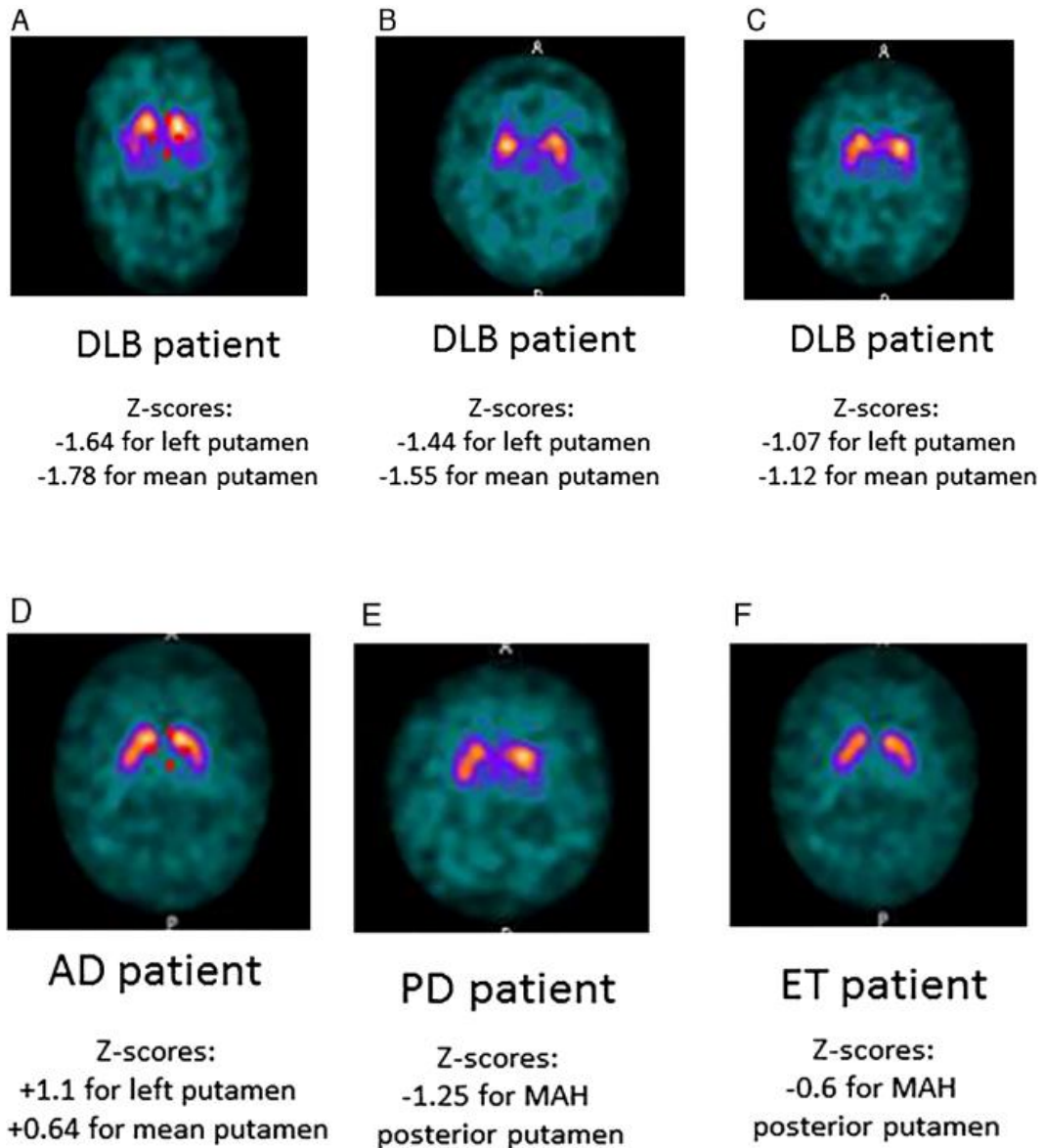
	Z5 -2			Z5 -1.7			Z5 -1.5			Z5 -1		
	Sensitivity	Specificity	YI	Sensitivity	Specificity	YI	Sensitivity	Specificity	YI	Sensitivity	Specificity	YI
Right putamen	0.64	0.95	0.59	0.70	0.95	0.65	0.72	0.95	0.67	0.78	0.90	0.68*
Left putamen	0.60	0.95	0.55	0.64	0.95	0.59	0.68	0.95	0.63	0.72	0.95	0.67*
Mean putamen	0.62	0.95	0.57	0.68	0.95	0.63	0.70	0.95	0.65	0.76	0.95	0.71
Right striatum	0.60	0.95	0.55	0.66	0.95	0.61	0.72	0.95	0.67	0.74	0.90	0.64
Left striatum	0.54	0.95	0.49	0.58	0.95	0.53	0.64	0.95	0.59	0.70	0.90	0.60
Mean striatum	0.56	0.95	0.51	0.62	0.95	0.57	0.68	0.95	0.63	0.74	0.95	0.69
Right posterior putamen	0.62	1.00	0.62	0.70	0.95	0.65	0.72	0.95	0.67	0.78	0.90	0.68
Left posterior putamen	0.64	1.00	0.64	0.66	0.90	0.56	0.70	0.90	0.60	0.74	0.90	0.64
Mean posterior putamen	0.64	1.00	0.64	0.68	0.95	0.63	0.70	0.90	0.60	0.76	0.90	0.66
Right PCR	0.34	0.90	0.24	0.36	0.85	0.21	0.42	0.80	0.22	0.52	0.75	0.27
Left PCR	0.42	0.95	0.37	0.50	0.90	0.40	0.54	0.90	0.44	0.66	0.85	0.51
Mean PCR	0.38	0.95	0.33	0.44	0.90	0.34	0.48	0.85	0.33	0.62	0.85	0.47

PD e DBL versus AD e ET

Il putamen posteriore del MAH con un cut off di z-score di -1,24 ha dimostrato la massima accuratezza anche per la diagnosi differenziale tra PD e DLB da un lato e ET più AD dall'altro lato.

