

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI GENOVA
Scuola di Scienze Mediche e Farmaceutiche



**CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN MEDICINA E
CHIRURGIA**

Dipartimento di Neuroscienze, Riabilitazione, Oftalmologia,
Genetica e Scienze Materno-Infantili (DINOEMI)

Anno Accademico 2022-2023

TESI DI LAUREA

“Predittori di demenza e parkinsonismo nel disturbo
comportamentale del sonno REM idiopatico: uno studio
multicentrico italiano”

Relatore

Professore Dario Arnaldi

Correlatore

Dott. Pietro Mattioli

Candidata

Anita Rebora

Indice

Introduzione	3
1. DISTURBO COMPORTAMENTALE DEL SONNO REM	3
1.1 Definizione e presentazione clinica.....	3
1.2 Epidemiologia	4
1.3 Fisiopatologia.....	5
1.4 Diagnosi	7
1.5 Etica di comunicazione della diagnosi	8
2. RBD e α -sinucleinopatie	9
2.1 Aspetti generali	9
2.2 Biomarcatori di fenocconversione	10
3. Alterazione della ^{123}I -FP-CIT SPECT nel paziente con iRBD	12
4. Il progetto FARPRESTO	14
Obiettivo dello studio.....	16
Materiali e metodi	17
1. Pazienti.....	17
2. Analisi statistica	21
Risultati	22
Discussione	26
Bibliografia	30
Ringraziamenti	36

Introduzione

1. DISTURBO COMPORTAMENTALE DEL SONNO REM

1.1 Definizione e presentazione clinica

Il disturbo comportamentale del sonno REM (RBD, REM sleep behavior disorder) è una parasonnia caratterizzata da comportamenti anomali durante la fase REM del sonno, i soggetti mettono in atto i propri sogni con il rischio di causare danno a sé stessi e al proprio compagno di letto^{1,2}. Criterio diagnostico fondamentale per la diagnosi è l'assenza dell'atonia muscolare tipica di questa fase del sonno (REM sleep without atonia, RSWA)^{1,2}.

Gli episodi sono variabili in termini di frequenza, presentazione e durata², da movimenti semplici come la contrazione di un singolo gruppo muscolare fino a movimenti più complessi ed eclatanti che possono mimare il contenuto onirico del paziente. Questi ultimi possono essere di natura violenta. Ad esempio, nel sogno il paziente è inseguito o attaccato da animali o figure non familiari ai quali può rispondere con pugni, schiaffi e calci. Si possono evidenziare anche comportamenti non violenti come mangiare, fumare, ridere, piangere, ballare, gesticolare, applaudire, vestirsi o simulare il coito²⁻⁴. I pazienti a fine episodio si svegliano improvvisamente, spesso agitati, ma orientati nel tempo, generalmente ricordando il sogno¹. In realtà, per la maggior parte della fase REM del sonno, si evidenzia soltanto l'assenza di atonia muscolare tramite indagine elettromiografica mentre dei franchi movimenti si notano per il 9.2% del tempo^{5,6}.

Le caratteristiche dei movimenti sono state poco studiate e i dati a disposizione mostrano come di solito i movimenti distali siano più frequenti di quelli prossimali^{5,7}. Rispetto alla veglia, si tratta di movimenti più rapidi, spesso ripetitivi, a scatti, pseudo-allucinatori e mai associati a tremore. Gli occhi rimangono chiusi e non c'è interazione con l'ambiente^{5,8}. A

differenza del sonnambulismo (parasonnia del sonno non-REM) raramente (3%) il paziente si alza dal letto e cammina o corre^{5,9}.

L'RBD è distinto in due categorie: idiopatico (iRBD) e secondario (o sintomatico). Quest'ultimo è associato soprattutto alle α -sinucleinopatie, in particolare alla malattia di Parkinson (PD), demenza a corpi di Lewy (DLB) e atrofia multi-sistemica (MSA) ma anche all'assunzione di farmaci antidepressivi^{3,10} o a malattie autoimmuni come la narcolessia di tipo 1, l'encefalite limbica, la sindrome di Guillain-Barré o di Morvan¹¹. Tuttavia, nella maggior parte dei casi le forme di iRBD fenocvertono in una α -sinucleinopatia manifesta con un intervallo medio di 10 anni^{12,13}. Uno studio retrospettivo ha dimostrato come i meccanismi fisiopatologici alla base della α -sinucleinopatia si inneschino molto prima rispetto all'esordio clinico al punto di rendere l'RBD un biomarcatore precoce di patologia¹⁴. Infatti, la presenza di alterazioni compatibili con la presenza di α -sinucleina ha portato alcuni autori a considerare l'iRBD come una α -sinucleinopatia incipiente¹⁵.

1.2 Epidemiologia

I dati circa la prevalenza dell'iRBD nella popolazione sono limitati. Infatti, per la diagnosi di certezza è necessaria la conferma con video-polisonnografia (vPSG), che è un esame dispendioso in termini di tempo e di costi e peraltro non disponibile in tutti i centri¹⁶⁻²⁰. Oltre a questo, spesso i pazienti non riconoscono il proprio disturbo risultando negativi ai test di screening per RBD.² Con la sola valutazione clinica la prevalenza è del 3-10% mentre dati più precisi con vPSG di supporto dimostrano una prevalenza di circa 1% nella popolazione over 60¹⁶⁻²¹. La prevalenza dell'RBD secondario dipende da quella del disordine primitivo alla base: il 30-50% dei pazienti con PD hanno RBD, più del 70% dei casi di DLB e MSA^{22,23} e fino al 50% dei pazienti con narcolessia tipo 1 hanno RBD o RSWA^{24,25}.

L'IRBD esordisce intorno alla quinta o sesta decade di vita, al contrario dei casi di narcolessia tipo 1 e delle forme associate all'utilizzo di antidepressivi che hanno generalmente una più bassa età di esordio^{26,27}. Il sesso ha un ruolo dubbio come fattore di rischio. Infatti, se prima dei 50 anni la differenza di sesso non ha effetto sulla prevalenza di IRBD, dopo i 50 anni i maschi sono i più colpiti. Questo sembra essere un bias dovuto al fatto che gli uomini tendono a non dormire da soli, ad essere più aggressivi e per questo l'episodio risulta essere più eclatante da un punto di vista clinico²⁸.

1.3 Fisiopatologia

La fisiologica perdita del tono muscolare nella fase REM del sonno dipende da due meccanismi: il primo consiste nella riduzione della stimolazione dei neuroni serotonergici ai nuclei dei nervi cranici e da qui ai motoneuroni spinali, ottenendo così una progressiva riduzione del tono muscolare dalla fase iniziale del sonno NREM a quella più profonda, fino al sonno REM. Il secondo meccanismo induce attivamente l'atonìa muscolare: il nucleo sublaterodorsale tegmentale pontino (SLD), posto ventralmente al locus coeruleus, proietta ai neuroni GABAergici e glicinerici della formazione reticolare bulbare (come il nucleo magno del rafe, nucleo ventrale gigantocellulare, nucleo α gigantocellulare e laterale paragigantocellulare) a loro volta collegati ai motoneuroni spinali. Durante la fase REM l'input GABAergico al SLD viene bloccato e come risultato si ha una iperpolarizzazione dei motoneuroni spinali e quindi atonia muscolare²⁹⁻³¹. I ruoli del tegmento pontino dorsale e del midollo ventrale nell'insorgenza dei sintomi dell'RBD sono supportati da diverse evidenze:

- Nel modello felino la lesione di queste regioni comporta RSWA³²;
- Il modello transgenico con deficit di glicina e GABA sviluppa RSWA³³;

- Lesioni infiammatorie o vascolari in queste sedi conducono ai sintomi dell'RBD³⁴;
- Studi post-mortem su pazienti con RBD dimostrano la deposizione dei corpi di Lewy a livello del locus coeruleus/subcoeruleus³⁵.

L'eventuale partecipazione di altre strutture è ancora in fase di studio: dal momento che la maggior parte dei movimenti sono violenti e rispecchiano un tentativo di difesa da parte del paziente nei confronti di una minaccia è stato suggerito che derivino dall'attivazione di generatori arcaici di pattern di movimento complessi a livello del tronco encefalico. A supporto di ciò la stimolazione di queste aree in ratti e scimmie producono gli stessi movimenti³⁶.

Si ritiene inoltre che l'attivazione motoria corticale in assenza di inibizione tonica possa avere un ruolo centrale nella generazione di questi movimenti patologici. Infatti, i pazienti con RBD sono in grado di eseguire movimenti complessi durante gli episodi come cantare, fumare, gesticolare o esporre lunghi discorsi³⁷. La maggior parte di questi comportamenti dipende dal contesto sociale e culturale del paziente e ciò esclude la possibilità che derivino da generatori di pattern³⁸. Anche la corteccia limbica potrebbe rivestire un ruolo importante (confermato dall'attivazione di aree come la corteccia entorinale mediale, il cingolato anteriore, la corteccia retrosplenica e il giro dentato) ed è quindi possibile che queste aree attivate portino all'eccitazione delle aree motorie in risposta all'attività onirica². Infine, si pensa che i circuiti dei gangli basali siano bypassati perché i pazienti con RBD e malattia di Parkinson non dimostrano bradicinesia e rigidità durante gli episodi³⁷.

