

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN MEDICINA E CHIRURGIA

DIPARTIMENTO DI NEUROSCIENZE

Direttore: Prof. Raffaele De Caro

CLINICA NEUROLOGICA

Direttore: Prof. Maurizio Corbetta

TESI DI LAUREA

**VALUTAZIONE DELLA PROGRESSIONE
DELL'ATROFIA MULTISISTEMICA: UNO STUDIO
LONGITUDINALE CON RISONANZA MAGNETICA
CEREBRALE**

RELATORE: Prof. Angelo Antonini

CORRELATORE: Dott. Luca Weis

LAUREANDO: Outman Kamrach

ANNO ACCADEMICO 2021/2022

INDICE

RIASSUNTO	1
ABSTRACT	3
INTRODUZIONE.....	5
Atrofia multisistemica.....	5
Definizione	5
Storia.....	6
Epidemiologia.....	7
Eziologia.....	8
Neuropatologia	8
Fisiopatologia	19
Clinica.....	27
Diagnosi.....	32
Terapia	48
Prognosi.....	55
Morfometria in immagini di risonanza magnetica.....	56
Indici basati su aree	56
Indici basati su diametri.....	57
SCOPO DELLO STUDIO.....	58
MATERIALI E METODI.....	60
Popolazione.....	60
Valutazione clinica.....	61
Valutazione in risonanza magnetica	63
Analisi statistiche	67
RISULTATI.....	70
Caratteristiche demografiche	70
Caratteristiche cliniche.....	71
Variabilità della capacità diagnostica degli indici morfometrici nell'MSA	72

Variabilità longitudinale degli indici morfometrici.....	77
DISCUSSIONE.....	84
Aspetti demografici	84
Aspetti clinici	85
Variabilità della capacità diagnostica degli indici morfometrici.....	86
Variabilità longitudinale degli indici.....	87
Limiti	90
CONCLUSIONI	91
BIBLIOGRAFIA	92
RINGRAZIAMENTI	106

RIASSUNTO

Presupposti: L'atrofia multisistemica (MSA) è una rara e fatale patologia neurodegenerativa la cui diagnosi è particolarmente complessa. Attualmente, è possibile ottenere una diagnosi certa solo in sede autoptica e, secondo i correnti criteri, la diagnosi in vita è soprattutto clinica. Per via dei sintomi sfumati all'esordio e della sovrapposizione del quadro clinico con altre patologie, è frequente la misdiagnosi. Recenti studi hanno confermato l'utilità e la precisione di nuovi *biomarker* in risonanza magnetica nella diagnosi differenziale dell'MSA, ponendoli come uno strumento innovativo ed efficace da implementare nei criteri diagnostici sia come marcatori di patologia che di progressione.

Scopo: Confrontare la capacità diagnostica dei diversi indici morfometrici per fase di malattia, per fenotipo e per differenziare l'MSA dal sano. Valutare in maniera longitudinale la capacità dei diversi indici morfometrici di tracciare la progressione dell'MSA per fase e fenotipo. Esaminare, infine, la correlazione degli indici rispetto ai sintomi motori di tipo parkinsoniano.

Materiali e metodi: Questo studio monocentrico retrospettivo longitudinale include 17 pazienti con diagnosi di MSA probabile, di cui 11 con MSA-P, 6 con MSA-C, 10 con MSA in fase iniziale e 7 con MSA in fase tardiva diagnosticati secondo i criteri di Gilman et al., 2008. La popolazione è stata sottoposta a valutazione clinica completa, a risonanza magnetica alla baseline e ad almeno una visita di controllo. È stato incluso inoltre un gruppo di controllo di pari età di 40 sani valutati in RM con il medesimo protocollo di acquisizione. Esaminando le sequenze T1-pesate, sono state ricavate le misure manuali e confrontati il potere discriminativo degli indici morfometrici M area, P area, P/M, MRPI, P/M 2.0, MRPI 2.0, M diametro, P diametro, MO-A diametro e MO-B diametro, sia alla *baseline* verso la popolazione sana che longitudinalmente.

Risultati: L'area del ponte, del mesencefalo, il diametro del ponte e i diametri della medulla hanno un ottimo potere discriminativo tra MSA e sano ($AUC > 0.8$). A livello di gruppo, non si riscontrano significative differenze negli indici tra fase iniziale e fase tardiva, e tra MSA-C e MSA-P. Esiste un lieve *trend* ($p = 0,07$) per l'indice P/M nel differenziare MSA-P dal controllo. A livello longitudinale non c'è differenza statisticamente significativa tra i tassi di variazione medi annui per

fase e per fenotipo. Per quanto riguarda la frequenza di pazienti con variazione annuale dalla baseline $>5\%$, gli indici dove tale variazione è presente in più del 40% del campione sono P/M 2.0, MRPI 2.0, area del mesencefalo, area del ponte e diametro del ponte. L'area del mesencefalo e il diametro del ponte presentano una notevole distinzione tra *Early* e *Late phase*; MRPI 2.0 è significativamente più efficace per MSA-P. Non è presente significatività nella correlazione tra gli indici e l'aspetto motorio valutato con MDS-UPDRS-III.

Conclusioni: I risultati confermano che l'atrofia dell'area del mesencefalo, dell'area e del diametro del ponte e dei diametri della medulla sono capaci di differenziare sia MSA-C che MSA-P dalla popolazione sana fin nelle prime fasi della patologia. Sono emerse novità e conferme riguardo gli attuali *biomarker*. Gli indici basati sull'area (P/M, MRPI, P/M 2.0, MRPI 2.0) si confermano scarsamente efficaci nella differenziazione dell'MSA rispetto al sano, al contrario della loro rilevanza per la PSP. I diametri della medulla sono ottimi marcatori di patologia, ma poco sensibili alla progressione del danno, mentre i nuovi indici P/M 2.0 e MRPI 2.0, oltre al diametro pontino, sono sensibili alla progressione della malattia a livello del singolo paziente e la loro variazione al follow-up è suggestiva per MSA-P. Lo studio pone le basi per un ulteriore approfondimento dei marcatori attuali, anche mediante l'adozione dei metodi di misura automatizzati, come complemento clinico alla diagnosi differenziale precoce e all'utilizzo come *marker* di progressione nei trial clinici.

Parole chiave: MSA, MRI, Disease progression, Biomarker, Neuroimaging.

ABSTRACT

Background: Multiple system atrophy (MSA) is a rare and fatal neurodegenerative disease whose diagnosis is particularly complex. Currently, the definite diagnosis of MSA requires autopsic confirmation and, according to the current criteria, the diagnosis in vivo is mostly based on clinical features. Due to faded symptomatology at the onset and clinical overlap with different diseases, misdiagnosis is frequent. Recent studies have confirmed the usefulness and precision of new biomarkers in magnetic resonance imaging (MRI) for the differential diagnosis of MSA, placing them as an innovative and effective tool to be implemented in diagnostic criteria as pathology and progression markers.

Purpose: The aims of this study were: 1) to compare the diagnostic accuracy of morphometric indices regarding the disease phase and phenotype, in order to differentiate MSA from healthy subjects; 2) to longitudinally assess the ability of morphometric indices to track MSA progression, regarding phase and phenotype; 3) to examine the correlation between morphometric indices and parkinsonian-type motor symptoms.

Materials and methods: 17 patients diagnosed with probable MSA (11 MSA-P, 6 MSA-C, 10 early phase MSA and 7 late phase MSA) were included in this monocentric retrospective longitudinal study and were diagnosed according to Gilman et al., 2008 criteria. The population was evaluated longitudinally with a comprehensive clinical assessment, magnetic resonance imaging at baseline and at least one follow-up visit. An age-matched control group of 40 healthy subjects (HC), evaluated in MRI with the same acquisition protocol, was also included. Based on T1-weighted 3D MRI sequences, we obtained the manual measurements and compared the discriminative power of the morphometric indices M area, P area, P/M, MRPI, P/M 2.0, MRPI 2.0, M diameter, P diameter, MO-A diameter and MO-B diameter, both at the baseline towards the healthy population and longitudinally.

Results: Pons area, midbrain area, pons diameter and medulla diameters have an excellent discriminatory power between MSA and healthy subjects (AUC >0.8). At group level, there are no significant differences in the indices between early and late phase MSA, and between MSA-C and MSA-P. A slight trend ($p = 0.07$)

was found for P/M in differentiating MSA-P and HC. Longitudinally, there is no statistically significant difference between average annual rates of change by phase and phenotype. Regarding the frequency of patients with annual variation from baseline >5%, the indices where it was present in more than 40% of the MSA patients were P/M 2.0, MRPI 2.0, M area, P area and P diameter. Midbrain area and pons diameter showing a notable distinction between early and late phase; MRPI 2.0, in particular, is significantly more effective in MSA-P. There is no significance in correlation between indices and motor aspect assessed with MDS-UPDRS-III.

Conclusion: These results confirm that the atrophy of midbrain area, pons area, pons diameter and medulla diameters can differentiate both MSA-C and MSA-P from the healthy population even in the early stages of the disease. New and other confirmatory results emerged regarding the current biomarkers. Area-based indices (P/M, MRPI, P/M 2.0, MRPI 2.0) are confirmed to be poorly effective in distinguishing MSA from HC, contrary to their relevance in PSP. Medulla diameters are excellent pathology-markers, but not very sensitive to the damage progression, while the new indices P/M 2.0 and MRPI 2.0, in addition to P diameter, are sensitive to disease progression at patient-level. The study lays the foundation for further explorations of current markers, also through the adoption of automated measurement methods, as a clinical complement to an early differential diagnosis and for use as progression markers in clinical trials.

Keywords: MSA, MRI, Disease progression, Biomarker, Neuroimaging.

INTRODUZIONE

Atrofia multisistemica

Definizione

L'atrofia multisistemica (MSA, *multiple system atrophy*) è una rara e fatale patologia neurodegenerativa ad esordio adulto caratterizzata da insufficienza autonoma progressiva, caratteristiche parkinsoniane e caratteristiche cerebellari e piramidali in diverse combinazioni (1).

Viene definita come parkinsonismo atipico (o *Parkinson-plus syndrome*), ossia una condizione clinica presentante alcune delle caratteristiche principali della malattia di Parkinson (PD, *Parkinson's disease*), quali la bradicinesia, rigidità muscolare e/o tremori, associate ad altre caratteristiche (disturbi dell'equilibrio e della coordinazione, disautonomie e disturbi del sonno) (2).

Insieme alla malattia di Parkinson, alla demenza da corpi di Lewy (DLB) e alla demenza associata alla malattia di Parkinson (PDD), l'MSA appartiene al gruppo delle α -sinucleinopatie, le quali sono morfologicamente caratterizzate dall'abnorme accumulo di aggregati patologici di α -sinucleina (3,4).

In base al predominante fenotipo clinico e anatomopatologico all'esordio, la patologia è classificata in due principali varianti: MSA-P con predominante parkinsonismo caratterizzata da lentezza, rigidità muscolare o tremore (ex degenerazione striato-nigrica); MSA-C con predominante atassia cerebellare caratterizzata da difficoltà nell'equilibrio e nella coordinazione del movimento (ex atrofia olivo-ponto-cerebellare). Nonostante questa classificazione, l'MSA non è ristretta a questi sottotipi, ma esiste in diverse combinazioni in base alla variante predominante oltre ad altre forme atipiche (2,4,5).

Per via di questa variabile presentazione, l'atrofia multisistemica rappresenta una complessa sfida diagnostica non soltanto nella neurologia, ma anche in altre specialità, incluse cardiologia, gastroenterologia, urologia, otorinolaringoiatria e medicina del sonno. Nonostante sia caratterizzata da una rapida progressione dei sintomi motori, l'atrofia multisistemica può simulare la malattia di Parkinson o l'atassia idiopatica cerebellare ad esordio tardivo fino al raggiungimento di uno stadio avanzato della patologia (1).

Storia

La storia dell'atrofia multisistemica riflette la varietà delle sue manifestazioni cliniche (1).

Le radici dell'atrofia multisistemica risalgono alla fine del diciannovesimo secolo quando J. Déjerine e A. Thomas, neurologi del Salpêtrière hospitals di Parigi, descrissero due casi sporadici di atassia che in seguito svilupparono sintomi extrapiramidali, urinari e ipotensione posturale per cui definirono questa condizione come atrofia olivo-ponto-cerebellare (OPCA) (6,7).

Successivamente, nel 1925, S. Bradbury e C. Egglestone postularono per la prima volta l'esistenza di un'ipotensione ortostatica neurogenica, lastricando la strada verso l'identificazione dei disordini primari del sistema nervoso autonomo (6,8).

Diverse decadi dopo, in particolare nel 1960, G.M. Shy e G.A Drager descrissero una sindrome clinica caratterizzata da insufficienza autonoma multi-dominio associata a parkinsonismo severo e atassia (sindrome di Shy Drager) (6,9).

Un anno dopo, R.D. Adams identificò dei pazienti con sindrome di Shy Drager e degenerazione striato-nigrica e in aggiunta un coinvolgimento a livello cerebellare, olivare e pontino (6,10).

Per riassumere la storia dell'atrofia multisistemica fino a questo punto è possibile utilizzare l'efficace analogia degli uomini bendati che, esaminando diverse parti di un grosso elefante, raggiungono conclusioni differenti sulla natura dell'animale (7).

La svolta si ebbe nel 1969 quando Graham e Oppenheimer decisero di proporre il termine atrofia multisistemica in modo da raggruppare le quattro condizioni che inizialmente apparivano come separate, ma che in realtà includevano soggetti con la medesima patologia: atrofia olivo-ponto-cerebellare, ipotensione ortostatica idiopatica, sindrome di Shy-Drager e degenerazione striato-nigrica. La motivazione era soprattutto quella di evitare una confusione non necessaria data dall'invenzione di nuovi nomi per sindromi insolite che in realtà non sono altro che l'espressione dell'atrofia neuronale nelle sue varie combinazioni (7,11).

Nel 1989, Papp, Kahn e Lantos descrissero per la prima volta la presenza di aggregati di proteine insolubili a livello del citoplasma degli oligodendrociti nei pazienti affetti da MSA. Queste inclusioni vennero definite inclusioni citoplasmatiche della glia (GCI o corpi di Papp-Lantos) e rappresentarono un

segno patologico specifico dell'MSA indipendentemente dal sottotipo clinico (5,12).

Infine, dalle analisi del 1998 di Spillatini e i suoi colleghi, si dimostrò che l' α -sinucleina, maggior componente dei corpi di Lewy, rappresentava anche il principale costituente delle GCI dell'MSA. Questa scoperta permise di creare il primo legame patologico tra la malattia di Parkinson, l'atrofia multisistemica e la demenza da corpi di Lewy nel gruppo delle α -sinucleinopatie (5,13).

Epidemiologia

L'atrofia multisistemica è una patologia rara che interessa in egual misura i due sessi con una stima di incidenza media tra i 0.6 e 0.7 casi/100.000 abitanti/anno e un range tra i 0.1 e i 2.4 casi/100.000 abitanti/anno (1,14).

La prevalenza stimata è da 3.4 a 4.9 casi/100.000 abitanti che aumenta a 7.8/100.000 abitanti nella popolazione con età maggiore di 40 anni (1,15) e fino a 12/100.000 abitanti dopo i 70 anni (16).

In Italia si stima circa una prevalenza di 4900 casi di cui l'81.5% si concentra tra i 60-79 anni, il 9.8% tra i 50-59 anni e l'8.7% sopra gli 80 anni (17).

Secondo uno studio retrospettivo tra il 1998 e il 2012 su 685 pazienti, l'età media di esordio dell'atrofia multisistemica è di 54-61 anni con un ampio intervallo da 31 a 78 anni. L'età media di esordio per l'MSA-C risulta essere lievemente più precoce (58.4 anni) rispetto all'MSA-P (62.3 anni) e la sopravvivenza mediana sembra essere di circa 7.18-7.78 anni, mentre il tempo dalla diagnosi alla morte di 2.92-3.59 anni (18).

Geograficamente, l'MSA-P è maggiormente prevalente rispetto all'MSA-C in Europa, Nord America e Marocco e rappresenta il 60-70% dei sottotipi di MSA (19-21), mentre in Asia, in particolare in Giappone, Cina e Corea del Sud (22), è più comune l'MSA con fenotipo cerebellare (ci sono eccezioni per quanto riguarda la Corea (23)), valutabile dal primo studio prospettivo su grande scala in Asia (studio prospettico su registro di 5 anni a Hokkaido) in cui il 60% dei pazienti giapponesi si presenta con MSA-C; inoltre questo studio delinea l'associazione tra esordio tardivo e cattiva prognosi (24).

Eziologia

Nonostante l'MSA venga generalmente considerata come una patologia sporadica, la precisa causa è ignota, ma sembra essere multifattoriale con una potenziale combinazione tra fattori ambientali e predisposizione genetica (1).

In Europa e in Asia sono stati riportati modelli di ereditarietà autosomica dominante e recessiva associati a molti polimorfismi e mutazioni di geni che suggerirebbero la differente distribuzione etnica delle varianti dell'MSA (5). In particolare, è stata riportata una mutazione loss-of-function di COQ2 (gene codificante per l'enzima che sintetizza il coenzima Q₁₀, la cui riduzione sembrerebbe implicata nella patogenesi dell'MSA per via dell'aumentata vulnerabilità allo stress ossidativo) in casi familiari e sporadici giapponesi, tuttavia, la mutazione non è stata trovata nei pazienti affetti da MSA in Nord America o in Europa (1). Inoltre, questa mutazione è specifica soprattutto del sottotipo MSA-C, per cui non può essere rappresentativa dello spettro generale dell'MSA (5).

Sono state studiate anche altre alterazioni genetiche, in particolare sembra esserci un'associazione con alcuni polimorfismi e mutazioni a livello del locus SNCA che codifica per l' α -sinucleina, specialmente in Europa (1,5).

Non ci sono dati convincenti sulla chiara correlazione tra precisi fattori occupazionali e ambientali (per esempio l'assunzione di alcol, l'esposizione ad alcune tossine o il lavoro nel settore agricolo) e il rischio della patologia per via dei limiti degli studi. In conclusione, la maggior parte degli studi eziologici dell'MSA soffrono di un limitato numero di casi per via della rarità della patologia che spesso è anche sotto diagnosticata; inoltre, per avere una diagnosi certa di MSA serve una valutazione post-mortem, condizione che spesso manca negli studi epidemiologici ed eziologici (25).

Neuropatologia

Aspetti macroscopici

L'eterogeneità dell'MSA, stratificata principalmente nei sottotipi MSA-P e MSA-C, riflette i sistemi anatomici danneggiati a livello macroscopico: i sistemi più colpiti e più affetti sono quello olivo-ponto-cerebellare e quello striatonigrale,

tuttavia, il peso complessivo dei cervelli dei pazienti affetti da MSA generalmente non è alterato (26).

All'esame macroscopico dei cervelli MSA si può osservare una grave atrofia del cervelletto, del peduncolo cerebellare medio e dei nuclei pontini associata a una lieve atrofia corticale diffusa nei lobi frontali. Sezionando il cervello, nell'MSA-P è rilevabile una decolorazione grigia del putamen postero-laterale (per via della deposizione di lipofuscina, neuromelanina e l'aumento di ferro in questa area) spesso accompagnata da pallore a livello del locus coeruleus e della substantia nigra. Nell'MSA-C, invece, le principali caratteristiche sono la decolorazione bruna della sostanza bianca cerebellare, la riduzione della folia cerebellare, diversi gradi di degenerazione del paleocerebello e del neocerebello accompagnati da atrofia della base pontina e del peduncolo cerebellare medio. Il peduncolo cerebellare superiore e i nuclei cerebellari profondi sono conservati. Le caratteristiche macroscopiche dei casi di MSA-C possono essere difficili da distinguere da alcune atassie spinocerebellari (SCA), in particolare l'SCA1 (25,27).

L'assenza di atrofia a livello del nucleo subtalamico e del mesencefalo, oltre che la conservazione delle vie efferenti cerebellari, permettono di distinguere l'MSA dalla paralisi sopranucleare progressiva (PSP), mentre la mancanza di coinvolgimento corticale aiuta la differenziazione dalla degenerazione corticobasale (CBD). Alcuni dei cambiamenti macroscopici in MSA sono visualizzabili attraverso tecniche di neuroimaging e possono essere usati per aiutare la diagnosi clinica (26).

Istopatologia

Le principali caratteristiche istopatologiche che identificano l'MSA sono raggruppabili in quattro gruppi (le principali sono osservabili anche nella Figura 1 con relativa descrizione):

1. Patologia caratterizzata dalla presenza di inclusioni immunoreattive di α -sinucleina divisa in quattro principali inclusioni. Sono presenti principalmente inclusioni citoplasmatiche della glia a livello degli oligodendrociti (GCI, corpi di Papp-Lantos), la cui presenza è necessaria per la diagnosi post-mortem definitiva di MSA. Sono meno frequenti le inclusioni nel nucleo degli oligodendrociti (GNI, inclusioni gliali nucleari), le inclusioni neuronali citoplasmatiche (NCI) e le inclusioni neuronali nucleari (NNI) (25).

Recentemente, è stata dimostrata la presenza di α -sinucleina fosforilata accumulata nel citoplasma delle cellule di Schwann indicando che meccanismi sia centrali che periferici contribuiscano alla neuropatogenesi nell'MSA (28).

2. Degenerazione neuronale selettiva e degenerazione assonale in diverse regioni del sistema nervoso, in particolare a livello dei sistemi olivo-ponto-cerebellare e striatonigrale (25,27).
3. Degenerazione mielinica accompagnata da pallore e riduzione della proteina basica della mielina (MBP, maggior costituente della mielina) più pronunciati soprattutto a livello del putamen e del peduncolo cerebellare medio. Rimane un dilemma se la perdita di mielina sia secondaria alla degenerazione neuronale/assonale o se rappresenti l'evento primario a cui consegue la perdita neuronale/assonale; attualmente può essere possibile uno scenario dual hit (25–27).
4. Astrogliosi e attivazione microgliale che riflettono sia il carico patologico dell' α -sinucleina che la perdita neuronale. Sono più pronunciati nelle aree degenerative della sostanza bianca che mostrano una perdita di mielina da lieve a moderata (25,27). In particolare, coerentemente con il ruolo di fagocitosi della mielina degenerata da parte della microglia, è stato dimostrato che la microglia è più numerosa nei tratti di sostanza bianca con pallore mielinico lieve-moderato rispetto a quelli severi. Il ruolo dell'astrogliosi non è ancora ben approfondito nell'MSA, ma sembra contribuire alla neurodegenerazione (26).

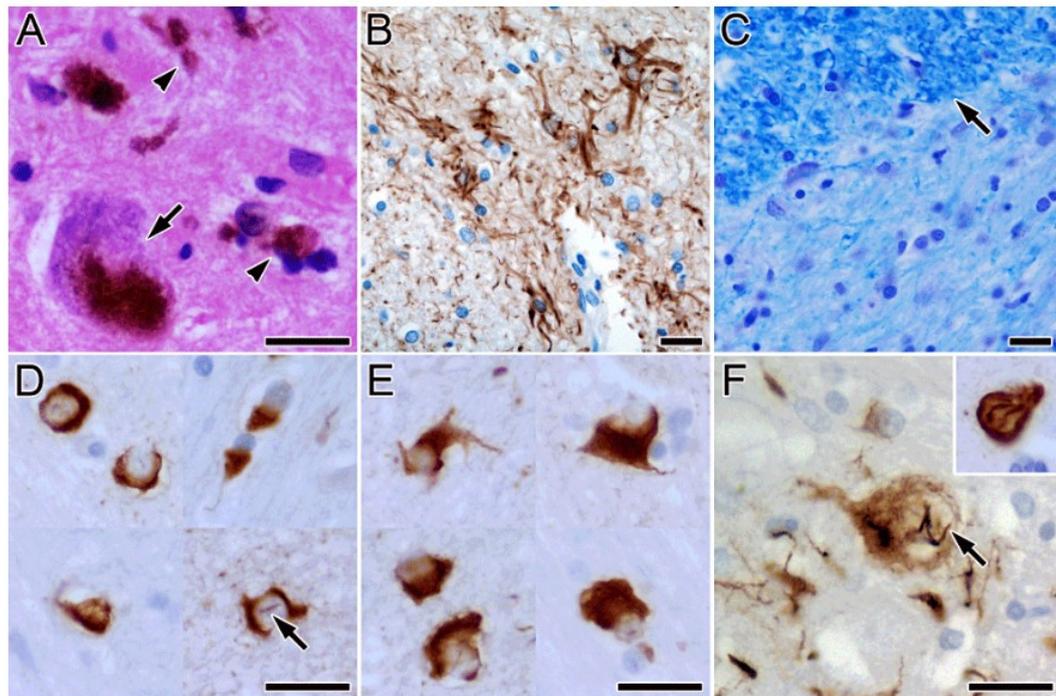


Figura 1 – Principali caratteristiche istopatologiche dell'MSA. Nella figura si osserva la perdita neuronale nella substantia nigra pars compacta con un neurone contenente melanina (freccia) e pigmento di melanina extraneuronale (punte di freccia) (A), densa gliosi con astrociti ipertrofici a livello della base pontina (B) e significativo pallore mielinico nella stessa regione (C). L'immunoistochimica dell' α -sinucleina identifica le inclusioni citoplasmatiche oligodendrogliali di diverse dimensioni e morfologia (la freccia indica un'inclusione intranucleare) (D-E) e citoplasmatiche neuronali (la freccia indica un'inclusione intranucleare) (F). (Da Z. Ahmed et al., *The neuropathology, pathophysiology and genetics of multiple system atrophy*) (26).

I depositi di ferro nel putamen sono un altro segno caratteristico dell'MSA. Tuttavia, non ci sono dati soddisfacenti sulle alterazioni del metabolismo del ferro nei pazienti affetti da MSA e sulla rilevanza del ferro nella patogenesi. È comunque presente un'evidenza sul deficit di ferro per via della sua disregolazione nell'MSA (25).

Neuropatologia delle inclusioni

Il principale segno neuropatologico dell'MSA è la presenza delle inclusioni citoplasmatiche con α -sinucleina immunoreattiva a livello degli oligodendrociti (GCI), la cui localizzazione è stata confermata usando marcatori oligodendrogliali, quali l'isoenzima II dell'anidrasi carbonica, Olig2 (fattore di trascrizione degli oligodendrociti) e Leu-7. I corpi di Papp-Lantos sono stati originariamente identificati dalle loro proprietà argentofile mediante precise tecniche di impregnazione argentea. Con l'importante scoperta che i GCI contengono α -sinucleina, il principale metodo per identificare questi corpi è diventata l'immunoistochimica, mediante specifici anticorpi diretti verso l' α -sinucleina (che dimostrano la presenza di strutture filamentose e granulari) (26).

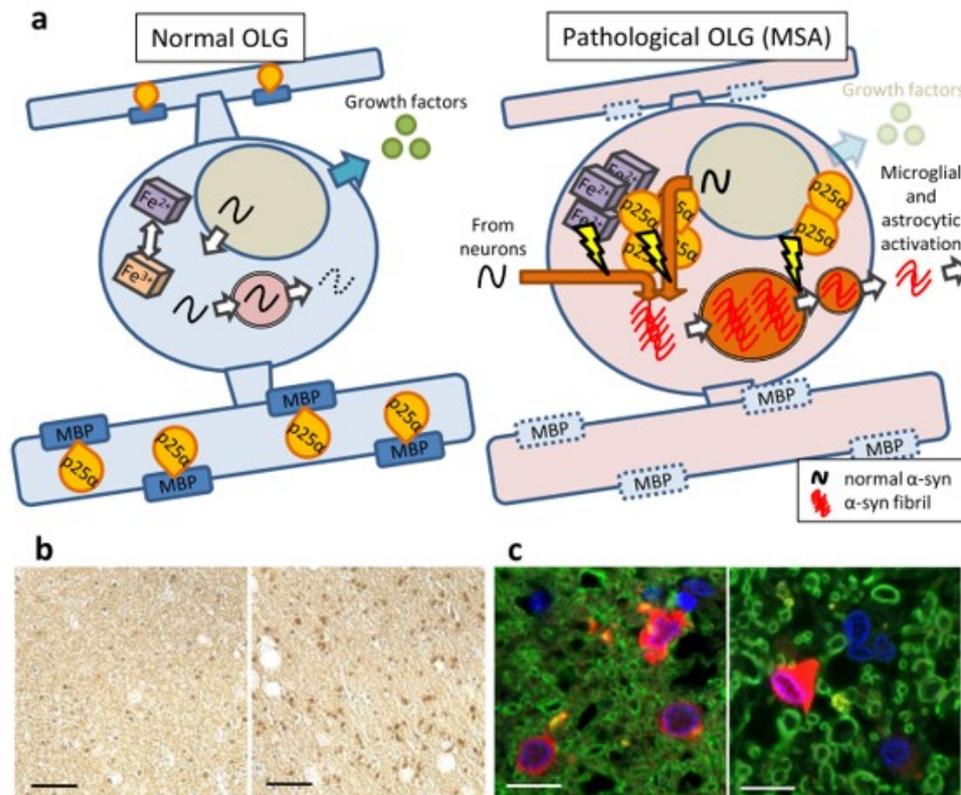


Figura 2 – Panoramica ipotetica della patogenesi delle inclusioni con raffigurazione di un oligodendrocita (OLG) normale in cui l'omeostasi intracellulare è mantenuta dalla normale espressione e localizzazione proteica, degradazione autofagica di α -sinucleina e metabolismo equilibrato di ferro (A, sinistra) e un OLG patologico che genera GCI per via dell'alterata omeostasi (A, destra) con ridotta espressione di MBP, traslocazione citosolica di p25 α , degradazione autofagica alterata e ossidazione degli ioni ferrosi. La secrezione di α -sinucleina patologica porta all'attivazione microgliale e astrocitica. In basso, la traslocazione di p25 α dalla mielina ai corpi cellulari nella sostanza bianca di un paziente sano (sinistra) e con MSA (destra) (B). In (C) raffigurazione di p25 α (rosso) che interagisce con MBP (verde) nella sostanza bianca di un paziente sano (sinistra) e con MSA (destra). (Da Seiji Kaji et al., *Insight into the pathogenesis of multiple system atrophy: focus on glial cytoplasmic inclusions*) (29).