Sensibilità, specificità e indice di Youden dei i più accurati cutt-off Datquant® per la discriminazione tra pazienti con malattie a corpi di Lewy (PD+DLB) e i controlli (ET+AD)

	Z5 -2			Z5 -1.7			Z5 -1.5			Z5 -1		
	Sensitivity	Specificity	YI	Sensitivity	Specificity	YI	Sensitivity	Specificity	YI	Sensitivity	Specificity	YI
MAH posterior putamen	0.80	0.95	0.76	0.84	0.94	0.79	0.87	0.94	0.81*	0.89	0.91	0.80
MAH putamen	0.75	0.93	0.71	0.80	0.95	0.75	0.83	0.94	0.77	0.88	0.91	0.80
MAH striatum	0.67	0.96	0.63	0.72	0.95	0.67	0.76	0.95	0.71	0.83	0.90	0.73

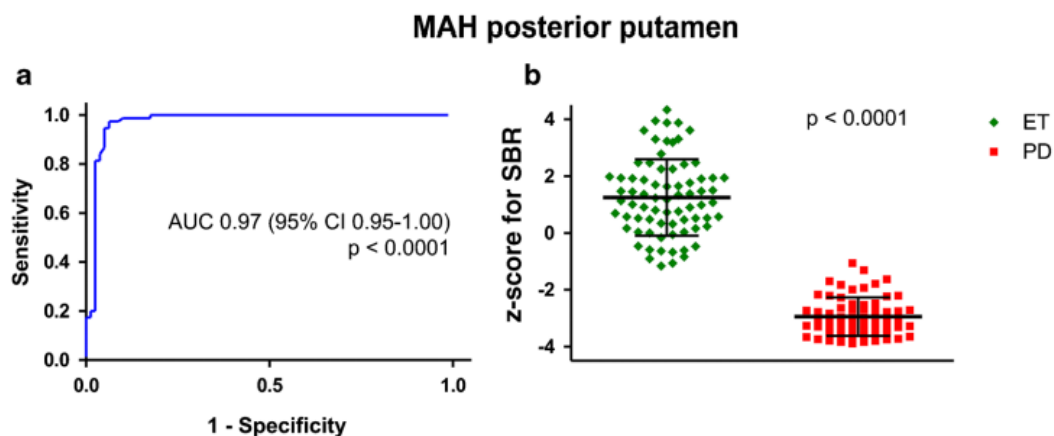


Esempi rappresentativi di immagini DaT SPECT e dei corrispondenti z-scores in pazienti con DLB (A-C), AD (D), PD (E) e ET (F) inclusi nel presente studio. Tutti i pazienti con PD e DLB inclusi nella figura mostrano uno z-score per l'SBR del putamen posteriore o dell'intero putamen superiore a - 2. L'analisi visiva è in ogni caso chiaramente utile per la classificazione finale di queste scansioni come anormali (indipendentemente dai risultati della semiquantificazione); tuttavia, la classificazione dei risultati della DaT SPECT nel paziente C con DLB (che originariamente era stato segnalato come dubbio/borderline), può essere complessa e potrebbe beneficiare della possibilità di utilizzare la semiquantificazione.

Differential diagnosis	Z score	Sensitivity	Specificity	YI	Parameter
PD versus ET	-1.27	0.97	0.94	0.91	MAH posterior putamen
	-2	0.88	0.95	0.83	MAH posterior putamen
DLB versus AD	-1.01	0.76	0.95	0.71	Mean putamen
	-2	0.62	0.95	0.57	Mean putamen
DLB versus AD	-0.96	0.74	0.95	0.69	Left putamen
	-2	0.60	0.95	0.55	Left putamen
PD+DLB versus ET+AD	-1.24	0.88	0.94	0.83	MAH posterior putamen
	-2	0.80	0.95	0.76	MAH posterior putamen

PD Parkinson disease; *ET* essential tremor; *DLB* dementia with Lewy bodies; *AD*: Alzheimer's disease; *YI* Youden index; *MAH* most affected hemisphere

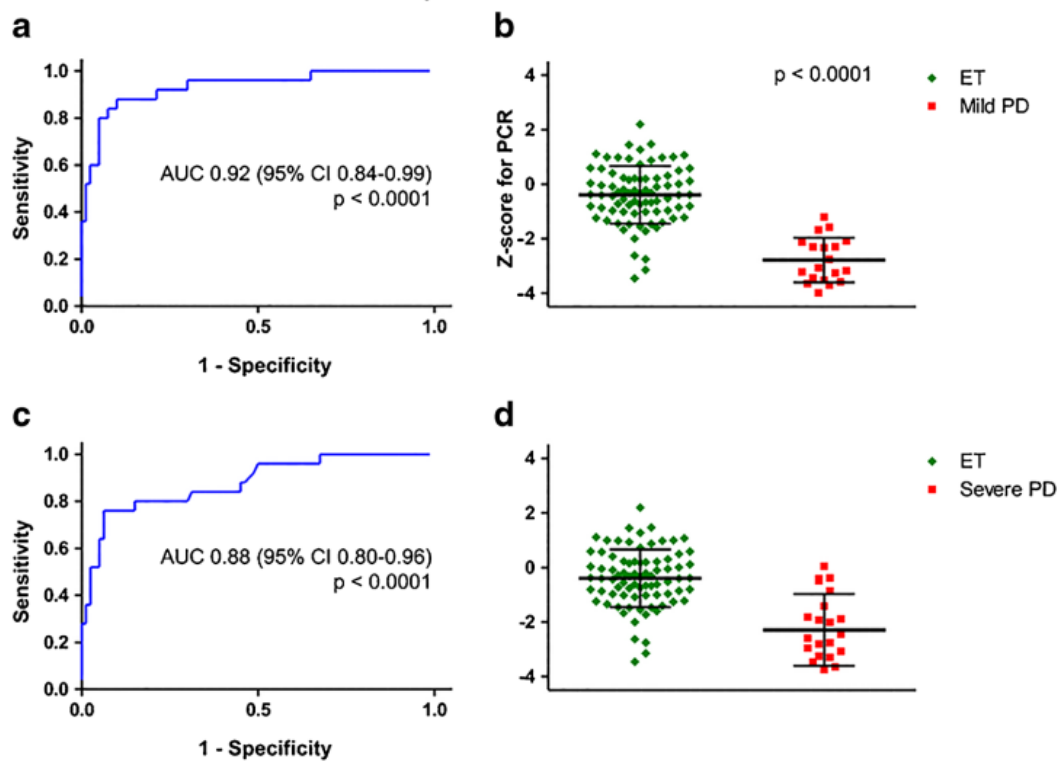
I più accurati valori soglia di Z-score per la diagnosi differenziale tra PD e ET, DLB e AD, malattie a corpi di Lewy (PD+DLB) e i controlli (ET+AD)



Il grafico (a) mostra la curva ROC che descrive l'accuratezza diagnostica dei punteggi Z di SBR per il putamen posteriore dell'emisfero più affetto (MAH) per distinguere PD da ET.