1.4 Diagnosi

La International Classification of Sleep Disorders (ICSD-3) ha decretato come criteri diagnostici:

- Una storia positiva per sogni agitati ricorrenti associati a vocalizzazioni e/o movimenti complessi;
- I movimenti sono ascrivibili alla fase REM del sonno tramite indagine videopolisonnografica o basandosi sulla storia clinica del paziente;
- Evidenza di RSWA alla PSG;
- Il disturbo non è meglio spiegato da altri disturbi del sonno, disturbi psichiatrici, abuso di sostanze o di farmaci ³⁹.

Il motivo per cui di solito viene richiesto un consulto medico è dovuto ai traumi riportati dal paziente o dal compagno di letto in seguito all'episodio (più frequentemente ecchimosi e lacerazioni mentre ematomi, anche subdurali, e fratture sono più rari)^{1,40}. La sola evidenza clinica non è generalmente sufficiente per porre diagnosi (si parla di RBD probabile o "clinico") sia perché si tratta di pazienti dormienti che potrebbero non essere consapevoli del proprio disturbo sia perché è possibile confondersi con altri disturbi. La diagnosi differenziale comprende parasonnie del sonno NREM (sonnambulismo e pavor notturno), crisi epilettiche sonno-relate, micro-risvegli notturni nei pazienti con apnee del sonno (OSAS) o il disturbo da movimenti periodici degli arti (Periodic Limb Movement Disorder, PLMD)^{2,41-43}.

Per ottenere una diagnosi certa è necessaria la vPSG che documenti la presenza di tono muscolare eccessivo (RSWA) e/o l'eccesso di contrazione muscolare durante la fase REM del sonno tramite indagine elettromiografica, come indicato da ICSD-3. I muscoli più

indicativi per la registrazione sono il mentoniero e i flessori superficiali delle dita (FDS). Dal momento che RSWA rimane stabile tra una notte e l'altra, una singola registrazione vPSG è adeguata per fare diagnosi di RBD, al contrario del singolo episodio di RBD⁴⁴. Tutte le altre caratteristiche del sonno REM come latenza, durata, densità, periodicità e ciclicità REM-NREM di solito si preservano. Può essere presente RSWA senza una storia clinica di RBD registrate con la vPSG, in particolare è più frequente tra i pazienti più anziani, quelli in regime antidepressivo o con PD. Per quanto la letteratura sia meno chiara al riguardo si pensa rappresenti una fase precoce di RBD e quindi un fattore di rischio di neurodegenerazione^{45,46}.

1.5 Etica di comunicazione della diagnosi

Comunicare la diagnosi di RBD è un momento critico per il medico perché significa rivelare il rischio di neurodegenerazione e questo può influenzare il paziente da un punto di vista psicologico così come nella vita di tutti i giorni (pianificare il futuro, mantenere uno stile di vita sano). È anche vero che la diagnosi dà la possibilità di mettere in atto tutte quelle strategie terapeutiche che possono modificare il decorso di patologia, ma l'assenza ad oggi di trattamenti neuroprotettivi nelle α -sinucleinopatie indebolisce questo punto di vista. Per questo quanto comunicare al paziente è oggetto di dibattito, è importante chiedere al paziente quanto dettagliatamente voglia essere informato e tenere in considerazione la sua personalità, il livello di educazione, eventuali comorbidità ed il tipo di rapporto stabilito nel tempo tra medico e paziente¹¹.

2. RBD e α -sinucleinopatie

2.1 Aspetti generali

Se seguiti abbastanza a lungo nel tempo, la maggior parte dei pazienti con iRBD converte in α -sinucleinopatie (PD, DLB, MSA). Questo rende l'iRBD il marker più specifico e precoce rispetto a qualsiasi altro come anosmia, stipsi o ipotensione ortostatica^{47,48}. In particolare la RSWA è il più precoce e, grazie a dei validati sistemi di scoring, ne è possibile stratificare l'entità: RSWA di intensità maggiore correla con una più rapida progressione verso la fenocconversione⁴⁷.

Nel primo di diversi studi sulla latenza di fenocconversione si è dimostrato che il 38% dei pazienti abbia sviluppato parkinsonismo o demenza con un intervallo medio di circa 4 anni dalla diagnosi di iRBD, che diventa l'81% a 14 anni, e di circa 13 anni rispetto all'esordio del disturbo⁴⁹. Questo dato (del 1996) è stato confermato dieci anni più tardi da un altro studio secondo il quale nel 45% dei pazienti con iRBD l'intervallo medio dalla diagnosi è di 5 anni, dall'esordio di 11 e a 14 anni dalla diagnosi il 91% dei pazienti è fenocconvertito⁵⁰. In tutti questi casi, circa la metà dei pazienti convertiti sviluppa PD, poco meno della metà DLB e solo una percentuale ristretta MSA.

In ultimo, è stato condotto dall'International RBD Study Group uno studio osservazionale in cui sono stati analizzati i dati, provenienti da 24 centri diversi, riguardanti 1280 pazienti con iRBD confermato da vPSG; di questi il 28% ha convertito in un intervallo medio di tempo dalla diagnosi di $4,6 \pm 3,5$ anni, il 73.5% a 12 anni, con un rischio di fenocconversione del 6,25% annuo⁵¹.

L'ampia finestra temporale prima della fenocconversione consente di mantenere in osservazione il paziente, studiarne il cambiamento di segni e sintomi ma soprattutto potrebbe

permettere di intervenire con farmaci neuroprotettivi e che modifichino il decorso di patologia¹¹. Ad oggi i farmaci neuroprotettivi non sono disponibili, il paziente con iRBD è però il candidato ideale da sottoporre ai trials farmacologici sia perché si trova in una fase molto precoce di malattia sia perché non ci sono fattori confondenti derivanti dall'assunzione dei trattamenti sintomatici per PD e DLB¹¹. È anche vero però che i trials farmacologici non durano più di 10 anni mentre la latenza di fenocconversione in un paziente con iRBD può essere più lunga, per questo è utile analizzare gli altri biomarcatori in grado di predire la fenocconversione nel breve termine in questo gruppo di pazienti⁵².

2.2 Biomarcatori di fenocconversione

Numerosi biomarcatori delle α -sinucleinopatie precedono l'esordio anche di cinque o più anni, molti di questi perdurano anche una volta che si manifesta la malattia e dipendono da un interessamento precoce sia a livello centrale che periferico e sono rappresentati soprattutto da disturbi olfattivi, enterici (scarsa motilità, stipsi), disautonomici (ipotensione ortostatica), ansietà, depressione e deficit cognitivo lieve (MCI, Mild Cognitive Impairment). Comprendere quali tra questi siano più correlati a PD, DLB o MSA sarebbe molto utile per intervenire precocemente sul processo degenerativo. Tuttavia, nessuno è sufficientemente specifico da giustificare questo approccio terapeutico: il biomarker ideale deve infatti essere adeguatamente sensibile e specifico, riproducibile, subito disponibile, poco costoso e le cui variazioni rispecchino la responsività ad una terapia⁴⁷.

Tra tutti, il disturbo comportamentale del sonno REM si è rivelato quello più precoce e specifico. Tuttavia, la latenza di conversione è variabile (da qualche anno fino a decenni) e da solo non permette di capire il fenotipo finale della α -sinucleinopatia⁴⁷.

Secondo lo studio osservazionale condotto dall' International RBD Study Group nel 2019 prima menzionato, tra i biomarcatori analizzati quelli che predicono meglio la fenocconversione risultano: test motori (UPDRS 3 con Hazard Ratio (HR)=3,03, Quantitative Motor Testing con HR=3,16), test cognitivi (in particolare, MCI evidenziato con test neuropsicologici approfonditi, HR=2,37), disfunzione erettile come segno di disautonomia (HR= 2,13) e l'ipo/anosmia (HR=2,62)⁵¹.

Anche l'alterata discriminazione dei colori è correlata ad un maggior rischio di fenocconversione, il meccanismo alla base è ad oggi poco conosciuto e, per quanto sia un aspetto semplice da studiare sul paziente, poco sfruttato. Tra i biomarkers più innovativi l'analisi del liquido cefalo-rachidiano è risultata essere una tecnica estremamente sensibile per identificare l' α -sinucleina patologica. Lo stesso si può dire per la ricerca di α -sinucleina fosforilata a livello tissutale tramite biopsia, questa infatti non si deposita soltanto a livello della via nigro-striatale ma anche a livello di tessuti periferici come la mucosa intestinale, le ghiandole salivari e i nervi del sistema nervoso autonomo e risulta perciò più facile da studiare. Più recentemente è stata proposta la biopsia di cute come metodica meno invasiva, costosa e più semplice nello svolgimento⁴⁷.

È da sottolineare come nessun biomarcatore permetta di escludere la fenocconversione: molti pazienti risultati negativi ai test hanno comunque sviluppato parkinsonismo o demenza e questo conferma ancora una volta il ruolo dell'iRBD come marcatore affidabile di sinucleinopatia.

3. Alterazione della ^{123}I -FP-CIT SPECT nel paziente con iRBD

La tomografia computerizzata a emissione di fotoni singoli (Single Photon Emission Computed Tomography, SPECT) è un'indagine scintigrafica funzionale che può essere sfruttata per studiare la attività neurotrasmettitoriale e, in quanto tale, permette di evidenziare il processo neurodegenerativo in una fase pre-clinica/prodromica di malattia⁵³. Il radio-tracciante più utilizzato è ^{123}I -*N*- ω -fluoropropyl-2 β -carbomethoxy-3 β -(4-iodophenyl)-nortropane (^{123}I -FP-CIT), un analogo della cocaina che si lega con rapidità ed elevata affinità al trasportatore della dopamina (DAT) localizzato a livello del terminale pre-sinaptico e coinvolto nel re-uptake della dopamina⁵⁴.