A livello ultrastrutturale, le GCI sono aggregati citoplasmatici, non adesi alla membrana, composti da filamenti di α -sinucleina polimerizzata (15-40 nm in diametro) associati a materiale granulato degli organuli citoplasmatici, in particolare, oltre al costituente principale rappresentato dall' α -sinucleina fosforilata (a livello di Ser129), sono presenti molte altre proteine, tra cui ubiquitina, tau, LRRK2, DJ-1, p25 α , GFAP e MBP. Al microscopio ottico sono debolmente eosinofile.

Per quanto riguarda le altre inclusioni, le NCI consistono in reticoli di filamenti di 18-28 nm associati a granuli disposti in modo lasso e casuale (similmente alle GCI); le NNI sono composte, invece, da strutture fibrillari densamente impaccate che formano dei fasci (25,30,31).

I corpi di Papp-Lantos e la neurodegenerazione sono diffusi sia nella sostanza bianca che in quella grigia, riflettendo la natura multisistemica della patologia. A livello della sostanza grigia, è presente una maggiore densità di GCI negli strati efferenti della corteccia motoria e dell'area motoria supplementare, nelle aree dorsolaterali dello striato, nel globo pallido, nella formazione reticolare e nella base pontina. Per quanto riguarda la sostanza bianca, sono egualmente afflitte la zona sottostante la corteccia motoria, la capsula interna ed esterna, il peduncolo cerebellare medio e la sostanza bianca cerebellare. Come per l'astrogliosi, la densità di GCI è maggiore nelle zone in cui c'è lieve-moderata perdita di mielina (e minore nelle zone con severo pallore mielinico), indicando che la neurodegenerazione non è un prerequisito per lo sviluppo dei corpi di Papp-Lantos e che altri fattori potrebbero contribuire alla degenerazione neuronale in certe regioni, oppure che suddette regioni siano precocemente afflitte dalla patologia (un esempio può essere la substantia nigra che presenta una severa degenerazione neuronale, ma una relativamente bassa densità di GCI) (26,27).

In base al rapporto tra densità di GCI e severità di danno neuronale, oltre alla relazione tra patologia e durata della malattia alla morte, uno studio ha dimostrato la possibilità che l'MSA di tipo OPCA (atrofia olivo-ponto-cerebellare) possa avere un decorso variabile rispetto all'MSA di tipo SND (degenerazione striatonigrale). Si è dimostrato che le GCI contribuiscono maggiormente alla patogenesi dell'atrofia olivo-ponto-cerebellare. Inoltre, si è concluso che i corpi di Lewy non rappresentano un processo primario nell'MSA.

A livello clinico-patologico, il fenotipo SND dimostra una grave bradicinesia, mentre nel fenotipo OPCA c'è una maggior frequenza di segni cerebellari; ciò dimostra che il fenotipo clinico è dipendente dalla distribuzione patologica nei gangli della base e nel cervelletto. Questo studio dimostra anche che la patologia a livello del putamen è responsabile della scarsa risposta alla levodopa nell'MSA. Infine, sembra che la soglia di gravità per il parkinsonismo clinico sia inferiore rispetto a quella per l'atassia, a spiegare il motivo della predominanza del parkinsonismo rispetto all'atassia nell'MSA (32).

L'importanza delle GCI è dimostrata dal fatto che la presenza diffusa di inclusioni citoplasmatiche α -sinucleina positive risulta essere un criterio neuropatologico per

la diagnosi post-mortem dell'MSA, a valore della loro unicità in questo ambito anche senza una chiara storia clinica. È importante dimostrare la positività immunohistochimica all' α -sinucleina dato che le altre patologie neurodegenerative possono comunque presentare GCI che sono tuttavia positive per tau (es. PSP e CBD) (26).

Stadiazione neuropatologica

Sulla base di una valutazione semiquantitativa delle quattro principali caratteristiche, ossia atrofia, degenerazione neuronale, gliosi e quantità di GCI, nel 2005 è stato proposto un sistema per la valutazione standardizzata dello spettro neuropatologico dell'MSA (considerando che i fenotipi clinici MSA-P e MSA-C correlano rispettivamente con i pattern neuropatologici di degenerazione striatonigrale e di atrofia olivo-ponto-cerebellare: MSA-P \rightarrow SND; MSA-C \rightarrow OPCA) (27,33).

Per quanto riguarda la degenerazione striatonigrale (SND), le quattro caratteristiche vengono valutate in otto regioni anatomiche: putamen (ventromediale e dorsolaterale), nucleo caudato (anteriore e posteriore), globo pallido (mediale e laterale) e substantia nigra pars compacta (mediobasale e dorsolaterale). Ciascuna caratteristica è classificata come segue: assente (0), minima (\pm), lieve (+), moderata (++) e severa (+++). In base a ciò si distingue:

- SND di grado I: degenerazione ristretta alla substantia nigra, è riferita come pattern con “minimi cambiamenti”;
- SND di grado II: degenerazione della substantia nigra che interessa lievemente anche il putamen;
- SND di grado III: interessamento severo della substantia nigra e del putamen accompagnato da lieve coinvolgimento del caudato e del globo pallido (27,33).

Lo stesso sistema di punteggi si può applicare all'atrofia olivo-ponto-cerebellare (OPCA) valutando quattro regioni: nuclei pontini, cervelletto, oliva inferiore e la substantia nigra pars compacta, per cui si distingue:

- OPCA di grado I: diffuse GCI associate a una lieve perdita di cellule di Purkinje e pallore mielinico a livello cerebellare; spesso si può trovare da una lieve a severa degenerazione della substantia nigra.

- OPCA di grado II: minima atrofia cerebellare associata a lieve perdita di cellule di Purkinje e demielinizzazione; lieve gliosi e degenerazione neuronale a livello della base pontina e del nucleo olivare inferiore.
- OPCA di grado III: severa degenerazione cellulare cerebellare (sia nel verme che negli emisferi), dei nuclei pontini e del nucleo olivare inferiore (27,33).

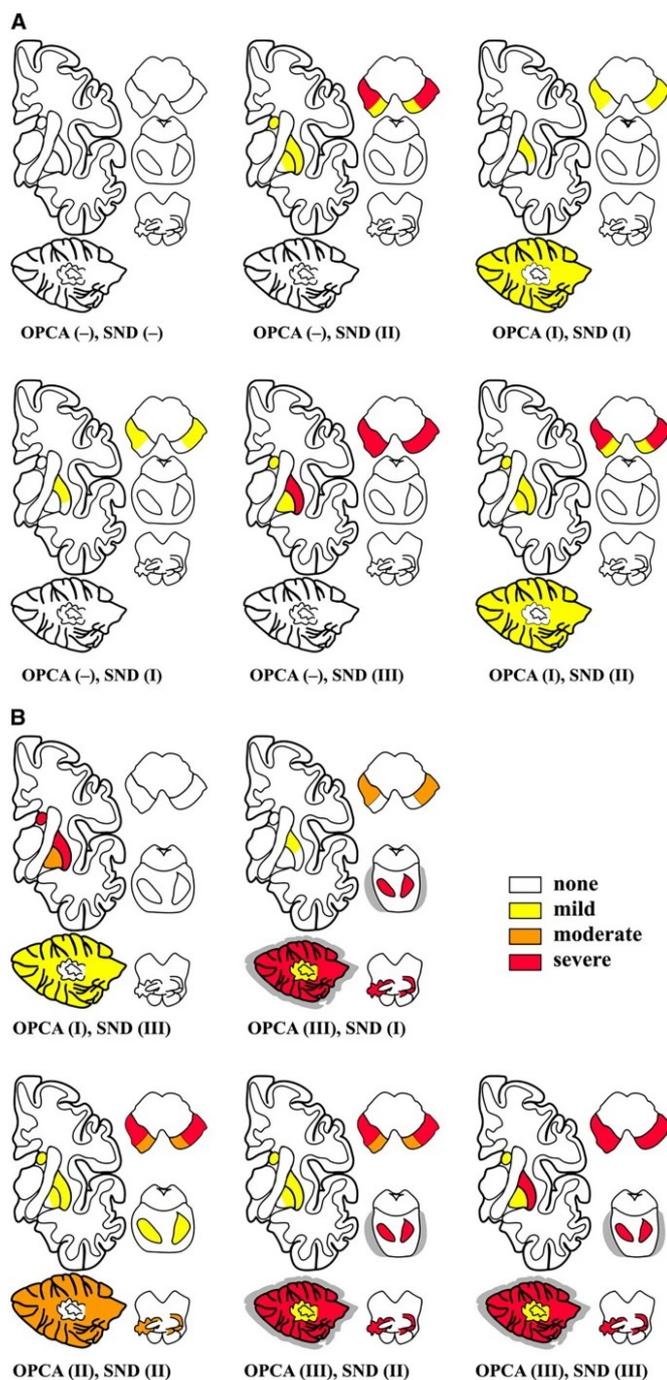


Figura 3 – Stadiazione neuropatologica dell'atrofia multisistemica (Da Jellinger KA et al., *Grading of neuropathology in multiple system atrophy: Proposal for a novel scale*) (33).

La combinazione dei diversi gradi di SND e OPCA permette l'identificazione di diversi pattern neuropatologici (Figura 3). Questi sistemi correlano bene con le iniziali presentazioni cliniche dell'MSA e con la sua severità, tuttavia, non prendono in carico il progressivo interesse dei nuclei autonomici e non sono in grado di predire la progressione patologica e la diffusione patogena dell' α -sinucleina (27).

Varianti patologiche

L'MSA presenta un ampio spettro di presentazione sia a livello clinico che patologico; spesso queste varianti non vengono adeguatamente rappresentate, ma possono avere un ruolo cruciale per capire la patogenesi della malattia.

Con MSA a "minimi cambiamenti" (MC-MSA, *minimal changes MSA*) si identifica un insolito sottotipo di MSA caratterizzato da GCI e neurodegenerazione ristretti alla substantia nigra e locus coeruleus per quanto riguarda l'MSA-P (34), ristretti al sistema olivo-ponto-cerebellare con maggior severità alla base del ponte per quanto riguarda l'MSA-C (35). Il significato di questa variante è in discussione, però sembra che questo pattern rappresenti un marcatore patologico di forme più aggressive e rapidamente progressive di MSA, forse per l'interesse precoce e severo di alcune aree chiave. Nei pazienti con MSA a esordio precoce (YOMSA), questi pattern sono più comuni rispetto all'esordio tardivo (LOMSA) (27,34).

L'MSA "incidentale" rappresenta la presenza accidentale di GCI in paziente senza segni o sintomi di MSA, che può indicare un fenomeno correlato all'età a cui non consegue necessariamente la malattia clinica conclamata; è argomento di discussione se queste GCI debbano essere considerate una scoperta casuale o un marcatore premonitore di MSA (25,27).

Sono stati descritti casi di MSA "preclinica" caratterizzati da diffusione di GCI in una distribuzione compatibile con MSA clinicamente evidente, ma con inclusioni neuronali limitate a ponte e oliva inferiore e degenerazione neuronale limitata alla substantia nigra. Per via della discrepanza di frequenza, ci sono dubbi nel considerare anche queste condizioni come MSA "incidentali" (26).

Questi tre pattern sono molto importanti per comprendere le fasi iniziali e l'eziologia dell'MSA (26).

È stata descritta anche una rara variante caratterizzata da una lunga durata della patologia (oltre i 15 anni) che viene definita MSA “benigna” (36,37). I casi riportati dimostrano un accumulo diffuso di GCI con severa degenerazione striatonigrale e/o olivo-ponto-cerebellare e minimo interesse dell’amigdala e del sistema limbico, oltre a un’assenza di patologia da corpi di Lewy o da β -amiloide. Clinicamente questi pazienti presentavano insufficienza autonoma a esordio molto tardivo e l’insorgenza di disturbi autonomici segnava una progressione più rapida della patologia (27), indicando che la sopravvivenza prolungata sia legata all’esordio tardivo della sintomatologia autonoma, indipendentemente dal sottotipo dell’MSA (25,37).

Concomitanti patologie

Diversi casi studiati a livello neuropatologico hanno dimostrato che l’MSA si può presentare in concomitanza con altre patologie.

Nel 10-23% dei casi, si è riscontrata la presenza di corpi di Lewy (segno distintivo di PD e DLB), che tuttavia non si sono mai trovati negli MSA in Giappone (38). Esiste una rara associazione di MSA in fase iniziale con diffusa presenza di corpi di Lewy denominata “variante transizione” dell’atrofia multisistemica e la malattia di Parkinson (25).

È stata descritta una sinucleinopatia con caratteristiche sia dell’MSA che della DLB, mentre la presenza di MSA e PSP è molto rara (25).

Nonostante si pensasse che l’incidenza e la progressione correlata all’età delle patologie simil-Alzheimer nell’MSA fosse paragonabile ai controlli di pari età (39), un recente studio ha dimostrato che la copatologia da β -amiloide risulta essere la principale nell’MSA con una percentuale intorno al 38%; la controparte clinica di questa scoperta è ancora da valutare (40).

Raramente è stata segnalata anche la copresenza di una taupatia, con aggregati di proteina tau localizzati soprattutto nel citoplasma gliale, ma non in concomitanza delle GCI α -sinucleina positive, che suggerisce il fatto che tau possa essere legata a una pathway degenerativa diversa da quella indotta dall’ α -sinucleina (25,27). Recentemente è stato valutato che la glia granulare tau-positiva nel putamen è una caratteristica patologica dell’MSA; inoltre, è stata postulata un’associazione tra inclusioni tau-gliali e la sopravvivenza prolungata della malattia mediante alimentazione con sondino a lungo termine e/o tracheotomia a lungo termine (41).

Nonostante le sostanziali differenze eziologiche e neuropatologiche tra MSA e sclerosi multipla, sono presenti multiple sovrapposizioni patologiche tra i due disturbi con simili meccanismi di base; tuttavia, la loro occorrenza concomitante è rara (25).

Infine, le proteinopatie TDP-43, come la degenerazione lobare frontotemporale (FTLD), sono rare nell'MSA e si verificano principalmente a livello del lobo temporale mediale; similmente, patologie legate ad aggregati "fused in sarcoma" (FUS), come la sclerosi laterale amiotrofica (SLA), non sono tipicamente osservabili nell'MSA (27).

Tabella I - Schema semplificato dell'eterogeneità dell'MSA che può essere essenzialmente divisa in presentazione "tipica" e "atipica", quest'ultima divisa in più varianti. Adattata da Kurt A. Jellinger, *Heterogeneity of Multiple System Atrophy: An Update* (42).

VARIANTE DI MSA	CARATTERISTICHE
MSA tipica	Classica presentazione neuropatologica con classica sintomatologia. All'esordio può presentare prevalentemente sintomi parkinsoniani (MSA-P) o cerebellari (MSA-C)
MSA ad esordio giovanile (YOMSA)	Rara (0.9%), esordio precedente ai 40 anni, non ci sono caratteristiche cliniche distintive, lenta progressione clinica
MSA ad esordio tardivo (LOMSA)	Sintomi iniziali dopo i 75 anni, di solito è più frequente il fenotipo parkinsoniano, prognosi peggiore, rapida progressione clinica
MSA "benigna"	Prolungata sopravvivenza, lenta progressione soprattutto iniziale dei sintomi parkinsoniani con un rapido deterioramento allo sviluppo dei sintomi disautonomici
MSA a "minimi cambiamenti"	GCI e neurodegenerazione ristretti a substantia nigra e locus coeruleus, forma aggressiva
MSA familiare	Collegato ad alcune mutazioni genetiche autosomiche dominanti o recessive
MSA con DLB	Coesistenza di MSA e demenza da corpi di Lewy con sintomatologia sovrapposta tra le due patologie
MSA con grave atrofia dell'ippocampo	Si può presentare con sintomi corticali, inclusa la demenza frontotemporale
MSA con disfunzione cognitiva/demenza	Disfunzione cognitiva nel 17-47%, demenza molto rara, più severa in MSA-P
MSA con insolita taupatia	Overlap dei sintomi, maggior neurodegenerazione
MSA con distonia	Nel 40% presentano anterocollo e distonia unilaterale degli arti, più frequente in MSA-P
MSA con mioclono spinale	Prevalenza dal 17 al 95%
MSA coniugale	Molto raro, si sviluppa in una coppia coniugale forse per fattori di rischio in comune

Fisiopatologia

Nonostante la presentazione clinica sembra essere espressione di una diffusa neurodegenerazione, è maggiormente supportata l'idea che l'MSA sia inizialmente un'oligodendrogliopatia con successiva neurodegenerazione. L'elemento principale nell'indurre disfunzione a livello della glia risulta essere l'accumulo di α -sinucleina, tuttavia il meccanismo alla base e la sorgente di questa proteina negli oligodendrociti non è del tutto nota (27). Di seguito verrà analizzato soprattutto il ruolo dell' α -sinucleina, chiarendo anche gli altri meccanismi patogenici, quali la disfunzione mitocondriale, la neuro-infiammazione, la compromissione autofagica, la disfunzione del proteasoma e la disregolazione del metabolismo del ferro (43).

α -sinucleina

L' α -sinucleina (aSyn) è una proteina di 140 amminoacidi e 14 kDa originariamente identificata in associazione alle vescicole sinaptiche dei nervi presinaptici terminali. È molto abbondante a livello cerebrale, ma anche in altri tessuti, tra cui le cellule ematopoietiche. Insieme alla β - e la γ -sinucleina fa parte del gruppo delle sinucleine (44). Quando presente negli oligodendrociti dei pazienti con MSA, ha subito modifiche post traduzionali (ossidazione, fosforilazione, nitratura ...) alimentate dallo stress ossidativo (25).

La funzione fisiologica di questa proteina non è completamente nota, ma sembra interagire con le membrane cellulari, tra cui quella mitocondriale; influenzare direttamente o indirettamente la quantità di proteine SNARE, coinvolte nei processi di trasporto vescicolare, modulando anche il rilascio neuronale di dopamina; bloccare il traffico vescicolare tra reticolo endoplasmatico e apparato di Golgi; contribuire insieme allo chaperone CSP α nel prevenire la neurodegenerazione (45–47).

Quando si multimerizza, si lega attraverso il dominio N-terminale ai fosfolipidi acidi e la sua struttura diventa α -elicoidale dimostrando di poter rimodellare le membrane; in particolare, la sua propensione ad aggregarsi che converte la sua conformazione fisiologica in patologica, forma fibrille e poi inclusioni che interferiscono con il traffico vescicolare e le funzione degli organelli neuronali. È stato scoperto che i mitocondri si frammentano in seguito all'espressione di α -sinucleina, nonostante questa si concentri soprattutto a livello dei terminali assonici, mentre i mitocondri si localizzano prevalentemente nei corpi cellulari e

nei dendriti; è possibile che l' α -sinucleina si localizzi nei mitocondri quando risulta essere sovra-espressa (48,49).

Recenti studi post-mortem hanno dimostrato la presenza di aSyn mRNA negli oligodendrociti, indicando il fatto che, nell'MSA, l'aSyn delle GCI è nativamente espressa dalle cellule gliali (e la sua concentrazione diminuisce con la maturazione degli oligodendrociti (27)). Tuttavia, ciò non esclude altri possibili meccanismi quali la diffusione transmembrana passiva o tramite endocitosi (5).

È stata osservata la diffusione di oligomeri di aSyn dall'ambiente esterno alla cellula, mediante meccanismi di cross-talk tra neurone-neurone e neurone-glia (50), oltre al fatto che si è visto che l'aSyn nell'MSA presenta una conformazione differente con una maggior potenzialità di diffusione rispetto a quella della malattia di Parkinson (49). L'aSyn presenta proprietà simili ai prioni per quanto riguarda la diffusione dei suoi aggregati con un meccanismo di propagazione autotemprante. Nonostante questa caratteristica possa giustificare l'idea che la progressione della neurodegenerazione nell'MSA rifletta la diffusione da cellula a cellula dell'aSyn, ciò non è sufficiente per definirla come una malattia da prioni. Nei modelli sperimentali si osserva una diffusione trans-neuronale, ma non ci sono prove di infettività e trasmissione inter-specie e inter-umana (27,49).

I meccanismi che portano all'accumulo patologico di aSyn e la formazione di GCI rispetto ai corpi di Lewy non sono ben noti, tuttavia, è stata ipotizzata l'esistenza di diversi conformatori strutturali dell'aSyn che ne delineano le proprietà. In particolare, diversi conformatori mostrano diversa tossicità, potenziale di attivazione oligomerica e polimerizzazione di aSyn o attività di attivazione della polimerizzazione eterologa verso tau (gli oligomeri di aSyn ripiegata incorrettamente possono promuovere la polimerizzazione di tau) (27).

Sostanzialmente, in base alle precedenti considerazioni, le principali ipotesi sulla sovra-espressione di aSyn nell'MSA sono:

- Riattivazione della trascrizione del gene SNCA codificante per l'aSyn seguita, quindi, da una maggior traduzione proteica. Tuttavia, non ci sono sufficienti dati da dimostrarne la significatività e spesso questi sono contrastanti; dai recenti studi, però, sembra esserci un'espressione basale negli oligodendrociti con una tendenza di aumento nei pazienti con MSA.

È improbabile che questo sia l'unico meccanismo che porta all'insorgenza della malattia. È importante anche il ruolo dei regolatori pre- e post-trascrizionali di SNCA (43).

- aSyn non direttamente prodotta negli oligodendrociti, ma assorbita dai neuroni e dall'ambiente extracellulare. Gli oligodendrociti sono in grado di interiorizzare monomeri di aSyn e in misura minore direttamente le fibrille. Il meccanismo preciso non è chiarito, ma è coinvolta la diffusione passiva attraverso la membrana e l'endocitosi (dimostrato dal fatto che una maggior espressione di dinamina, GTPasi responsabile dell'endocitosi, favorisce l'assorbimento di aSyn negli oligodendrociti (51)) ed è stato anche suggerito un meccanismo di interiorizzazione clatrina-dipendente (43,52).
- Propagazione di aSyn simil-prionica per via delle proprietà dello specifico ceppo di aSyn particolarmente aggressivo.
- Degradazione proteica alterata che ne determina l'accumulo: sembra avere un ruolo la disfunzione autofagica e proteasomica nella patologia.
- Accumulo innescato da specifiche proteine oligodendrogliali. In particolare, si è osservato che la coespressione di p25 α /TPPP e aSyn ne migliora l'aggregabilità (43).

Nessuna di queste ipotesi spiega da sola il meccanismo di accumulo, ragionevolmente è possibile che abbiano tutte un'importanza nel determinare l'effetto finale (43).

Per quanto riguarda p25 α , questo è un importante stabilizzatore dell'integrità della mielina e la sua rilocalizzazione dalla mielina al citoplasma e al nucleo oligodendrogliale precede l'aggregazione di aSyn. Questo è seguito da aumento del volume cellulare degli oligodendrociti e anomala sovra-espressione e uptake di aSyn. L'interazione tra p25 α e aSyn promuove la fosforilazione a livello della Serina 129 e l'aggregazione della proteina inizialmente in aggregati insolubili e successivamente in inclusioni citoplasmatiche gliali. La formazione di GCI interferisce a sua volta con il supporto neuronale e attiva la microglia quiescente (inoltre, la coespressione di aSyn e p25 α stimola il recettore FAS e l'attivazione della caspasi-8, promuovendo il meccanismo apoptotico (53)). Di conseguenza, gli oligodendrociti danneggiati rilasciano α -sinucleina mal ripiegata nello spazio

extracellulare che può essere intercettata dai neuroni circostanti formando nuove inclusioni. La neuro-infiammazione, la perdita del supporto neurotrofico oligodendrogliale e la disfunzione neuronale promuovono la morte del neurone e la successiva astrogliosi reattiva. A questo punto, le specie tossiche di α -sinucleina possono diffondersi alle altre aree cerebrali connesse portando a un interesse multisistemico tipico dell'MSA (1).

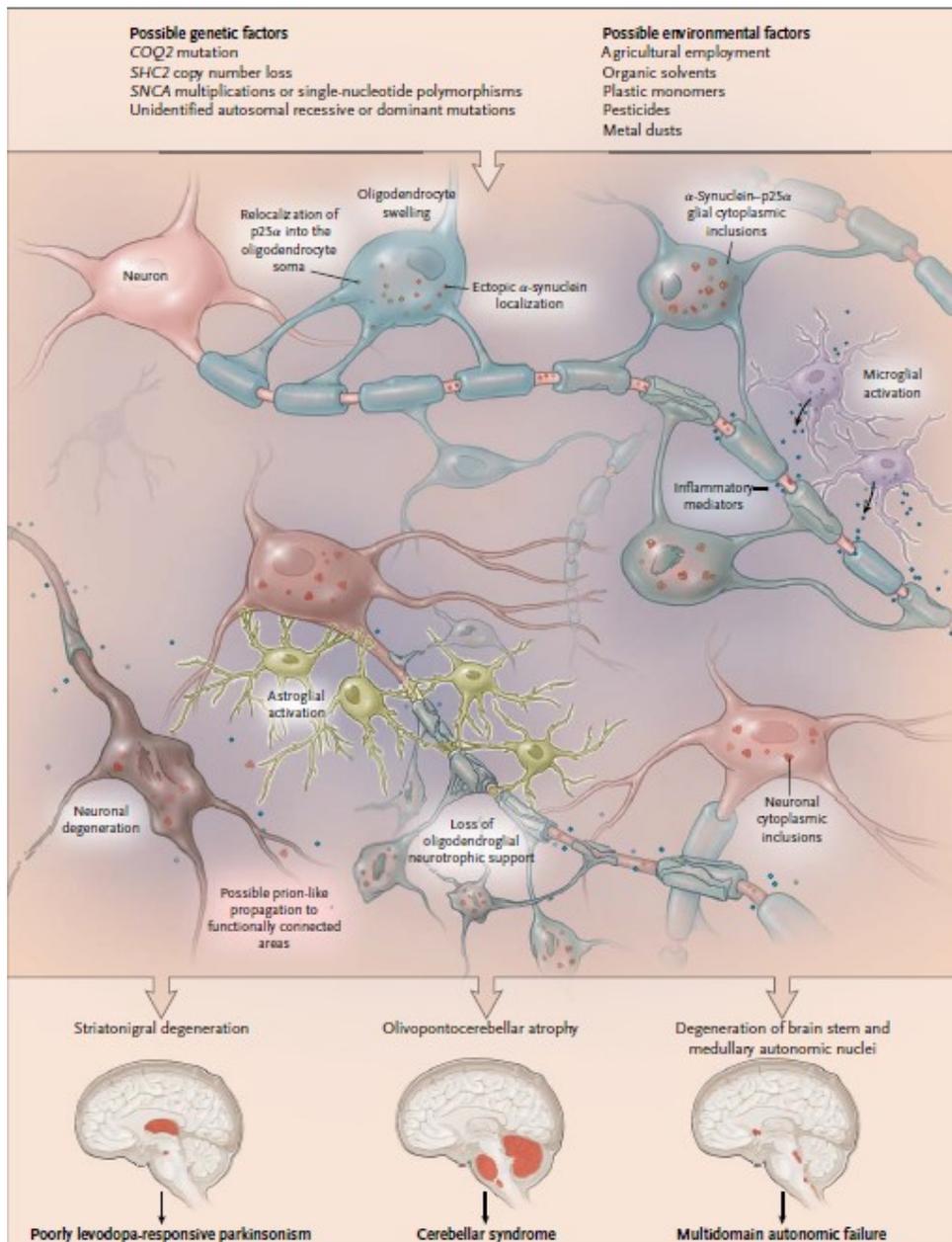


Figura 4 – Meccanismo patogenetico ipotetico dell'atrofia multisistemica (da Fanciulli et al., Multiple-system atrophy) (1)

Mitocondri

L'importanza dei mitocondri in diverse patologie neurodegenerative è cruciale e questo ruolo è convalidato soprattutto nella malattia di Parkinson. Per quanto riguarda l'MSA, si osserva una ridotta attività del complesso I nel muscolo scheletrico, ma non nella substantia nigra e, sempre in questa zona, non si è riscontrato un aumento di arrangiamenti o delezioni del DNA mitocondriale.

A seguito di un'iniziale visione deludente, l'interesse mitocondriale ha guadagnato maggior interesse in seguito alla descrizione della mutazione di COQ2 nei casi sporadici e familiari di MSA, gene codificante l'enzima che catalizza una delle ultime reazioni per la biosintesi di CoQ10 (coenzima Q₁₀ o ubiquinone, antiossidante e cofattore nella produzione mitocondriale di ATP). CoQ10 è situato nella membrana mitocondriale interna e trasferisce gli elettroni dai complessi I-II al complesso III per il funzionamento della catena respiratoria. Sono emersi risultati contrastanti su COQ2 soprattutto in base alle popolazioni studiate (per esempio, su quelle cinesi e giapponesi è stata confermata la scoperta, mentre su europei e nordamericani no), per cui si è studiato il ruolo di CoQ10 nell'MSA indipendentemente dalle mutazioni di COQ2.

È stata evidenziata una riduzione del livello di CoQ10 selettivamente nel cervelletto, nel liquido cerebrospinale e nel plasma/siero. Analisi sui fibroblasti e i globuli periferici hanno suggerito un aumento della massa mitocondriale soprattutto nel sottotipo cerebellare dell'MSA (43,54–56).

Grazie ad altri studi, si è dimostrato il coinvolgimento dei mitocondri nell'MSA, la cui disfunzione determina un aumento dello stress ossidativo e dell'apoptosi. In conclusione, la compromissione dei mitocondri ha un ruolo cruciale nell'MSA e contribuisce alla disfunzione bioenergetica, al danno cellulare e alla neurodegenerazione, tuttavia, non è ancora ben localizzata la sua posizione a livello dello schema della patogenesi (43).

Altri meccanismi patogenetici

Anche il ruolo dell'infiammazione è importante ed è comunemente rilevabile l'attivazione della microglia in questi pazienti, tuttavia, anche in questo caso il meccanismo sottostante non è chiaro, ma partecipa anche l'aSyn. L'attivazione microgliale è correlata alla degenerazione neuronale a livello della substantia nigra, inoltre si osserva un'espressione maggiore di iNOS (ossido nitrico sintasi inducibile). L'attivazione della cascata infiammatoria potrebbe essere secondaria

all'accumulo di aSyn o alla disfunzione mitocondriale, tuttavia, contribuisce a molti dei processi dannosi osservabili nell'MSA determinando l'importanza di strategie terapeutiche antinfiammatorie soprattutto nelle prime fasi di malattia (26,43,57).