Il grafico (b) mostra la distribuzione (con la media e la deviazione standard) dei punteggi Z per il putamen posteriore dell'emisfero più affetto in pazienti con PD e ET.

MAH putamen to caudate ratio



I grafici (a) e (c) rappresentano la curva ROC che descrive l'accuratezza diagnostica dei punteggi Z di SBR per il rapporto putamen-caudato nell'emisfero più affetto in pazienti con PD lieve e severo.

I grafici (b) e (d) mostrano la distribuzione con la media e la deviazione standard dei punteggi Z in pazienti con PD e ET

Capitolo 3

DISCUSSIONE

Questo è il primo studio che mira specificamente a trovare sperimentalmente i parametri e i cut-off più accurati per lo z-score di SBR in modo indipendente in pazienti affetti da PD e DLB. I risultati ottenuti forniscono prove su:

- 1) la necessità di prendere in considerazione cut-off meno conservativi per il Z-score di SBR della DaT SPECT (rispetto al cut-off arbitrario ampiamente utilizzato di - 2 z-score) per la diagnosi differenziale di PD e DLB rispetto ai loro comparatori naturali ET e AD.
- 2) la necessità di considerare diversi parametri di semiquantificazione e diversi cut-off per lo z-score quando l'imaging DaT SPECT è stata fatta nel sospetto di PD o DLB.
- 3) l'utilità del PCR a supporto della diagnosi di PD, soprattutto nelle fasi iniziali della malattia. Mentre questo parametro non fornisce un valore aggiunto significativo a supporto della diagnosi di DLB.

In particolare, in queste analisi, è stato individuato un cut-off di z-score di - 1,27 per il putamen posteriore del MAH come il modo più accurato per confermare la diagnosi di PD. Questo cut-off ha permesso di ottenere un aumento della sensibilità rispetto a - 2 z-score (da 0,7 a 0,9), con una specificità paragonabile (0,94 contro 0,95). Inoltre, un'esplorazione completa dei cut-offs predefiniti proposti in Datquant® ci ha permesso di dimostrare che anche i punteggi z di - 1,5 e - 1,7 per il putamen posteriore del MAH sono più sensibili rispetto al -2, senza una riduzione significativa della specificità del test. La necessità di prendere in considerazione cut-offs meno conservativi per lo z-score è stata ancora più evidente nel gruppo di pazienti con DLB, in cui uno z-score di - 0,96 per l'intero putamen del lato sinistro (- 1 per il valore medio di entrambi i putamen) ha mostrato una maggiore precisione e una sensibilità nettamente superiore, rispetto a - 2 (0,64 per uno z-score di - 2 che sale a 0,78).

3.1 Implicazioni della semiquantificazione della DaT SPECT in ambito clinico e di ricerca

Nonostante l'ampia letteratura relativa agli algoritmi e al valore aggiunto della semiquantificazione della DaT SPECT, non sono state fornite indicazioni definite in merito ai cut-off di z-score da utilizzare per ottimizzare l'accuratezza diagnostica nella PD o nella DLB nella pratica clinica (72,77-79). Questa assenza di indicazioni è dovuta alla mancanza di studi che mirano specificamente a identificare i parametri più accurati o una combinazione di parametri e dei relativi cut-off di z-score (72,77-79). Tuttavia, questa mancanza di informazioni metodologiche è ancora più sorprendente se si considera che la stragrande maggioranza degli studi a sostegno dell'uso clinico della semiquantificazione ha concluso che il software per la misurazione oggettiva della DaT SPECT è particolarmente importante per i lettori non esperti (49). In effetti, i lettori non esperti hanno bisogno di indicazioni più specifiche sui cut-off e sull'interpretazione dei risultati della semiquantificazione anche per evitare di introdurre bias legati ai limiti e ai trabocchetti potenzialmente associati alla semiquantificazione. Come già accennato, in mancanza di valori stabiliti sperimentalmente, sono stati proposti in precedenza e largamente utilizzati cut-off piuttosto conservativi, come - 2 z-score, o addirittura - 2,5, per la classificazione dell'imaging DaTSPECT, indipendentemente dall'ipotesi clinica (77-80,85,86). Questa scelta è stata precedentemente motivata con la necessità di bilanciare sensibilità e specificità, a favore di una maggiore specificità nella routine clinica, in assenza di un trattamento modificante la malattia per le sindromi neurodegenerative parkinsoniane (77-79,86). Tuttavia, i presenti risultati dimostrano che, sia nei pazienti affetti da PD che in quelli affetti da DLB, l'utilizzo di cut-off meno conservativi non è associato a una riduzione della specificità del test. In particolare, il cut-off arbitrario stabilito di - 2 z-score è stato utilizzato anche nella ricerca e ha inevitabilmente influenzato i risultati di diversi studi metodologici, altrimenti ben progettati, volti a valutare altre fasi/aspetti del processo di semiquantificazione (ad esempio,