Dal momento che una riduzione del legame alla DAT-SPECT correla con una riduzione dei livelli di dopamina, tale metodica permette di evidenziare indirettamente l'alterazione della via dopaminergica nigro-striatale⁵⁵. È stato infatti osservato sia nella PD che nella DLB una riduzione della captazione di ^{123}I -FP-CIT. In particolare, nei pazienti con PD il legame è significativamente inferiore e asimmetrico bilateralmente ai putamen posteriori rispetto ai pazienti con DLB, al contrario in questi ultimi si evidenzia una minore captazione a livello del nucleo caudato e minor asimmetria di legame. Infatti, il rapporto tra la captazione a livello del caudato e al putamen risulta essere aumentato nei pazienti con PD rispetto alla popolazione sana mentre risulta invariato nel paziente con DLB^{56,57}. Questo spiega le differenze cliniche tra le due condizioni: è stato evidenziato che la perdita della connessione tra sostanza nera e nucleo caudato influenzi maggiormente le capacità cognitive (richiamo alla DLB) mentre la compromissione della via nigro-putaminale sia responsabile principalmente del quadro motorio tipico della malattia di Parkinson⁵⁸.

Per quanto riguarda l'iRBD, molti studi hanno dimostrato una progressiva riduzione della captazione del tracciante per il DAT dai controlli sani ai pazienti con iRBD fino a quelli con PD⁵⁹⁻⁶². È stato dimostrato inoltre che la deafferentazione dopaminergica nigro-striatale nei pazienti con iRBD progredisca nel tempo a causa del progressivo deficit della sostanza nera in questi soggetti⁶³.

Di recente uno studio internazionale multicentrico ha studiato, in 344 pazienti con iRBD e 256 controlli, il valore della ¹²³I-FP-CIT SPECT associata ai fattori di rischio clinici nel prevedere la fenocconversione in α -sinucleinopatie conclamate. I risultati dimostrano che i fattori di rischio che meglio predicono la fenocconversione siano la combinazione tra la riduzione della captazione a livello putaminale nell'emisfero più colpito alla ¹²³I-FP-CIT SPECT, la stipsi e l'età superiore ai 70 anni (HR 5,71). Inoltre, gli autori hanno cercato di capire se fosse possibile distinguere i futuri pazienti DLB da quelli che avrebbero sviluppato PD: un punteggio maggiore al Mini Mental State Examination (MMSE) e una minore asimmetria di captazione di ¹²³I-FP-CIT a livello dei caudati si è associata ad un maggior rischio di sviluppare PD mentre pazienti con il risultato opposto è più probabile evolvano verso DLB. Tale risultato è coerente con quello degli studi precedentemente menzionati sulle fasi conclamate di PD e DLB⁵².

Nello studio osservazionale condotto nel 2019 dall'International RBD Study Group la DAT-SPECT venne studiata come marcatore di fenocconversione, l'analisi delle immagini era puramente visiva e il risultato poteva quindi essere solo dicotomico, "alterato" o "non alterato". In questo studio appena menzionato del 2021 si propone una analisi computerizzata delle immagini: la semi-quantificazione dell'immagine tramite un software dedicato consente così di ottenere una analisi più precisa e oggettiva rispetto al solo dato visivo puramente soggettivo^{51,52}.

4. Il progetto FARPRESTO

Sebbene siano già stati identificati diversi markers di fenocconversione, nella maggior parte dei casi sono stati studiati singolarmente, mediante studi retrospettivi, su piccole coorti di pazienti e senza utilizzare, nel caso degli studi multicentrici, metodi standardizzati di raccolta dei dati⁴⁷.

Lo studio italiano FARPRESTO (“risk FActors PREdictive of phenoconversion in idiopathic REM sleep behavior disorder: the Italian Study”) è uno studio multicentrico osservazionale con una coorte di pazienti con iRBD reclutati sia retrospettivamente che prospetticamente nel quale i dati retrospettivi sono ricavati da ciò che il paziente comunica in anamnesi mentre quelli prospettici sono quelli raccolti al baseline e al follow-up annuale. La novità è stata quella di imporre un set minimo di dati standardizzati come criterio di inclusione obbligatorio per poter entrare a fare parte di questo studio. In questo modo viene garantita l’affidabilità delle analisi effettuate. I dati vengono raccolti fino a un massimo di 10 anni dal baseline mentre non c’è un limite per quelli retrospettivi a patto che rispettino il dataset minimo⁶⁴.

L’obiettivo principale dello studio FARPRESTO è quello di stratificare il rischio di fenocconversione di un’ampia coorte di pazienti italiani tramite la raccolta sistematica e standardizzata dei biomarcatori (clinici, biologici, neurofisiologici, neuropsicologici e di imaging). Seguire il paziente nel tempo permette di descrivere le possibili traiettorie di progressione della malattia verso determinati fenotipi e di studiare quali siano i fattori che vi si associano. È prevista inoltre la raccolta di informazioni riguardanti la qualità di vita del paziente, il suo umore e l’alterazione di specifici domini cognitivi: questi, associati agli altri dati, consentono di caratterizzare meglio il fenotipo clinico del paziente e di creare un

progetto di cura quanto più personalizzato possibile. Stratificare il rischio di fenocconversione e fenotipizzare il paziente non è utile solo per il medico ma anche per il paziente e alla sua famiglia permettendo loro di sapere a cosa vadano incontro. Consente inoltre di selezionare una coorte adeguata da sottoporre ai trials farmacologici neuroprotettivi e disease-modifiers.⁶⁴

In conclusione, FARPRESTO propone un approccio multidimensionale e personalizzato all'iRBD che possa essere applicato su più livelli a partire dalla clinica, passando per la ricerca fino alla gestione del paziente. In particolare, consente di delineare traiettorie più definite di progressione, personalizzare l'approccio al paziente e gli interventi sullo stesso al fine di ridurre il carico di malattia, soprattutto tramite strategie di prevenzione su misura. Infine, rappresenta *de facto* una coorte di pazienti ben seguiti nel tempo, in maniera standardizzata, che potrebbe essere prontamente arruolabile in futuri trials clinici con farmaci modificanti il decorso di malattia⁶⁴.

Obiettivo dello studio

È evidente, secondo la letteratura finora riportata, che l'iRBD sia il marcatore più specifico e precoce di fenocconversione ad alfa-sinucleinopatia conclamata, ma che da solo non consenta di prevedere né la latenza di fenocconversione né il fenotipo di conversione. È quindi opportuno studiare altri biomarcatori al fine di tracciare una traiettoria più definita. Lo studio condotto dall'International RBD Study Group nel 2019 aveva l'obiettivo di confrontare i fattori di rischio di fenocconversione su una coorte molto ampia di pazienti.⁵¹ Tra questi, l'età, i sintomi motori, l'iposmia, l'MCI, la disfunzione erettile, la stipsi, le alterazioni alla DAT-SPECT, l'RSWA e l'alterazione della percezione dei colori aumentano il rischio di fenocconversione al follow-up.⁵¹

L'obiettivo di questo studio è di analizzare il rischio e i biomarcatori di fenocconversione in α -sinucleinopatie nella coorte di pazienti del gruppo FARPRESTO e confrontare il risultato ottenuto con quello proposto dall'International RBD Study Group nel 2019. Il secondo obiettivo è quello di valutare se l'analisi semi-quantitativa standardizzata delle immagini DAT-SPECT possa rappresentare un buon predittore di fenocconversione. Infine, essendo uno studio longitudinale, ancora in corso, di fatto il progetto FARPRESTO rappresenta una coorte di soggetti 'trial-ready' per un eventuale trial farmacologico modificante il decorso di malattia per le alfa-sinucleinopatie.

Materiali e metodi

1. Pazienti

A Marzo 2022 sono stati arruolati nel progetto FARPRESTO pazienti con iRBD da nove centri italiani: Bologna (due centri), Cagliari, Genova, Milano, Pavia, Pisa, Roma e Roma Tor Vergata. Si tratta di 289 pazienti con una età media di 67.7 ± 7.3 anni, 237 dei quali di genere maschile, e con un follow-up minimo di 6 mesi (follow-up medio di 40 ± 37 mesi).

La valutazione del paziente è articolata su più livelli a complessità variabile e, per garantire una migliore qualità e affidabilità dei dati raccolti, è richiesto un set minimo di dati clinici per entrare a far parte dello studio (sociodemografici, clinici, neurofisiologici, neuropsicologici, di imaging e laboratoristici). I dati prospettici sono collezionati fino a 10 anni dal baseline mentre non c'è alcun limite per i dati retrospettivi purché rispettino i criteri di inclusione previsti dal protocollo. I dati sono riportati nella **Tabella 1**. Data e luogo di nascita, sesso, codice alfanumerico di sicurezza personale, stato civile, anamnesi familiare positiva per demenza, disordini del movimento o disturbi del sonno, anamnesi patologica remota e prossima, anamnesi farmacologica, fumo, consumo di alcol, eventuale esposizione a sostanze tossiche, attività fisica e contenuto onirico prevalente sono i dati sociodemografici/clinici obbligatori al baseline. Opzionali il livello di istruzione (espresso in anni), il tipo di lavoro, data di esordio dell'RBD, eventuali lesioni riportate dal paziente o dal compagno di letto (numero, tipo, gravità).