Va considerato anche il coinvolgimento dell'autofagia nella malattia. La scoperta di una sovra-regolazione del microRNA-101 nello striato e la sua correlazione con un deficit autofagico (quindi un accumulo di aSyn) ha portato all'ipotesi che la disregolazione del microRNA-101 contribuisca alla patogenesi. Anche il proteasoma è alterato e ciò peggiora le caratteristiche cliniche e neuropatologiche (43,58). Un recente studio ha dimostrato che AMBRA1 (*Autophagy/beclin regulator 1*, proteina localizzata nel citosol e nei mitocondri con ruolo autofagico) è associata all'accumulo di aSyn sia a livello neuronale che oligodendrogliale. L'accumulo di aSyn disfunzionale può alterare la funzione autofagica e AMBRA1 risulta essere una nuova proteina legante aSyn con ruolo nella patogenesi. Questo può avere risvolti futuri sia a livello terapeutico che di sorveglianza (potrebbe essere un nuovo biomarcatore) (59).

È stato proposto un ruolo dell'alterazione del metabolismo lipidico e della formazione mielinica supportato dai livelli alterati di sfingomielina, sulfatide e galattosilceramide nella sostanza bianca dei pazienti con MSA. Inoltre, l'accumulo di aSyn influisce negativamente sulla maturazione dei precursori degli oligodendrociti e sul processo di mielinizzazione (43,60).

La disregolazione del metabolismo del ferro, l'infiammazione e l'accumulo di aSyn sono strettamente correlati. Si ritiene che il ferro induca lo stress ossidativo e attivi una reazione microgliale favorendo un processo infiammatorio e l'aggregazione di aSyn attraverso modifiche post-traduzionali e conformazionali (43).

Per concludere, si può affermare che sia i neuroni che gli oligodendrociti possono essere primariamente affetti e il danno di una cellula contribuisce alla degenerazione dell'altra, per cui un'espressione proposta che può descrivere molto bene l'MSA è quella di "sinucleinopatia oligodendroglioneuronale (25)".

La sequenzialità temporale è ancora oscura, ma è intrigante pensare all'MSA come una patologia multifattoriale data da un effetto combinato di più fattori (*multiple hits disease*). È possibile che fattori di rischio genetici, epigenetici e ambientali giochino un ruolo sinergico nell'insorgenza dell'MSA. Tuttavia, è necessario lavorare ancora molto nell'ambito patogenetico, soprattutto per identificare nuove strategie terapeutiche efficaci (43).

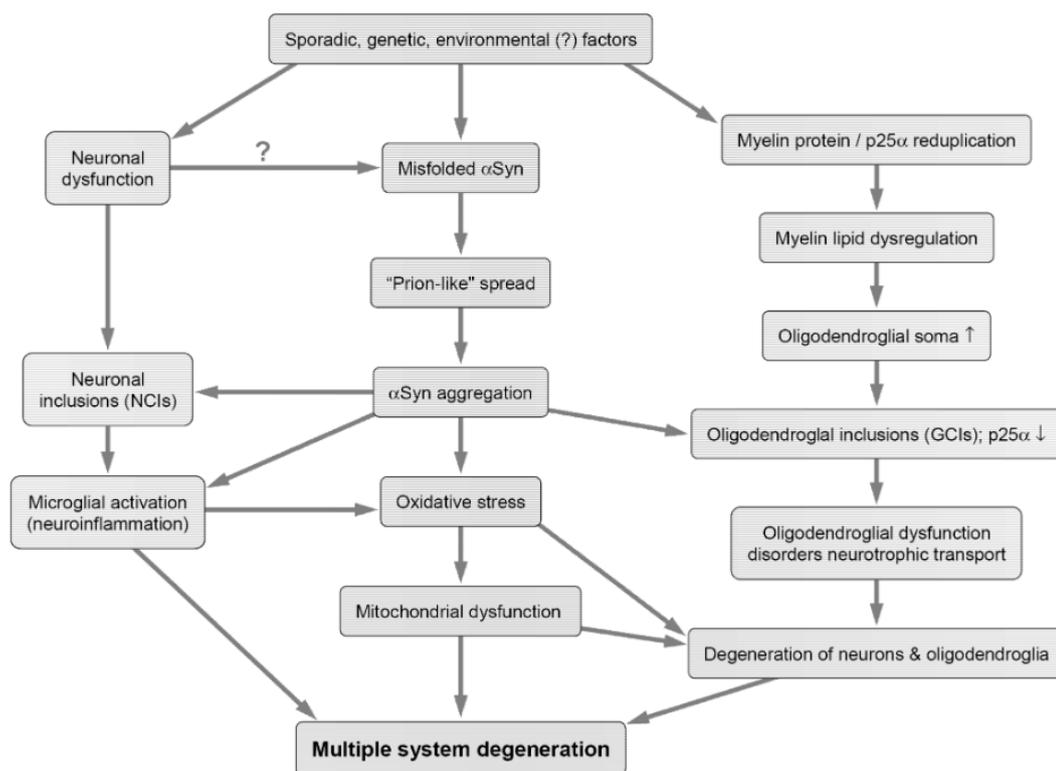


Figura 5 – Schema ipotetico della patogenesi dell'atrofia multisistemica secondo le teorie attuali (Da Kurt A. Jellinger, *Heterogeneity of Multiple System Atrophy: An Update*) (42).

Fisiopatologia dei sintomi

Il parkinsonismo nell'MSA è il risultato di un processo degenerativo complesso e variabile che colpisce progressivamente il tratto striatonigrale, lo striato e le proiezioni striatali efferenti del circuito della via diretta e via indiretta.

La via diretta ha inizio dai neuroni glutamminergici corticali che proiettano allo striato attivandolo, successivamente al globo pallido segmento interno (GPi) e alla substantia nigra pars reticulata (SNr) inibendoli e infine ai nuclei motori del talamo (che verrebbero inibiti dai neuroni del globo pallido e della substantia nigra) che proietta poi a livello corticale. Il risultato finale della doppia inibizione

è l'eccitazione di talamo e corteccia facilitando il movimento volontario e involontario (Figura 6).

La via indiretta è parallela e comprende anche il globo pallido segmento esterno (GPe) e il nucleo subtalamico di Luys (STN). In questo caso, come osservabile nella Figura 6, i neuroni GABAergici dello striato inibiscono il GPe che inibirebbe il GPi attraverso due vie (una diretta e una attraverso il STN), per cui si ha una doppia inibizione e quindi un'attivazione del GPi che va a inibire il talamo. L'effetto finale è quello dell'inibizione della corteccia motoria e quindi l'inibizione dei movimenti antagonisti (61).

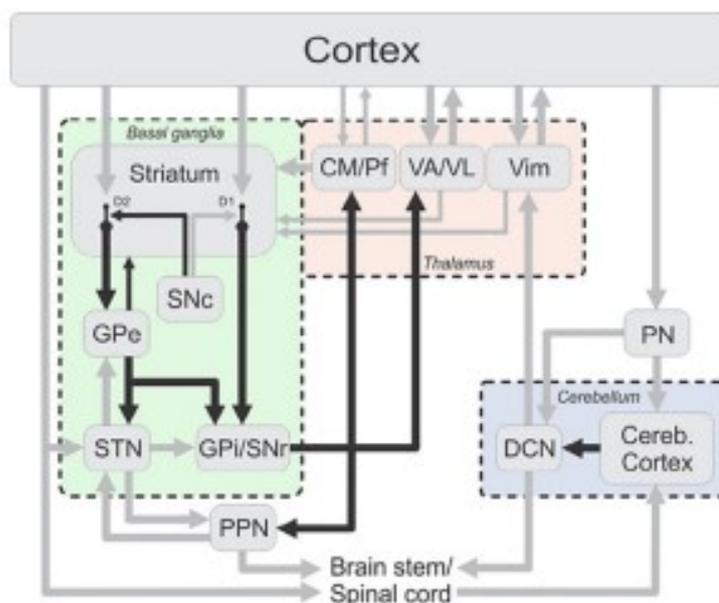


Figura 6 – Circuito della via diretta e indiretta. Nota: D1: recettore della dopamina sottotipo D1-like; D2: recettore della dopamina sottotipo D2-like; CM/Pf: Nuclei Centromediano e Parafascicolare del talamo; VA/VL: Nuclei Ventrale Anteriore e Ventrale Laterale del talamo; Vim: Nucleo Ventrale intermedio mediale del talamo; SNc: Substantia Nigra pars compacta; GPe: Globo Pallido segmento esterno; STN: Nucleo Subtalamico di Luys; GPi: Globo Pallido segmento interno; SNr: Substantia Nigra pars reticulata; PPN: Nucleo Peduncolo Pontino; PN: Nuclei Pontini; DCN: Nuclei Cerebellari Profondi (Da Thomas Wichmann, *Changing Views of the Pathophysiology of Parkinsonism*) (62).

Nell'MSA si ha un'alterazione di questo circuito fisiologico per via della patologia, in particolare il globo pallido segmento esterno è spesso colpito. Il grado di reattività dopaminergica nei diversi pazienti e nei diversi stadi della malattia è correlata alla complessa degenerazione patogenetica che può coinvolgere diversi siti portando all'alterazione del sistema extrapiramidale e alla sintomatologia legata (61).

Per quanto riguarda i sintomi cerebellari, in breve l'atrofia cerebellare dovuta alla patologia risulta soprattutto in una diffusa perdita di cellule di Purkinje e deterioramento delle vie afferenti ed efferenti cerebellari. Generalmente, il cervelletto presenta diverse funzioni, quali la regolazione della motricità posturale attraverso un sistema di feedback, correzione degli errori per garantire un'adeguata coordinazione motoria, traduzione di un piano motorio in programma motorio trasferibile alla corteccia per la sua esecuzione. Quindi, una sua alterazione determina atassia cerebellare caratterizzata da difficoltà nell'equilibrio, della coordinazione e tremori (63).

Infine, l'insufficienza autonoma è determinata da lesioni patologiche a livello delle aree regolatorie autonome (ipotalamo, nucleo parabrachiale, zona reticolare intermedia della medulla, locus coeruleus e rafe), delle regioni parasimpatiche pre-gangliari (nucleo di Edinger-Westphal e il nucleo dorsale vagale), dei neuroni simpatici pre-gangliari e dei neuroni nei gangli autonomi paravertebrali. Ciò determina nell'MSA soprattutto disfunzione cardiovascolare, urogenitale, intestinale e sudomotoria (64).

La fisiopatologia dei sintomi dell'MSA è importante da valutare e studiare soprattutto per rilevare marcatori efficaci che possano distinguere attivamente un'alterazione delle vie coinvolte. Per esempio, gli indici morfometrici che verranno descritti successivamente sono imposti in modo da rilevare alterazioni delle vie cerebellari, del ponte o anche della medulla (sintomi disautonomici).

Clinica

L'MSA presenta una varietà di segni e sintomi, alcuni dei quali inclusi nei criteri diagnostici, mentre altri no anche se sono spesso osservati (es. disturbi del sonno). È importante identificare questi sintomi per avere una diagnosi precoce, tuttavia, spesso la diagnosi è ritardata perché questi segni e sintomi emergono gradualmente e nei primi anni sono sovrapponibili a quelli di altri parkinsonismi più comuni (es. Parkinson) (65,66).

I principali sintomi riguardano la sfera autonoma, sintomi motori (quadro di parkinsonismo prevalentemente in MSA-P e interesse cerebellare prevalentemente

in MSA-C) e altri sintomi (disturbi del sonno, deterioramento cognitivo, sintomi psichiatrici...).

Sintomi iniziali

I sintomi iniziali sono generalmente autonomici (senza differenze significative tra MSA-P e MSA-C) e precedono quelli motori che di solito appaiono entro circa 1 anno. Alla prima diagnosi, quasi l'80% dei pazienti presenta sintomi iniziali autonomici, spesso non riconosciuti come manifestazione della patologia neurodegenerativa.

Negli uomini il primo sintomo è frequentemente la disfunzione erettile, tanto che una sua assenza in pazienti con parkinsonismo o atassia cerebellare può essere una forte indicazione contro la diagnosi di MSA; tuttavia, le disfunzioni sessuali sono solitamente sottostimate soprattutto per quanto riguarda il sesso femminile.

Nello specifico, i sintomi iniziali più presenti in ordine di frequenza sono: disfunzione erettile, instabilità e capogiri posturali, comportamenti onirici violenti che suggeriscono un disturbo comportamentale in sonno REM, affaticamento dopo un esercizio e urgenza minzionale. Sono stati registrati anche sintomi respiratori notturni (apnea e russamento) e stridore laringeo. La disfunzione urinaria e l'ipotensione posturale sono molto più frequenti nell'MSA-P rispetto alle altre forme di parkinsonismo (1,65).

Non è presente iposmia o anosmia nei pazienti con MSA discriminandola dalla PD o DLB.

La diagnosi in base ai sintomi iniziali può risultare molto complicata per via della sovrapposizione con altri parkinsonismi e atassie, tuttavia, generalmente nell'MSA l'insufficienza autonoma è più severa e precede i sintomi motori (65).

Sintomi motori

I principali sintomi motori sono il parkinsonismo (predomina nell'80% delle MSA-P) e l'atassia cerebrale (principale sintomo motorio nel 20% delle MSA-C).

Il parkinsonismo caratterizza l'MSA-P e rappresenta una sindrome clinica contraddistinta da bradicinesia, rigidità muscolare (per aumento del tono extrapiramidale), tremore e instabilità posturale con difficoltà nella marcia e tendenza a cadere. Virtualmente, tutti i pazienti con MSA svilupperanno il parkinsonismo, indipendentemente dalla presentazione iniziale. Generalmente, la

presentazione motoria è bilaterale e simmetrica, ma può anche essere asimmetrica in modo marcato. Il tremore a riposo tipico del Parkinson (“a contar monete”) è insolito nell’MSA, mentre l’irregolarità posturale e il tremore d’azione con scatti sovrapposti si osservano in almeno il 50% dei pazienti con questa patologia.

Il parkinsonismo nell’MSA è rapidamente progressivo, scarsamente sensibile alla levodopa ed è spesso associato a più caratteristiche atipiche. In particolare, si ha una rapida progressione verso la sedia a rotelle entro 5 anni dall’esordio (“segno della sedia a rotelle”), tremore posturale a scatti e/o poliminimioclono, precoce instabilità posturale con difficoltà a deambulare e numerose cadute (caratteristica tipica del parkinsonismo atipico) (1,6,67).

L’atassia cerebellare predomina nella presentazione motoria dell’MSA-C ed è caratterizzata da andatura ampia e instabile, movimenti non coordinati degli arti, tremore d’azione e spontaneo e nistagmo posizionale o evocato dallo sguardo. Spasticità o debolezza piramidale mettono in dubbio una diagnosi di MSA, mentre iperreflessia e il segno di Babinski possono verificarsi nel 30-50% dei casi (1).

Altri sintomi motori che si associano all’MSA nel 16-42% dei casi sono: deformità posturali quali camptocormia, sindrome di Pisa e anterocollo sproporzionato (severa flessione in avanti del collo che interferisce con il mangiare, il parlare e la visione), distonia della mano o del piede.

Cadute ricorrenti, disfonia, disartria, sbavature e disfagia rappresentano caratteristiche di patologia avanzata (1,6).

I sintomi cerebellari e parkinsoniani possono presentarsi con un certo grado di sovrapposizione nell’MSA (19).

Sintomi non motori

L’insufficienza autonoma precoce e severa è una caratteristica principale dell’MSA. È caratterizzata da una disfunzione di diversi processi gestiti dal sistema nervoso autonomo, in particolare, i domini maggiormente affetti sono quello urogenitale e cardiovascolare.

Per quanto riguarda l’aspetto urogenitale si ha: disfunzione erettile (quasi sempre presente nei maschi e spesso come sintomo iniziale), iposensibilità genitale durante il rapporto sessuale e dispareunia nel sesso femminile, disfunzione urinaria (urgenza, incontinenza, nocturia, incompleto svuotamento vescicale e

incontinenza che può portare a severe infezioni urinarie) fino all'insufficienza urinaria che può essere mascherata dalla concomitante ipertrofia prostatica negli uomini o dalla lassità perineale nelle donne (per prolapsi o multipli travagli). Il 50% di questi pazienti va incontro a inutili procedure chirurgiche genitourinarie prima che venga effettuata una diagnosi corretta.

L'ipotensione ortostatica severa, definita come un'eccessiva caduta della pressione sistolica di 30 mmHg o della diastolica di 15 mmHg entro 3 minuti da quando si assume la posizione ortostatica, è la principale alterazione nell'insufficienza autonoma cardiovascolare. Si manifesta con ricorrenti sincopi, stordimento e vertigini, astenia, nausea, tremori, cefalea e dolore a livello del collo e delle spalle, ma può anche essere asintomatica. In metà dei pazienti è accompagnata da ipotensione postprandiale e ipertensione supina e notturna.

Altre caratteristiche disautonomiche sono: costipazione, anomalie pupillo-motorie (visione offuscata, secchezza oculare e raramente sindrome di Adie o di Horner) e insufficienza termoregolatoria con ipoidrosi fino ad anidrosi (1,6,68,69).

Non sembrano esserci differenze nella disfunzione autonoma tra MSA-P e MSA-C, tuttavia, in studi recenti si è osservata una differenza dopo cinque anni dalla prima valutazione, con i pazienti MSA-C che presentano un'ipotensione ortostatica leggermente peggiore (70).

Disturbi del sonno

Solitamente precedono i classici sintomi motori e includono il disturbo comportamentale del sonno in REM (RBD, *REM sleep behavior disorder*), stridore notturno presente nel 50% dei pazienti e più frequente nella malattia avanzata, insonnia, russamento, frammentazione del sonno, apnea ostruttiva del sonno, sindrome delle gambe senza riposo (RLS, *restless legs syndrome*) e sindrome da movimenti periodici degli arti (PLMS, *periodic limb movements syndrome*) (68,71).

Il corpo è solitamente atonico durante il sonno REM, ma in questi casi i pazienti possono muoversi molto durante i loro sogni.

RBD può essere considerato come un sintomo premonitore di un α -sinucleinopatia in evoluzione, per cui non è peculiare dell'MSA e interessa circa l'80-90% dei pazienti. La presenza di RBD può essere utile per la diagnosi differenziale tra MSA, atassia sporadica a insorgenza adulta e le taupatie. Rispetto alla malattia di Parkinson, le anomalie polisonnografiche sono più eclatanti e i

sintomi di RBD sembrano scomparire entro pochi anni dall'insorgenza dei sintomi neurologici (a causa della progressiva neurodegenerazione nelle strutture del tronco cerebrale responsabili dell'RBD) (6,68,71).

Deterioramento cognitivo e sintomi affettivi

Le disfunzioni cognitive non sono tipiche dell'MSA. Demenza o allucinazioni visive non sono coerenti con una diagnosi di MSA, propendono più per la DLB. Tuttavia, è stata riportata in circa un terzo dei casi la disfunzione a livello del lobo frontale con deficit di attenzione ed esecutivi, e in un 10-25% alterazioni a livello della memoria a breve e lungo termine. Sembra che l'MSA-C presenti *performance* peggiori per quanto riguarda i test di attenzione e di esecuzione. Le basi patogenetiche del deterioramento cognitivo nell'MSA potrebbero essere legate a un'interruzione del circuito striato-pallido-talamocorticale per via della massiva degenerazione della substantia nigra e del putamen. La precoce interruzione del circuito nell'MSA-C potrebbe spiegare le discrepanze tra i due fenotipi (1,6,70).

Per quanto riguarda i sintomi affettivi, possono ricorrere incontinenza emozionale (risate o pianti inappropriati al contesto) e cambiamenti comportamentali che includono depressione (tipicamente si avverte tristezza, disperazione, stanchezza e ridotta soddisfazione), ansia, apatia, attacchi di panico e ideazione suicidaria (1,6).

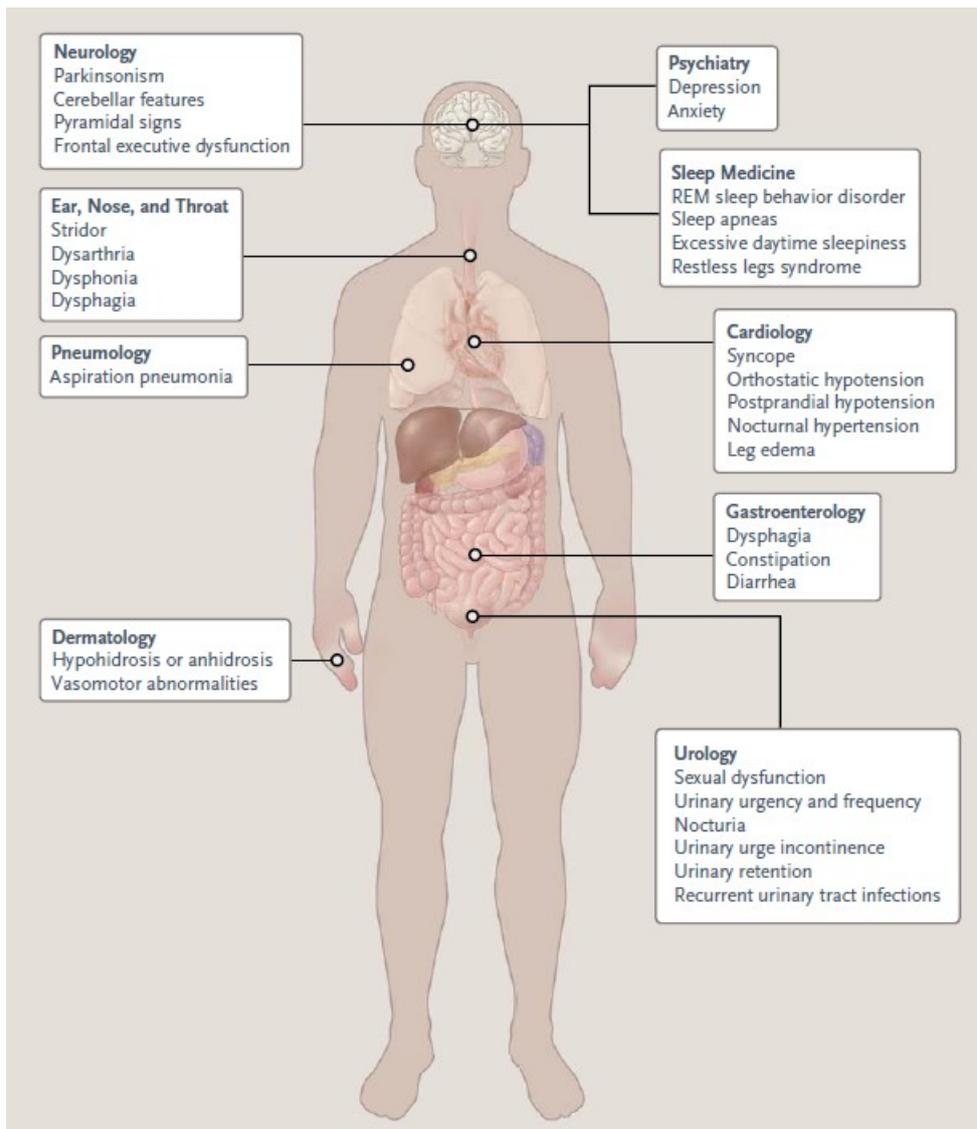


Figura 7 - Presentazione clinica sistemica dell'MSA (da Fanciulli et al., *Multiple-system atrophy*) (1)

Diagnosi

Criteri diagnostici

Per via delle sue manifestazioni mutevoli e sovrapponibili con altre patologie neurodegenerative, nell'MSA la misdiagnosi è frequente, soprattutto all'esordio e nei primi anni di malattia. Inoltre il 20% dei pazienti con diagnosi clinica di MSA risulta avere PD o DLB all'autopsia (1,67).

I criteri del *Second consensus statement on the diagnosis of multiple system atrophy* del 2008 classificano l'MSA in tre diversi gruppi diagnostici: MSA definita, probabile e possibile.

La diagnosi di MSA definita richiede il riscontro istologico post-mortem di GCI α -sinucleina positive diffuse e abbondanti, in associazione a degenerazione olivo-ponto-cerebellare o striatonigrale (Tabella II) (1,72)

Tabella II - Criteri per la diagnosi di MSA definita. Adattata da Gilman et al., Second consensus statement on the diagnosis of multiple system atrophy (72).

• Riscontro post-mortem di inclusioni citoplasmatiche α -sinucleina positive negli oligodendrociti
• Degenerazione olivo-ponto-cerebellare o striatonigrale

La diagnosi è di MSA probabile se si è in presenza di malattia sporadica e progressiva nell'adulto, con insorgenza dopo i 30 anni, in associazione a:

- Insufficienza autonoma severa con incontinenza urinaria e severa ipotensione ortostatica;
- Parkinsonismo scarsamente responsivo alla terapia con levodopa;
- Sindrome cerebellare.

In particolare, è necessaria la presenza del primo criterio di insufficienza autonoma più uno dei rimanenti (Tabella III) (1,72).

Tabella III - Criteri per la diagnosi di MSA probabile. Adattata da Gilman et al., Second consensus statement on the diagnosis of multiple system atrophy (72).

Malattia sporadica e progressiva nell'adulto (insorgenza >30 anni) caratterizzata da
• Insufficienza autonoma severa con incontinenza urinaria (incapacità a controllare il rilascio di urina e disfunzione erettile nei maschi) e severa ipotensione ortostatica (calo pressorio entro 3 minuti dall'ortostatismo di almeno 30 mmHg della sistolica e almeno 15 mmHg della diastolica) e
• Parkinsonismo (bradicinesia con rigidità, tremore o instabilità posturale) scarsamente responsivo alla terapia con levodopa) o
• Sindrome cerebellare (ataxia del cammino con disartria cerebellare, ataxia degli arti o disfunzione oculomotoria cerebellare)

La diagnosi di MSA possibile richiede la presenza di malattia sporadica e progressiva nell'adulto, con insorgenza dopo i 30 anni, caratterizzata da predominante parkinsonismo o sindrome cerebellare accompagnati da almeno un segno di insufficienza autonoma e da almeno una delle caratteristiche addizionali elencate nella Tabella V.

Quindi, per la diagnosi di MSA possibile è necessaria la presenza di uno dei primi due criteri in associazione ai rimanenti (Tabella IV) (1,72).

Tabella IV - Criteri per la diagnosi di MSA possibile. Adattata da Gilman et al., Second consensus statement on the diagnosis of multiple system atrophy (72).

Malattia sporadica e progressiva nell'adulto (insorgenza >30 anni) caratterizzata da
<ul style="list-style-type: none"> • Parkinsonismo (bradicinesia con rigidità, tremore o instabilità posturale) scarsamente responsivo alla terapia con levodopa) o
<ul style="list-style-type: none"> • Sindrome cerebellare (atassia del cammino con disartria cerebellare, atassia degli arti o disfunzione oculomotoria cerebellare) e
<ul style="list-style-type: none"> • Almeno un segno di insufficienza autonoma (urgenza minzionale non altrimenti spiegata, svuotamento vescicale frequente o incompleto, disfunzione erettile o calo pressorio ortostatico che non soddisfa i livelli per diagnosi di MSA probabile) e
<ul style="list-style-type: none"> • Almeno una delle caratteristiche aggiuntive elencate nella Tabella V

Tabella V - Caratteristiche aggiuntive di MSA possibile. Adattata da Gilman et al., Second consensus statement on the diagnosis of multiple system atrophy (72).

Possibile MSA-P o MSA-C
<ul style="list-style-type: none"> • Segno di Babinski con iperreflessia
<ul style="list-style-type: none"> • Stridore
Possibile MSA-P
<ul style="list-style-type: none"> • Parkinsonismo rapidamente progressivo
<ul style="list-style-type: none"> • Scarsa risposta alla levodopa
<ul style="list-style-type: none"> • Instabilità posturale entro tre anni dall'esordio motorio
<ul style="list-style-type: none"> • Atassia del cammino, disartria cerebellare, atassia degli arti o disfunzione oculomotoria cerebellare
<ul style="list-style-type: none"> • Disfagia entro cinque anni dall'esordio motorio
<ul style="list-style-type: none"> • Atrofia di putamen, peduncolo cerebellare medio, ponte o cervelletto alla RM
<ul style="list-style-type: none"> • Ipometabolismo di putamen, tronco encefalico o cervelletto alla PET-FDG
Possibile MSA-C
<ul style="list-style-type: none"> • Parkinsonismo (bradicinesia e rigidità)
<ul style="list-style-type: none"> • Atrofia di putamen, peduncolo cerebellare medio o ponte alla RM
<ul style="list-style-type: none"> • Ipometabolismo del putamen alla PET-FDG
<ul style="list-style-type: none"> • Denervazione presinaptica dopaminergica striatonigrale alla SPECT o PET

Inoltre, nella Tabella VI, vengono espresse alcune caratteristiche che supportano ulteriormente (*red flags*) o che non supportano la diagnosi di MSA (72).

Tabella VI - Caratteristiche che supportano e non supportano la diagnosi di MSA. Adattata da Gilman et al., *Second consensus statement on the diagnosis of multiple system atrophy* (72).

Caratteristiche a supporto	Caratteristiche non a supporto
• Distonia oro-facciale	• Tremore a riposo classico "a contar monete"
• Anterocollo sproporzionato	• Neuropatia clinicamente significativa
• Camptocormia (severa flessione anteriore del tronco) e/o sindrome di Pisa (severa flessione laterale del tronco)	• Allucinazione non farmaco-indotte
• Contratture di mani o piedi	• Età d'esordio > 75 anni
• Sospiri inspiratori	• Storia familiare di atassia o parkinsonismo
• Disfonia severa	• Demenza (DSM-IV)
• Disartria severa	• Lesioni della sostanza bianca che suggeriscono sclerosi multipla
• Russamento di nuova origine o esacerbato	
• Mani e piedi freddi	
• Risata o pianto patologici	
• Tremore d'azione/posturale a scatti	

Secondo il *Second consensus statement on the diagnosis of multiple system atrophy*, i pazienti con caratteristiche predominanti parkinsoniane devono continuare ad essere considerati MSA-P, mentre la predominanza di atassia cerebellare designa l'MSA-C. Tuttavia, i sintomi predominanti motori possono cambiare con il tempo, per cui pazienti MSA-C possono sviluppare caratteristiche parkinsoniane sempre più severe fino alla loro dominanza. Attualmente, con MSA-P o MSA-C ci si riferisce al sintomo predominante all'esordio; non è raccomandato l'uso del termine "MSA-misto" nel descrivere pazienti con sintomi parkinsoniani e cerebellari (72).

La *Critique of the second consensus criteria for multiple system atrophy* espone alcune delle problematiche relative agli attuali criteri diagnostici.