il numero minimo di controlli per costruire un set di dati di normalità, confronto tra diversi software, ecc.) (77-79,85). Infine, - 2 z-score (o -2 SD) è stato anche precedentemente considerato negli studi e nelle sperimentazioni cliniche incentrati sul disturbo del comportamento nel sonno rem (RBD) o più in generale nel PD prodromico, compresi i criteri della Movement Disorder Society per il PD prodromico (87,88). In effetti, dovrebbero essere applicati cut-off meno conservativi soprattutto nelle fasi prodromiche. Molto probabilmente, ulteriori studi che mirano specificamente ad affrontare la questione del cut-off più accurato per lo z-score dovrebbero essere intrapresi in pazienti con PD premotorio. Ovviamente i cut-offs che abbiamo identificato in questi gruppi di pazienti con PD e DLB dovrebbero essere confermati e validati in un gruppo di pazienti più ampio. Tuttavia, la necessità di cut-off meno conservativi per la classificazione della DaT SPECT è in linea con i pochi (solo due) tentativi precedenti di analizzare i cut-off per la quantificazione della DaT SPECT in pazienti con malattie a corpi di Lewy senza distinzione tra PD e DLB o in un campione più piccolo di pazienti con DLB (77,78). In effetti, un solo studio pubblicato da Neill et al. ha effettuato una revisione retrospettiva dei risultati della semiquantificazione con la DaT SPECT di pazienti indirizzati a una clinica per disturbi del movimento o arruolati in studi clinici, rispetto alle scansioni normali (definite "non-PD" e "non-DLB"). Neil e colleghi hanno identificato il putamen posteriore con un cut-off per lo z-score di - 1,8 come il parametro più accurato per distinguere i pazienti con sindromi parkinsoniane neurodegenerative rispetto ai soggetti con scansione normale. Il nostro studio sottolinea la necessità di prendere in considerazione cut-off meno conservativi per gruppi di pazienti ben definiti, che, in linea con quanto accade nella pratica clinica, sono rappresentati da pazienti con ET e AD piuttosto che da controlli normali. Ulteriori punti di forza di questi risultati sono:

1. l'inclusione di soli pazienti con PD naïve ai farmaci
2. l'esplorazione di cut-off di z-score per tutti i parametri semiquantificativi più accurati

3. una specifica spiegazione del valore di PCR in relazione alla gravità della PD
4. le analisi indipendenti nella PD e nella DLB.

3.2 Implicazioni dell'imaging DaT SPECT nella DLB

Nonostante il numero relativamente limitato di pazienti con DLB incluso nel presente studio, i pazienti con DLB qui analizzati rappresentano il gruppo più numeroso in cui la questione del cut-off per la DLB è stata affrontata direttamente. In 12 pazienti con DLB confermata autopticamente, Maltais et al. hanno precedentemente identificato (sempre tramite Datquant®) uno z-score di - 0,82 per l'intero putamen per definire una scansione anormale (78). Chen et al. hanno applicato questo cut-off definito sperimentalmente in un gruppo di pazienti con decadimento cognitivo lieve con caratteristiche di base della DLB, che sono stati sottoposti a DaT SPECT e PET con amiloide (89). Questi autori hanno dimostrato che i pazienti con una DaT SPECT anormale (D +) erano più spesso caratterizzati da RBD e che i pazienti D + avevano punteggi UPDRS-III più elevati e un più basso rapporto del valore di uptake standard (SUVratio) alla PET amiloide rispetto ai pazienti definiti D- (89). In questa analisi, l'identificazione dell'intero putamen come parametro più accurato con un cut-off di - 1 per l'identificazione della DLB completa rispetto all'AD è in linea con i risultati precedenti e con la diversa fisiopatologia della compromissione dopaminergica nella DLB rispetto ai pazienti con PD. Infatti, nonostante un'ampia sovrapposizione nelle loro caratteristiche cliniche e di neuroimaging, la PD e la DLB sono ancora oggi considerate due entità cliniche diverse (90-93). In effetti, le caratteristiche della DaT SPECT sono state attribuite specificamente ai pazienti affetti da DLB, suggerendo alcune caratteristiche peculiari anche rispetto alla PD (11,94). Diverse linee di evidenza hanno suggerito la possibilità di una DaTSPECT negativa nel 10% dei pazienti con DLB all'inizio dei sintomi (quindi probabilmente nella demenza lieve e forse più frequentemente nella DLB prodromica) (31,33,34). Van der Zande e colleghi hanno riportato, con la sola analisi visiva, che nei pochi pazienti con DLB con una normale

DaT SPECT alla prima valutazione, la scansione diventa anormale se ripetuta 1,5-2 anni dopo (33). Questa degenerazione dopaminergica, più lenta ma progressiva, non è certamente un fenomeno on/off. Di conseguenza, un approccio semiquantitativo alla DaT SPECT con l'utilizzo di cut-off meno conservativi nei pazienti con DLB aumenta necessariamente la sensibilità e dovrebbe consentire di rilevare scansioni anormali più precocemente nel decorso della malattia nei casi difficili.

3.3 Implicazioni dell'uso clinico del rapporto tra putamen e caudato (PCR)

Un ulteriore aspetto pratico che emerge dal presente studio è legato alla diversa accuratezza e alla conseguente rilevanza del PCR nella DLB rispetto alla PD e in stadi diversi della PD. Abbiamo esplorato i cut-off più accurati per lo z-score del PCR nei pazienti affetti da PD, raggruppati in base alla gravità della degenerazione dopaminergica (utilizzando il valore dello z-score del putamen posteriore nel MAH come proxy del deficit dopaminergico). Il PCR è generalmente considerato un parametro utile per rilevare la presenza di neurodegenerazione dopaminergica, soprattutto nei casi precoci e nei casi limite. Questa maggiore sensibilità è stata effettivamente sottolineata nel sottogruppo di pazienti con PD lieve, mentre l'accuratezza, soprattutto in termini di sensibilità, era più bassa nel sottogruppo di pazienti con PD di nuova diagnosi che mostravano un deficit dopaminergico più evidente. In particolare, il cut-off più accurato per lo z-score era diverso anche nei due sottogruppi di pazienti affetti da PD, a ulteriore sostegno della necessità di personalizzare la scelta del cut off in base allo scenario clinico e alla gravità della malattia (che può essere biologicamente determinata dallo z-score del putamen o del putamen posteriore). In effetti, questo risultato testimonia anche che, per diverse ragioni, le PD naïve ai farmaci mostrano una gamma variabile di gravità della neurodegenerazione dopaminergica. Il numero limitato di pazienti e di controlli è un limite di questo studio su un unico centro. In effetti, è stato suggerito che le immagini DaT SPECT potrebbero mostrare differenze più lievi nei pazienti con PD