Tra i test diagnostici indispensabili: data di diagnosi di RBD nel rispetto dei criteri internazionali ICSD-2 o ICSD-3, valutazione motoria tramite Unified Parkinson's Rating Scale Part III (UPDRS-III) o Movement Disorders Society – Unified Parkinson's Rating Scale Part III (MDS-UPDRS-III), valutazione cognitiva globale tramite MMSE o Montreal

Cognitive Assesment (MoCA) e TC o RMN (specificando la data) con il file nel formato Digital Imaging and Communications in Medicine (DICOM) al fine di escludere alterazioni strutturali encefaliche. Sono opzionali i file della vPSG nel formato European Data Format (EDF), quello dell'ipnogramma nel formato American Standard Code for Information Interchange (ASCII) e la quantificazione dell'RSWA secondo metodiche di scoring come quella di Montreal e/o quello di SINBAR e/o il REM Atonia Index (RAI).

L'inquadramento del paziente ad ogni visita è strutturato su tre livelli:

- Al primo livello vengono analizzati i sintomi non motori tra cui stipsi, iposmia, disfunzione erettile, incontinenza urinari, ipotensione ortostatica, la presenza di depressione secondo le scale Beck Depression Inventory (BDI) o Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS), qualità di vita e del sonno.
- Al secondo livello vengono raccolti i dati neuropsicologici del paziente, specificando la data dell'esame e la presenza o meno di MCI, e il referto della DAT-SPECT con [123]I-FP-CIT, acquisita secondo le linee guida dell'European Association of Nuclear's Medicine (EANM)⁶⁵. Le immagini DAT-SPECT sono classificate in 5 pattern:
 - I. Normale;
 - II. Alterazione putaminale unilaterale;
 - III. Alterazione putaminale bilaterale;
 - IV. Alterazione diffusa
 - V. Pattern atipico (diverso rispetto a quelli proposti)
- Infine, il terzo livello di valutazione comprende dati strumentali e di laboratorio: tra questi, la biopsia di cute tramite punch-biopsy agli arti inferiori o in regione cervicale per studiare i depositi di α -sinucleina fosforilata, l'analisi tramite tecnica ELISA su

saliva per la ricerca di α -sinucleina fosforilata e i test genetici alla ricerca dei geni associati a PD e alle altre α -sinucleinopatie. Tra le indagini strumentali, la pupillometria consente di valutare le alterazioni del diametro pupillare in relazione alla stimolazione luminosa e la Tomografia Ottica Computerizzata (OCT) consente la ricostruzione tridimensionale dello spessore del nervo ottico.

Il follow-up del paziente è previsto almeno una volta ogni 12 mesi e ad ogni visita i dati sociodemografici, clinici, neuropsicologici, laboratoristici e di neuroimaging vengono aggiornati. In particolare, è da indicare l'eventuale fenocconversione in PD, DLB, MSA secondo i criteri diagnostici in vigore⁶⁶⁻⁶⁸. In caso di decesso del paziente sono da indicare la data e il motivo del decesso. I pazienti vengono così distinti tra non-convertiti e convertiti e questi a loro volta, in base al fenotipo di conversione, tra PD-convertiti, DLB-convertiti e MSA-convertiti, secondo i criteri diagnostici correnti.

Tutte le indagini sono state effettuate in accordo con i principi etici previsti dalla commissione di ricerca istituzionale e/o nazionale, con i precetti della dichiarazione di Helsinki del 1964 e con gli emendamenti di più recente introduzione o con standard etici comparabili. Il consenso informato è stato ottenuto da tutti i pazienti partecipanti allo studio⁶⁴.

TABELLA 1: inquadramento del paziente secondo il protocollo FARPRESTO

DATI		Obbligatori	Prima visita	Follow-up
<u>Sociodemografici</u>	Data e luogo di nascita	X	X	
	Codice alfanumerico di sicurezza personale	X	X	
	Sesso	X	X	
	Stato civile	X	X	
	Anni di istruzione		X	
	Lavoro		X	
<u>Informazioni preliminari</u>	Anamnesi patologica remota e prossima	X	X	X
	Anamnesi familiare	X	X	X
	Anamnesi farmacologica	X	X	X
	Alcol e fumo	X	X	X
	Attività fisica	X	X	X
	Contenuto onirico prevalente	X	X	X
	Lesioni associate all'RBD		X	X
<u>Test diagnostici</u>	Diagnosi di RBD (ICSD-2, ICSD-3)	X	X	
	UPDRS-III/MDS-UPDRS-III	X	X	X
	MMSE/MoCA	X	X	X
	Neuroimaging (TC/RMN)	X	X	
<u>Outcome di patologia</u>	Data e fenotipo di fenocconversione			X
	Decesso (data e causa)			X
<u>I livello</u>	Esordio RBD		X	
	vPSG in formato EDF		X	
	Quantificazione RSWA secondo Montreal, SINBAR o RAI		X	
	Iposmia		X	X
	Stipsi		X	X
	Incontinenza urinaria		X	X
	Disfunzione erettile		X	X
	Ipotensione ortostatica		X	X
	Depressione (BDI/HADS)		X	X
	Allucinazioni	X	X	X
	Qualità della vita (questionario EQ5D)		X	X
	Qualità del sonno (questionario PSQI)		X	X
<u>II livello</u>	Test neuropsicologici		X	X
	DAT-SPECT		X	X
<u>III livello</u>	Biopsia di cute		X	X
	α -sinucleina salivare		X	X
	Pupillometria		X	X
	OCT		X	X
	Test genetici		X	X

Legenda: MDS-UPDRS-III, (Movement Disorders Society) Unified Parkinson's Disease Rating Scale Part III; MMSE, Mini-Mental State Examination; MoCA, Montreal Cognitive Assessment; RMN, Risonanza Magnetica Nucleare; TC, Tomografia Computerizzata; PSG EDF, Polisomnography European Data Format file; RSWA, REM sleep without atonia; EQ5D, EuroQol Group's quality of life questionnaire; PSQI, Pittsburgh sleep quality index; OCT, Tomografia a Coerenza Ottica.

2. Analisi statistica

I dati sociodemografici, clinici e DAT-SPECT al baseline sono stati confrontati tramite analisi Receiver Operating Characteristic (ROC) tra i non-convertiti ed i convertiti e tra i DLB-convertiti ed i PD-convertiti (gli MSA-convertiti sono stati esclusi dall'analisi perché pochi di numero). L'indice di Youden è stato applicato per identificare il valore soglia ottimale che distingue più correttamente i gruppi tra loro⁶⁵.

Per determinare il potere predittivo di fenocconversione di ogni variabile è stata effettuata l'analisi di sopravvivenza secondo Kaplan Meier ed è stato calcolato l'Hazard Ratio di ogni variabile secondo l'analisi di regressione di Cox. Il tempo di sopravvivenza è stato considerato come il tempo, espresso in mesi, dalla data della prima visita a quella dell'ultima visita di follow-up per i non-convertiti, e per i convertiti a quella di conversione nell' α -sinucleinopatia. Età, sesso e centro di appartenenza sono stati utilizzati come covariate nella analisi.

Le analisi statistiche sono state effettuate utilizzando il software Stata (StataCorp. 2013. Stata Statistical Software Release 13. College Station, TC: StataCorp LP).

Risultati

A Marzo 2022 sono stati arruolati 365 pazienti con iRBD nel progetto FARPRESTO, 97 di questi (33.6%) è fenocconvertito con un intervallo medio di fenocconversione di 43.8 ± 37.8 mesi: 56 in malattia di Parkinson (57.7%), 36 in demenza a corpi di Lewy (37.1%) e 5 in atrofia multisistemica (5.2%).

I dati clinici, demografici e della DAT-SPECT sono stati messi a confronto tra i convertiti e i non convertiti nella **Tabella 2**. I fattori di rischio di fenocconversione clinici statisticamente rilevanti sono l'età avanzata, il punteggio secondo la scala MDS-UPDRS-III, la presenza di Mild Cognitive Impairment, la stipsi, la disfunzione urinaria ed erettile e la depressione.

136 pazienti (68.6 ± 7.2 anni, 108 maschi) sono stati sottoposti ad indagine DAT-SPECT. Il pattern 1, ovvero la presenza di un'alterazione putaminale unilaterale, non ha raggiunto la significatività statistica. Al contrario i pattern 2 e 3 sono risultati statisticamente significativi. Il pattern 3 in particolare con un HR = 11.66 (3.85-35.28, **tabella 2**). Mettendo a confronto i pazienti convertiti in PD e quelli in DLB non sono state ritrovate differenze statisticamente significative.

Nella **Figura 1** sono raffigurate le curve di sopravvivenza di Kaplan-Meier di ognuna delle variabili cliniche analizzate mentre nella **Figura 2** sono proposte le curve di sopravvivenza di Kaplan-Meier della DAT-SPECT. In quest'ultimo caso si pongono a confronto due curve: nel primo caso è proposta una mera analisi visiva delle immagini che consente perciò un risultato dicotomico "anormale" o "normale". Nel secondo caso viene mostrata l'analisi semi-quantitativa delle immagini, ovvero la distinzione nei tre patterns di anormalità.