- Per avere una diagnosi definitiva di MSA è necessaria una valutazione post-mortem, servirebbe quindi una condizione di MSA clinicamente accertata nel paziente vivo in base alla clinica e ad altri esami di accompagnamento.
- Sarebbe opportuno avere nuovi criteri diagnostici che tengano in conto l'eterogeneità clinica dell'MSA (circa il 50% delle MSA-P mostra ulteriori segni cerebellari e circa il 75% dei pazienti con MSA-C sviluppa

parkinsonismo durante la patologia), l'insufficienza autonoma pura come fattore di rischio e una nuova delineazione delle diverse varianti recentemente scoperte (MSA a esordio giovanile, a esordio tardivo, di lunga durata, con presentazione cortico-basale e con lieve deterioramento cognitivo). Per via della bassa specificità diagnostica, questi casi potrebbero potenzialmente raggiungere solamente il grado di " clinicamente possibile " se supportati da red flags, imaging e altri marcatori.

- Nonostante sia presente come criterio la scarsa risposta alla levodopa, diversi casi di MSA sono adeguatamente responsivi e beneficiano di questa terapia. È necessaria una ponderazione di più fattori per la diagnosi.
- Alcuni dei fattori che non supportano la diagnosi di MSA (Tabella VI) possono comunque essere presenti in una minoranza di casi di MSA (es. tremore a riposo "a contar monete", esordio >75y o allucinazioni).
- Diverse osservazioni hanno dimostrato il ruolo dei fattori genetici nell'MSA opponendosi al criterio di presenza di storia familiare di atassia o parkinsonismo come fattore di non supporto (Tabella VI). Tuttavia, il ruolo della genetica non è ancora ben consolidato al momento.
- Sono presenti diversi biomarcatori diagnostici che dovrebbero essere introdotti per guadagnare una maggior percentuale di diagnosi, in particolare nelle prime fasi di malattia.

In conclusione, nonostante il *Second consensus statement on the diagnosis of multiple system atrophy* rappresenti lo standard globale di riferimento per la ricerca clinica, manca di sensibilità ed è necessaria una sua revisione (73).

Al fine di migliorare la sensibilità diagnostica soprattutto nelle prime fasi della malattia, nel 2022 sono stati introdotti dei nuovi criteri diagnostici più completi che richiedono convalida in uno studio clinico e clinico-patologico prospettico (*The Movement Disorder Society Criteria for the Diagnosis of Multiple System Atrophy*, Tabella VII). In particolare:

- I criteri neuropatologici per MSA definita rimangono inalterati.
- È stata introdotta una nuova categoria di MSA clinicamente accertata.
- Si è definita una categoria di MSA clinicamente probabile per aumentare la sensibilità mantenendo una buona specificità.

- Una categoria di ricerca di MSA possibile prodromica è stata progettata per individuare i pazienti nei primi stadi che non rientrano nei criteri di MSA clinicamente accertata o probabile. Questa nuova categoria è determinata dalla presenza di almeno una tra RBD provata dalla polisonnografia o insufficienza autonoma isolata e almeno uno tra lieve parkinsonismo o lievi segni cerebellari.
- Coinvolgimento di marcatori di risonanza magnetica suggestivi di MSA nella diagnosi di MSA clinicamente accertato.
- Utilizzo di nuovi biomarcatori a supporto diagnostico, ma il numero di questi è probabile che cresca perché molti non sono stati inclusi nei nuovi criteri per via della loro limitata disponibilità e validazione (74,75).

È comunque riconosciuto che anche questi criteri necessiteranno di una revisione (74).

Tabella VII – Tabella riassuntiva dei più recenti criteri diagnostici. Adattata da Stankovic et al., A Review on the Clinical Diagnosis of Multiple System Atrophy (22).

MSA accertata neuropatologicamente	<ul style="list-style-type: none"> • Diffuse e abbondanti inclusioni citoplasmatiche gliali positive all'α-sinucleina associate a neurodegenerazione olivo-ponto-cerebellari o striatonigrale
Caratteristiche essenziali per la diagnosi clinica di MSA	<ul style="list-style-type: none"> • Patologia sporadica, progressiva con esordio adulto (>30 anni)
MSA accertato clinicamente	<ul style="list-style-type: none"> • Disfunzione autonoma definita da almeno una tra difficoltà minzionale con volume residuo urinario >100 mL, incontinenza da urgenza urinaria o ipotensione ortostatica neurogena associata ad almeno uno tra parkinsonismo scarsamente responsivo a L-dopa e sindrome cerebellare (≥ 2 caratteristiche*) • ≥ 2 caratteristiche cliniche di supporto • ≥ 1 marker cerebrali di RM • Assenza dei criteri di esclusione
MSA clinicamente probabile	<ul style="list-style-type: none"> • Almeno due tra disfunzione autonoma (definita da almeno una tra difficoltà minzionale con volume residuo urinario, incontinenza da urgenza urinaria o ipotensione ortostatica neurogena ritardata), parkinsonismo e sindrome cerebellare (≥ 1 caratteristiche*) • ≥ 1 caratteristiche cliniche di supporto (escludendo la sola disfunzione erettile) • Assenza di criteri di esclusione

MSA possibile prodromica	<ul style="list-style-type: none"> • Almeno uno tra RBD dimostrato con polisonnografia, ipotensione ortostatica neurogena ritardata e caratteristiche urogenitali (almeno uno tra disfunzione erettile prima dei 60 anni con difficoltà minzionale e con volume residuo urinario >100 mL o incontinenza da urgenza urinaria) • Sottili segni parkinsoniani o cerebellari o entrambi • Assenza di criteri di esclusione
Caratteristiche cliniche di supporto	<ul style="list-style-type: none"> • Caratteristiche motorie entro tre anni dall'esordio (progressione rapida, instabilità posturale, gravi disturbi del linguaggio e grave disfagia), così come caratteristiche che compaiono in qualsiasi momento durante il decorso, inclusa distonia cranio-cervicale indotta o esacerbata da L-DOPA in assenza di discinesia degli arti, segno di Babinski inspiegabile, tremore mioclonico posturale o cinetico a scatti, deformità posturali • Caratteristiche non motorie (stridore, sospiri inspiratori, mani e piedi freddi e scoloriti, disfunzione erettile e incontinenza emotiva)
Marker cerebrali di RM	<ul style="list-style-type: none"> • Per MSA-P: atrofia di putamen, peduncolo cerebellare medio, ponte e cervelletto, hot cross bun sign, e incremento di diffusività di putamen e peduncolo cerebellare medio • Per MSA-C: atrofia di putamen, peduncolo cerebellare medio e ponte, hot cross bun sign, e incremento di diffusività del putamen
Criteri di esclusione	<ul style="list-style-type: none"> • Per MSA accertato clinicamente e MSA clinicamente probabile: risposta benefica prolungata alla L-DOPA e anosmia inspiegabile ai test olfattivi • Per MSA possibile prodromica: almeno uno tra anosmia inspiegabile all'esame olfattivo o scintigrafia 123I-MIBG simpatico-cardiaca inspiegabile • Per tutte le categorie cliniche: caratteristiche tipiche alla RM cerebrale di altre condizioni che imitano l'MSA (PD, DLB, PSP, cause genetiche e altre cause di atassia)

Note: *Caratteristiche cerebellari: atassia dell'andatura, atassia degli arti, disartria cerebellare e caratteristiche oculomotorie; RM: Risonanza Magnetica; MSA: Atrofia Multisistemica; PD: Malattia di Parkinson; DLB: Demenza con corpi di Lewy; PSP: Paralisi Soprannucleare Progressiva; RBD: Disturbo comportamentale del sonno REM.

Aspetti clinici

Il passo più importante nella valutazione del paziente con sospetta MSA è la valutazione clinica e della storia medica e un esame obiettivo fisico e neurologico con particolare attenzione all'andatura, alla coordinazione e al tono muscolare. È importante indagare l'esordio, la progressione dei sintomi, le caratteristiche dei sintomi motori e non motori (in particolare, bisogna prestare attenzione ai disturbi del sonno, cognitivi, dell'umore, del comportamento, disfagia e anomalie visive), le caratteristiche a supporto e non a supporto e una dettagliata anamnesi farmacologica. Successivamente è importante indagare la risposta terapeutica ai farmaci per la malattia di Parkinson.

All'esame obiettivo vanno indagate tutte le caratteristiche già esposte nel paragrafo riguardante la clinica dell'MSA (anterocollo, stridore, cadute, segno di Babinski, mani e piedi freddi, una colorazione maggiormente bluastra dei piedi soprattutto nei pazienti in sedia a rotelle etc.) (67).

Test ancillari

Esistono diversi biomarcatori ancillari nella valutazione sintomatica che rafforzano la diagnosi clinica dell'MSA.

I test di identificazione degli odori che mostrano una severa ipo/anosmia possono escludere l'MSA distinguendola dalla PD (Sensibilità: 77% Specificità: 96%). L'UPSIT (*University of Pennsylvania Smell Identification Test*) è il test olfattorio più usato e consiste in quaranta strisce "gratta e annusa" con un odorizzante micro-incapsulato. Il paziente annusa la striscia selezionando l'odore tra quattro possibili scelte e si valuta il suo stato. Il problema è che questo test può risultare problematico e difficile fuori dagli Stati Uniti (67,76,77).

Gli esami dei movimenti oculari permetterebbero la valutazione dell'iniziale differenziazione e progressione dei disturbi parkinsoniani; in particolare, l'incremento di errori nelle antisaccadi combinato a latenze rallentate delle prosaccadi (saccadi automatiche) possono aiutare nella differenziazione precoce tra PD e MSA, oltre al fatto che la performance dell'antisaccade può essere utilizzata come misura di progressione di MSA (76).

In aggiunta è possibile utilizzare anche dei test di valutazione della funzione autonoma.

Per valutare la funzione cardio-vagale si utilizza la manovra di Valsalva. La diagnosi di ipotensione ortostatica neurogena richiede un monitoraggio continuo della pressione sanguigna per escludere le cause non neurogene (anemia, farmaci...) ed è determinata dal calo di almeno 30 mmHg di sistolica e almeno 15 mmHg di diastolica entro 3 minuti dall'ortostatismo. Spesso questi pazienti presentano anche ipertensione supina (leggermente più severa rispetto a PD) e ipertensione notturna rilevata con un monitoraggio ambulatoriale di 24 ore. Altri biomarcatori cardiovascolari utili nel valutare il rischio di MSA sono: livelli di norepinefrina circolante > 110 pg/mL e frequenza a riposo >70 bpm (67,78).

Il test termoregolatorio del sudore (TST, misura la capacità di sudorazione dell'individuo in uno speciale laboratorio con controllo calorico, dell'umidità e della ventilazione) valuta l'integrità dei neuroni pre- e post-gangliari ed è anormale nei pazienti con MSA. Al contrario, il test del riflesso assonale sudomotorio quantitativo (QSART, misura l'integrità delle fibre post-gangliari sudomotorie; le fibre sono attivate da ionoforesi mediante l'utilizzo di acetilcolina) sembra essere generalmente preservato, anche se alcuni recenti studi ne rilevano l'alterazione (67).

La valutazione della disfunzione urinaria nell'MSA deve includere una scansione del volume residuo post-minzionale nella vescica per determinare se è presente ritenzione urinaria dovuta a vescica ipoattiva (osservato nel 70% dei pazienti, aumenta il rischio di urosepsi e morte), in particolare, un incremento del volume urinario residuo >100 mL ha un valore predittivo del 91.6%, mentre un valore minore di 100 ha un valore predittivo negativo del 67.8% nella distinzione tra MSA e PD. Gli studi di urodinamica (cistometria di riempimento e studi sul flusso di pressione) definiscono la natura dell'anomalia vescicale e permettono la differenziazione con PD (67,74).

Per la valutazione della disfagia è possibile utilizzare un test di deglutizione con bario modificato oppure una videofluoroscopia (67).

I questionari sui disturbi legati al sonno sembrano avere un alto rapporto tra falsi negativi e veri positivi, tuttavia, per un'adeguata valutazione di RBD e gli altri disturbi del sonno nell'MSA è raccomandata una video-polisonnografia (nell'MSA i disturbi sono più gravi e hanno una latenza REM più breve). Solitamente, lo stridore è caratterizzato da un suono acuto principalmente inspiratorio dovuto all'ostruzione delle vie aeree superiori. Nella diagnosi di stridore è utile la laringoscopia indiretta che rivela restrizione dell'abduzione delle corde vocali, movimenti paradossi ed epiglottide floscia (67,76).

Mancano delle linee guida per la diagnosi del deterioramento cognitivo nell'MSA, tuttavia, a tutti i pazienti sarebbe necessario uno screening con test standardizzati come il MoCA (*Montreal Cognitive Assessment*) o il FAB (*Frontal Assessment Battery*) (67,79).

Infine, sono presenti altri marcatori elettrofisiologici, per esempio l'elettromiografia dello sfintere anale (le anomalie sfinteriche differenziano MSA-P da PD e MSA-C dall'atassia cerebellare idiopatica ad esordio tardivo) che però, per la sua invasività, non entra nella routine diagnostica. È possibile determinare anche la condizione sfinterica uretrale o il riflesso bulbo-cavernoso. Il riflesso di sussulto uditivo è occasionalmente utilizzato per distinguere PSP (riflesso ridotto o assente per la patologia nella formazione reticolare) da MSA (risposta normale) (76,79).

Neuroimaging

Dai criteri precedenti del *Second consensus statement on the diagnosis of multiple system atrophy*, le linee guida inseriscono come criteri di neuroimaging per la diagnosi di MSA possibile la presenza di atrofia di putamen, peduncolo cerebellare medio, ponte o cervelletto in RM; ipometabolismo di putamen, tronco cerebrale o cervelletto in FDG-PET; denervazione dopaminergica in SPECT (67). I criteri più recenti inseriscono almeno un marcatore in RM cerebrale per la diagnosi di MSA accertato clinicamente (per MSA-P: atrofia di putamen, peduncolo cerebellare medio, ponte e cervelletto, *hot cross bun sign*, e incremento di diffusività di putamen e peduncolo cerebellare medio; per MSA-C: atrofia di putamen, peduncolo cerebellare medio e ponte, *hot cross bun sign*, e incremento di diffusività del putamen (22).

La risonanza magnetica è una tecnica diagnostica complessa che utilizza le proprietà dei nuclei di idrogeno, i quali, introdotti in un magnete ad elevato campo magnetico statico (1.5 Tesla o 3 Tesla) e sottoposti a particolari gradienti di radiofrequenza, assorbono e rilasciano energia in un tempo tessuto-specifico (tempi di rilassamento T1 e T2) sotto forma di segnale che verrà captato ed analizzato dal ricostruttore di immagini. Le immagini prodotte sono legate alle diverse proprietà fisiche dei tessuti in base al tipo di sequenza usata (pesata in T1, pesata in T2) e al tipo di gradiente di radiofrequenza impiegato.

La RM rappresenta il gold standard per valutare i parkinsonismi e le sindromi cerebellari potendo osservare i cambiamenti neuropatologici sottostanti con diverse modalità ed escludere l'associazione dei sintomi alla presenza di parkinsonismi secondari o vasculopatie. Generalmente, una RM con sequenze standard (sequenza 3D pesata in T1 (T1w3d), sequenza 3d pesata in T2 (T2w3d),

sequenza 3D pesata in T2 con soppressione del segnale dell'acqua (3D-FLAIR)) e di diffusione dovrebbe essere inclusa nella valutazione iniziale di un paziente con MSA (6,67).

La RM con sequenze standard è in genere normale nella PD, mentre nell'MSA mostra diverse anomalie, tra cui atrofia di putamen, ponte, peduncoli cerebellari medi, cervelletto, midollo allungato, mesencefalo e il quarto ventricolo dilatato. Anomalie dell'intensità del segnale caratteristiche nell'MSA (con alto valore predittivo positivo) sono l'ipointensità putaminale in T1, l'iperintensità del peduncolo cerebellare medio in T2, l'*hot cross bun sign (HCB)*, ossia un'iperintensità cruciforme in T2 nel ponte, e il *putaminal slit sign*, iperintensità in T2 del margine dorsolaterale del putamen (67,80).

Il bordo putaminale iperintenso (*slit-like*) è correlato all'allargamento dello spazio tra putamen e capsula esterna e la rarefazione tissutale associata a perdita neuronale e gliosi; i pazienti che mostrano precocemente il *putaminal slit sign* bilateralmente tendono a sviluppare MSA-P. Questo segno insieme all'ipotensione putaminale in RM 1.5T sono importanti per la differenziazione di MSA-P e PD, tuttavia, da diversi studi sembra che il *putaminal slit sign* si trovi anche in pazienti normali e, con l'aumento dell'intensità del campo, diminuisce la frequenza di iperintensità la quale sembra essere un artefatto (in particolare con la RM 3-Tesla in cui si sono osservate diverse manifestazioni (81)). È stato suggerito che la discontinuità e interruzione irregolare del bordo putaminale rappresenti un indicatore più affidabile per l'MSA (67,80).

L'HCB rappresenta un'iperintensità cruciforme che risulta dall'atrofia dei neuroni pontini con conservazione del tratto piramidale e del tegmento pontino; il suo ritrovamento nelle fasi iniziali è associato a una probabilità maggiore di sviluppo di gravi sindromi cerebellari nel corso della patologia. Non è un segno specifico dell'MSA perché si può ritrovare anche nelle atassie cerebellari, nella malattia di Creutzfeldt-Jakob, nei parkinsonismi associati a vasculiti, in caso di infarto pontino bilaterale o altre condizioni. Sembra che l'imaging T2*-pesato (T2 osservato) sia superiore alla convenzionale acquisizione pesata in T2 nel rilevare HCB e nel migliorare la diagnosi di MSA (80). HCB è più sensibile per MSA-C anche negli stadi iniziali, in particolare, il ritrovamento del segno HCB di grado 2 nello stadio iniziale di patologia permette la sua differenziazione dall'atassia cerebellare-3 (82,83). L'incremento del grado dell'HCB può essere associato a

una maggior severità di MSA-C, ma non MSA-P, suggerendo la sua utilità come marcatore di progressione per l'MSA-C (84).

Attualmente la RM di routine ha una specificità bassa nel distinguere l'MSA dagli altri parkinsonismi atipici, ma un uso maggiore della RM 7-Tesla dovrebbe consentire lo sviluppo di algoritmi diagnostici più sensibili e specifici (67).

Per quanto riguarda le altre sequenze, la DWI (imaging pesato in diffusione, tecnica che determina il movimento casuale delle molecole d'acqua che tipicamente è aumentato nel tessuto neurale ischemico e degenerato e in presenza di infiammazione) permette di distinguere l'MSA-P (maggior diffusività putaminale) da PD e PSP. Inoltre, è possibile utilizzarla come marker di malattia in progressione (67,80).

La risonanza magnetica volumetrica (RM con acquisizione di un volume invece che di diverse fette contigue e valutazione quantitativa utilizzando la regione di interesse) dimostra atrofia di putamen, caudato, tronco encefalico e cervelletto. Studi sulla morfometria basata sui voxel (VBM), metodo automatizzato operatore-indipendente che permette la valutazione senza selezione della regione di interesse, hanno confermato perdita di volume corticale, infratentoriale e a livello dei gangli della base oltre alle modifiche longitudinali specifiche dell'MSA (atrofia precoce dei gangli della base seguita da atrofia corticale tardiva). Non è applicabile di routine perché richiede confronti tra gruppi utilizzando modelli specifici e sofisticate analisi (67,80).

La spettroscopia di risonanza magnetica (MRS) rileva le alterazioni strutturali, funzionali e biochimiche stimando le concentrazioni dei metaboliti. Una riduzione di N-acetilasparginato correla con il danno neuronale e assonale, un aumento di mio-inositolo indica un aumento della gliosi, la colina è legata al turnover di membrana e la creatina al metabolismo energetico. L'MRS dello striato non è utile nella diagnosi differenziale dei disturbi parkinsoniani, ma in altre aree potrebbe avere una migliore capacità discriminativa (67,80).

La risonanza magnetica funzionale (fMRI) è in grado di misurare l'attività cerebrale in base ai cambiamenti nel flusso sanguigno regionale e alla percentuale di ossigeno legato all'emoglobina e la sua acquisizione viene eseguita sia durante compiti specifici (es. compiti motori) sia non vincolata a specifici compiti (*resting state* –fMRI). Può essere usata come marker di progressione dato che uno studio

longitudinale sui cambiamenti in MSA, PSP e PD attraverso uno specifico compito motorio ha dimostrato cambiamenti più pronunciati nei gangli della base, cervelletto e corteccia motoria in MSA e PSP (67) con potenziale differenziazione anche tra queste ultime due patologie (85).

La SWI (imaging pesato in suscettibilità magnetica del tessuto) incrementa in modo complementare l'accuratezza diagnostica della RM 3T identificando l'ipointensità putaminale da incremento di deposito di ferro come segno distintivo dell'MSA (86) ed è stata recentemente proposta dal Consensus italiano di radiologia tra le sequenze RM cliniche standard per i parkinsonismi.

La RM sensibile al ferro è sempre più utilizzata nella pratica clinica per la sua capacità di osservare la diversa deposizione di ferro caratteristica di specifiche patologie. Può differenziare l'MSA per via dei depositi di ferro nelle strutture sottocorticali (tra cui in particolare il putamen posteriore), nel globo pallido, nel nucleo caudato, nella substantia nigra e nel talamo. Rappresenta un ottimo biomarcatore di differenziazione che potrebbe essere utilizzato anche per una valutazione longitudinale (80,87). L'accumulo patologico di ferro è più diffuso e grave nella PSP rispetto all' MSA-P rispecchiando l'anatomia patologica, ciò consente la mappatura del ferro cerebrale usando la RM per differenziare i cambiamenti patologici (88).

Per quanto riguarda le altre tecniche di neuroimaging.

La TC cerebrale è limitata alle controindicazioni alla RM (pacemaker, impianti metallici, tatuaggi...) per la sua ridotta utilità nella valutazione neuroanatomica della fossa posteriore. La TC volumetrica 3D permette invece il monitoraggio della progressione di MSA (67).

La 18FDG-PET è una tecnica di indagine nucleare che utilizza un analogo marcato del glucosio che emette positroni per valutare il comportamento metabolico. È molto usata nella diagnosi differenziale dei parkinsonismi con pattern specifici ipometabolici nell'MSA. Il reperto più caratteristico nell'MSA-P è l'ipocaptazione di 18FDG nel putamen con gradiente rostro-caudale e a livello di talamo, tronco cerebrale e cervelletto. Nei pazienti con MSA-C si può osservare ipometabolismo degli emisferi cerebellari anteriori e del verme un anno dopo

l'esordio motorio, ma si può osservare anche ipometabolismo del putamen (criterio di possibile MSA-C) (67).

La SPECT (tomografia computerizzata a emissione di fotoni singoli) con utilizzo della perfusione del dimero di tecnezio-99 m-etil cisteinato dimostra dei pattern specifici per l'MSA, ma l'accuratezza diagnostica è scarsa. Sono disponibili diversi traccianti per PET e SPECT per valutare la funzione neuronale dopaminergica pre- e post-sinaptica. Tuttavia, non è possibile differenziare le sindromi parkinsoniane perché il metabolismo dopaminergico presinaptico è alterato in tutti i disturbi dei gangli della base, ma possono essere utili per distinguere MSA-C da altre atassie cerebellari (la denervazione presinaptica dopaminergica striatonigrale alla SPECT o PET è un criterio di possibile MSA-C) (67).

Infine, a differenza della PD, nella maggior parte delle MSA è preservata l'innervazione post-gangliare del cuore e ciò è accertato dalla 18F-dopamina PET o 123I-metaiodobenzilguanidina (MIBG), per cui la scintigrafia con MIBG cardiaca ridotta distingue PD dagli altri disturbi neurodegenerativi (anche se in un terzo delle MSA ci può essere un grado di denervazione simpatica cardiaca). In sintesi, l'evidenza in neuroimaging di innervazione simpatica cardiaca intatta esclude il PD, ma la denervazione simpatica non esclude l'MSA (67).

Biomarcatori emergenti

Sebbene l'ecografia non sia possibile nel 10-20% dei soggetti per la ridotta finestra acustica dell'osso temporale, sembra che l'iperecogenicità della substantia nigra possa essere un potenziale marcatore per distinguere PD dai parkinsonismi atipici (67).

È presente un notevole interesse riguardo lo sviluppo di potenziali biomarcatori nel plasma e nel liquor per la diagnosi di MSA, i più promettenti al momento sono i livelli plasmatici di norepinefrina, livelli plasmatici di accumulo vescicolare catecolaminergico, proteina della catena leggera del neurofilamento (NfL) plasmatica e liquorale, livelli plasmatici e liquorali di α -sinucleina (67).

Nello specifico, i marcatori del liquor valutati sono:

- Neurotrasmettitori e neuromodulatori, con riduzione dei livelli di dopamina, DOPAC e norepinefrina nell'MSA.

-
- Marcatori di stress ossidativo, per esempio la proteina DJ-1 (codificata dal locus PARK7) più alta nell'MSA che in PD e, in associazione a t-tau e p-tau, permette una migliore distinzione tra le due patologie.
 - Marcatori di infiammazione.
 - Fattori di crescita.
 - Proteine patologiche, in particolare le alterazioni di aSyn nel liquor. Gli studi non sono ancora conclusivi e ci sono diverse specie di aSyn da valutare. Sono prese in considerazione anche altre proteine (precursore dell'amiloide, ubiquitina, acetilspermidina, tau, proteine dei neurofilamenti...).
 - Proteomica: pochi studi a riguardo, ma diversi peptidi sono differenziativi tra MSA e controllo. Un certo numero di microRNA coinvolti nella regolazione cellulare e modulazione dell'apoptosi sono più alti nell'MSA, mentre altri più bassi; uno studio (89) è riuscito a identificare quattro microRNA in grado di differenziare l'MSA dal controllo e a creare tre pannelli per la discriminazione di PD e MSA dal controllo.

Per ora ci sono molti dati inconclusivi e molti fattori hanno una limitata potenza diagnostica che tuttavia può essere ampliata dalla loro combinazione (76).

Per quanto riguarda i biomarcatori nel sangue (siero, plasma e cellule), il numero è limitato rispetto al liquor; tra i principali ci sono:

- aSyn (risultati inconclusivi).
- Proteina DJ-1 ossidata negli eritrociti (livelli più alti in PD rispetto a MSA).
- Proteina della catena leggera del neurofilamento nel sangue (incremento in MSA rispetto a PD e controllo).
- Catecolamine plasmatiche (alcune si accumulano maggiormente in certi contesti nell'MSA).
- Omocisteina sierica (livelli più alti in MSA) e acido urico sierico (livelli più bassi in MSA).
- Insulina e IGF-1 sieriche (livelli più alti in MSA).
- Micro-RNA (sono espressi nel plasma dei pazienti con MSA differentemente rispetto a PD e controllo).

-
- Coenzima Q₁₀ (i livelli sierici corretti dal colesterolo sierico sono più bassi in MSA) (76).

Un recente studio ha valutato l'efficacia come biomarcatore dell'aSyn patologica nella mucosa olfattoria per la differenziazione di PD, MSA-P e MSA-C. Inoltre, l'analisi aSyn RT-QuIC (*α-sinuclein Real-Time Quaking-Induced Conversion*) rappresenta un buon test di identificazione dell'aSyn patologica che può distinguere MSA-P da MSA-C (90).

La tomografia a coerenza ottica (OCT) può essere utilizzata nell'MSA nonostante la patologia raramente presenti disturbi visivi. Recenti studi dimostrano atrofia dello strato delle fibre nervose retinali peripapillari (RNFL, *retinal nerve fiber layer*) e, in misura minore, atrofia dello strato di cellule gangliari maculari (GCL). Queste caratteristiche sono progressive nel tempo (67).

Attraverso la biopsia di cute è possibile rilevare aggregati di aSyn nei nervi autonomici cutanei nella PD. Per quanto riguarda l'MSA, esistono osservazioni contrastanti, ma è stata rilevata la presenza di aggregati di aSyn fosforilata nella cute. Futuri studi dovranno delineare con maggior precisione il sito, numero di biopsie, metodo di fissazione e immunoistochimica (67).

Diagnosi differenziale

Esistono diverse patologie con cui l'MSA entra in diagnosi differenziale (DD). In relazione alla tabella completa tratta da *Kaupilla et al., A Guide for the Differential Diagnosis of Multiple System Atrophy in Clinical Practice* (91) si possono delineare:

- Patologie neurodegenerative: l'MSA può risultare indistinguibile da queste soprattutto nelle fasi iniziali. MSA-P entra in DD con PD per il parkinsonismo, con PSP e CBD per caratteristiche sovrapposte, quali la scarsa risposta alla levodopa, disautonomie precoci e severe e cadute precoci, e con DLB sempre per via di queste caratteristiche sovrapposte (91). MSA-C entra in DD soprattutto con l'atassia sporadica ad esordio adulto di eziologia sconosciuta perché spesso indistinguibile soprattutto in fase iniziale in cui il paziente presenta solo sintomi cerebellari (92). Entrambi i sottotipi entrano in

DD con l'insufficienza autonómica pura (α -sinucleinopatía con depositi nei gangli autonomici) se caratterizzati da disautonomie isolate (93).

- Patologie genetiche: in particolare le atassie spinocerebellari che possono imitare sia l'atassia cerebellare caratteristica di MSA-C che il parkinsonismo di MSA-P oltre ai sintomi da insufficienza autonómica. Altre sindromi genetiche sono la sindrome da tremore/atassia associata all'X fragile (FXTAS), atassia di Friedreich, sindrome di Perry, paraplegia spastica ereditaria (SPG7), disordini mitocondriali e altre (92).
- Sindromi paraneoplastiche (encefalite associata ad anti-hu, sindrome paraneoplastica cerebellare da anti-Yo e anti-Tr, sindrome paraneoplastica da anti-amfifisina).
- Patologie mediate da anticorpi neuronali (anti-CASPR2, anti-GAD, anti-LGI1, DPPX, IgLON5).
- Patologie infiammatorie (atassia del glutine, sclerosi multipla in particolare con MSA-C).
- Altre patologie (HIV con MSA-C, idrocefalo a normale pressione con MSA-P, parkinsonismo vascolare e malattie prioniche con entrambi) (91).

Per via delle sue caratteristiche cliniche e della difficile diagnosi soprattutto in fase iniziale, spesso la diagnosi di MSA è errata o tardiva con conseguenze sulla prognosi e sulle possibilità terapeutiche.