anche per quanto riguarda i sintomi e i fenotipi più diffusi (ad esempio, tremore, RBD, ecc.), che potrebbero portare a modelli predittivi o soglie di quantificazione diversi (33). Dato il numero di pazienti con PD arruolati, non potremmo tenere in considerazione questo aspetto. Inoltre, va considerato che il cut-off meno conservativo qui identificato potrebbe non avere la stessa accuratezza quando la DaT SPECT viene utilizzata per la diagnosi differenziale tra la PD e altre entità cliniche complesse e talvolta mal definite. Infatti, il legame del ligando DAT è stato descritto come normale, ma a volte anche leggermente ridotto, nei pazienti con parkinsonismo vascolare (ad eccezione dei pazienti con un infarto che coinvolge direttamente una struttura striatale) (72,26,27,95,96). Infine, abbiamo utilizzato uno strumento di semiquantificazione specifico con un database normale definito. Anche se abbiamo usato lo stesso algoritmo di acquisizione e ricostruzione e i parametri utilizzati quando è stato raccolto il set di dati normali, si prevede che il set di dati dei soggetti normali influisca sullo z-score di SBR. Per tutte queste ragioni, sarà obbligatorio testare i cut-off identificati in un gruppo indipendente di pazienti e di affrontare questo problema con altri software di semiquantificazione. In conclusione, questi risultati suggeriscono che si dovrebbero prendere in considerazione diversi cut-off quando si riporta la scansione DaT SPECT in pazienti affetti da PD o DLB in relazione all'ET e AD rispettivamente. Inoltre, indipendentemente dall'ipotesi clinica, l'uso di cut-off meno conservativi (tra 1,3 e 1,8 nei pazienti affetti da PD) sembra fornire una maggiore sensibilità rispetto all'ampiamente utilizzato - 2 z-score, senza una perdita misurabile nella specificità del test. In questo quadro, sarà importante non solo confermare i risultati attuali in un gruppo più ampio e indipendente di pazienti (soprattutto per la DLB e l'AD), ma anche estendere questo approccio sperimentale a tutte le diverse sindromi parkinsiane, per applicare i parametri e i cut-off dello z-score in altri contesti clinici (ad esempio, il caudato per la paralisi sopranucleare progressiva).

Bibliografia

1. Berardelli A, Wenning GK, Antonini A, Berg D, Bloem BR, Bonifati V, et al. EFNS/MDS-ES/ENS recommendations for the diagnosis of Parkinson's disease. *Eur J Neurol.* 2013; 20:16 – 34.
2. Armstrong MJ, Litvan I, Lang AE, Bak TH, Bhatia KP, Borroni B, et al. Criteria for the diagnosis of corticobasal degeneration. *Neurology* 2013; 80: 496 – 503
3. Höglinger GU, Respondek G, Stamelou M, Kurz C, Josephs KA, Lang AE, et al. Movement Disorder Society-endorsed PSP Study Group. Clinical diagnosis of progressive supranuclear palsy: the movement disorder society criteria. *Mov Disord.* 2017; 32:853 – 64.
4. Booij J, Knol RJ. SPECT imaging of the dopaminergic system in (premotor) Parkinson' s disease. *Parkinsonism Relat Disorders.* 2007; 13(Suppl 3): S425 – 8.
5. Thobois S, Jahanshahi M, Pinto S, Frackowiak R, Limousin DP. PET and SPECT functional imaging studies in Parkinsonian syndromes: from the lesion to its consequences. *Neuroimage.* 2004; 23:1 – 16.
6. Van Laere K, Varrone A, Booij J, Vander Borght T, Nobili F, Kapucu OL, et al. EANM procedure guidelines for brain neurotransmission SPECT/PET using dopamine D2 receptor li-gands, version 2. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2010;
7. Darcourt J, Booij J, Tatsch K, Varrone A, Vander Borght T, Kapucu OL, et al. EANM procedure guidelines for brain neurotransmission SPECT using (123)I-labelled dopamine transporter ligands, version 2. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2010; 37:443 – 50.
8. Djang DS, Janssen MJ, Bohnen N, Booij J, Henderson TA, Herholz K, et al. SNM practice guideline for dopamine transporter imaging with 123I-ioflupane SPECT 1.0. *J Nucl Med.* 2012; 53:154 – 63.
9. DaTSCAN European Public Assessment Report, 25 Jul 2019.

10. Postuma RB, Berg D, Stern M, et al. MDS clinical diagnostic criteria for Parkinson's disease. 2015
11. McKeith et al., 2017, "Diagnosis and management of dementia with Lewy bodies: Fourth consensus report of the DLB Consortium"
12. Fazio C. e Loeb. C., "Neurologia", volume 2, V edizione, 2019
13. Kaasinen V, Vahlberg T. Striatal dopamine in Parkinson disease: a meta-analysis of imaging studies. *Ann Neurol.* 2017; 82:873 – 82.
14. Ribeiro MJ, Vidailhet M, Loc'h C, Dupel C, Nguyen JP, Ponchant M, et al. Dopaminergic function and dopamine transporter binding assessed with positron emission tomography in Parkinson disease. *Arch Neurol.* 2002; 59:580 – 6.
15. Eshuis SA, Maguire RP, Leenders KL, Jonkman S, Jager PL. Comparison of FP-CIT SPECT with F-DOPA PET in patients with de novo and advanced Parkinson's disease. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2006; 33:200 – 9
16. Booij J, Kemp P. Dopamine transporter imaging with [(123)I]FP-CIT SPECT: potential effects of drugs. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2008; 35:424 – 38
17. Lorberboym M, Treves TA, Melamed E, Lampl Y, Hellmann M, Djaldetti R. [123I]-FP/CIT SPECT imaging for distinguishing drug-induced parkinsonism from Parkinson's disease. *Mov Disord.* 2006; 21:510 – 4
18. Koch W, Bartenstein P, la Fougère C. Radius dependence of FP-CIT quantification: a Monte Carlo-based simulation study. *Ann Nuc Med.* 2014;
19. Tissingh G, Booij J, Bergmans P, Winogrodzka A, Janssen AG, van Royen EA, et al. Iodine-123-N-omega-fluoropropyl-2b-carbomethoxy-3b-(4-iodophenyl) tropane SPECT in healthy controls and early stage, drug-naive Parkinson's disease. *J Nucl Med.* 1998; 39:1143 – 8.
20. Marshall VL, Reiningner CB, Marquardt M, Patterson J, Hadley DM, Oertel WH, et al. Parkinson's disease is overdiagnosed clinically at baseline in diagnostically

uncertain cases: a 3-year European multicenter study with repeat [123I]FP-CIT SPECT. *Mov Disord.* 2009; 24:500 – 8.