TABELLA 2: biomarcatori clinici, demografici e [¹²³I]-FP-CIT-SPECT. I dati vengono riportati come media ± deviazione standard. Nell'ultima colonna sono indicati Hazard Ratio (HR) e intervallo di confidenza (CI). I valori statisticamente significative sono riportati in grassetto.

Variabili	Convertiti n=97	Non-convertiti n=192	Hazard Ratio (HR) normalizzato per età, sesso e centro di provenienza (95% CI)
Età, anni	68.79±6.5 (n=97)	67.21±7.6 (n=192)	1.07 (1.03-1.10)
Sesso, maschile	81.6 % (n=97)	82.3 % (n=192)	1.17 (0.69-2.00)
Educazione, anni	10.41±4.0 (n=66)	9.96±4.2 (n=144)	1.02 (0.96-1.09)
Durata sintomi RBD, mesi	60.00±64.9 (n=58)	66.50±56.5 (n=164)	1.01 (0.58-1.77)
MDS-UPDRS-III	3.74±4.4 (n=97)	1.70±2.5 (n=192)	2.26 (1.48-3.46)
MMSE	27.06±2.8 (n=97)	28.01±2.2 (n=192)	1.14 (0.74-1.75)
MCI	43.9 % (n=41)	26.98 % (n=126)	1.97 (1.02-3.79)
PSQI	10.25±2.9 (n=4)	6.36±2.9 (n=45)	12.87 (0.78-212.01)
Fumo	15.7 % (n=70)	30.4 % (n=138)	0.73 (0.38-1.42)
Assunzione regolare alcol ^a	36.1 % (n=61)	45.1 % (n=122)	0.75 (0.44-1.29)
Esposizione a sostanze tossiche	6.3 % (n=48)	4.7 % (n=107)	0.65 (0.20-2.19)
Storia familiare di demenza/parkinsonismo	25.0 % (n=72)	15.97 % (n=144)	1.02 (0.60-1.76)
Attività fisica regolare	8.3 % (n=24)	29.4 % (n=68)	0.39 (0.09-1.71)
Lesioni RBD-correlate	57.4 % (n=68)	66.7 % (n=138)	0.69 (0.41-1.14)
Iposmia	40.8 % (n=49)	48.3 % (n=145)	1.40 (0.76-2.59)
Stipsi	55.8 % (n=52)	33.8 % (n=151)	2.46 (1.38-4.40)
Disfunzione urinaria	36.7 % (n=30)	16.5 % (n=109)	3.39 (1.55-7.40)
Disfunzione erettile	35.7 % (n=14)	19.7 % (n=71)	3.56 (1.02-12.48)
Ipotensione ortostatica	19.6 % (n=51)	17.6 % (n=148)	1.63 (0.78-3.42)
Depressione	57.1 % (n=28)	23.4 % (n=94)	2.20 (1.01-4.82)
Allucinazioni visive	3.7 % (n=27)	1 % (n=96)	7.21 (0.76-68.39)
[¹²³I]-FP-CIT-SPECT, anormale	63.4 % (n=41)	41.1 % (n=95)	3.49 (1.74-7.00)
- Alterazione putaminale unilaterale	12.2 %	23.2 %	1.85 (0.65-5.32)
- Alterazione putaminale bilaterale	39.0 %	14.7 %	3.72 (1.72-8.06)
- Alterazione diffusa	12.2 %	3.2 %	11.66 (3.85-35.28)

Legenda: CI: intervallo di confidenza, HR: Hazard Ratio, [¹²³I]-FP-CIT-SPECT: 123-radiolabeled 2β-carbomethoxy-3β-(4-iodophenyl)-N-(3-fluoropropyl)-nortropane-Single Positron Emission Tomography, MCI: Mild Cognitive Impairment, MDS-UPDRS-III: Movement Disorder Society- Unified Parkinson Disease Rating Scale part III, PSQI: Pittsburg Sleep Quality Index, RBD: REM sleep Behaviour Disorder.

a. Almeno un bicchiere al giorno.

FIGURA 1: curve di sopravvivenza di Kaplan-Meier delle variabili cliniche statisticamente significative.

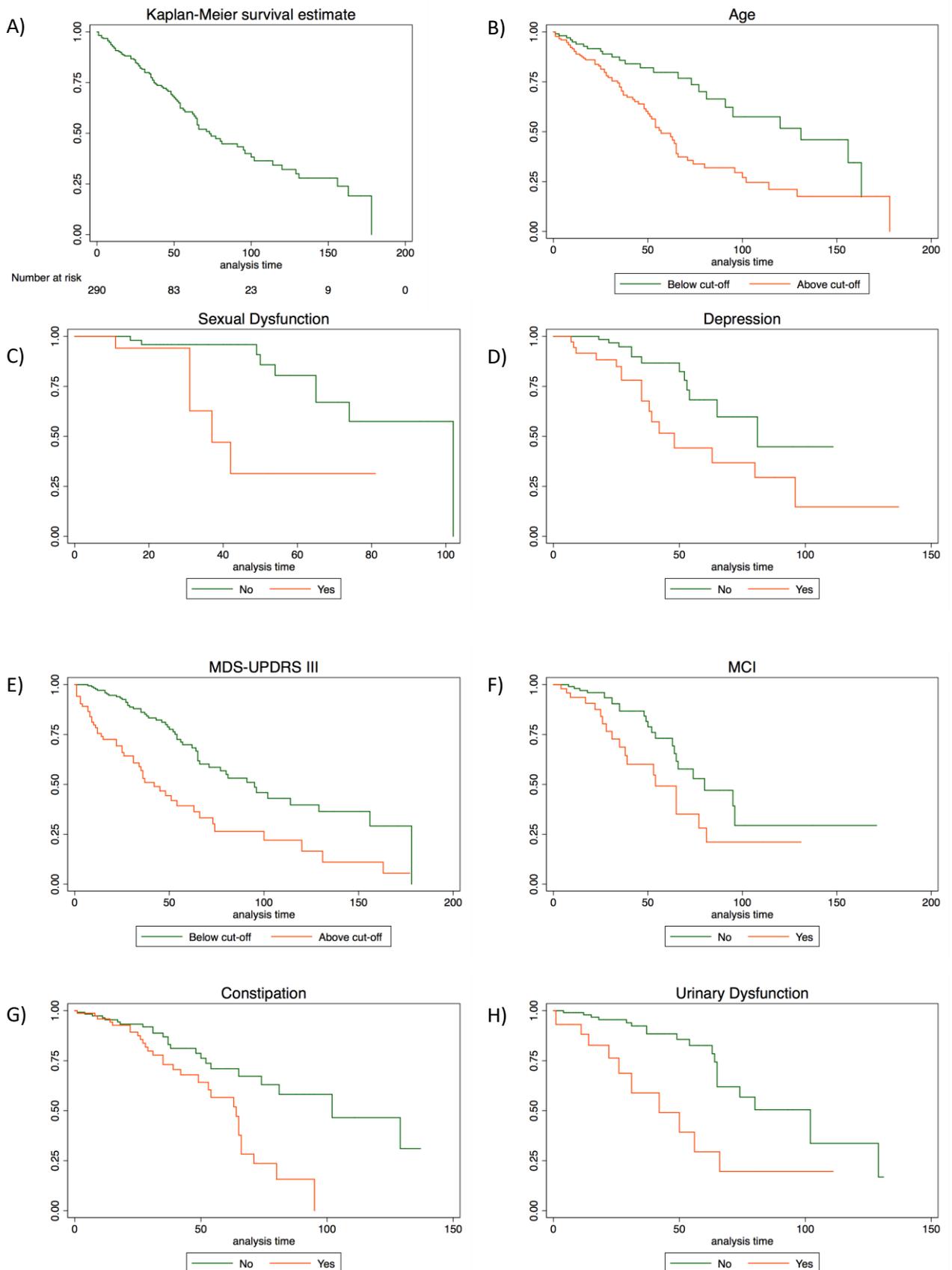
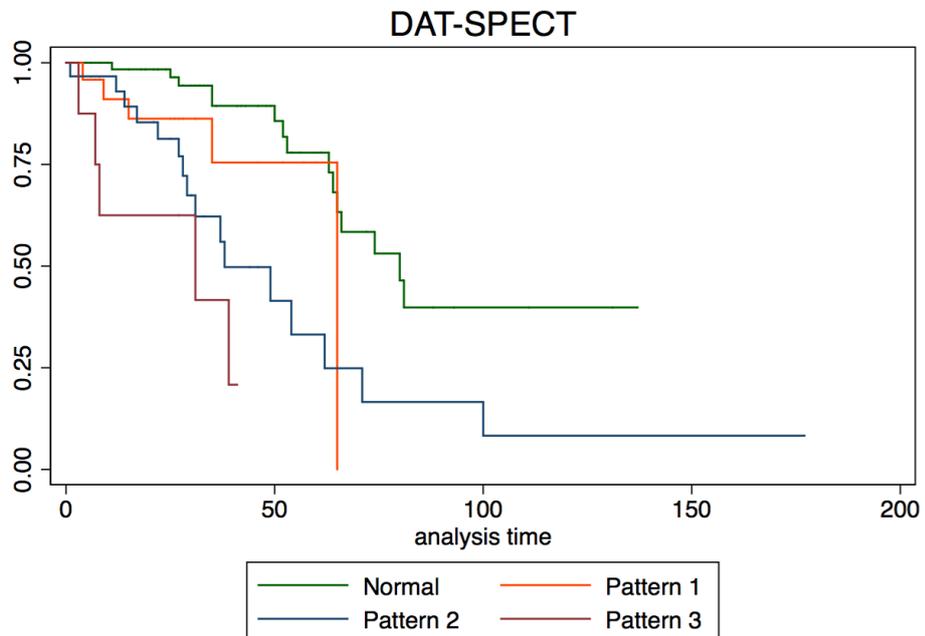
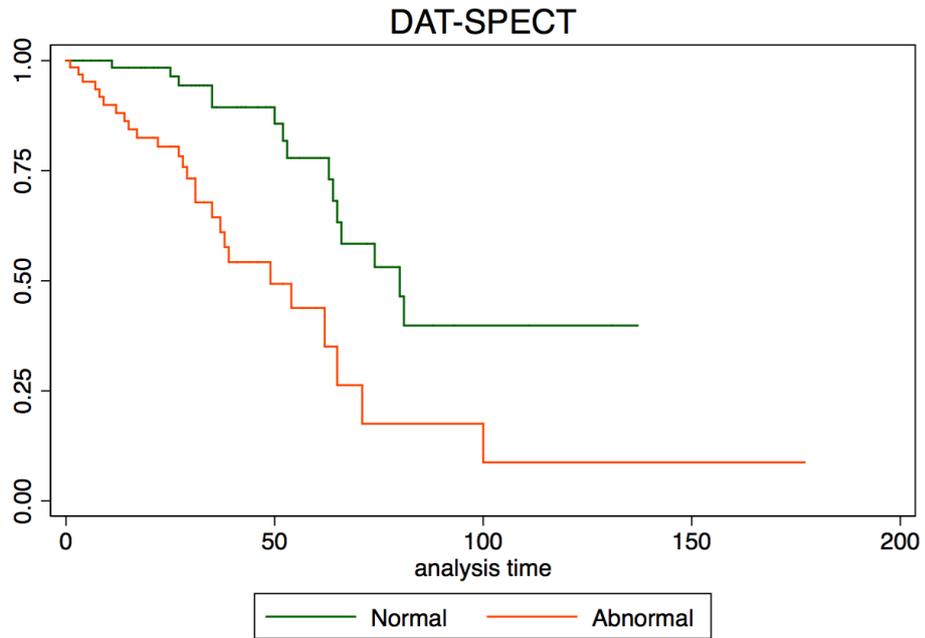