Terapia

Attualmente non esistono farmaci specifici modificanti la malattia (*disease-modifying therapy*), per cui è disponibile soltanto una terapia sintomatica con approccio farmacologico e non farmacologico. Tranne per alcune eccezioni, il livello di evidenza di questi approcci è basso e la maggior parte dei farmaci utilizzati sono off-label. È consigliata una gestione multidisciplinare del paziente per rispondere in modo ottimale alle sue necessità (1).

Verranno ora descritti i trattamenti attuali in base al sintomo.

Sintomi motori

Per quanto riguarda la terapia parkinsoniana, la levodopa è la prima scelta nell'MSA con un'efficacia documentabile fino al 40%, tuttavia l'efficacia è

transitoria e a lungo termine non c'è più risposta. Quindi, soprattutto nel sottotipo parkinsoniano, è consigliabile un lento aumento della dose (testando la sua reattività e somministrando dosi crescenti in un periodo di 3 mesi fino ad almeno 1-2g/die se necessaria e tollerata) per evitare l'esacerbazione di ipotensione ortostatica, edema e nausea. Tra gli effetti collaterali si possono avere discinesie che colpiscono i muscoli oro-facciali e del collo nel 50% dei pazienti con MSA-P, a volte senza beneficio motorio. È sconsigliata la completa interruzione del trattamento in pazienti senza maggiori effetti collaterali dato che l'astinenza da levodopa occasionalmente determina un brusco e irreversibile peggioramento motorio (1,94,95).

Gli agonisti della dopamina possono essere usati come seconda scelta, tuttavia, generalmente non sono preferiti per via dei maggiori effetti collaterali e minori prove a sostegno così come l'uso di MAO-B inibitori (rasagilina), i quali si possono utilizzare in aggiunta alla levodopa, ma si sta ancora studiando il loro beneficio (95,96).

Per quanto non ci siano abbastanza studi, il trattamento con amantadina (antagonista selettivo dei recettori NMDA) può essere una ragionevole alternativa con dose fino a 300 mg divisa in 3 anche in aggiunta alla levodopa (95).

Esistono trattamenti complementari non farmacologici, ossia la terapia fisica, occupazionale e logopedica, con il fine di migliorare i sintomi motori, nella prevenzione di cadute e soffocamento e nel miglioramento delle capacità comunicative, soprattutto per l'MSA da lieve a moderato. Non è raccomandata la stimolazione cerebrale profonda (*deep brain stimulation*) nell'MSA-P in quanto i sintomi rispondono male e progrediscono rapidamente rispetto alla PD (95). Invece, la NIBS (*non-invasive brain stimulation*) sembra essere un'utile strategia neuro-riabilitativa per migliorare le funzioni motorie e cognitive dell'MSA-P e MSA-C, ma servono ulteriori studi (97).

La distonia focale (anterocollo, blefarospasmo) è comune nell'MSA, ma non viene trattata con benzodiazepine e anticolinergici per rischi cognitivi e respiratori. Solitamente si utilizzano iniezioni di tossina botulinica A, in particolare per il blefarospasmo e la distonia degli arti, mentre per l'anterocollo è necessario riporre più attenzione per il rischio di esacerbare la disfagia sottostante (95).

Al momento non ci sono farmaci supportati dall'evidenza per l'atassia cerebellare dell'MSA, il clonazepam può migliorare il mioclono o il tremore d'azione, e in alcuni casi si è osservato un miglioramento con gabapentin e buspirone. Attualmente, è supportato il beneficio della terapia fisioterapica intensiva per migliorare l'andatura, l'equilibrio e la coordinazione oltre alla logopedia per la disartria atassica (1,95). Esistono dei trial su alcuni modulatori di NMDA-R (96).

La fornitura di una sedia a rotelle è solitamente dettata dalla predisposizione alle cadute per instabilità posturale e atassia (94).

Sintomi autonomici

L'incontinenza urinaria da urgenza per iperattività del detrusore si può trattare con agenti anticolinergici (es. ossibutinina) facendo attenzione agli effetti collaterali, quali confusione e peggioramento cognitivo, oppure in seconda linea è possibile utilizzare iniezioni di tossina botulinica nel muscolo detrusore. La somministrazione orale o intranasale di desmopressina può migliorare la nicturia. La terapia di prima linea per la ritenzione urinaria è l'auto-cateterizzazione intermittente, tuttavia, questo approccio può portare a ulcere uretrali; in aggiunta si possono utilizzare agenti colinergici per migliorare la contrattilità detrusoriale (es. antagonisti α 1-adrenergici) con attenzione al rischio di ipotensione ortostatica (1,95).

Per la disfunzione erettile si utilizza il Sildenafil citrato (50mg), inibitore della fosfodiesterasi 5, monitorando il potenziale rischio di esacerbazione dell'ipotensione ortostatica. In alternativa è possibile l'iniezione intracavernosa di prostaglandine vasodilatatrici (es. alprostadil). Non ci sono dati sulla gestione della disfunzione sessuale femminile nell'MSA (1,95).

I pazienti con ipotensione ortostatica vanno addestrati a riconoscere ed evitare fattori scatenanti (temperature calde, rapidi cambiamenti posturali, pasti pesanti, caffè e alcolici) e sono possibili contromancovre fisiche in caso di vertigini (es. accavallamento delle gambe) e terapie non farmacologiche per migliorare i sintomi, quali un'aumentata assunzione di acqua e sale e il mantenimento della testa sollevata durante il sonno.

Nei casi severi è necessaria una terapia farmacologica facendo attenzione ai farmaci con effetti collaterali ipotensivi. Nello specifico, la midodrina e la droxidopa sono simpaticomimetici che aumentano il tono arteriolare autorizzati per il trattamento dell'ipotensione ortostatica neurogena. In *off-label* si utilizza anche il fludrocortisone (mineralcorticoide per l'aumento del volume intravascolare) e altri farmaci.

Le concomitanti ipertensioni supine, notturne o ipotensioni postprandiali si possono prevenire mediante monitoraggio e uno stile di vita adeguato (evitare riposo di giorno, mantenere adeguate norme posturali, fare un piccolo spuntino prima di dormire, evitare alcolici e pasti unici eccessivi, incremento di acqua); in alternativa possono essere presi in considerazione gli agenti farmacologici (antipertensivi in caso di ipertensione) (1).

In aggiunta, ci sono dei trial in corso sulla terapia farmacologica dell'ipotensione ortostatica in MSA che riguardano ad esempio l'atomoxetina (inibitore del trasporto della noradrenalina) con risultati paragonabili alla midodrina, l'ampreloxetina (inibitore della ricaptazione di noradrenalina) e CERC-301 (rislemdez, mira al recettore NMDA 2B) (95).

Le linee guida per trattare la costipazione nell'MSA sono carenti, per cui viene trattata con approccio non farmacologico (dieta ricca di fibre e probiotici, idratazione e attività fisica) e farmacologico (lassativi, emollienti fecali, attivatori del canale del cloro e del cGMP, agonisti della serotonina e altri) (98).

Altri sintomi

Per quanto riguarda i disturbi del sonno, innanzitutto è necessaria una buona igiene del sonno e una terapia psicologica cercando di evitare farmaci che possono esacerbare la condizione. Per via dell'assenza di trial terapeutici per l'RBD nell'MSA, la terapia si basa sullo *standard of care*. In prima linea si utilizza il clonazepam (da 0,5 a 2 mg durante la notte) evitandolo nei contesti di apnea. Le alternative sono la melatonina (da 3 a 15 mg ogni notte), gabapentin, pregabalina e sodio oxibato (95).

La CPAP (pressione positiva continua delle vie aeree) è la terapia di scelta per stridore inspiratorio o apnea notturna. Eventualmente è possibile anche l'iniezione di tossina botulinica negli adduttori delle corde vocali se il sintomo è più severo.

La tracheostomia è raramente utilizzata, ma potrebbe alleviare l'ostruzione delle vie aeree e prevenire le crisi respiratorie, tuttavia non può prevenire il rischio di morte improvvisa per apnea notturna fatale (1).

Iniezioni orali di glicopirrolato o di tossina botulinica nelle ghiandole salivari alleviano la scialorrea derivante dalla disfagia, inoltre, addensanti liquidi (miele) e posture a mento in giù possono prevenire il soffocamento. Nelle fasi avanzate è raccomandata la PEG (gastrostomia endoscopica percutanea) e nutrizione enterale, tuttavia, non cambia la malattia e non protegge completamente dal rischio di aspirazione (1,95).

Infine, la depressione e l'ansia vengono solitamente approcciate mediante combinazione di inibitori selettivi della ricaptazione della serotonina (con minor rischio di ipotensione rispetto alle altre classi) e psicoterapia cognitivo comportamentale (95,99).

Terapie emergenti

Attualmente, uno dei target principali dei trial clinici è l' α -sinucleina, elemento di fondamentale importanza per la neuropatologia dell'MSA. Si stanno studiando molecole che inibiscono l'aggregazione dell'aSyn (Anle138b, CLR01, PBT434...), molecole che stimolano il sistema proteasomiale, l'autofagia e la degradazione lisosomiale (litio, nilotinib, monofosforil lipide A), immunoterapie attive e passive che mirano alla riduzione di aSyn patologica (AFFITOPE® PD01A e PD03A, PRX002 che è un anticorpo monoclonale umanizzato contro aSyn) e oligonucleotidi antisense utilizzati clinicamente per abbattere i prodotti genici nelle malattie neurodegenerative, in questo caso il prodotto del gene SCNA, che si è dimostrato un successo. Attualmente l'Anti-MicroRNA-101 è in valutazione preclinica come potenziale terapia modificante la malattia (95).

Tra le terapie neuroprotettive in studio, è di particolare interesse un trial con risultati promettenti sull'infusione di cellule staminali autologhe nell'ipotesi che possano differenziarsi in nuovi neuroni o in cellule di supporto secernenti agenti neuroprotettivi e neuromodulatori (100). Un recente studio ha confermato la sicurezza e la buona tolleranza di una singola somministrazione intra-arteriosa di

cellule staminali mesenchimali autologhe derivate dal midollo osseo in pazienti con MSA-C (101).

Infine, anche la soppressione di infiammazione associata alla microglia è stata proposta come strategia terapeutica. La minociclina è un antibiotico che attraversa la barriera ematoencefalica e può inibire la microglia, per cui si sta valutando il suo utilizzo anche se presenti prove contrastanti (95). Anche le immunoglobuline intravenose sono state testate riportando tollerabilità e miglioramento dei punteggi clinici (tuttavia nello studio in questione mancava il placebo) (102).

Trial in corso

Tabella VIII – Attuali trial in corso per l'MSA (103).

Trial clinico	Analisi pre-post trattamento o longitudinale	Outcome measures in RM	Popolazione
Mobility-APP	Pre-post trattamento		180 stimati (in reclutamento)
Comprehensive Swallowing Rehabilitation in Patients with MSA	Pre-post trattamento		24 stimati (in reclutamento)
ABOH-PS	Pre-post trattamento		30 stimati (in reclutamento)
BCI-FIT	Pre-post trattamento		60 stimati (in reclutamento)
Synuclein-One Study	Longitudinale		500 stimati (in reclutamento)
Misfolded Proteins in the Skin of People With Parkinson's Disease and Other Parkinsonism	Longitudinale		250 stimati (in reclutamento)
IRAMS	Longitudinale	<ul style="list-style-type: none"> Brain MRI volume [Time Frame: Day 0] Imaging data (severity and progression of putamen atrophy, bridge and cerebellum in mm³; magnitude and progression of white substance hypersignals on T2-FLAIR images in mm³) Brain MRI volume [Time Frame: One year] Imaging data (severity and progression of putamen atrophy, bridge and cerebellum in mm³; magnitude and progression of white substance hypersignals on T2-FLAIR images in mm³) 	124 stimati (in reclutamento)
A Pilot Biomarker Study Assessing Alpha-synuclein Aggregates Across Biofluid Reservoirs in Patients With Synucleinopathies	Longitudinale		8

TMSMSAF	Pre-post trattamento		22 stimati (reclutamento tramite invito)
Track-MSA	Longitudinale	<ul style="list-style-type: none"> Brain MRI imaging data [Time Frame: 5 years] Diffusion-based MRI data 	50 stimati (in reclutamento)
Aspire-MSA	Longitudinale	<ul style="list-style-type: none"> Change putamen, cerebellum and brainstem volume measured on MRI [Time Frame: at 12 month] volume measured with T1-3D MRI, unit: Volume (mm³), Fer: R2* (s⁻¹), diffusion: mean diffusivity (mm²s⁻¹) 	60

Nella Tabella VIII vengono mostrati gli attuali *trial* in corso (103) volti a valutare i benefici di nuovi trattamenti sintomatici e aiutare nella comprensione di possibili biomarcatori di progressione. In particolare, viene riportato l'identificativo del *trial*, la tipologia (se analisi di pre-post trattamento o longitudinale), la popolazione stimata o raggiunta e infine le *outcome measures*. Per quanto riguarda l'ultimo aspetto, vengono descritte limitatamente le misure di esito morfometriche in RM (con descrizione di metodo, modalità e tempistiche) per avere un'idea dell'attuale coinvolgimento di queste misure nel tracciamento di progressione di malattia in questi *trial*, in modo da avere una visione sulle possibilità offerte ai pazienti e gli strumenti attuali a disposizione. Poiché la maggior parte dei *trial* clinici ha avuto inizio prima della pubblicazione dei nuovi criteri, la formulazione della diagnosi di MSA e i criteri di inclusione sono state effettuate sulla base dei vecchi criteri di Gilman et al., 2008 (72).

Nonostante i recenti criteri diano ampio supporto all'indagine RM, solo tre *trial* su undici risultano quindi aver incluso dei biomarcatori in RM: IRAMS è uno studio con lo scopo di caratterizzare ulteriormente l'insulino-resistenza periferica e centrale nei pazienti con MSA; Track-MSA è uno studio osservazionale, non interventistico, longitudinale di storia naturale per definire i cambiamenti dei vari biomarcatori nei pazienti con MSA; Aspire-MSA è un ulteriore studio che cerca di caratterizzare la storia naturale dell'MSA su un pannello di biomarcatori candidati. In particolare, in questi *trial* verranno indagati ad ogni visita l'atrofia del putamen, del ponte, del cervelletto e come cambia il volume di putamen, cervelletto e tronco.

Prognosi

L'MSA presenta una rapida progressione e cattiva prognosi (104) ed è caratterizzata da un peggioramento graduale dei sintomi motori e non motori in un tempo medio di dieci anni e con rapida progressione soprattutto all'esordio. Il 50% dei pazienti richiederà ausili per la deambulazione entro tre anni dall'esordio motorio e il 60% richiederà una sedia a rotelle dopo cinque anni fino al costretto allettamento in sei-otto anni (Figura 8). I pazienti con MSA muoiono di broncopneumite, urosepsi o morte improvvisa (spesso di notte dovuta a una paralisi acuta bilaterale delle corde vocali o interruzione del sistema cardiorespiratorio del tronco encefalico). È difficile valutare per bene questa patologia per via delle diverse varianti (1).

I fattori prognostici negativi sono: età avanzata all'esordio, MSA-P e sviluppo precoce di insufficienza autonómica severa.

Tra i fattori che predicono una ridotta progressione della malattia ci sono il fenotipo MSA-C e insorgenza tardiva di insufficienza autonómica (1).

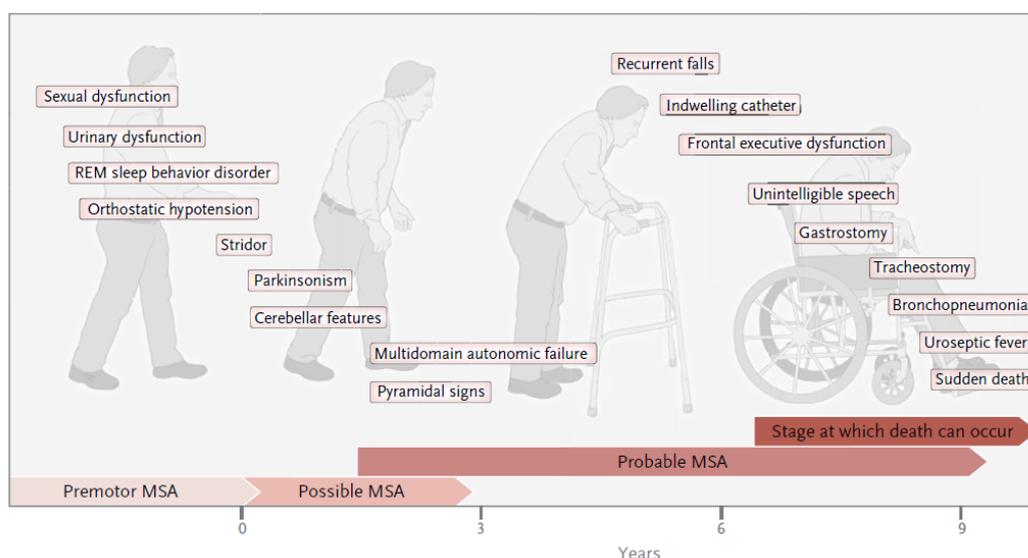


Figura 8 – Storia naturale dell'atrofia multisistemica (da Fanciulli et al., *Multiple-system atrophy*) (1)

La qualità di vita valutata dal paziente è piuttosto carente e i fattori legati alla compromissione di essa sono soprattutto la disfunzione autonómica, la menomazione motoria e la depressione, i quali inficiano anche sulla gestione terapeutica (105).

Al fine di definire la severità e monitorare l'MSA è stata sviluppata la scala UMSARS (*Unified Multiple System Atrophy Rating Scale*) usando precedenti scale come modelli (H&Y, SES, UPDRS, ICARS, COMPASS (106)). Essa si compone di quattro sottoscale: UMSARS-I (12 *items*) valuta la disabilità funzionale segnalata dal paziente; UMSARS-II (14 *items*) valuta la compromissione motoria in base all'esame clinico; UMSARS-III registra la pressione sanguigna e il battito cardiaco in posizione supina e in piedi, quindi è una valutazione autonoma; UMSARS-IV (1 *item*) valuta l'invalidità globale nelle attività. Dalla sua ideazione e validazione è stata usata molto soprattutto come endpoint nei trial clinici (107).

Morfometria in immagini di risonanza magnetica

Nonostante la presenza di caratteristiche cliniche distinte, la diagnosi differenziale tra i parkinsonismi risulta essere spesso molto difficile, particolarmente nella fase iniziale della malattia. Se il Parkinson non presenta delle caratteristiche radiologiche peculiari rilevabili in una sequenza anatomica pesata in T1, per PSP, MSA, CBS sono stati invece individuati dei pattern di atrofia peculiari a livello di mesencefalo, ponte, peduncoli cerebellari, medulla e quarto ventricolo. Sulla base di queste osservazioni radiologiche sono stati ideati degli indici con lo scopo di quantificare il grado di atrofia al fine di aiutare a differenziare e a monitorare queste patologie.

Indici basati su aree

M/P rappresenta il rapporto tra l'area del mesencefalo e l'area del ponte. Per misurare l'area delle due strutture, è necessario in sezione sagittale definire la giunzione pontomesencefalica con una linea retta tra la tacca pontina superiore e il bordo inferiore della placca quadrigeminale, e la giunzione pontomidollare con una linea retta parallela a livello dell'incavo pontino inferiore (108).

Questo parametro permette di differenziare PSP da PD e MSA-P, in particolare l'area del mesencefalo (e quindi di M/P) è ridotto nella PSP rispetto a MSA e al controllo (108,109) e rappresenta un buon fattore di prognosi per la PSP (110).

L'MRPI è un indice che è stato introdotto come miglioramento al più semplice M/P, tuttavia non sempre si è visto superiore (111). È calcolato moltiplicando P/M

per il rapporto della larghezza del peduncolo cerebellare medio e del peduncolo cerebellare superiore. È stata suggerita una sua accuratezza nella diagnosi degli stadi iniziali di PSP e in misura minore dell'MSA, ma non assiste nella diagnosi differenziale tra MSA-P e PD (112). Dimostra potenziali diagnostici simili a M/P nella differenziazione di PSP da PD e MSA-P e nell'evoluzione del parkinsonismo verso PSP (113), ma, generalmente, l'area del mesencefalo medio-sagittale identifica in modo più affidabile la PSP, l'area del ponte medio-sagittale l'MSA-C e il rapporto M/P differenzia MSA-C e PSP in modo più sensibile rispetto a MRPI (114).

L'MRPI 2.0 è un nuovo indice introdotto nel 2018 come miglioramento al precedente che viene calcolato moltiplicando MRPI per il rapporto tra la larghezza media del terzo ventricolo e la larghezza massima del corno frontale. Questo nuovo indice è più forte rispetto al precedente nel differenziare la PSP negli stadi iniziali dalla PD (115,116), in particolare, si è dimostrata la migliore performance nel predire l'evoluzione clinica verso PSP-P (fenotipo parkinsoniano) permettendo l'identificazione negli stadi iniziali (117).

L'utilità dei rapporti M/P, MRPI e MRPI 2.0 sono ben valutati soprattutto per la differenziazione di PSP-P e PD e differenziazione tra PSP, MSA e PD. Tuttavia, da un recente studio sembra che MRPI 2.0 sia meno vantaggioso per differenziare MSA-P e PSP-P (che sono le due entità più problematiche tra i parkinsonismi atipici) rispetto a MRPI e M/P suggerendo la necessità di sviluppare strumenti migliori (118).

Indici basati su diametri

Lo studio di Massey et al. (2013) ha evidenziato che la semplice misura del diametro del ponte (*P-diameter*) e del mesencefalo (*M-diameter*) hanno potenzialità discriminative nei confronti di parkinsonismi o atassia cerebellare (109). Numerosi studi hanno evidenziato come la neurodegenerazione a carico del nucleo ambiguo, del nucleo dorsale vagale motorio e del rafe collocati a livello della medulla sono associati alla presenza di disfunzioni autonome nell'MSA. Nello studio di Suzuki et al. (2020) è stata dimostrata l'associazione della riduzione di diametro antero-posteriore a livello di due sezioni della medulla (*MO-diameter A* e *MO diameter B*) con le disfunzioni parasimpatiche cardiache (119).

SCOPO DELLO STUDIO

La diagnosi e distinzione dell'MSA, oltre alla diagnosi differenziale con gli altri parkinsonismi, è molto problematica, poiché i sintomi caratterizzanti l'MSA non sono spesso presenti nelle prime fasi della malattia e si ha una parziale sovrapposizione con il quadro clinico di PD, DLB e CBD. Si può avere diagnosi certa solamente post-mortem. La presenza fino al 50% di misdiagnosi entro i 5 anni dall'esordio (120) hanno indotto ad integrare i criteri diagnostici con caratteristiche addizionali (72).

Al fine di facilitare l'inclusione negli studi di pazienti MSA con maggiore confidenza nella diagnosi, pur in assenza di conferma post-mortem, è stata introdotta nei nuovi criteri MDS la nuova categoria di "*Clinically established MSA*" che prevede la presenza di almeno un biomarcatore in RM tra atrofia del putamen, del peduncolo cerebellare medio, del ponte e del cervelletto, l'*hot cross bun sign*, e aumento della diffusività del putamen e del peduncolo cerebellare medio (74). Onde facilitare la quantificazione dell'alterazione rispetto alla popolazione normale, sono stati individuati degli indici facilmente ricavabili nella routine diagnostica dalle immagini anatomiche pesate in T1 (MRPI, M/P), sensibili all'invecchiamento e con buone capacità nella diagnosi differenziale tra parkinsonismi e non (116). Una nuova versione di MRPI 2.0 e P/M 2.0 è stata validata nel 2021 per distinguere PSP-P e PD ma non è stata testata nell'MSA (115,117,118). Inoltre, degli indici individuati come sensibili a discriminare MSA-C e MSA-P dal sano, ossia il diametro del ponte e i diametri della medulla, al momento sono stati testati in un solo studio trasversale (119). Infine, i sottotipi MSA-P e MSA-C sono associati a un quadro di sintomi che riflette un pattern di progressione del danno in senso atrofico di differenti distretti anatomici.

Se da un lato moltissimi dei trial clinici passati e in corso includono come misure di *outcome* primaria o secondaria la misura del ponte, del cervelletto o di altre aree derivabili dall'anatomica T1, non ci sono attualmente studi longitudinali in letteratura che analizzino la capacità diagnostica nel tempo di questi indici, la capacità predittiva nei confronti di particolari aspetti motori o non motori nel peggioramento del quadro clinico e che forniscano indicazioni su quali indici siano più adeguati verso un quadro di MSA-C o MSA-P.

L'obiettivo primario di questo studio retrospettivo longitudinale è suddiviso in due punti principali:

1. Confrontare la capacità diagnostica dei vari indici morfometrici nella prima fase (<5 anni di malattia) e nella fase tardiva della malattia verso il sano e tra MSA-C e MSA-P.
2. Valutare la capacità dei vari indici morfometrici di tracciare la progressione dell'atrofia multisistemica nella prima fase (<5 anni di malattia) e nella fase tardiva della malattia e tra MSA-C e MSA-P.

Tra gli obiettivi secondari, si valuterà la correlazione della variazione degli indici rispetto ai sintomi motori di tipo parkinsoniano (MDS-UPDRS-III).

MATERIALI E METODI

Popolazione

Ai fini dello studio retrospettivo longitudinale, a partire da una popolazione di pazienti affetti da atrofia multisistemica (MSA) reclutati presso la Clinica Neurologica di Padova dal 2010 al 2022, è stato individuato un campione definito secondo i seguenti criteri di inclusione: diagnosi clinica di MSA probabile confermata alla visita secondo i criteri diagnostici del *Second consensus statement on the diagnosis of multiple system atrophy* del 2008 (72); valutazione sintomatica, neuropsicologica e comportamentale completa; presenza di risonanza magnetica cerebrale effettuata. In base a questi criteri sono stati individuati 46 pazienti con MSA probabile, di cui 35 con MSA-P e 11 con MSA-C. Successivamente si sono selezionati solamente i pazienti con almeno un *follow-up* in RM ossia i pazienti con valutazione clinica completa longitudinale e RM ulteriore a quella iniziale, in modo da studiarne la progressione. Quindi, il campione finale è composto da 17 pazienti, di cui 11 con MSA-P e 6 con MSA-C che si è ulteriormente suddiviso in 10 pazienti con MSA probabile in fase iniziale (identificata da una durata della malattia alla visita minore o uguale a 4 anni) e 7 pazienti con MSA probabile in fase tardiva (identificata da una durata della malattia alla visita tra 5-9 anni) come osservabile nel grafico in Figura 9.

In sintesi, i criteri di inclusione sono: MSA-P/MSA-C probabile, valutazione clinica completa, presenza di RM. I criteri di esclusione, invece, sono: assenza di *follow-up*, RM non misurabile, demenza (secondo i criteri).

Come popolazione di controllo, sono stati reclutati 40 soggetti abbinati per sesso ed età con valutazione in risonanza magnetica che supporta l'assenza di patologia, valutazione completa neuropsicologica che attesta la preservazione cognitiva e verifica di assenza di comorbidità rilevanti. Generalmente sono stati reclutati i *caregivers* dei pazienti.

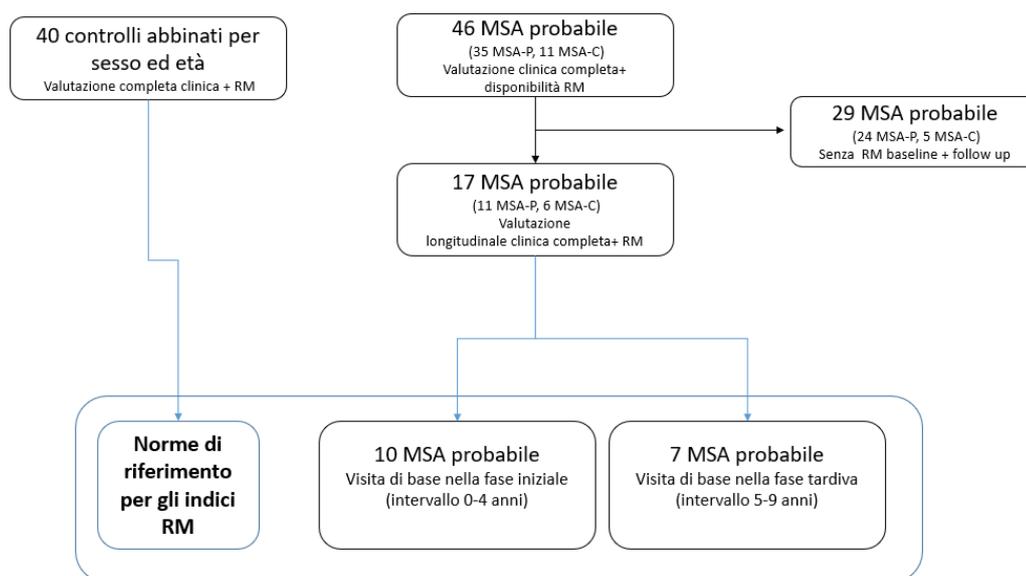


Figura 9 – Grafico rappresentante la distribuzione della popolazione dello studio

Valutazione clinica

Ogni paziente è stato valutato completamente sia dal punto di vista motorio che cognitivo comportamentale mediante anamnesi, esame obiettivo e integrazione con specifiche scale graduate. Sono state raccolte le variabili demografiche (sesso, età alla visita e all'esordio dei sintomi), la sintomatologia, la durata della malattia alla visita e i farmaci assunti di cui sono state calcolate le dosi equivalenti giornaliere di L-DOPA (LEDD) e dei dopamino-agonisti (DAED).

Per quanto riguarda la valutazione motoria, le scale specifiche utilizzate sono:

- UMSARS (*Unified Multiple System Atrophy Rating Scale*): scala affidabile, multidimensionale e valida per valutazioni cliniche semi quantitative dei pazienti con MSA. Si compone di quattro sottoscale ciascuna comprendente vari *items* a cui viene assegnato un punteggio in base alla compromissione. UMSARS-I è di carattere anamnestico e valuta l'impatto delle menomazioni legate alla patologia nella vita del paziente, comprendendo attività legate alla disabilità motoria e alla disfunzione autonoma. UMSARS-II analizza la disfunzione motoria in tutte le sue componenti, tra cui le caratteristiche parkinsoniane e cerebellari. UMSARS-III cattura le principali caratteristiche autonome dell'MSA, in particolare quelle cardiovascolari. UMSARS-IV

rappresenta una scala di disabilità globale (106). Ai fini dello studio sono state utilizzate UMSARS-I, UMSARS II, UMSARS-IV e UMSARS-TOT che valuta la somma totale dei punteggi.