21. Catafau AM, Tolosa E, DaTSCAN Clinically Uncertain Parkinsonian Syndromes Study Group. Impact of dopamine transporter SPECT using 123I-ioflupane on diagnosis and management of patients with clinically uncertain parkinsonian syndromes. *Mov Disord.* 2004; 19:1175 – 82.

22. Arnaldi D, De Carli F, Picco A, Ferrara M, Accardo J, Bossert I, et al. Nigro-caudate dopaminergic deafferentation: a marker of REM sleep behavior disorder? *Neurobiol Aging.* 2015; 36:3300 – 5.

23. Felicio AC, Godeiro-Junior C, Moriyama TS, Shih MC, Hoexter MQ, Borges V, et al. Degenerative parkinsonism in patients with psychogenic parkinsonism: a dopamine transporter imaging study. *Clin Neurol Neurosurg.* 2010; 112:282 – 5.

24. Brigo F, Martinella A, Erro R, Tinazzi M. [123I]FP-CIT SPECT (DaTSCAN) may be a useful tool to differentiate between Parkinson's disease and vascular or drug-induced parkinsonisms: a meta-analysis. *Eur J Neurol.* 2014;21, 1369 – 1390.

25. Lorberboym M, Treves TA, Melamed E, Lampl Y, Hellmann M, Djaldetti R. [123I]-FP/CIT SPECT imaging for distinguishing drug-induced parkinsonism from Parkinson ' s disease. *Mov Disord.* 2006; 21:510 – 4.

26. Benítez-Rivero S, Marín-Oyaga VA, García-Solís D, Huertas-Fernández I, García-Gómez FJ, Jesús S, et al. Clinical features and 123I-FP-CIT SPECT imaging in vascular parkinsonism and Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2013; 84:122 – 9.

27. Vizcarra JA, Lang AE, Sethi KD, Espay AJ. Vascular parkinsonism: deconstructing a syndrome. *Mov Disord.* 2015; 30:886 – 94.

28. Wardlaw JM, Smith EE, Biessels GJ, Cordonnier C, Fazekas F, Frayne R, et al. Neuroimaging standards for research into small vessel disease and its contribution to ageing and neurodegeneration. *Lancet Neurol.* 2013; 12:822 – 38.

29. Jellinger KA. The neuropathologic diagnosis of secondary parkinsonian syndromes. *Adv Neurol.* 1996; 69:293 – 303.
30. McKeith I, O' Brien J, Walker Z, Tatsch K, BooiJ J, Darcourt J et al. Sensitivity and specificity of dopamine transporter imaging with 123I-FP-CIT SPECT in dementia with Lewy bodies: a phase III, multicentre study. *Lancet Neurol.* 2007;
31. Thomas AJ, Attems J, Colloby SJ, O'Brien JT, McKeith I, Walker R, et al. Autopsy validation of 123I-FP-CIT dopaminergic neuroimaging for the diagnosis of DLB. *Neurology.* 2017; 88:276 – 83.
32. Pirker W, Holler I, Gerschlager W, Asenbaum S, Zettinig G, Brücke T. Measuring the rate of progression of Parkinson's disease over a 5-year period with beta-CIT SPECT. *Mov Disord.* 2003; 18:1266 – 72.
33. Van der Zande J, BooiJ J, Scheltens P, Raijmakers P, Lemstra AW. [123]FP-CIT SPECT scans initially rated as normal became abnormal over time in patients with probable dementia with Lewy bodies. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2016;
34. Nobili F, Arnaldi D, Morbelli S. Is dopamine transporter invariably impaired at the time of diagnosis in dementia with Lewy bodies? *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2016; 43:1056 – 9.
35. Kordower JH, Olanow CW, Dodiya HB, Chu Y, Beach TG, Adler CH, et al. Disease duration and the integrity of the nigrostriatal system in Parkinson's disease. *Brain.* 2013; 136:2419 – 31.
36. Cilia R, Marotta G, Belletti A, Siri C, Pezzoli G. Reversible dopamine transporter reduction in drug-induced parkinsonism. *Mov Disord.* 2014;
37. Walker Z, Gandolfo F, Orini S, Garibotto V, Agosta F, Arbizu J, et al. Clinical utility of FDG PET in Parkinson's disease and atypical parkinsonism associated with dementia. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2018; 45:1534 – 45.
38. Orimo S, Suzuki M, Inaba A, Mizusawa H. 123I-MIBG myocardial scintigraphy for differentiating Parkinson's disease from other neurodegenerative

parkinsonism: a systematic review and meta-analysis. *Parkinsonism Relat Disord.* 2012; 18:494 – 500.

39. Rinne JO, Laine M, Kaasinen V, Norvasuo-Heilä MK, Någren K, Helenius H. Striatal dopamine transporter and extrapyramidal symptoms in frontotemporal dementia. *Neurology.* 2002; 58:1489 – 93.

40. Morgan S, Kemp P, Booij J, Costa DC, Padayachee S, Lee L, et al. Differentiation of frontotemporal dementia from dementia with Lewy bodies using FP-CIT SPECT. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2012; 83:1063 – 70.

41. Miyoshi M, Shinotoh H, Wszolek ZK, Strongosky AJ, Shimada H, Arakawa R, et al. In vivo detection of neuropathologic changes in presymptomatic MAPT mutation carriers: a PET and MRI study. *Parkinsonism Relat Disord.* 2010;

42. Kishore A, Wszolek ZK, Snow BJ, de la Fuente-Fernandez R, Arwert F, Wijker M, et al. Presynaptic nigrostriatal function in genetically tested asymptomatic relatives from the pallido-ponto-nigral degeneration family. *Neurology.* 1996;

43. Tiraboschi P, Corso A, Guerra UP, Nobili F, Piccardo A, Calcagni ML, et al. 123 I-FP-CIT SPECT and 123 I-MIBG myocardial scintigraphy in differentiating dementia with Lewy bodies from other dementias: a comparative study. *Ann Neurol.* 2016; 80:368 – 78.