FIGURA 2: curve di sopravvivenza di Kaplan-Meier delle immagini DAT-SPECT. Nella prima curva è stata effettuata un'analisi puramente visiva delle immagini mentre nel secondo caso l'analisi visiva semi-quantitativa standardizzata consente la distinzione tra tre patterns di alterazione differenti.



Legenda: Pattern 1: alterazione putaminale unilaterale; Pattern 2: alterazione putaminale bilaterale; Pattern 3: alterazione diffusa.

Discussione

Il progetto FARPRESTO è uno studio osservazionale multicentrico su una coorte di paziente con RBD idiopatico reclutati sia retrospettivamente che prospetticamente. Si tratta di un progetto tutt'ora in corso, i risultati proposti riguardano 365 pazienti arruolati a Marzo 2022, 289 dei quali avevano almeno 6 mesi di follow-up. Tra i pazienti iRBD, 97 (33.6%) hanno sviluppato nel tempo una franca α -sinucleinopatia mentre i restanti 268 (66.4%) non hanno ancora fenocconvertito e continuano ad essere seguiti nello studio FARPRESTO. Questi ultimi, insieme ai pazienti che saranno arruolati in futuro, costituiscono una coorte di soggetti 'trial-ready', ovverosia pazienti ben fenotipizzati e pronti per eventuali trials farmacologici modificanti il decorso di patologia delle α -sinucleinopatie. Per questo motivo il protocollo FARPRESTO richiede un set minimo di dati per partecipare allo studio e di utilizzare nel follow-up metodiche standardizzate in modo tale da armonizzare il più possibile la coorte di pazienti partecipante⁶⁴. Ad oggi sono stati proposti numerosi farmaci modificanti il decorso di malattia⁶⁹ ma i trials clinici, che studiano questi farmaci nei pazienti in fase precoce di malattia di Parkinson diagnosticata, stanno attualmente fallendo nel raggiungere gli endpoints clinici e radiologici prestabiliti^{70,71}. L'oggetto del primo dei due studi menzionati è il Prasinezumab, un anticorpo monoclonale umanizzato in grado di legare gli aggregati di α -sinucleina. Nel secondo studio è stato studiato il Cinpanemab, un anticorpo monoclonale umano in grado di legare l' α -sinucleina. In nessuno dei due studi il farmaco ha dimostrato un effetto rilevante sulla progressione della malattia di Parkinson in confronto al placebo, né alle neuroimmagini né dal punto di vista clinico.

Oltre alla possibilità che ci siano degli errori metodologici di fondo, uno dei motivi alla base dell'inconclusione di questi trials potrebbe essere dovuto al fatto che questi farmaci vengano

testati in pazienti che hanno una α -sinucleinopatia franca e che quindi ormai sia troppo tardi per modificare il decorso di patologia. Perciò testare questi farmaci nella fase prodromica delle α -sinucleinopatie, proprio come nel caso dei pazienti con iRBD, potrebbe aumentare la probabilità di successo dei trials. A questo proposito uno studio “proof-of-concept” recente suggerisce come i trials farmacologici modificanti il decorso di malattia siano fattibili utilizzando il disturbo comportamentale del sonno REM idiopatico come target di popolazione e la DAT-SPECT come biomarker di progressione di malattia. Infatti, un farmaco neuroprotettivo (come la Selegilina, somministrata nello studio appena menzionato) può avere degli effetti sulla sintomatologia del paziente e quindi interferire con l’outcome clinico con il rischio di sottostimare la fenocconversione a PD o a DLB. La DAT-SPECT non risente dell’effetto sintomatico del farmaco e per questo è affidabile come biomarker di progressione di malattia. Inoltre, rispetto ai soli dati clinici, permette di ottenere tassi di fenocconversione più significativi in un intervallo minore di tempo su coorti di pazienti più piccola, tutte caratteristiche ideali per un trial farmacologico.⁷²

I risultati preliminari proposti in questo studio coincidono parzialmente con quelli descritti precedentemente dall’International RBD Study Group (IRBDSG) nello studio del 2019⁵¹. In particolare, l’età avanzata, i sintomi motori, la presenza di Mild Cognitive Impairment, la stipsi, la disfunzione erettile e l’alterazione alla DAT-SPECT aumentano sensibilmente il rischio di fenocconversione in entrambi gli studi. L’iposmia, che risultava essere un biomarker significativo nello studio dell’IRBDSG, non lo è in quello attuale. Al contrario, la disfunzione urinaria e la depressione risultano significativi in questo studio e non in quello del 2019. La dispercezione dei colori e la perdita di atonia muscolare nel sonno REM, che non sono dati obbligatori secondo il protocollo FARPRESTO, non sono stati ancora valutati nello studio attuale ma potrebbero essere studiati in futuro.

È da sottolineare come, sebbene circa la metà dei pazienti arruolati nel progetto FARPRESTO abbiano fatto parte anche dello studio condotto dall'IRBDSG⁵¹, nell'attuale studio il follow-up dei pazienti sia stato condotto per più tempo al punto da rendere i due dataset fondamentalmente differenti. Tuttavia, l'assenza dell'iposmia come predittore di fenocconversione è un risultato inaspettato e una possibile spiegazione potrebbe essere legata alla metodologia di studio: nello studio dell'IRBDSG è stata fatta una valutazione strutturata dell'iposmia⁵¹ e i test condotti erano lo University of Pennsylvania Smell Identification Test a 12 o 40 items⁷³ o gli Sniffin Sticks⁷⁴, in questo studio al contrario l'iposmia è stata valutata in modo meno organizzato potendo basarsi sia sull'utilizzo di questionari strutturati ma anche su una risposta dicotomica (si-no) data dal paziente e questo verosimilmente riduce la sensibilità della valutazione.

Un risultato nuovo ed interessante rispetto allo studio precedente riguarda la DAT-SPECT e in particolare l'analisi visiva semi-quantitativa standardizzata delle immagini. Nello studio condotto dall'International RBD Study Group è stata proposta una classificazione solo dicotomica, "alterazione"/"non alterazione" della via nigro-striatale, che risultata significativa dal punto di vista statistico ma con un Hazard Ratio inaspettatamente basso. Come è già stato menzionato in precedenza, uno studio del 2021 ha dimostrato invece come l'analisi visiva semi-quantitativa delle immagini DAT-SPECT sia uno dei fattori di rischio di fenocconversione più sensibile nei pazienti con iRBD⁵². Tuttavia effettuare questo tipo di analisi può aumentare la complessità di un trial farmacologico modificante il decorso di patologia.

In questo studio viene condotta un'analisi visiva semi-quantitativa delle immagini e per questo il potere predittivo è aumentato sensibilmente (HR=3.49) rispetto alla valutazione dicotomica proposta dall'IRBDSG nel 2019 (HR=1.98)⁵¹ ma comunque meno rispetto ai

risultati ottenuti nello studio del 2021, in cui $HR=4.35^{52}$. Pertanto, se studiato nel contesto di studi multicentrici più grandi, l'analisi semi-quantitativa delle immagini DAT-SPECT potrebbe essere considerata definitivamente un marker sensibile e precoce di fenocconversione nei pazienti con iRBD e per questo essere utilizzata nella selezione dei pazienti per i trials farmacologici modificanti il decorso di patologia.