- MDS-UPDRS (*Movement Disorder Society - Unified Parkinson's Disease Rating Scale*): scala sviluppata per valutare determinati aspetti sia motori che non motori della malattia di Parkinson con una caratterizzazione dell'estensione e del carico della patologia; si compone di quattro parti. La parte I riguarda le esperienze non motorie nella vita quotidiana, la parte II le esperienze motorie della vita quotidiana, la parte III è considerata come esame motorio e la parte IV riguarda le complicazioni motorie (121). In particolare, i pazienti sono stati valutati attraverso l'MDS-UPDRS-III per una considerazione solamente motoria e un'analisi oggettiva del parkinsonismo.
- Scala di H&Y (Hoehn e Yahr) è una scala di valutazione della compromissione motoria nella malattia di Parkinson (122). È semplice e facile ed è inclusa nell'MDS-UPDRS-III.

Per la valutazione cognitiva globale, sono state adoperate le seguenti scale:

- MoCA (*Montreal Cognitive Assessment*): è un buon test neuropsicologico per il rapido rilevamento di un lieve deterioramento cognitivo. Valuta diversi domini cognitivi: abilità visuo-spaziali, funzioni esecutive, memoria, linguaggio, attenzione, concentrazione, astrazione, calcolo e orientamento (123).
- MMSE (*Mini Mental State Examination*): test che fornisce una misura complessiva del deterioramento cognitivo. Indaga l'orientamento nello spazio-temporale, memoria, attenzione e calcolo, rievocazione, linguaggio e prassia costruttiva (124).
- PD-CFRS (*Parkinson's Disease-Cognitive Functional Rating Scale*): breve questionario rivolto a catturare diversi aspetti funzionali sospetti di essere sensibili al deterioramento cognitivo, minimizzando l'impatto motorio (125).

Per valutare lo stato funzionale sono state adottate le scale:

- ADL (*Activities of Daily Living*): questionario con punteggio riguardo le abilità fondamentali richieste per prendersi cura di sé stessi in modo indipendente, come mangiare, farsi il bagno e la mobilità. È un indicatore

dello stato funzionale dell'individuo calcolando la sua eventuale dipendenza da altri individui o dispositivi meccanici (126).

- IADL (*Instrumental Activities of Daily Living*): scala funzionale simile che valuta la capacità dell'individuo di svolgere compiti quali l'uso del telefono, fare il bucato e gestire le finanze (127).

Per la valutazione comportamentale sono state utilizzate le seguenti scale:

- BDI (*Beck Depression Inventory*): questionario per valutare la gravità della depressione nelle popolazioni normali e psichiatriche (128).
- STAI (*State-Trait Anxiety Inventory*): scala di valutazione dell'ansia. In particolare, attraverso STAI-Y1 è stata valutata l'ansia di stato, ossia la condizione temporanea nel determinato momento, con STAI-Y2 è stata valutata l'ansia di tratto, ossia lo stato emotivo abituale.
- PDQ-8 (*8-items Parkinson's Disease Questionnaire*): scala sulla qualità di vita.

Valutazione in risonanza magnetica

La popolazione è stata analizzata attraverso diverse tecniche di RM, ma ai fini di questo studio, sono state selezionate le sequenze pesate in T1 per effettuare le misure manuali delle aree, distanze e diametri.

La specifica sequenza RM esportata in formato DICOM standard è stata salvata in formato NIfTI (*Neuroimaging Informatics Technology Initiative*), formato condiviso dai *tool* di analisi dei dati di imaging.

Al fine di limitare il più possibile problemi di volume parziale (implicano un'errata assegnazione del margine dell'area), consentire l'applicazione delle misure manuali nelle stesse zone e facilitare l'individuazione dei punti di reperi anatomici, tutte le immagini in RM sono state riallineate alla T1w3D di un soggetto di riferimento mediante un algoritmo iterativo di co-registrazione rigida incluso nel software *MedInria v 3.2.0* (129). Dalle immagini riallineate sono stati poi ricavati i piani sagittale, coronale e assiale mediante il software di conversione *XMedCon* (130) e convertiti in formato DICOM (*Digital Imaging and COmmunications in Medicine*), standard per le immagini radiologiche.

Infine, è stato utilizzato il software *MicroDicom* (131) per visualizzare il file in DICOM ed effettuare le misurazioni morfometriche manuali nei tre piani.

Le misure dell'MRPI sono state effettuate secondo il gold standard di misura dettato dai materiali e metodi di Nigro et al. (132).

In particolare, l'approccio manuale per il calcolo degli indici volumetrici è riferito al modello di *Quattrone et al., MR Imaging Index for Differentiation of Progressive Supranuclear Palsy from Parkinson Disease and the Parkinson Variant of Multiple System Atrophy* (133) e *Quattrone et al., A new MR imaging index for differentiation of progressive supranuclear palsy-parkinsonism from Parkinson's disease* (115). Nella Figura 10 è possibile osservare nello specifico come sono stati calcolati gli indici.

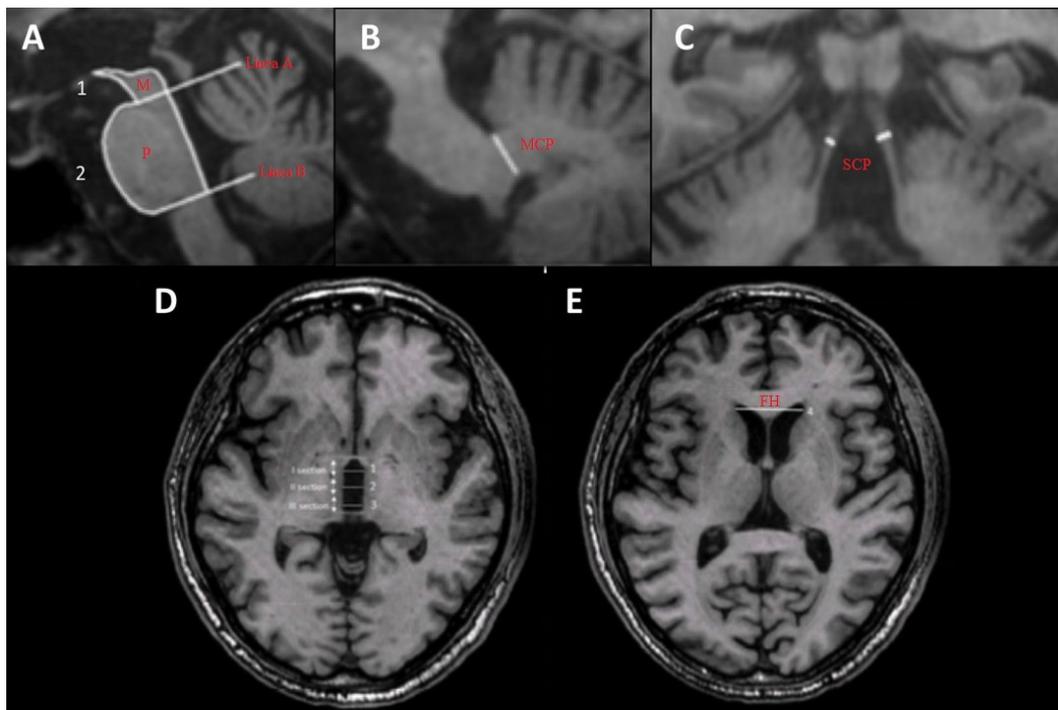


Figura 10 – Rappresentazione delle misure volumetriche che include l'area del mesencefalo e del ponte in medio-sagittale (A), peduncolo cerebellare medio in para-sagittale (B), peduncoli cerebellari superiori in coronale (C), terzo ventricolo in assiale (D), corna frontali in assiale (E). Adattata da Picillo et al., *Midbrain MRI assessments in progressive supranuclear palsy subtypes* (111).

L'area del mesencefalo (M) e del ponte (P) sono state misurate sul piano sagittale mediano tracciando due linee: una linea che passa attraverso la tacca pontina superiore e il bordo inferiore del piatto quadrigeminale (linea A, Figura 10A); un'altra linea parallela alla prima passante per la tacca pontina inferiore (linea B, Figura 10A). L' area mesencefalica rappresenta il contorno osservabile sopra la

linea A comprendendo la silhouette del “becco del pinguino”. L’area pontina rappresenta il contorno interno ai margini anteriore e posteriore del ponte e alle linee A e B.

Per quanto riguarda la misura della larghezza dei peduncoli cerebellari medi (MCP) di destra e sinistra, si sono cercate le proiezioni para-sagittali dei due emisferi che meglio esponessero MCP tra il ponte e il cervelletto. La larghezza è stata definita dalla distanza lineare tra il bordo superiore (punto più caudale del segmento superiore) e il bordo inferiore (punto più rostrale del segmento inferiore) delimitati dagli spazi peri-peduncolari del liquido cerebrospinale delle cisterne ponto-cerebellari. Successivamente si è calcolato il valore medio tra la larghezza del peduncolo di destra e quello di sinistra (Figura 10B).

Per la misura della larghezza dei peduncoli cerebellari superiori (SCP) di destra e di sinistra si è scelta la prima sezione coronale osservabile in cui gli SCP erano separati dai collicoli quadrigemini inferiori. Questa sezione è stata definita come posteriore e si è selezionata anche la fetta anteriore consecutiva in modo da poter misurare due sezioni (anteriore e posteriore) dei peduncoli. La larghezza è stata definita dalla maggiore distanza tra il bordo mediale e laterale del peduncolo (generalmente a metà della loro estensione). Successivamente si è calcolato il valore medio tra sezione anteriore e posteriore e infine tra SCP medio di destra e di sinistra (Figura 10C).

Infine, in sezione assiale sono stati misurati la larghezza del terzo ventricolo (Figura 10D) e delle corna frontali (Figura 10E).

Individuando la sezione in cui si osservano commessura anteriore e posteriore, è stata misurata la distanza lineare massima tra i bordi laterali del terzo ventricolo attraverso tre misure corrispondenti alla larghezza anteriore, mediale e posteriore come si osserva nella Figura 10. Successivamente viene fatta la media delle tre misure (3rdV mean).

La larghezza delle corna frontali (FH) è stata definita dalla massima distanza valutabile da destra a sinistra.

In base alle misure ottenute è stato possibile calcolare gli indici volumetrici P/M, MRPI, P/M 2.0 e MRPI 2.0.

Per calcolare P/M sono state rapportate le aree del ponte e del mesencefalo; è indifferente utilizzare M/P o P/M, ma per agevolare le misure si è scelto il secondo rapporto.

MRPI è stato calcolato attraverso il prodotto tra P/M e il rapporto tra la larghezza media del peduncolo cerebellare medio e la larghezza media del peduncolo cerebellare superiore.

P/M 2.0 è ottenuto dal prodotto tra P/M e il rapporto tra il diametro medio del terzo ventricolo e la larghezza delle corna frontali.

MRPI 2.0 rappresenta, invece, il prodotto tra MRPI e il rapporto tra il diametro medio del terzo ventricolo e la larghezza delle corna frontali.

Di seguito sono espone le formule nel dettaglio per una migliore comprensione.

$$\frac{P}{M} = \frac{\text{Area ponte}}{\text{Area mesencefalo}} \quad \text{MRPI} = \left(\frac{P}{M}\right) * \left(\frac{MCP}{SCP}\right)$$

$$\frac{P}{M} 2.0 = \left(\frac{P}{M}\right) * \left(\frac{3rdV \text{ mean}}{FH}\right) \quad \text{MRPI 2.0} = \text{MRPI} * \left(\frac{3rdV \text{ mean}}{FH}\right)$$

Le misure del diametro del ponte, del mesencefalo e della medulla sono state effettuate secondo le indicazioni contenute in *Suzuki et al., Relationship between cardiac parasympathetic dysfunction and the anteroposterior diameter of the medulla oblongata in multiple system atrophy* (119) (Figura 11).

Partendo dalla visione sagittale mediana dell'anatomica pesata in T1, sono state ricavate in *MicroDicom* le misure:

- 1) del diametro del mesencefalo (*M-diameter*) a partire dal margine superiore pontino;
- 2) del diametro del ponte (*P-diameter*) definito come la distanza massima del margine antero-posteriore;
- 3) del diametro superiore del midollo allungato (*MO-diameter A*) definito come il minimo diametro antero posteriore tra il margine inferiore pontino e il fastigio del quarto ventricolo;
- 4) del diametro inferiore del midollo allungato (*MO-diameter B*) definito come il minimo diametro antero-posteriore tra il margine ventrale e l'obex (punto in cui il quarto ventricolo si restringe per diventare il canale centrale del midollo spinale).

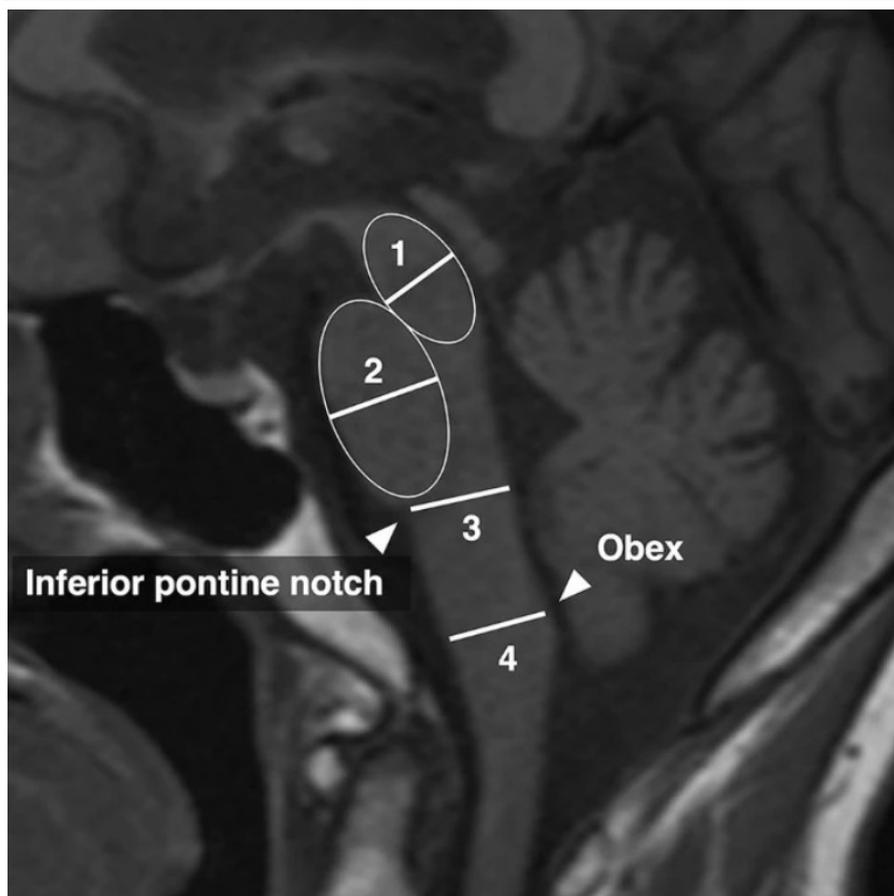


Figura 11 - Rappresentazione delle misure basate sui diametri che includono il diametro del mesencefalo (1), il diametro del ponte (2), il diametro superiore del midollo allungato (3) e il diametro inferiore del midollo allungato (4). Da Suzuki et al., *Relationship between cardiac parasympathetic dysfunction and the anteroposterior diameter of the medulla oblongata in multiple system atrophy* (119).

Analisi statistiche

Le differenze alla *baseline* nelle variabili demografiche e nelle variabili cliniche continue e discrete tra il gruppo di pazienti con malattia in fase iniziale (*Early phase*, durata di malattia all'esordio tra 0-4 anni) e il gruppo con malattia in fase tardiva (*Late phase*, durata di malattia all'esordio tra 5-9 anni) sono state valutate attraverso, rispettivamente, il test non parametrico Mann-Whitney U test e il Fisher test onde superare il problema della possibile presenza di una distribuzione non normale dovuta alla bassa numerosità del campione nei due gruppi. I *range* di riferimento del campione normativo di soggetti sani per ciascun indice (mediana + CI 95%) sono stati calcolati mediante il "robust method" in accordo alle linee guida *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) Guidelines C28-A3* (134) a partire dalle misure ricavate dal campione di soggetti sani. L'intervallo di confidenza a doppia coda è stato stimato mediante il processo iterativo di ricampionamento con re-immissione bootstrap con 10.000 iterazioni (135).

Onde garantire una stima meno dipendente dalla variabilità della durata di malattia all'interno del gruppo *Early* e *Late Phase* e limitare il *bias* della misura intra soggetto, è stata calcolata per ciascun paziente la media temporale pesata di ciascuna metrica.

Al fine di stabilire se e quali metriche avessero capacità discriminative verso la popolazione sana nella prima fase e/o nella fase tardiva della malattia i valori della media temporale pesata in *Early phase* e *Late phase* sono stati confrontati mediante una ANOVA Kruskal-Wallis non parametrica ai valori normativi del controllo sano (HC, *Healthy Control*); laddove il modello risultasse significativo, i sottogruppi sono stati confrontati mediante test *post-hoc* Mann-Whitney.

Al fine di stabilire se e quali metriche avessero capacità discriminative verso la popolazione sana nell'MSA-C e/o MSA-P o intra MSA i valori della media temporale pesata di *MSA-C* e *MSA-P* sono stati confrontati mediante una ANOVA Kruskal-Wallis non parametrica ai valori normativi del controllo sano; laddove il modello risultasse significativo, i sottogruppi sono stati confrontati mediante test *post-hoc* Mann-Whitney.

Gli indici che sono emersi significativi dal confronto MSA-C vs. HC e MSA-P vs. HC sono stati inclusi in un'analisi *Receiver Operative Characteristic* (ROC) per calcolare e confrontare il loro potere discriminativo. Un indice con AUC (*Area Under the ROC Curve*) nel range 0.7-0.9 è stato considerato avere una moderata accuratezza, mentre un indice con AUC > 0.9 è rappresentativo di un'elevata accuratezza.

I pazienti presentano una numerosità di *follow-up* (FU) differente. Per ogni metrica è stata successivamente calcolata la variazione percentuale annuale media data dalla seguente formula: $[(\text{ultimo FU} - \text{baseline}) / \text{tempo}_{\text{mesi}}] * 12$.

Al fine di stabilire se la variazione nel tempo fosse differente nella prima fase rispetto alla fase tardiva della malattia, i valori di variazione percentuale annuale media di *Early phase* e *Late phase* sono stati confrontati mediante il test Mann-Whitney.

Al fine di stabilire se la variazione nel tempo fosse differente e specifica per un marker per MSA-C vs MSA-P i valori di variazione percentuale annuale media dei due gruppi sono stati confrontati mediante il test Mann-Whitney.

Essendo l'MSA una patologia neurodegenerativa a rapida progressione è necessario individuare metriche abili a cogliere annualmente una variazione

rilevante. A tal scopo è stata calcolata per ciascun gruppo la frequenza di pazienti con una variazione media annua $> 5\%$ (in valore assoluto).

Infine, in modo da indagare la capacità degli indici che hanno potenzialità discriminativa di cogliere la compromissione temporale (durata di malattia) e motoria (MDS-UPDRS-III) nell'MSA, è stato usato uno spaghetti plot.

La differenza statisticamente significativa è stata considerata per i *p value* < 0.05 .

Le analisi sono state eseguite mediante il software statistico IBM SPSS 25.0.

RISULTATI

Caratteristiche demografiche

Nello studio retrospettivo longitudinale sono stati inclusi 17 pazienti, 11 con diagnosi di MSA-P probabile e 6 con diagnosi di MSA-C. Il gruppo di pazienti con MSA in fase iniziale (0-4 anni dall'esordio) è composto da 10 pazienti (6 MSA-P e 4 MSA-C) rappresentando il 58.8%. Il gruppo di pazienti con MSA in fase tardiva (5-9 anni dall'esordio) è composto da 7 pazienti (5 MSA-P e 2 MSA-C) rappresentando il 41.2%. L'età di esordio osservata è in un intervallo tra 46 e 69 anni. I due gruppi risultano simili per età, sesso, età di esordio e percentuale di fenotipo. In accordo al criterio di suddivisione, la durata di malattia risulta significativamente superiore nel gruppo *Late Phase* (6.86 (1.57) vs. 2.67 (1.22)) (maggiori dettagli in Tabella IX).

Tabella IX – Caratteristiche demografiche della popolazione.

	MSA probabile totale N=17		Patologia in fase iniziale N=10		Patologia in fase tardiva N=7		Mann- Whitney y U test p-value
	Media	SD	Media	SD	Media	SD	
Età alla visita (anni)	65,77	6,04	62,89	7,15	66,71	6,50	0,3957
Sesso (M%)	31%		14,3%		50,0%		0,4300
Età all'esordio (anni)	59,75	6,84	60,00	7,78	59,42	5,99	0,6713
Durata di malattia all'esordio	4,77	2,62	2,67	1,22	6,86	1,57	0,0008*
MSA probabile (P% / C%)	65 /35%		60 /40%		71 / 29%		1,0000

Note: * $p \leq 0,05$; DS: Deviazione Standard.

Il numero di RM in *follow up* per paziente è per il 65% di un solo FU, 4/17 hanno 2-FU e 2/17 hanno > 3-FU come osservabile in Figura 12.

Early phase (0-4 years disease duration at baseline)

phenotype	code	Baseline	FU1	FU2	FU3	FU4
		Disease duration				
MSA-P	pat1	3	5			
MSA-P	pat4	4	6			
MSA-P	pat5	4	5			
MSA-P	pat9	1	2			
MSA-C	pat10	3	4	5	6	7
MSA-C	pat11	4	4			
MSA-P	pat13	1	2			
MSA-C	pat14	0	4	4		
MSA-C	pat16	3	3	4		
MSA-P	pat17	2	3			

Late phase (5-9 years disease duration at baseline)

phenotype	code	Baseline	FU1	FU2	FU3	FU4
		Disease duration				
MSA-P	pat2	7	8	10		
MSA-C	pat3	8	9			
MSA-P	pat6	9	10			
MSA-P	pat7	8	10			
MSA-P	pat8	6	7	8	9	
MSA-C	pat12	5	6	8		
MSA-P	pat15	5	6			

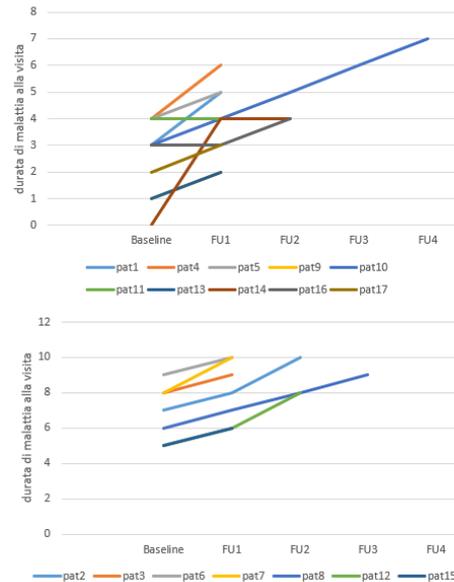


Figura 12 - RM in baseline e follow up dei pazienti.

Caratteristiche cliniche

I due gruppi di pazienti MSA presentano simile dose giornaliera di levodopa, severità cognitiva (MMSE e MoCA), severità degli aspetti comportamentali, quali l'ansia e la depressione (STAi-Y1,2 e BDI), e simile impatto sulle abilità funzionali, strumentali e cognitive (ADL, IADL e PDCFRS).

Il gruppo con patologia in fase tardiva assume mediamente una minore dose di dopamino agonisti, ha una significativa severità motoria maggiore (MDS-UPDRS-III) con problemi di instabilità posturale (H&Y>3) e maggiore impatto sulla qualità di vita (PDQ8).

I pazienti reclutati sono generalmente cognitivamente preservati o con declino cognitivo lieve (maggiori dettagli nella Tabella X).

Tabella X – Risultati della valutazione clinica dei pazienti con annesse le performances motorie, cognitive, comportamentali e funzionali alla baseline.

	MSA probabile totale N=17		Patologia in fase iniziale N=10		Patologia in fase tardiva N=17		Mann-Whitney U test
	Media	SD	Media	SD	Media	SD	p-value
LEED (mg)	610,42	269,41	559,43	240,19	681,80	319,61	0,6255
DAED (mg)	187,14	49,57	225,00	17,32	136,67	15,28	0,0308*
H&Y	3,14	0,69	2,67	0,58	3,50	0,58	0,1147
H&Y > 3	23%		0%		50%		0,1408
ADL	4,6	1,96	4,67	1,86	4,50	2,38	0,8195
IADL	5,8	1,99	6,33	1,63	5,00	2,45	0,3820
PDQ-8	13,22	6,67	9,60	6,80	17,75	2,75	0,0500*
PD-CFRS	2,8	1,30	2,75	1,50	3,00		0,4292
UMSARS-I	13	4,24	10,00		16,00		/
UMSARS-II	19	1,42	18,00		20,00		/
UMSARS-IV	2	0	2,00		2,00		/
UMSARS-TOT	34	5,66	30,00		38,00		/
MDS-UPDRS-III (ON state)	42,56	15,91	33,00	7,97	54,50	15,76	0,0143*
MMSE-raw	28,42	1,51	28,86	1,07	27,80	1,92	0,3159
MoCA-raw	22	2,31	22,83	2,32	20,75	1,89	0,1224
BDI	13,82	6,62	13,83	6,68	13,80	7,33	0,9269
STAI-Y1	43,38	7,91	43,00	8,65	44,50	7,78	1,0000
STAI-Y2	44,38	7,25	43,67	7,94	46,50	6,36	0,5050
Stato Cognitivo (NC/MCI %)	31 /69%		34 /66%		29 /71%		1,0000

Note: * $p \leq 0,05$; DS: Deviazione Standard; LEED: L-DOPA Equivalent Daily Dose; DAED: Dopamine-Agonist Equivalent Dose; H&Y: Hoehn & Yahr Scale; ADL: Activities of Daily Living; IADL: Instrumental Activities of Daily Living; PDQ-8: 8-item Parkinson's Disease Questionnaire; PD-CFRS: Parkinson's Disease Cognitive Functional Rating Scale; UMSARS: Unified Multiple System Atrophy Rating Scale; MDS-UPDRS: Movement Disorder Society - Unified Parkinson's Disease Rating Scale; MMSE: Mini Mental State Examination; MoCA: Montreal Cognitive Assessment; BDI: Beck Depression Inventory; STAI: State-Trait Anxiety Inventory (Y1 state, Y2 trait); NC: Normal Control; MCI: Mild Cognitive Impairment.

Variabilità della capacità diagnostica degli indici morfometrici nell'MSA

L'analisi della capacità diagnostica è stata effettuata analizzando la media ponderata nel tempo (*time weighted average*) che consente di avere un valore medio tra i risultati distribuiti nel tempo del singolo paziente nei due range temporali e, allo stesso tempo, ottenere una misura stabile e meno suscettibile a variabilità derivata da scanner, posizionamento nello scanner, e infine *rater*. La Tabella XI è rappresentativa delle medie ponderate dei diversi indici analizzati, suddivisi in indici MRPI basati su aree e indici MO (*Medulla Oblongata*) basati sul diametro, misurati per il gruppo del controllo, il gruppo in fase iniziale e il gruppo in fase tardiva. Sono presenti delle differenze statisticamente significative

compressive per quanto riguarda l'area del mesencefalo (p value = 0,0008), l'area del ponte (p value = 0,0008), il diametro del ponte (p value = 0,000001), il diametro superiore del midollo allungato (MO-A, p value = 0,0003) e il diametro inferiore del midollo allungato (MO-B, p value = <0,000001). Analizzando questi risultati con un test *post-hoc* di Mann-Whitney U, si ottengono i risultati esposti nella Tabella XII. Da tali confronti emerge che le misure dell'area del mesencefalo (M), l'area del ponte (P), il diametro del ponte (P dm), il diametro superiore del midollo allungato (MO-A) e il diametro inferiore del midollo allungato (MO-B) risultano efficaci nel distinguere l'MSA dalla popolazione sana, non solo nella fase tardiva ma anche nella fase iniziale della malattia.

Tabella XI - Differenze tra le medie ponderate nel tempo degli indici morfometrici per controllo, gruppo in fase iniziale e gruppo in fase tardiva.

Media ponderata nel tempo		HC			Early phase			Late phase			Kruskal Wallis ANOVA p-value
		media	SD	2.5-97.5P	media	SD	2.5-97.5P	media	SD	2.5-97.5P	
Indici MRPI	M	163,5	25,3	116 - 221	142,48	21,42	127 - 158	129,07	16,68	113 - 145	0,0008 *
	P	563,1	57,7	414 - 653	465,29	57,43	424 - 506	446,57	91,07	362 - 531	0,0008 *
	MRPI	8,04	1,65	5,4 - 12,5	8,46	2,17	6,1 - 12,1	8,22	2,47	5,3 - 10,9	0,953
	MRPI 2.0	1,49	0,53	0,7 - 3,2	1,62	0,67	0,8 - 3,0	1,86	0,70	1,1 - 2,8	0,399
	P/M	3,11	0,35	2,4 - 3,9	3,33	0,59	2,5 - 4,1	3,47	0,70	2,7 - 4,7	0,363
	P/M 2.0	0,58	0,17	0,3 - 1,1	0,64	0,26	0,4 - 1,2	0,79	0,25	0,5 - 1,2	0,085
Indici MO	M dm	11,0	0,7	9,6 - 12,4	10,96	0,81	9,5 - 12,4	10,97	0,74	9,7 - 12,0	0,998
	P dm	17,5	0,9	15,7 - 19,3	15,32	1,14	13,4 - 17,4	14,73	1,79	12,2 - 16,9	0,000001*
	MO-A	14,6	0,8	13 - 16,2	13,05	1,20	11,4 - 15,1	13,55	1,08	12,0 - 15,2	0,0003 *
	MO-B	12,4	0,8	10,8 - 14	10,5	0,68	9,7 - 11,9	10,4	1,08	8,69 - 11,66	<0,000001*

Note: * $p \leq 0,05$; HC: Healthy Controls; SD: Deviazione Standard; 2.5-97.5 P: range dei percentili entro cui si colloca il 95% dei valori (intervallo di confidenza); M: Mesencefalo; P: Ponte; M dm: diametro del mesencefalo; P dm: diametro del ponte; MO: Medulla Oblongata.

Tabella XII – Valutazione delle significatività con test di Mann-Whitney post-hoc della Tabella XI.