44. Tossici-Bolt L, Dickson JC, Sera T, Booij J, Asenbaun-Nan S, Bagnara MC, et al. [(123)I]FP-CIT ENC-DAT normal database: the impact of the reconstruction and quantification methods. *EJNMMI Physics.* 2017;

45. Arnaldi D, Campus C, Ferrara M, Famà F, Picco A, De Carli F, et al. What predicts cognitive decline in de novo Parkinson's disease? *Neurobiol Aging.* 2012;

46. Seibyl JP, Marek K, Sheff K, Zoghbi S, Baldwin RM, Charney DS, et al. Iodine-123-beta-CIT and iodine-123-FPCIT SPECT measurement of dopamine transporters in healthy subjects and Parkinson's patients. *J Nucl Med.* 1998;

47. Laruelle M, Wallace E, Seibyl JP, Baldwin RM, Zea-Ponce Y, Zoghbi SS, et al. Graphical, kinetic, and equilibrium analyses of in vivo [123I] beta-CIT binding to dopamine transporters in healthy human subjects. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1994;
48. Seibyl JP, Marek K, Sheff K, Baldwin RM, Zoghbi S, Zea-Ponce Y, et al. Test/retest reproducibility of iodine-123-betaCIT SPECT brain measurement of dopamine transporters in Parkinson's patients. *J Nucl Med.* 1997; 38:1453 – 9.
49. Booij J, Dubroff J, Pryma D, Yu JQ, Agarwal R, Lakhani P, et al. Diagnostic performance of the visual reading of (123)I-ioflupane SPECT images when assessed with or without quantification in patients with movement disorders or dementia. *J Nuc Med.* 2017; 58:1821 – 6.
50. Booij J, Habraken JB, Bergmans P, Tissingh G, Winogrodzka A, Wolters EC, et al. Imaging of dopamine transporters with iodine-123-FP-CIT SPECT in healthy controls and patients with Parkinson's disease. *J Nucl Med.* 1998; 39:1879 – 84.
51. Calvini P, Rodriguez G, Inguglia F, Mignone A, Guerra UP, Nobili F. The basal ganglia matching tools package for striatal uptake semi-quantification: description and validation. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2007; 34:1240 – 53.
52. Matesan M, Gaddikeri S, Longfellow K, Miyaoka R, Elojeimy S, Elman S, et al. I-123 DaTscan SPECT brain imaging in Parkinsonian syndromes: utility of the putamen-to-caudate ratio. *J Neuroimaging.* 2018; 28:629 – 34.
53. Zubal IG, Early M, Yuan O, Jennings D, Marek K, Seibyl JP. Optimized, automated striatal uptake analysis applied to SPECT brain scans of Parkinson's disease patients. *J Nucl Med.* 2007; 48:857 – 64.
54. Morton RJ, Guy MJ, Clauss R, Hinton PJ, Marshall CA, Clarke EA. Comparison of different methods of DatSCAN quantification. *Nucl Med Commun.* 2005; 26:1139 – 46.
55. Nobili F, Naseri M, De Carli F, Asenbaum S, Booij J, Darcourt J, et al. Automatic semi-quantification of [123I]FP-CIT SPECT scans in healthy volunteers

using BasGan version 2: results from the ENC-DAT database. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2013; 40:565 – 7.

56. Kuo PH, Lei HH, Avery R, Krupinski EA, Bauer A, Sherman S, et al. Evaluation of an objective striatal analysis program for determining laterality in uptake of 123I-ioflupane SPECT images: comparison to clinical symptoms and to visual reads. *J Nucl Med Technol*. 2014; 42:105 – 8.

57. Iida H, Narita Y, Kado H, Kashikura A, Sugawara S, Shoji Y, et al. Effects of scatter and attenuation correction on quantitative assessment of regional cerebral blood flow with SPECT. *J Nucl Med*. 1998; 39:181 – 9.

58. Dickson JC, Tossici-Bolt L, Sera T, Erlandsson K, Varrone A, Tatsch K, et al. The impact of reconstruction method on the quantification of DaTSCAN images. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2010; 37:23 – 35.

59. Koch W, Radau PE, Munzing W, Tatsch K. Cross-camera comparison of SPECT measurements of a 3-D anthropomorphic basal ganglia phantom. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2006; 33:495 – 502.

60. Tinaz S, Chow C, Kuo PH, Krupinski EA, Blumenfeld H, Louis ED, et al. Semiquantitative analysis of dopamine transporter scans in patients with Parkinson disease. *Clin Nucl Med*. 2018; 43:1 – 7

61. Kuo PH, Eshghi N, Tinaz S, Blumenfeld H, Louis ED, Zubal G. Optimization of parameters for quantitative analysis of 123I-ioflupane SPECT images for monitoring of progression of Parkinson's disease. *J Nucl Med Technol*. 2019;

62. Tossici-Bolt L, Hoffmann SM, Kemp PM, Mehta RL, Fleming JS. Quantification of [(123)I]FP-CIT SPECT brain images: an accurate technique for measurement of the specific binding ratio. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2006;

63. Hsu CC, Chang YH, Lin WC, Tang SW, Wang PW, Huang YC, et al. The feasibility of using CT-guided ROI for semiquantifying striatal dopamine transporter availability in a hybrid SPECT/CT system. *ScientificWorldJournal*. 2014;

64. Hirschauer TJ, Adeli H, JA Buford Computer-aided diagnosis of Parkinson's disease using enhanced probabilistic neural network. *J Med Syst.* 2015; 39:179.
65. Rahmim A, Salimpour Y, Jain S, Blinder SA, Klyuzhin IS, Smith GS, et al. Application of texture analysis to DAT SPECT imaging: relationship to clinical assessments. *Neuroimage Clin.* 2016; 12:1 – 9.
66. Mozley PD, Schneider JS, Acton PD, Plössl K, Stern MB, Siderowf A, et al. Binding of [99mTc]TRODAT-1 to dopamine transporters in patients with Parkinson's disease and in healthy volunteers. *J Nucl Med.* 2000; 41:584 – 9.
67. Dickson JC, Tossici-Bolt L, Sera T, Booij J, Ziebell M, Morbelli S, et al. The impact of reconstruction and scanner characterization on the diagnostic capability of a normal database for [(123)I]FP-CIT SPECT imaging. *EJNMMI Res.* 2017;
68. Varrone A, Dickson JC, Tossici-Bolt L, Sera T, Asenbaum S, Booij J, et al. European multicentre database of healthy controls for [123I]FP-CIT SPECT (ENC-DAT): age-related effects, gender differences and evaluation of different methods of analysis. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2013; 40:213 – 27.
69. Parkinson Progression Marker Initiative. The Parkinson progression marker initiative (PPMI). *Prog Neurobiol.* 2011; 95:629 – 35.
70. Simuni T, Siderowf A, Lasch S, Coffey CS, Caspell-Garcia C, Jennings D, et al. Longitudinal change of clinical and biological measures in early Parkinson's disease: Parkinson's progression markers initiative cohort. *Mov Disord.* 2018;
71. Benamer HTS, Patterson J, Grosset DG, et al. Accurate differentiation of parkinsonism and essential tremor using visual assessment of [123 I]-FP-CIT SPECT imaging: The [123 I]-FP-CIT study group. *Mov Disord.* 2000;
72. Morbelli S, Esposito G, Arbizu J, et al. EANM practice guideline/SNMMI procedure standard for dopaminergic imaging in Parkinsonian syndromes 1.0. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2020; 47(8):1885–1912