Il limite principale di questo studio è che non tutti i pazienti presentavano tutti i biomarker, questo è legato al fatto che il protocollo FARPRESTO impone solo la valutazione motoria e neurocognitiva per l'inclusione nello studio al fine da consentire ai centri partecipanti di far arruolare quanti più pazienti possibili.

In conclusione, questo studio conferma i risultati riportati dallo studio condotto dall'IRBDSG in una coorte di paziente totalmente indipendente da quella del 2019: i sintomi motori, neurocognitivi e autonomici sono biomarcatori affidabili di fenocconversione. Inoltre, l'analisi visiva semi-quantitativa standardizzata delle immagini DAT-SPECT può essere utilizzata nei trials farmacologici modificanti il decorso di patologia.

Infine, il progetto FARPRESTO propone una coorte di pazienti "trial-ready" per futuri trials clinici condotti nella fase prodromica delle α -sinucleinopatie.

Bibliografia

1. Sateia, M. J. International classification of sleep disorders-third edition highlights and modifications. *Chest* **146**, (2014).
2. Dauvilliers, Y. *et al.* REM sleep behaviour disorder. *Nature Reviews Disease Primers* vol. 4 Preprint at <https://doi.org/10.1038/s41572-018-0016-5> (2018).
3. Olson, E. J., Boeve, B. F. & Silber, M. H. Rapid eye movement sleep behaviour disorder: Demographic, clinical and laboratory findings in 93 cases. *Brain* **123**, (2000).
4. Sforza, E., Krieger, J. & Petiau, C. REM sleep behavior disorder: Clinical and physiopathological findings. *Sleep Medicine Reviews* vol. 1 Preprint at [https://doi.org/10.1016/S1087-0792\(97\)90006-X](https://doi.org/10.1016/S1087-0792(97)90006-X) (1997).
5. Arnulf, I. REM sleep behavior disorder: Motor manifestations and pathophysiology. *Movement Disorders* vol. 27 677–689 Preprint at <https://doi.org/10.1002/mds.24957> (2012).
6. Leclair-Visonneau, L., Oudiette, D., Gaymard, B., Leu-Semenescu, S. & Arnulf, I. Do the eyes scan dream images during rapid eye movement sleep? Evidence from the rapid eye movement sleep behaviour disorder model. *Brain* **133**, (2010).
7. B., F. *et al.* Quantification of electromyographic activity during REM sleep in multiple muscles in REM sleep behavior disorder. *Sleep* **31**, (2008).
8. Oudiette, D. *et al.* A motor signature of REM sleep behavior disorder. *Movement Disorders* **27**, (2012).
9. Scaglione, C. *et al.* REM sleep behaviour disorder in Parkinson's disease: A questionnaire-based study. *Neurological Sciences* **25**, (2005).
10. Boeve, B. F. REM sleep behavior disorder: Updated review of the core features, the REM sleep behavior disorder-neurodegenerative disease association, evolving concepts, controversies, and future directions. *Annals of the New York Academy of Sciences* vol. 1184 Preprint at <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2009.05115.x> (2010).
11. Arnaldi, D., Antelmi, E., St. Louis, E. K., Postuma, R. B. & Arnulf, I. Idiopathic REM sleep behavior disorder and neurodegenerative risk: To tell or not to tell to the patient? How to minimize the risk? *Sleep Medicine Reviews* vol. 36 82–95 Preprint at <https://doi.org/10.1016/j.smr.2016.11.002> (2017).
12. Iranzo, A., Santamaria, J. & Tolosa, E. Idiopathic rapid eye movement sleep behaviour disorder: Diagnosis, management, and the need for neuroprotective interventions. *The Lancet Neurology* vol. 15 Preprint at [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(16\)00057-0](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(16)00057-0) (2016).
13. Postuma, R. B. *et al.* Quantifying the risk of neurodegenerative disease in idiopathic REM sleep behavior disorder. *Neurology* **72**, (2009).

14. Claassen, D. O. *et al.* REM sleep behavior disorder preceding other aspects of synucleinopathies by up to half a century. *Neurology* **75**, (2010).
15. Arnaldi, D. & Mattioli, P. Brain atrophy in idiopathic REM sleep behaviour disorder is a sign of incipient synucleinopathy. *Brain* **145**, 2949–2951 (2022).
16. Boot, B. P. *et al.* Probable rapid eye movement sleep behavior disorder increases risk for mild cognitive impairment and Parkinson disease: a population-based study. *Ann Neurol* **71**, 49–56 (2012).
17. Wong, J. C. *et al.* Risk factors for probable REM sleep behavior disorder: A community-based study. *Neurology* **86**, 1306–1312 (2016).
18. Ma, J. F. *et al.* A community-based study of risk factors for probable rapid eye movement sleep behavior disorder. *Sleep Med* **30**, 71–76 (2017).
19. Ma, C. *et al.* Probable REM sleep behavior disorder and risk of stroke: A prospective study. *Neurology* **88**, 1849–1855 (2017).
20. Mahlknecht, P. *et al.* Probable RBD and association with neurodegenerative disease markers: A population-based study. *Mov Disord* **30**, 1417–1421 (2015).
21. Kang, S. H. *et al.* REM sleep behavior disorder in the Korean elderly population: prevalence and clinical characteristics. *Sleep* **36**, 1147–1152 (2013).
22. Olson, E. J., Boeve, B. F. & Silber, M. H. Rapid eye movement sleep behaviour disorder: demographic, clinical and laboratory findings in 93 cases. *Brain* **123** (Pt 2), 331–339 (2000).
23. Schenck, C. H. & Mahowald, M. W. REM sleep behavior disorder: clinical, developmental, and neuroscience perspectives 16 years after its formal identification in SLEEP. *Sleep* **25**, 120–138 (2002).
24. MAYER, G. & MEIER-EWERT, K. Motor dyscontrol in sleep of narcoleptic patients (a lifelong development?). *J Sleep Res* **2**, 143–148 (1993).
25. Dauvilliers, Y. *et al.* REM sleep characteristics in narcolepsy and REM sleep behavior disorder. *Sleep* **30**, 844–849 (2007).
26. Teman, P. T., Tippmann-Peikert, M., Silber, M. H., Slocumb, N. L. & Robert Auger, R. Idiopathic rapid-eye-movement sleep disorder: associations with antidepressants, psychiatric diagnoses, and other factors, in relation to age of onset. *Sleep Med* **10**, 60–65 (2009).
27. McCarter, S. J. *et al.* Antidepressants Increase REM Sleep Muscle Tone in Patients with and without REM Sleep Behavior Disorder. *Sleep* **38**, 907–917 (2015).
28. Haba-Rubio, J. *et al.* Prevalence and determinants of rapid eye movement sleep behavior disorder in the general population. *Sleep* **41**, (2018).
29. Sapin, E. *et al.* Localization of the brainstem GABAergic neurons controlling paradoxical (REM) sleep. *PLoS One* **4**, (2009).

30. Torontali, Z. A., Fraigne, J. J., Sanghera, P., Horner, R. & Peever, J. The Sublaterodorsal Tegmental Nucleus Functions to Couple Brain State and Motor Activity during REM Sleep and Wakefulness. *Curr Biol* **29**, 3803-3813.e5 (2019).
31. Siegel, J. M. The stuff dreams are made of: anatomical substrates of REM sleep. *Nat Neurosci* **9**, 721–722 (2006).
32. Holmes, C. J. & Jones, B. E. Importance of cholinergic, GABAergic, serotonergic and other neurons in the medial medullary reticular formation for sleep-wake states studied by cytotoxic lesions in the cat. *Neuroscience* **62**, 1179–1200 (1994).
33. Garcia, S. V. *et al.* Genetic inactivation of glutamate neurons in the rat sublaterodorsal tegmental nucleus recapitulates REM sleep behaviour disorder. *Brain* **140**, 414–428 (2017).
34. Limousin, N. *et al.* A brainstem inflammatory lesion causing REM sleep behavior disorder and sleepwalking (parasomnia overlap disorder). *Sleep Med* **10**, 1059–1062 (2009).
35. Iranzo, A. *et al.* Neurodegenerative disease status and post-mortem pathology in idiopathic rapid-eye-movement sleep behaviour disorder: an observational cohort study. *Lancet Neurol* **12**, 443–453 (2013).
36. Blumberg, M. S. & Plumeau, A. M. A new view of ‘dream enactment’ in REM sleep behavior disorder. *Sleep Medicine Reviews* vol. 30 34–42 Preprint at <https://doi.org/10.1016/j.smr.2015.12.002> (2016).
37. De Cock, V. C. *et al.* Restoration of normal motor control in Parkinson’s disease during REM sleep. *Brain* **130**, 450–456 (2007).
38. Oudiette, D. *et al.* Nonviolent elaborate behaviors may also occur in REM sleep behavior disorder. *Neurology* **72**, (2009).
39. Högl, B. & Stefani, A. REM sleep behavior disorder (RBD): Update on diagnosis and treatment. *Somnologie* **21**, (2017).
40. Schenck, C. H., Lee, S. A., Bornemann, M. A. C. & Mahowald, M. W. Potentially lethal behaviors associated with rapid eye movement sleep behavior disorder: Review of the literature and forensic implications. *Journal of Forensic Sciences* vol. 54 1475–1484 Preprint at <https://doi.org/10.1111/j.1556-4029.2009.01163.x> (2009).
41. *Patients with OSAH Patients with (n=16) idiopathic RBD N (%) (n=16) N (%)*. <https://academic.oup.com/sleep/article-abstract/28/2/203/2696905>.
42. Gaig, C., Iranzo, A., Pujol, M., Perez, H. & Santamaria, J. Periodic limb movements during sleep mimicking REM sleep behavior disorder: A new form of periodic limb movement disorder. *Sleep* **40**, (2017).
43. Vignatelli, L. *et al.* Prevalence of sleep-related hypermotor epilepsy-formerly named nocturnal frontal lobe epilepsy-in the adult population of the emilia-romagna region, Italy. *Sleep* vol. 40 Preprint at <https://doi.org/10.1093/sleep/zsw041> (2017).
44. Kong Chinese, H. *et al.* REM SLEEP BEHAVIOR DISORDER (RBD) IS A PARA-SOMNIA CHARACTERIZED BY ABNORMAL BEHAV-IORS EMERGING DURING REM SLEEP WITH