Media ponderata nel tempo		Kruskal Wallis ANOVA	HC vs. MSA EP	HC vs. MSA LP	MSA EP vs. MSA LP
		p-value			
Indici MRPI	M	0,0008	*	*	
	P	0,0008	*	*	
	MRPI	0,953			
	MRPI 2.0	0,399			
	P/M	0,363			
	P/M 2.0	0,085			
Indici dei diametri MO	M dm	0,998			
	P dm	0,000001	*	*	
	MO-A	0,0003	*	*	
	MO-B	<0,000001	*	*	

Note: * $p \leq 0,05$; HC: Healthy Controls; EP: Early Phase; LP: Late Phase; M: Mesencefalo; P: Ponte; M dm: diametro del mesencefalo; P dm: diametro del ponte; MO: Medulla Oblongata.

Nella Tabella XIII, invece, vengono rappresentati i valori delle medie ponderate nel tempo dei vari indici analizzati per tre sottogruppi diversi, ossia controllo, pazienti con MSA-C e pazienti con MSA-P. Anche in questo caso si osserva una differenza statisticamente significativa complessiva al test di ANOVA Kruskal Wallis per quanto riguarda l'area del mesencefalo ($p\ value = 0,0013$), l'area del ponte ($p\ value = 0,0005$), il diametro del ponte ($p\ value = <0,000001$), il diametro superiore del midollo allungato ($p\ value = 0,0001$) e il diametro inferiore del midollo allungato ($p\ value = <0,000001$). È emerso inoltre un lieve *trend* rilevato per l'indice P/M ($p\ value = 0,071$), dove esiste una significatività nella distinzione di MSA-P dal controllo ($p\ value = 0,0244$), ma non tra MSA-C e MSA-P e tra MSA-C e HC.

Come esposto per i risultati precedenti, anche in questo caso è stata svolta una comparazione binaria tra gli specifici gruppi attraverso il test di Mann-Whitney, che ha evidenziato come le metriche non risultino capaci di distinguere tra i due fenotipi di MSA (Tabella XIV).

Tabella XIII - Differenze tra le medie ponderate nel tempo degli indici morfometrici per controllo, MSA-C e MSA-P.

Media ponderata nel tempo		HC			MSA-C			MSA-P			Kruskal Wallis ANOVA
		media	SD	2.5-97.5P	media	SD	2.5-97.5P	media	SD	2.5-97.5P	p-value
Indici MRPI	M	163,5	25,3	116,6- 221,6	134,3	22,3	110,9 -157,7	124,4	19,9	125,2 -154,5	0,013 *
	P	563,1	57,7	414,9- 653,3	417,9	83,9	329,8 -506,0	479,2	55,7	441,8 -516,6	0,0005 *
	MRPI	8,04	1,65	5,4 - 12,5	7,40	2,47	5,3 - 10,9	8,89	1,99	6,0 - 12,1	0,271
	MRPI 2.0	1,49	0,53	0,7 - 3,2	1,64	0,81	0,98 - 3,04	1,76	0,62	0,8 - 2,8	0,324
	P/M	3,11	0,35	2,4 - 3,9	3,16	0,73	2,55 - 4,10	3,51	0,55	2,8 - 4,7	0,071 *
	P/M 2.0	0,58	0,17	0,3 - 1,1	0,71	0,31	0,40 - 1,24	0,70	0,24	0,4 - 1,2	0,250
Indici MO	M dm	11,0	0,7	9,6 - 12,4	10,44	0,75	9,5 -11,4	11,3	0,62	10,3-12,4	0,104
	P dm	17,5	0,9	15,7 - 19,3	14,21	1,50	12,1-15,6	15,56	1,18	13,4-17,4	<0,000001*
	MO-A	14,6	0,8	13 - 16,2	12,55	0,80	11,8-14,0	13,64	1,15	11,4-15,2	0,0001 *
	MO-B	12,4	0,8	10,8 - 14	10,03	0,52	9,1-10,6	10,66	0,91	8,7-11,9	<0,000001*

Note: * $p \leq 0,05$ (e tendenza di significatività per quanto riguarda P/M); HC: Healthy Controls; SD: Deviazione Standard; 2.5-97.5 P: range dei percentili entro cui si colloca il 95% dei valori (intervallo di confidenza); M: Mesencefalo; P: Ponte; M dm: diametro del mesencefalo; P dm: diametro del ponte; MO: Medulla Oblongata.

Tabella XIV - Valutazione delle significatività con test di Mann-Whitney post-hoc della Tabella XIII.

Media ponderata nel tempo		Kruskal Wallis ANOVA	HC vs. MSA C	HC vs. MSA P	MSA C vs. MSA P
		p-value			
Indici MRPI	M	0,0013	*	*	
	P	0,0005	*	*	
	MRPI	0,271			
	MRPI 2.0	0,324			
	P/M	0,071		*	
	P/M 2.0	0,250			
Indici dei diametri MO	M dm	0,104			
	P dm	<0,000001	*	*	
	MO-A	0,0001	*	*	
	MO-B	<0,000001	*	*	

Note: * $p \leq 0,05$ (e tendenza di significatività per quanto riguarda P/M); HC: Healthy Controls; M: Mesencefalo; P: Ponte; M dm: diametro del mesencefalo; P dm: diametro del ponte; MO: Medulla Oblongata.

Dal dettaglio della distribuzione dei valori delle metriche emerse come significative (Figura 13) si osserva che P area, M area e in maniera lieve il diametro di P peggiorano con il progredire della patologia nell'MSA, mentre i diametri midollari MO-A e MO-B risultano *marker* di patologia.

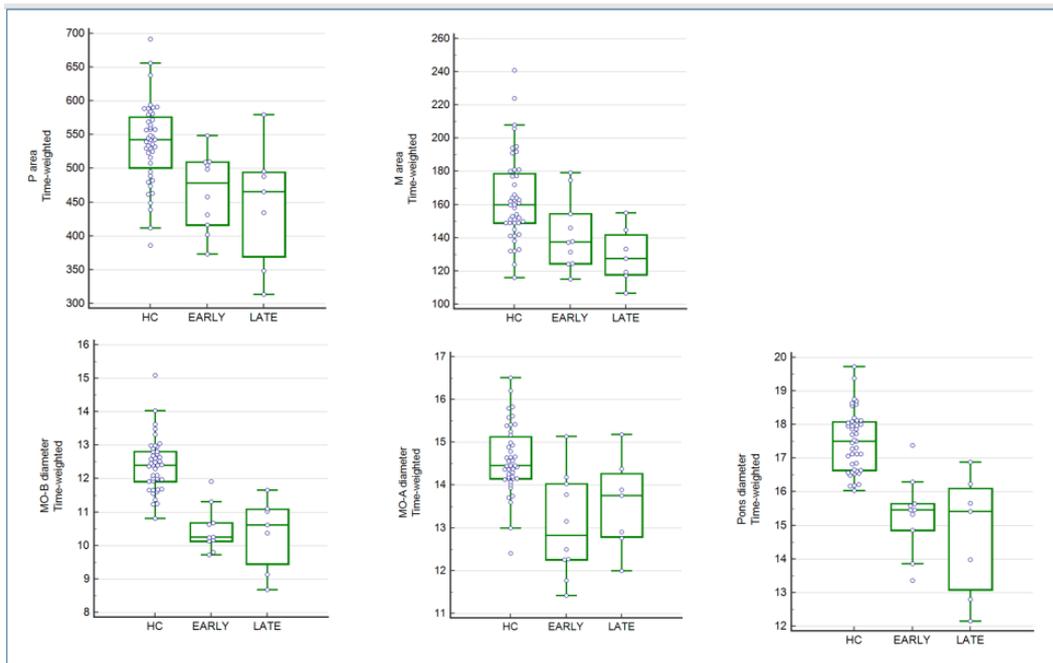


Figura 13 - Distribuzione grafica delle medie ponderate nel tempo (time weighted average) degli indici M, P, Pons diameter, MO-A diameter e MO-B diameter nei tre gruppi (HC: controllo, Early: fase iniziale, Late: fase tardiva). Note: M: Mesencefalo; P: Ponte; MO: Medulla Oblongata.

Infine, andando a valutare mediante *Receiver Operating Characteristic Curve* (ROC) la capacità delle metriche di discriminare l'MSA dalla popolazione sana, si osserva come M area, P area e MO-A diameter risultino moderatamente accurati (AUC range 0.7-0.9), mentre Pons diameter e MO-B diameter risultino altamente accurati con AUC=0.943 e AUC=0.970 (Figura 14). È interessante osservare un valore maggiormente significativo per quanto riguarda il diametro del ponte rispetto all'area del ponte.

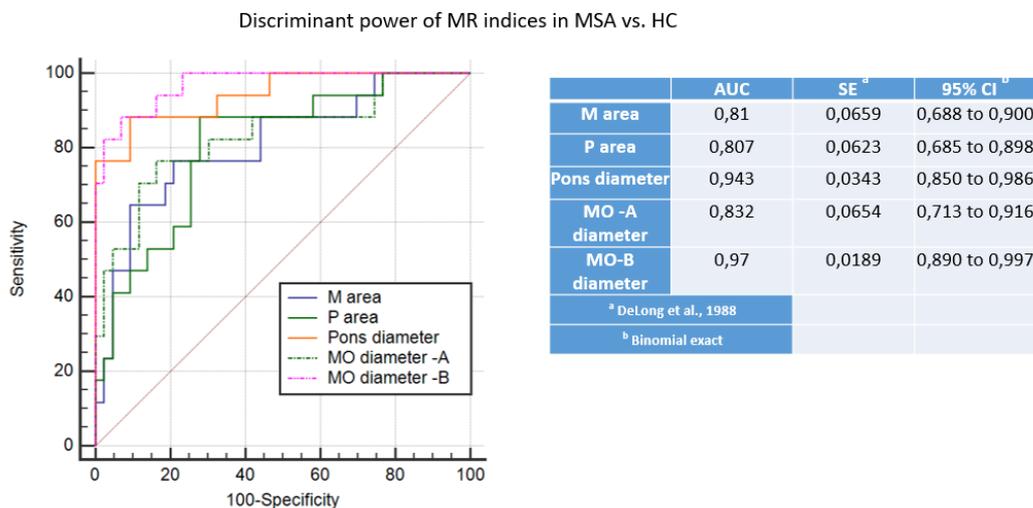


Figura 14 – Grafico di accuratezza diagnostica con relativi valori del potere discriminante degli indici di RM tra MSA e il controllo. Note: HC: Healthy Control; M: Mesencefalo; P: Ponte; MO: Medulla Oblongata; SE: Sensibilità; CI: Intervallo di confidenza;

Variabilità longitudinale degli indici morfometrici

Al fine di valutare la capacità degli indici di tracciare la progressione dell'MSA analizzando le possibili differenze tra fenotipi, sono stati calcolati i tassi di variazione medi annui. I risultati sono esposti nella Tabella XV per quanto riguarda la comparazione tra fase iniziale e tardiva, nella Tabella XVI per quanto riguarda la comparazione tra MSA-P e MSA-C. Si osserva un decremento nel tempo derivato da atrofia per tutti gli indici ad eccezione degli indici MRPI 2.0 e P/M 2.0 che invece si discostano dal *range* di normalità con valori crescenti. Dal confronto della progressione nel tempo emerge che la variazione è simile nella prima fase e nella fase tardiva della malattia. Non si evidenziano inoltre delle differenze nel pattern di atrofia.

Tabella XV - Tasso annuo di variazione degli indici per le sottopopolazioni in fase iniziale e tardiva.

Tasso annuo di variazione		Early phase			Late phase			Mann-Whitney U test
		Media	SD	2.5-97.5P	Media	SD	2.5-97.5P	p-value
Indici MRPI	M	-3,25	3,89	-10,1 - 2,6	-4,51	3,12	-9,3 - 0,3	0,379
	P	-4,54	4,37	13,0 - 0,3	-5,35	4,11	-11,9 - -1,4	0,696
	MRPI	-2,95	6,53	-14,8 - 9,8	-1,30	8,10	-12,8 - 12,7	0,626
	MRPI 2.0	5,2	11,25	-6,0 - 34,0	5,14	10,45	-7,0 - 24,0	0,845
	P/M	-1,3	5,76	-13,0 - 10,0	-1,6	5,03	-8,0 - 6,0	0,850
	P/M 2.0	7,2	10,91	-4,0 - 35,0	6,67	5,75	-1,0 - 16,0	0,785
Indici dei diametri MO	M dm	-1,93	1,98	-5,7 - 1,2	-2,21	3,13	-8,8 - 1,1	0,999
	P dm	-3,24	3,3	-8,4 - 1,5	-5,55	2,52	-9,8 - -1,4	0,696
	MO-A	-3,45	3,76	-10,8 - 1,3	-3,4	3,58	-10,6 - 0,3	0,961
	MO-B	-2,98	2,92	-7,5 - 2,8	-2,46	3,42	-8,2 - 2,9	0,625

Note: SD: Deviazione Standard; 2.5-97.5 P: range dei percentili entro cui si colloca il 95% dei valori (intervallo di confidenza); M: Mesencefalo; P: Ponte; M dm: diametro del mesencefalo; P dm: diametro del ponte; MO: Medulla Oblongata.

Tabella XVI - Tasso annuo di variazione degli indici per le sottopopolazioni in MSA-C e MSA-P.

Tasso annuo di variazione		MSA-C			MSA-P			Mann-Whitney U test
		Media	SD	2.5-97.5P	Media	SD	2.5-97.5P	p-value
Indici MRPI	M	-4,29	3,97	-9,3 - 2,6	-3,48	3,46	-10,1 - 0,3	0,615
	P	-5,42	4,95	11,9 - 0,3	-4,58	3,88	-13,0 - -0,6	0,919
	MRPI	-3,39	5,62	-12,8 - 3,3	-1,667	7,865	-14,8 - 12,7	1
	MRPI 2.0	0,33	5,82	-7,0 - 8,0	7,818	11,8644	-6,0 - 34,0	0,107
	P/M	-1,6	4,16	-8,0 - 3,0	-1,3	6,0562	-13,0 - 10,0	0,800
	P/M 2.0	2,83	4,49	-4,0 - 7,0	9,5	10,3843	-4,0 - 35,0	0,102
Indici dei diametri MO	M dm	-2,32	3,39	-8,8 - 1,2	-1,9	1,9	-5,7 - 1,1	0,840
	P dm	-3,65	4,22	-9,8 - 1,5	-4,49	2,58	-8,4 - -1,2	0,651
	MO-A	-4,35	4,19	-10,6 - 1,3	-2,93	3,29	-10,8 - 0,3	0,365
	MO-B	-2,63	3,53	-8,2 - 2,8	-2,84	2,92	-7,5 - 2,9	0,840

Note: SD: Deviazione Standard; 2.5-97.5 P: range dei percentili entro cui si colloca il 95% dei valori (intervallo di confidenza); M: Mesencefalo; P: Ponte; M dm: diametro del mesencefalo; P dm: diametro del ponte; MO: Medulla Oblongata.

Al fine di testare la possibilità di un utilizzo della misura sul singolo paziente, è stato analizzato con quale frequenza questo pattern di riduzione sia presente nella popolazione dello studio. A tal fine è stata considerata una soglia di variazione minima del 5% rispetto alla baseline. Nella Figura 15 viene rappresentata la frequenza di pazienti con un tasso annuo maggiore del 5% (in valore assoluto) dei vari indici, distinta per fase di malattia e per fenotipo. Nel considerare efficace un indice per monitorare la progressione, si è posto come *cut-off* una risposta in almeno il 40% dei pazienti. Dalla figura si osserva che gli indici più efficaci con variazione annua >5% sono il P/M 2.0, l'MRPI 2.0, l'area del mesencefalo (M), l'area del ponte (P) e il diametro del ponte (P diam). In particolare, per quanto riguarda l'area del mesencefalo, si osserva una notevole distinzione tra fase iniziale e fase tardiva con variazione che supera il *cut-off* solo nella fase tardiva. Il diametro del ponte arriva ad avere una differenza molto sensibile soprattutto nella fase tardiva dimostrando quasi nel 90% dei pazienti una variazione >5%. Riguardo i diametri della medulla, si denota la loro stabilità, ma si osserva nel grafico relativo ai fenotipi un interessamento maggiore del diametro superiore (MO-A) nell'MSA-C e un interessamento maggiore del diametro inferiore (MO-B) nell'MSA-P. Infine, MRPI 2.0 risulta significativamente più efficace nell'MSA-P.

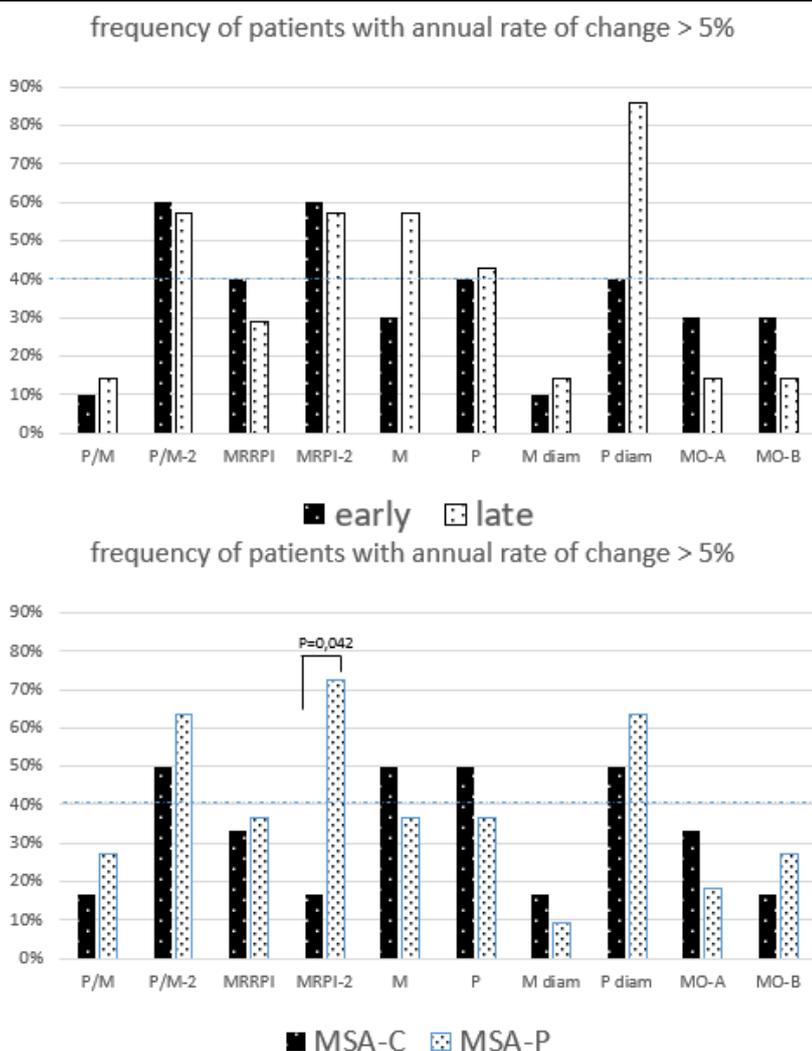


Figura 15 - Frequenza dei pazienti con un tasso annuo di variazione > |5%| suddivisi per Early/Late phase sopra e MSA-C/MSA-P sotto. Cut-off = 40%.

Infine, viene presentata nella Figura 16 la distribuzione qualitativa grafica, tenendo conto sia della fase di malattia che del fenotipo, dei principali indici con un dato più significativo (frequenza di pazienti con tasso annuo >5% che super il *cut-off*). Si osserva un dato rilevante soprattutto per MRPI 2.0 e P/M 2.0 nella fase tardiva delle MSA-P. L'area pontina è maggiormente sensibile a una variazione nel caso di MSA-C in fase tardiva. Per quanto riguarda l'area del mesencefalo e i diametri della medulla, nonostante graficamente sia presente un dato verosimilmente sensibile per l'MSA in fase tardiva, per via della numerosità non è possibile esprimerlo adeguatamente.

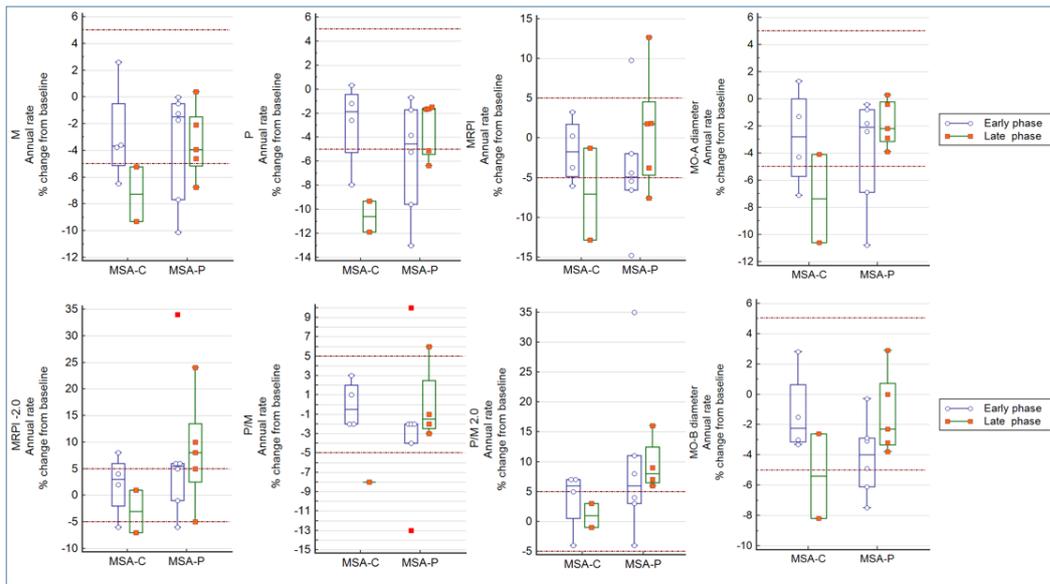


Figura 16 – Distribuzione grafica del tasso annuo di variazione dei vari indici con suddivisione per fase e fenotipo.

Nelle Figure 17 (indici basati sull'area) e 18 (indici basati sul diametro) si osserva una visuale qualitativa sull'effettiva variazione delle misure in relazione alla durata di malattia, mostrando da un lato quella che è l'effettiva variabilità intra-campione, mentre dall'altro la variabilità inter-campione. È interessante notare come il diametro e l'area del ponte si presentino con un andamento di progressione già dall'esordio. Il diametro superiore del midollo allungato, invece, si presenta con valori fuori dal *range* di normalità già dall'esordio soprattutto per quanto riguarda MSA-C, mentre per le MSA-P, indipendentemente dalla progressione della malattia, tendono a rimanere nei valori di normalità. Il discorso è diverso per il diametro inferiore del midollo allungato, dato che entrambi i fenotipi tendono a convergere a valori patologici. Per quanto riguarda gli altri indici, il loro valore rimane prevalentemente nell'intervallo di confidenza, con poche eccezioni che si collocano al di fuori.

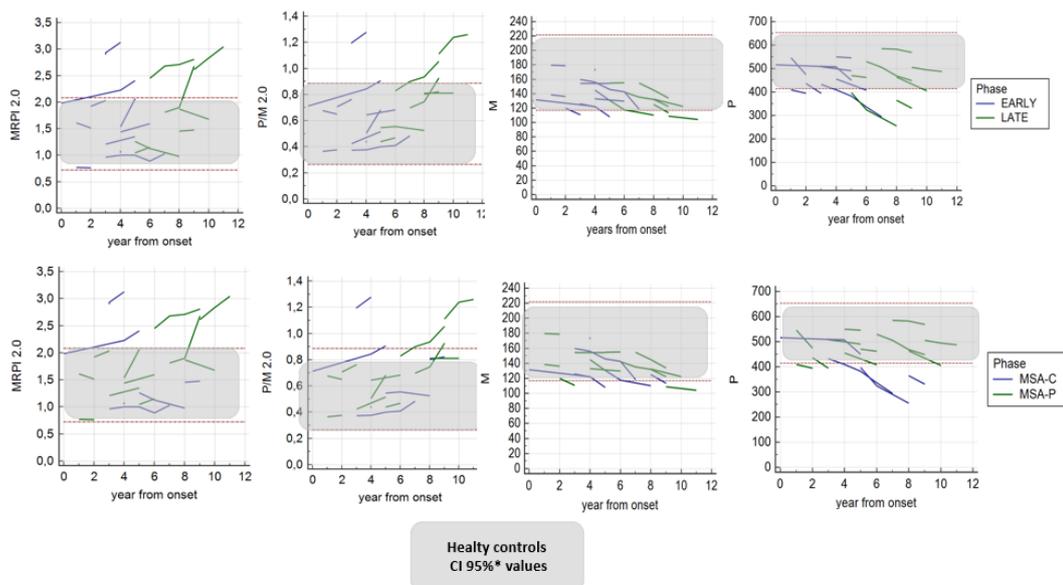


Figura 17 – Analisi seriale: grafico della variazione degli indici basati sull'area con la progressione della malattia. Note: Confidence interval based on robust method (CLSI C28-A3) bootstrap 10000 replication.

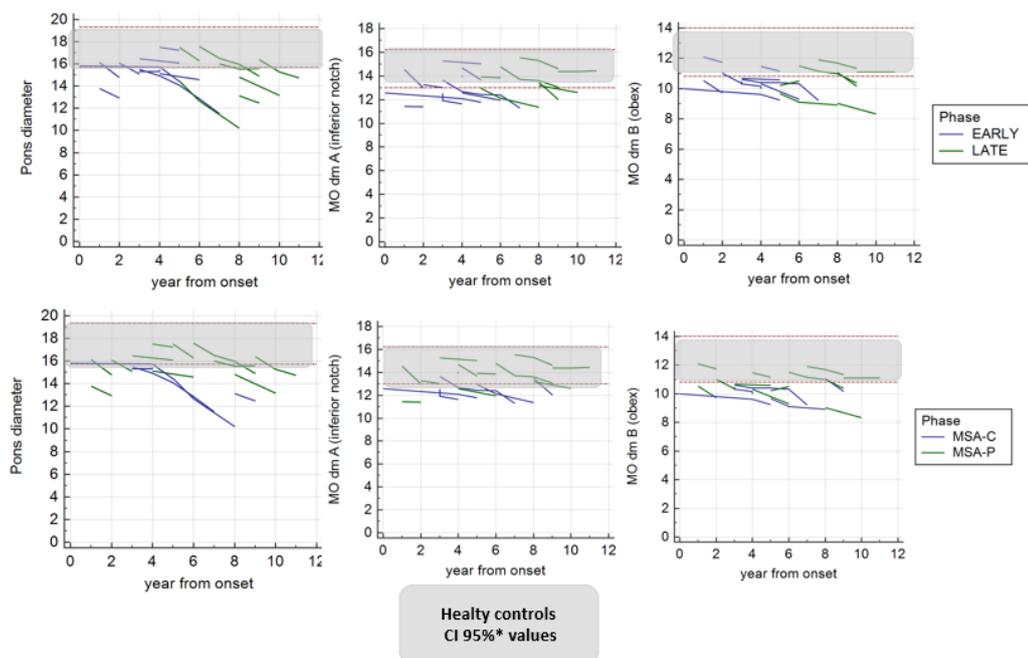


Figura 18 – Analisi seriale: grafico della variazione degli indici basati sul diametro con la progressione della malattia. Note: Confidence interval based on robust method (CLSI C28-A3) bootstrap 10000 replication.

Infine, per quanto riguarda la correlazione tra gli indici e i sintomi motori, provvedendo a rappresentare il punteggio della scala MDS-UPDRS-III longitudinalmente (si sono valutate le visite disponibili per i pazienti presi in esame), nella Figura 19 si osserva che il punteggio è tendenzialmente crescente linearmente con il progredire della malattia, ad avvalorare il risultato ottenuto nella valutazione clinica.

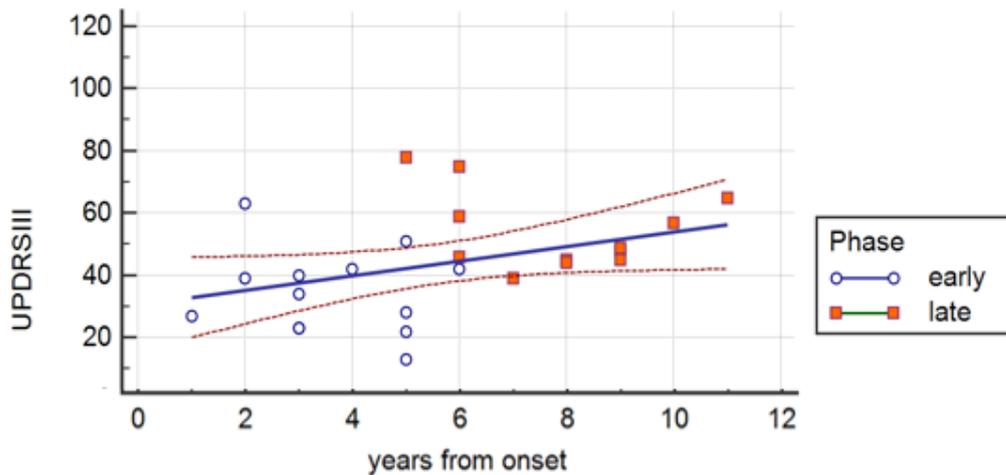


Figura 19 - Rappresentazione del punteggio di MDS-UPDRS-III in base alla durata di malattia.

Successivamente, si è verificata la relazione tra gli indici e il punteggio di MDS-UPDRS-III in un sotto-campione di 5 MSA-C e 9 MSA-P per quanto riguarda la fase (Figura 20) e il fenotipo (Figura 21). Accanto a variazioni rilevanti della scala motoria, il valore degli indici rimane abbastanza stabile, per cui questi indici non sono sensibili all'aspetto motorio. A differenza dei casi di MSA-C in cui i valori di compromissione motoria sono tendenzialmente stabili, per quanto riguarda l'MSA-P si osserva un marcato peggioramento, non colto da una corrispondente variazione degli indici. Soltanto un paziente presenta un valore significativo con peggioramento dell'indice P/M 2.0 in relazione al peggioramento della scala motoria; gli altri pazienti hanno un andamento sostanzialmente stabile.