73. Söderlund TA, Dickson JC, Prvulovich E, et al. Value of semiquantitative analysis for clinical reporting of 123I-2-β-carbomethoxy-3β-(4-iodophenyl)-N-(3-fluoropropyl)nortropane SPECT studies. *J Nucl Med.* 2013; 54(5):714–22.
74. Brogley JE. DaTQUANT: The Future of Diagnosing Parkinson Disease. *J Nucl Med Technol.* 2019;
75. Pencharz DR, Hanlon P, Chakravartty R, et al. Automated quantification with BRASS reduces equivocal reporting of DaTS -CAN (123I-FP-CIT) SPECT studies. *Nucl Med Rev Cent East Eur.* 2014; 17(2):65–9
76. Initiative PPM. The Parkinson Progression Marker Initiative (PPMI). *Prog Neurobiol.* 2011; 95(4):629–35
77. Neill M, Fisher JM, Brand C, et al. Practical application of DaTQUANT with optimal threshold for diagnostic accuracy of dopamine transporter SPECT. *Tomography.* 2021;7(4):980–989. Published 2021 Dec 18.
78. Maltais DD, Jordan LG, Min HK, et al. Confirmation of 123I-FP-CIT SPECT Quantification Methods in Dementia with Lewy Bodies and Other Neurodegenerative Disorders. *J Nucl Med.* 2020;
79. Roberts G, Lloyd JJ, Petrides GS, et al. 123I-FP-CIT striatal binding ratios do not decrease significantly with age in older adults. *Ann Nucl Med.* 2019;
80. Schmitz-Steinkrüger H, Lange C, Apostolova I, et al. Impact of the size of the normal database on the performance of the specific binding ratio in dopamine transporter SPECT. *EJNMMI Phys.* 2020;
81. Miyamoto T, Miyamoto M, Numahata K, Onoue H, Akaiwa Y, Sairenchi T. Reduced dopamine transporter binding predicts early transition to Lewy body disease in Japanese patients with idiopathic rapid eye movement sleep behavior disorder. *J Neurol Sci.* 2020;

82. Matesan M, Gaddikeri S, Longfellow K, et al. I-123 DaTscan SPECT Brain Imaging in Parkinsonian Syndromes: Utility of the Putamen-to-Caudate Ratio. *J Neuroimaging*. 2018;
83. McKhann GM, Knopman DS, Chertkow H, et al. The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*. 2011
84. Perkins NJ, Schisterman EF. The inconsistency of «optimal» cut-points obtained using two criteria based on the receiver operating characteristic curve. *Am J Epidemiol*. 2006;
85. Miyagawa T, Przybelski SA, Maltais D, et al. The value of multimodal imaging with 123I-FP-CIT SPECT in differential diagnosis of dementia with Lewy bodies and Alzheimer's disease dementia. *Neurobiol Aging*. 2021;
86. Morbelli S, Arnaldi D, Cella E, et al. Striatal dopamine transporter SPECT quantification: head-to-head comparison between two three-dimensional automatic tools. *EJNMMI Res*. 2020;10(1):137. Published 2020
87. Berg D, Postuma RB, Adler CH, et al. MDS research criteria for prodromal Parkinson's disease. *Mov Disord*. 2015;
88. Iranzo A, Lomeña F, Stockner H, et al. Decreased striatal dopamine transporter uptake and substantia nigra hyperechogenicity as risk markers of synucleinopathy in patients with idiopathic rapid-eye-movement sleep behaviour disorder: a prospective study [corrected] published correction appears in *Lancet Neurol*. 2010
89. Chen Q, Lowe VJ, Boeve BF, et al. β -Amyloid PET and 123I-FP-CIT SPECT in mild cognitive impairment at risk for Lewy Body Dementia [published online ahead of print, 2021 Jan 6]. *Neurology*. 2021;
90. Jellinger KA. Are there morphological differences between Parkinson's disease-dementia and dementia with Lewy bodies? *Parkinsonism Relat Disord*. 2022;

91. Jellinger KA. Dementia with Lewy bodies and Parkinson's disease-dementia: current concepts and controversies. *J Neural Transm (Vienna)*. 2018;
92. Richard IH, Papka M, Rubio A, Kurlan R. Parkinson's disease and dementia with Lewy bodies: one disease or two? *Mov Disord*. 2002;
93. Massa F, Arnaldi D, De Cesari F, et al. Neuroimaging findings and clinical trajectories of Lewy body disease in patients with MCI. *Neurobiol Aging*. 2019;
94. McCleery J, Morgan S, Bradley KM, Noel-Storr AH, Ansorge O, Hyde C. Dopamine transporter imaging for the diagnosis of dementia with Lewy bodies. *Cochrane Database Syst Rev*. 2015;1(1):CD010633. Published 2015 Jan 30
95. Lorberboym M, Djaldetti R, Melamed E, Sadeh M, Lampl Y. 123I-FP-CIT SPECT imaging of dopamine transporters in patients with cerebrovascular disease and clinical diagnosis of vascular parkinsonism. *J Nucl Med*. 2004;
96. Walker Z, Costa DC, Walker RW, et al. Striatal dopamine transporter in dementia with Lewy bodies and Parkinson disease: a comparison. *Neurology*. 2004;