CONSE-QUENT injury and sleep disruption. 1 Epidemiological study of RBD in both Diagnosis of REM Sleep Behavior Disorder by Video-Polysomnographic Study: Is One Night Enough? Diagnosis of RBD by Video-PSG-Is One Night Enough?-Zhang et al. SLEEP vol. 31 (2008).

45. Frauscher, B. *et al.* Motor events during healthy sleep: A quantitative polysomnographic study. *Sleep* **37**, 763–773 (2014).
46. McCarter, S. J. *et al.* Antidepressants increase REM sleep muscle tone in patients with and without REM sleep behavior disorder. *Sleep* **38**, 907–917 (2015).
47. Miglis, M. G. *et al.* Biomarkers of conversion to α -synucleinopathy in isolated rapid-eye-movement sleep behaviour disorder. *The Lancet Neurology* vol. 20 671–684 Preprint at [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(21\)00176-9](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(21)00176-9) (2021).
48. Weil, R. S. & Morris, H. R. REM sleep behaviour disorder: An early window for prevention in neurodegeneration? *Brain* vol. 142 498–501 Preprint at <https://doi.org/10.1093/brain/awz014> (2019).
49. Schenck, C. H., Bundlie, S. R. & Mahowald, M. W. *Delayed emergence of a parkinsonian disorder in 38% of 29 older men initially diagnosed with idiopathic rapid eye movement sleep behavior disorder.* (1996).
50. Alex Iranzo *et al.* Rapid-eye-movement sleep behaviour disorder as an early marker for a neurodegenerative disorder: a descriptive study. *Lancet Neurol* 572–577 (2006).
51. Ronald B. Postuma *et al.* Risk and predictors of dementia and parkinsonism in idiopathic REM sleep behaviour disorder: a multicentre study. *Brain* vol. 142 498–501 Preprint at <https://doi.org/10.1093/brain/awz014> (2019).
52. Arnaldi, D. *et al.* Dopaminergic imaging and clinical predictors for phenoconversion of REM sleep behaviour disorder. *Brain* **144**, 278–287 (2021).
53. Booij, J. & Knol, R. J. J. SPECT imaging of the dopaminergic system in (premotor) Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord* **13**, (2007).
54. Palermo, G. & Ceravolo, R. Molecular imaging of the dopamine transporter. *Cells* vol. 8 Preprint at <https://doi.org/10.3390/cells8080872> (2019).
55. Brigo, F., Turri, G. & Tinazzi, M. 123I-FP-CIT SPECT in the differential diagnosis between dementia with Lewy bodies and other dementias. *J Neurol Sci* **359**, 161–171 (2015).
56. Walker, Z. *et al.* *Striatal dopamine transporter in dementia with Lewy bodies and Parkinson disease A comparison.* (2004).
57. Joling, M. *et al.* Lower 123I-FP-CIT binding to the striatal dopamine transporter, but not to the extrastriatal serotonin transporter, in Parkinson's disease compared with dementia with Lewy bodies. *Neuroimage Clin* **19**, 130–136 (2018).
58. Nobili, F. *et al.* Cognitive-nigrostriatal relationships in de novo, drug-naïve Parkinson's disease patients: a [I-123]FP-CIT SPECT study. *Mov Disord* **25**, 35–43 (2010).

59. Eiseensehr, I. *et al.* INTRODUCTION RAPID EYE MOVEMENT (REM) SLEEP BEHAVIOR DISORDER (RBD) INVOLVES COMPLEX BEHAVIOR AND A LOSS OF SKELETAL MUSCLE ATONIA DURING REM SLEEP Increased Muscle Activity During Rapid Eye Movement Sleep Correlates with Decrease of Striatal Presynaptic Dopamine Transporters. IPT and IBZM SPECT Imaging in Subclinical and Clinically Manifest Idiopathic REM Sleep Behavior Disorder, Parkinson's Disease, and Controls BASIC SCIENCE. *Increased Muscle Activity During REM-Eiseensehr et al SLEEP* vol. 26 <https://academic.oup.com/sleep/article/26/5/507/2707883> (2003).
60. Bauckneht, M. *et al.* Presynaptic dopaminergic neuroimaging in REM sleep behavior disorder: A systematic review and meta-analysis. *Sleep Med Rev* **41**, 266–274 (2018).
61. Stiasny-Kolster, K. *et al.* Combination of 'idiopathic' REM sleep behaviour disorder and olfactory dysfunction as possible indicator for alpha-synucleinopathy demonstrated by dopamine transporter FP-CIT-SPECT. *Brain* **128**, 126–137 (2005).
62. Eiseensehr, I. *et al.* Reduced striatal dopamine transporters in idiopathic rapid eye movement sleep behaviour disorder. Comparison with Parkinson's disease and controls. *Brain* **123 (Pt 6)**, 1155–1160 (2000).
63. Iranzo, A. *et al.* Serial dopamine transporter imaging of nigrostriatal function in patients with idiopathic rapid-eye-movement sleep behaviour disorder: a prospective study. *Lancet Neurol* **10**, 797–805 (2011).
64. Puligheddu, M. *et al.* Predictive risk factors of phenoconversion in idiopathic REM sleep behavior disorder: the Italian study "FARPRESTO". *Neurological Sciences* **43**, 6919–6928 (2022).
65. Fluss, R., Faraggi, D. & Reiser, B. Estimation of the Youden Index and its associated cutoff point. *Biom J* **47**, 458–472 (2005).
66. Postuma, R. B. *et al.* MDS clinical diagnostic criteria for Parkinson's disease. *Mov Disord* **30**, 1591–1601 (2015).
67. McKeith, I. G. *et al.* Diagnosis and management of dementia with Lewy bodies: Fourth consensus report of the DLB Consortium. *Neurology* **89**, 88 (2017).
68. Gilman, S. *et al.* *Second consensus statement on the diagnosis of multiple system atrophy Background: A consensus conference on multiple system atrophy (MSA) in 1998 established.* (2008).
69. Lang, A. E. & Espay, A. J. Disease Modification in Parkinson's Disease: Current Approaches, Challenges, and Future Considerations. *Mov Disord* **33**, 660–677 (2018).
70. Pagano, G. *et al.* Trial of Prasinezumab in Early-Stage Parkinson's Disease. *N Engl J Med* **387**, 421–432 (2022).
71. Lang, A. E. *et al.* Trial of Cinpanemab in Early Parkinson's Disease. *New England Journal of Medicine* **387**, 408–420 (2022).

72. Arnaldi, D. *et al.* Rapid eye movement sleep behavior disorder: A proof-of-concept neuroprotection study for prodromal synucleinopathies. *Eur J Neurol* **28**, 1210–1217 (2021).
73. Doty, R. L., Shaman, P. & Dann, M. Development of the University of Pennsylvania Smell Identification Test: a standardized microencapsulated test of olfactory function. *Physiol Behav* **32**, 489–502 (1984).
74. Mahlknecht, P. *et al.* Olfactory dysfunction predicts early transition to a Lewy body disease in idiopathic RBD. *Neurology* **84**, 654–658 (2015).

Ringraziamenti

Vorrei ringraziare il mio relatore, il Professor Dario Arnaldi, perché con costante entusiasmo mi ha permesso di partecipare a tutte le attività del suo gruppo di studio, in primis a questo progetto. Con lui ringrazio il Dottor Pietro Mattioli, di grande disponibilità e supporto durante la stesura della tesi.

Ai miei genitori e ad Elena dedico il lungo percorso e con loro condivido la felicità con cui lo sto concludendo. Casa nostra è da sempre luogo di serenità e sicurezza, nel quale i momenti di difficoltà sono stati accolti ed affrontati senza alcun giudizio.

Ti ringrazio tanto Andrea, da sempre il mio punto di riferimento, perché con te ho vissuto solo momenti di pura spensieratezza.

Ringrazio tutta la mia famiglia e quella di Andrea, in particolare la nonna Rosada e lo zio Corrado perché parte della mia quotidianità e per questo fonte di sostegno negli ultimi sei anni.

Infine, voglio ringraziare tanto i miei amici: Giulia, vera compagna di questi sei anni, Andre, Marti, Sara e tutti gli altri.

Grazie per aver condiviso con me questo percorso, tanto pesante quanto soddisfacente.