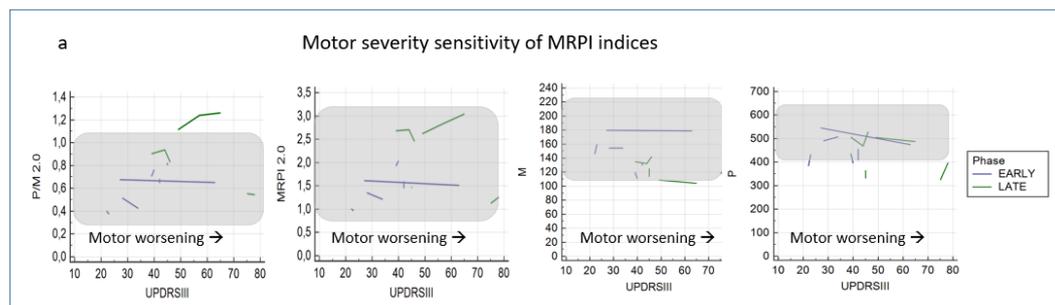


Figura 20 - Relazione tra i quattro indici più significativi (P/M 2.0, MRPI 2.0, M e P) e il punteggio MDS-UPDRS-III per quanto riguarda la fase di malattia.

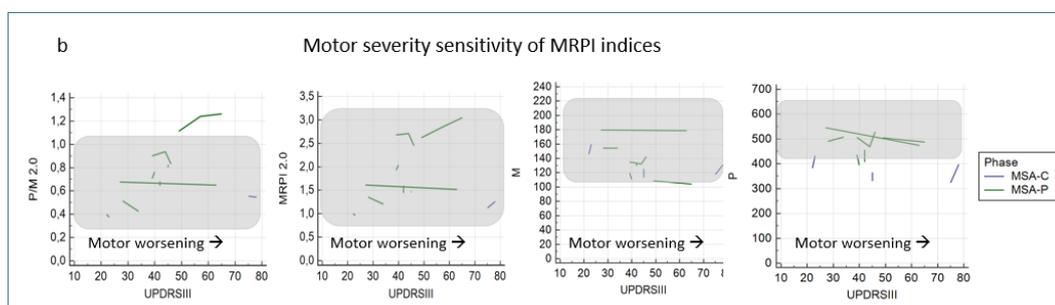


Figura 21 - Relazione tra i quattro indici più significativi (P/M 2.0, MRPI 2.0, M e P) e il punteggio MDS-UPDRS-III per quanto riguarda la il fenotipo.

DISCUSSIONE

La recente introduzione dell'alterazione in almeno uno dei *marker* di atrofia tra i criteri per la diagnosi di MSA "*clinically established*" (74) ha reso quanto mai impellente la necessità di avere strumenti quantitativi adeguati a indagare la presenza di alterazione. Questo studio retrospettivo è il primo studio longitudinale che va ad indagare l'abilità degli indici morfometrici di cogliere gli aspetti di atrofia a livello di ponte, peduncoli cerebellari, medulla, indicati nei criteri sia da un punto di vista diagnostico che di progressione. I risultati confermano da un punto di vista diagnostico che l'atrofia rilevata dalla misura dell'area e del diametro del ponte e della medulla sono capaci di differenziare sia MSA-C che MSA-P dalla popolazione sana. Al contrario di quanto osservato finora in letteratura in alcuni studi soltanto nella fase tardiva, è emerso che nell'MSA si ha, come nella PSP, una riduzione seppure meno marcata dell'area del mesencefalo già dall'esordio. A differenza della PSP, l'atrofia mesencefalica non interessa però il diametro antero-posteriore che rimane inalterato nel tempo. Ulteriore aspetto innovativo è il fatto che la capacità diagnostica verso i sani è presente già entro i primi 5 anni di patologia con un $AUC > 0.8$. Relativamente al tasso di progressione, mentre l'atrofia medullare e il rapporto P/M sembrano cogliere la patologia, ma sono poco sensibili alla progressione del danno rimanendo stabili, i nuovi indici P/M 2.0 e MRPI 2.0 e soprattutto il diametro pontino sono sensibili alla progressione. Infine, un aumento al FU degli indici di MRPI 2.0 e di P/M 2.0 è di supporto di diagnosi di MSA-P.

Aspetti demografici

Il range di esordio della popolazione di questo studio è tra i 46 e 69 anni con una media intorno alla sesta decade in linea con la letteratura (18), per cui non sono presenti MSA ad esordio giovanile (YOMSA, prima dei 40 anni) e MSA ad esordio tardivo (LOMSA, dopo i 75 anni). Dal campione si evince una prevalenza maggiore di MSA-P rispetto a MSA-C che rispetta la distribuzione geografica dell'MSA a livello europeo (19). Le caratteristiche demografiche non denotano una variabilità tra i due gruppi analizzati (*Early phase group* e *Late phase group*), se non per la durata della malattia, in linea con la suddivisione attuata.

Aspetti clinici

Per quanto riguarda l'assunzione di L-DOPA e dopamino-agonisti tra i due gruppi, si denota una maggiore assunzione di L-DOPA in fase tardiva nonostante la differenza non sia significativa, a supporto dell'interessamento e del danno incrementale ai neuroni dopaminergici nel tempo. L'assunzione in fase tardiva di dopamino-agonisti è decisamente minore in quanto c'è tendenza a non somministrarli per via degli effetti collaterali (1).

Per quanto riguarda i risultati delle scale motorie, si osservano punteggi maggiori in fase tardiva rispecchiando l'evoluzione neuropatologica dell'MSA, tuttavia, l'unico dato significativo è rappresentato dal valore della scala MDS-UPDRS-III. Questa scala è di riferimento per valutare il danno motorio parkinsoniano in maniera oggettiva (121), per cui è presente una maggiore compromissione motoria e quindi una severità maggiore nell'MSA in fase tardiva, rappresentativa della fisiopatologia e della storia naturale della malattia.

Le scale cognitive e funzionali delineano una compromissione cognitivo-funzionale simile nelle due fasi della malattia, anche se, tuttavia, si può osservare un generale peggioramento dei punteggi della scala cognitiva globale in fase tardiva, probabile esito dell'impatto motorio sull'esecuzione dei *task* cognitivi richiesti. Nonostante classicamente il deterioramento cognitivo non sia considerato una caratteristica clinica dell'MSA e la demenza sia indicata come criterio diagnostico di esclusione, in letteratura, sulla base di una valutazione neuropsicologica completa, si riscontra che nell'MSA è comunque presente un deterioramento cognitivo lieve (MCI, *Mild Cognitive Impairment*) e in una piccola percentuale di casi è presente anche demenza (136). I dati dello studio sono in linea con la letteratura evidenziando una percentuale maggiore di pazienti con *Mild Cognitive Impairment* (MCI) rispetto ai NC (*Normal Controls*), ma senza presenza di deterioramento significativo dalla fase iniziale a quella tardiva.

Infine, la valutazione comportamentale denota un peggioramento dell'impatto della patologia sulla qualità di vita nella patologia in fase avanzata, come osservato dai valori quasi raddoppiati nella scala PDQ-8; le scale dell'ansia denotano un moderato stato d'ansia, mentre la scala della depressione dimostra un lieve stato di depressione simile tra i due gruppi.

Variabilità della capacità diagnostica degli indici morfometrici

Per quanto riguarda il primo obiettivo di questo studio, ossia il confronto della capacità diagnostica degli indici radiologici ricavati da misure manuali a seconda della fase della patologia, a livello *cross-sectional* gli indici MRPI, MRPI 2.0, P/M 2.0 e P/M assumono nell'MSA valori nella norma sia nella fase iniziale che tardiva.

Dai dati emerge per contro che gli indici più sensibili per differenziare l'MSA in fase iniziale e in fase tardiva rispetto alla popolazione sana di pari età sono l'area del mesencefalo, l'area del ponte, il diametro del ponte e i diametri superiore e inferiore del midollo allungato.

La capacità diagnostica è efficace in maniera inalterata anche nella fase iniziale della malattia, evidenziando la capacità di cogliere aspetti peculiari dell'MSA. L'atrofia a livello della medulla rimane stabile nel tempo, per cui potrebbe essere utile in studi futuri analizzare se anche il sintomo disautonomico dell'MSA, che la letteratura ha correlato con l'atrofia medullare, rimanga stabile nel tempo, a confermare gli esiti radiologici ottenuti e delineando i diametri del midollo allungato come *marker* di patologia e non di progressione. I risultati a livello dell'atrofia del ponte e della medulla sono in linea con la letteratura, dato che l'MSA è caratterizzata da atrofia pontina, in particolare nell'MSA-C (27), e gli indici del midollo allungato sono rappresentativi del danno disautonomico caratteristico dell'MSA (119). Ciò che risulta una novità è la presenza di riduzione dell'area mediana del mesencefalo come marcatore di MSA, nonostante generalmente in letteratura questo risulti sensibile soprattutto alla PSP piuttosto che all'MSA (114,137), ma in alcuni casi è stata ritrovata atrofia nel mesencefalo anche nell'MSA (138). Tuttavia, il fatto che sia presente significatività soltanto per l'area e non per il diametro indica che probabilmente, in misura proporzionale al declino, si ha atrofia nella parte frontale del mesencefalo, corrispondente alle subregioni paranigrare (PN) e area pigmentata parabrachiale (PBP) dell'area tegmentale ventrale, costituite da cellule dopaminergiche. Questo risultato sembra suggerire che il diametro e l'area costituiscano due informazioni complementari che possono incrementare la specificità di diagnosi tra parkinsonismi.

Per quanto riguarda il fenotipo, si conferma l'abilità degli stessi indici nel differenziare l'MSA-C o MSA-P rispetto al controllo: l'area del mesencefalo,

l'area del ponte, il diametro del ponte e i diametri superiore e inferiore del midollo allungato.

L'indice P/M, che è l'indice con *performance* migliori nella distinzione della PSP o dell'MSA rispetto alla malattia di Parkinson (108,109), basato sull'area del ponte e del mesencefalo, ha dimostrato solo un *trend* di capacità di distinzione dell'MSA verso il sano. In questo studio si osserva la sua rilevanza nel differenziare in particolare MSA-P dal controllo. Nessun indice si è dimostrato capace di differenziare i due fenotipi a livello *cross-sectional*.

Infine, grazie alle ROC, è possibile affermare che i cinque indici descritti (M area, P area, MO-A, MO-B e P diametro) siano i più sensibili nel discriminare l'MSA dalla popolazione sana, in particolare il diametro inferiore del midollo allungato e il diametro del ponte che risultano essere i più accurati con un $AUC > 0.8$. Il potere discriminativo del diametro del ponte risulta molto più significativo dell'area e ciò è probabilmente legato allo standard attuale di valutazione dell'area in piano sagittale che non considera solo la parte pontina, ma anche la parte posteriore che include i nuclei dei nervi motori e sensitivi, mentre misurando il diametro si coglie il danno atrofico effettivo. Questo risultato faciliterebbe di molto le misure manuali a livello sagittale dato che permetterebbe di risparmiare tempo ed evitare una tecnica più complessa di tracciamento dell'area, non sempre disponibile nei *front-end* di refertazione, e soprattutto di visualizzazione delle immagini radiologiche a livello delle piattaforme cliniche di consultazione dei dati anamnestici. Quello che risulta nuovo rispetto alla letteratura (119,139) sono gli indici del midollo allungato, in particolare il diametro inferiore che presenta una significatività decisamente elevata. Attualmente, tra i marcatori morfometrici per la diagnosi di MSA, il midollo non è incluso e dai risultati di questo studio potrebbero supportare l'aggiunta di questo ulteriore *marker* alla diagnosi dell'MSA. Sarà necessario indagarne l'efficacia attraverso ulteriori studi delineandone le caratteristiche in correlazione alla differenziazione dell'aspetto neuropatologico all'esordio e rispetto alle capacità discriminative nei confronti degli altri parkinsonismi.

Variabilità longitudinale degli indici

Per quanto riguarda il secondo obiettivo, ossia valutare la capacità di tracciare la progressione dell'MSA degli indici per fase e fenotipo, la forza di questo studio

risiede nella possibilità di avere misure longitudinali sia nella fase iniziale che nella fase tardiva della patologia, permettendo di osservare aspetti di progressione non specificati o ben documentati dagli attuali studi. La ricerca di queste caratteristiche è molto importante ai fini diagnostici, soprattutto nell'indagine di quali possano essere delle caratteristiche iniziali radiologiche che possano permettere una rapida diagnosi.

Dai dati sui tassi di variazione medi annui, tutti gli indici presentano, al di là di essere o meno nel range di normalità, una variazione rispetto al valore in *baseline*, variando alcuni in positivo (MRPI 2.0, P/M 2.0), mentre gli altri in senso negativo rispetto al valore riscontrato alla *baseline*.

Un altro dato importante è che il valore di variazione annua tende a rimanere abbastanza stabile tra la fase iniziale di malattia e quella tardiva, inoltre le variazioni di questi indici sono molto simili tra MSA-C e MSA-P. L'analisi statistica delinea quindi che questi marcatori possono essere utilizzati a livello del singolo paziente già agli esordi come *marker* di progressione di patologia.

Indagare la frequenza dei pazienti con variazione maggiore del 5% ($> +5\%$ per MRPI 2.0, P/M 2.0, $> -5\%$ per gli altri indici) permette di testare l'effettiva utilità clinica dell'indice nel monitorare la progressione nel singolo paziente. Gli indici che sono risultati avere tale variazione in almeno il 40% del campione e che quindi risultano essere i più efficaci sono P/M 2.0, MRPI 2.0, l'area del mesencefalo, l'area del ponte e il diametro del ponte. Si riconferma l'utilità della misura dell'atrofia del ponte nell'MSA e anche in questo caso si denota a sorpresa l'importanza del mesencefalo, nonostante questo venga generalmente associato alla PSP. In particolare, l'area del mesencefalo può essere utilizzata come marcatore di progressione dato che la frequenza di soggetti con variazione $>5\%$ annua supera il *cut-off* soltanto nella fase tardiva di malattia con una chiara differenza. Per quanto riguarda MRPI 2.0 e P/M 2.0, essi colgono una variazione significativa, arrivando in taluni casi a $+10\%$, in quasi il 60% della popolazione, sia in fase iniziale che tardiva, per cui si ritrovano già all'esordio. Questi dati permettono di delineare l'efficacia di questi due nuovi indici che non sono ancora stati ben indagati nell'MSA a differenza della PSP (in letteratura esiste un'analisi *cross-sectional* verso la PSP per l'MSA-P (118), ma non ci sono dati di progressione).

L'analisi seriale longitudinale delle misure di ciascun paziente evidenzia che il ponte e il mesencefalo raggiungono valori patologici solo in fase tardiva dopo i 4-5 anni con un lieve *trend*. Molto più importante è il tasso che si osserva in fase tardiva nelle misure del diametro del ponte. Anche in questo caso la maggior sensibilità del diametro rispetto all'area è imputabile all'inclusione della parte posteriore al ponte nella misura della sua area che sfuma i valori.

In merito alla medulla, i diametri sono stabili nel tempo, tuttavia il diametro superiore (la parte vagale) interessa maggiormente l'MSA-C, mentre il diametro inferiore (gestione dei sintomi urinari e respiratori) interessa maggiormente l'MSA-P. MRPI 2.0 si conferma come un indice con notevole variazione soprattutto per l'MSA-P, mentre nell'MSA-C risulta generalmente stabile. Ciò permette di indicare la variazione dell'indice come *marker* maggiormente efficace nel rilevare un pattern quasi specifico per l'MSA-P.

In conclusione, tenendo conto di tutti i fattori, quindi variazione in relazione alla fase e al fenotipo, l'utilizzo di MRPI 2.0 e P/M 2.0 come marcatori di progressione, soprattutto nella fase tardiva di MSA-P, presenta buone prospettive che vanno indagate ulteriormente. Gli indici pontini sono molto sensibili all'MSA-C, in particolare in fase tardiva, in linea con le caratteristiche patologiche di questo fenotipo. L'area del mesencefalo e i diametri del midollo allungato sembrano essere più sensibili alle variazioni nell'MSA-C in fase tardiva, tuttavia, a causa della minore numerosità è necessario verificare questo dato negli studi successivi.

Il diametro superiore è sensibile soprattutto per l'MSA-C, per cui le alterazioni autonome a questo livello correlano con questo fenotipo, mentre i valori per MSA-P tendono a rimanere nell'intervallo di normalità. Il diametro inferiore, invece, non presenta questa specificità, avvalorando l'utilità di entrambi i diametri sia per differenziare il fenotipo che per valutare gli specifici sintomi disautonomici come evidenziato nello studio di Suzuki et al. (119). Uno sviluppo interessante sarebbe quello di associare altri esami diagnostici per l'insufficienza autonoma in modo da correlare questi aspetti in maniera longitudinale con i marcatori del midollo allungato.

L'ultimo aspetto esplorato da questo studio è la correlazione della variazione degli indici rispetto ai sintomi motori di tipo parkinsoniano. In merito a questi risultati, si rimarca il fatto che la scala MDS-UPDRS-III coglie gli aspetti di parkinsonismo dell'MSA e il loro peggioramento nel tempo in linea con la letteratura (121), tuttavia, accanto a variazioni cospicue della scala che indicherebbero un peggioramento dei sintomi motori, il valore degli indici basati sull'area non cambia, per cui si conclude che questi indici non colgono la progressione sintomatica motoria. La presenza di valori mancanti nel *dataset* non ha consentito il calcolo del tasso di variazione delle scale cliniche nel tempo da correlare con quello degli indici. Studi futuri saranno necessari per esplorare questi aspetti anche in relazione ai sintomi autonomici e cognitivi.

Limiti

La numerosità dei pazienti reclutati da questo studio monocentrico longitudinale è risultata bassa soprattutto a causa della rarità dell'MSA nel contesto dei parkinsonismi. Inoltre, i pazienti sono stati valutati nei diversi FU con *scanner* eterogenei (diversi *vendor*, 1.5T e 3T). L'utilizzo di sequenze T13D con voxel $\leq 1\text{mm}$ e la bassa sensibilità delle misure morfometriche al tipo di *scanner* hanno consentito comunque di ottenere delle misure molto accurate nel tempo. L'utilizzo di nuovi scanner con bobine a 32 canali digitali e risoluzione $< 0.8\text{mm}$ saranno necessari per aumentare la sensibilità dei *marker* nei confronti della popolazione sana. Infine, la correlazione tra aspetti motori e variazione degli indici è stata possibile utilizzando un sotto-campione, in quanto non presenti valutazioni sia in *baseline* che in *follow-up* per tutti i soggetti della popolazione. Saranno necessari studi ulteriori che indaghino la correlazione del *rate* di variazione delle scale cliniche motorie, non motorie e autonome con la variazione dei *rate* morfologici, per chiarire la possibile relazione anatomo-funzionale.

CONCLUSIONI

Questo studio permette di confermare longitudinalmente quanto emerso in letteratura negli studi trasversali per quanto riguarda il ruolo degli indici morfometrici nell'MSA, aggiungendo nuove informazioni cruciali riguardo precedenti e nuovi indici. Gli indici basati sull'area si confermano non ottimali per la diagnosi dell'MSA dove risultano, al contrario della PSP, simili alla popolazione sana.

Tuttavia, emerge l'efficacia e la sensibilità da un punto di vista quantitativo dell'indice di atrofia dell'area del mesencefalo anche nell'MSA oltre all'atrofia del ponte. I nuovi marcatori MRPI 2.0 e P/M 2.0 possono avere un ruolo come *marker* di progressione soprattutto per l'MSA-P in fase tardiva. Di notevole importanza sono gli indici di diametro che attualmente per la medulla non sono ancora entrati nella pratica diagnostica dell'MSA. Il diametro pontino raggiunge una notevole efficacia come marcatore di progressione, mentre i diametri del midollo allungato sono ottimi marcatori di patologia già all'esordio. Studi futuri longitudinali che coinvolgano anche altri parkinsonismi potrebbero estendere l'indagine dell'abilità discriminativa a DLB, CBS e PD, indagando quindi il possibile incremento di accuratezza diagnostica derivante dall'utilizzo dei *biomarker* assieme all'indagine clinica. In questo studio non sono state analizzate longitudinalmente le *performance* discriminative del diametro del peduncolo cerebellare medio del diametro, anche se presenti nel MRPI e MPRI-2.0. L'utilizzo di sequenze di RM a più alta risoluzione (consentita dai recenti *scanner* e dai nuovi algoritmi di ricostruzione e acquisizione dell'immagine) abbinate all'utilizzo di metodi automatizzati potranno avere delle *performance* migliori rispetto alle metodiche manuali, riducendo la variabilità tra soggetti derivata dalle misure manuali, in special modo nello stadio avanzato, e aumentandone la sensibilità nei confronti della popolazione sana e degli altri parkinsonismi. Questo consentirà una diagnosi clinica definita già nelle fasi precoci della malattia al fine di aumentare l'accesso dei pazienti ai possibili *trial* clinici.

BIBLIOGRAFIA

1. Fanciulli A, Wenning GK. Multiple-System Atrophy. *New England Journal of Medicine*. 15 gennaio 2015;372(3):249–63.
2. pat-Handouts-MSA-v3.pdf [Internet]. [citato 21 luglio 2022]. Disponibile su: <https://www.movementdisorders.org/MDS-Files1/Resources/PDFs/pat-Handouts-MSA-v3.pdf>
3. Spillantini MG, Goedert M. Synucleinopathies: past, present and future. *Neuropathology and Applied Neurobiology*. 2016;42(1):3–5.
4. Koga S, Dickson DW. Recent advances in neuropathology, biomarkers and therapeutic approach of multiple system atrophy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1 febbraio 2018;89(2):175–84.
5. Marmion DJ, Peelaerts W, Kordower JH. A historical review of multiple system atrophy with a critical appraisal of cellular and animal models. *J Neural Transm*. 1 ottobre 2021;128(10):1507–27.
6. Fanciulli A, Stankovic I, Krismer F, Seppi K, Levin J, Wenning GK. Multiple system atrophy. In: *International Review of Neurobiology* [Internet]. Elsevier; 2019 [citato 21 luglio 2022]. pag. 137–92. Disponibile su: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S007477421930090X>
7. Quinn N. Multiple system atrophy--the nature of the beast. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*. 1 giugno 1989;52(Suppl):78–89.
8. Bradbury S, Eggleston C. Postural hypotension. *American Heart Journal*. ottobre 1925;1(1):73–86.
9. Shy GM. A Neurological Syndrome Associated with Orthostatic Hypotension: A Clinical-Pathologic Study. *AMA Arch Neurol*. 1 maggio 1960;2(5):511.
10. Adams R, Van Bogaert L, Van Der Eecken H. [Nigro-striate and cerebello-nigro-striate degeneration. (Clinical uniqueness and pathological variability of presenile degeneration of the extrapyramidal rigidity type)]. *Psychiatr Neurol (Basel)*. 1961;142:219–59.
11. Graham JG, Oppenheimer DR. Orthostatic hypotension and nicotine sensitivity in a case of multiple system atrophy. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*. 1 febbraio 1969;32(1):28–34.
12. Papp MI, Kahn JE, Lantos PL. Glial cytoplasmic inclusions in the CNS of patients with multiple system atrophy (striatonigral degeneration, olivopontocerebellar atrophy and Shy-Drager

-
- syndrome). *Journal of the Neurological Sciences*. 1 dicembre 1989;94(1):79–100.
13. Grazia Spillantini M, Anthony Crowther R, Jakes R, Cairns NJ, Lantos PL, Goedert M. Filamentous α -synuclein inclusions link multiple system atrophy with Parkinson's disease and dementia with Lewy bodies. *Neuroscience Letters*. 31 luglio 1998;251(3):205–8.
 14. Bower JH, Maraganore DM, McDonnell SK, Rocca WA. Incidence of progressive supranuclear palsy and multiple system atrophy in Olmsted County, Minnesota, 1976 to 1990. *Neurology*. novembre 1997;49(5):1284–8.
 15. Schrag A, Ben-Shlomo Y, Quinn N. Prevalence of progressive supranuclear palsy and multiple system atrophy: a cross-sectional study. *The Lancet*. novembre 1999;354(9192):1771–5.
 16. Chrysostome V, Tison F, Yekhlef F, Sourgen C, Baldi I, Dartigues JF. Epidemiology of Multiple System Atrophy: A Prevalence and Pilot Risk Factor Study in Aquitaine, France. *NED*. 2004;23(4):201–8.
 17. Vanacore N, Bonifati V, Fabbrini G, Colosimo C, De Michele G, Marconi R, et al. Epidemiology of multiple system atrophy. *Neurol Sci*. 1 febbraio 2001;22(1):97–9.
 18. Coon EA, Sletten DM, Suarez MD, Mandrekar JN, Ahlskog JE, Bower JH, et al. Clinical features and autonomic testing predict survival in multiple system atrophy. *Brain*. 1 dicembre 2015;138(12):3623–31.
 19. Wenning GK, Geser F, Krismer F, Seppi K, Duerr S, Boesch S, et al. The natural history of multiple system atrophy: a prospective European cohort study. *The Lancet Neurology*. marzo 2013;12(3):264–74.
 20. Ubhi K, Low P, Masliah E. Multiple system atrophy: a clinical and neuropathological perspective. *Trends in Neurosciences*. 1 novembre 2011;34(11):581–90.
 21. Regragui W, Lachhab L, Razine R, Benjelloun H, Ait Benhaddou EH, Benomar A, et al. Profile of multiple system atrophy in Moroccan patients attending a movement disorders outpatient clinic in Rabat university hospital. *Revue Neurologique*. 1 febbraio 2013;169(2):121–5.
 22. Stankovic I, Fanciulli A, Sidoroff V, Wenning GK. A Review on the Clinical Diagnosis of Multiple System Atrophy. *Cerebellum* [Internet]. 19 agosto 2022 [citato 28 settembre 2022]; Disponibile su: <https://doi.org/10.1007/s12311-022-01453-w>

-
23. Kim HJ, Jeon BS, Lee JY, Yun JY. Survival of Korean patients with multiple system atrophy. *Movement Disorders*. 2011;26(5):909–12.
 24. Matsushima M, Yabe I, Sakushima K, Kanatani Y, Nishimoto N, Matsuoka T, et al. Multiple system atrophy in Hokkaido, Japan: a prospective registry study of natural history and symptom assessment scales followed for 5 years. *BMJ Open*. 1 febbraio 2021;11(2):e045100.
 25. Jellinger KA. Multiple System Atrophy: An Oligodendroglioneural Synucleinopathy. *Journal of Alzheimer's Disease*. 1 gennaio 2018;62(3):1141–79.
 26. Ahmed Z, Asi YT, Sailer A, Lees AJ, Houlden H, Revesz T, et al. The neuropathology, pathophysiology and genetics of multiple system atrophy: Neuropathology, pathophysiology and genetics of MSA. *Neuropathology and Applied Neurobiology*. febbraio 2012;38(1):4–24.
 27. Campese N, Fanciulli A, Stefanova N, Haybaeck J, Kiechl S, Wenning GK. Neuropathology of multiple system atrophy: Kurt Jellinger's legacy. *J Neural Transm*. ottobre 2021;128(10):1481–94.
 28. Nakamura K, Mori F, Kon T, Tanji K, Miki Y, Tomiyama M, et al. Filamentous aggregations of phosphorylated α -synuclein in Schwann cells (Schwann cell cytoplasmic inclusions) in multiple system atrophy. *Acta Neuropathologica Communications*. 21 maggio 2015;3(1):29.
 29. Kaji S, Maki T, Ishimoto T, Yamakado H, Takahashi R. Insights into the pathogenesis of multiple system atrophy: focus on glial cytoplasmic inclusions. *Translational Neurodegeneration*. 17 febbraio 2020;9(1):7.
 30. Jellinger K. Neuropathology. In: Wenning GK, Fanciulli A, curatori. *Multiple System Atrophy* [Internet]. Vienna: Springer Vienna; 2014 [citato 5 settembre 2022]. pag. 17–56. Disponibile su: http://link.springer.com/10.1007/978-3-7091-0687-7_3
 31. -M. Chin SS, Goldman JE. Glial Inclusions in CNS Degenerative Diseases: *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*. maggio 1996;55(5):499–508.
 32. Ozawa T. The spectrum of pathological involvement of the striatonigral and olivopontocerebellar systems in multiple system atrophy: clinicopathological correlations. *Brain*. 10 novembre 2004;127(12):2657–71.

-
33. Jellinger KA, Seppi K, Wenning GK. Grading of neuropathology in multiple system atrophy: Proposal for a novel scale. *Movement Disorders*. 2005;20(S12):S29–36.
 34. Ling H, Asi YT, Petrovic IN, Ahmed Z, Prashanth LK, Hazrati LN, et al. Minimal change multiple system atrophy: An aggressive variant? *Movement Disorders*. 2015;30(7):960–7.
 35. Wakabayashi K, Mori F, Nishie M, Oyama Y, Kurihara A, Yoshimoto M, et al. An autopsy case of early (“minimal change”) olivopontocerebellar atrophy (multiple system atrophy-cerebellar). *Acta Neuropathol*. 1 agosto 2005;110(2):185–90.
 36. Kim HJ, Jeon BS. Multiple system atrophy with prolonged survival. *Movement Disorders*. 2012;27(14):1837–40.
 37. Petrovic IN, Ling H, Asi Y, Ahmed Z, Kukkle PL, Hazrati LN, et al. Multiple system atrophy–parkinsonism with slow progression and prolonged survival: A diagnostic catch. *Movement Disorders*. 2012;27(9):1186–90.
 38. Ozawa T, Tada M, Kakita A, Onodera O, Tada M, Ishihara T, et al. The phenotype spectrum of Japanese multiple system atrophy. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*. 1 novembre 2010;81(11):1253–5.
 39. Jellinger KA. More frequent Lewy bodies but less frequent Alzheimer-type lesions in multiple system atrophy as compared to age-matched control brains. *Acta Neuropathol*. 1 settembre 2007;114(3):299–303.
 40. Robinson JL, Lee EB, Xie SX, Rennert L, Suh E, Bredenberg C, et al. Neurodegenerative disease concomitant proteinopathies are prevalent, age-related and APOE4-associated. *Brain*. 1 luglio 2018;141(7):2181–93.
 41. Homma T, Mochizuki Y, Tobisawa S, Komori T, Isozaki E. Cerebral white matter tau-positive granular glial pathology as a characteristic pathological feature in long survivors of multiple system atrophy. *Journal of the Neurological Sciences* [Internet]. 15 settembre 2020 [citato 7 settembre 2022];416. Disponibile su: [https://www.jns-journal.com/article/S0022-510X\(20\)30347-6/fulltext](https://www.jns-journal.com/article/S0022-510X(20)30347-6/fulltext)
 42. Jellinger KA. Heterogeneity of Multiple System Atrophy: An Update. *Biomedicines*. marzo 2022;10(3):599.
 43. Monzio Compagnoni G, Di Fonzo A. Understanding the pathogenesis of multiple system atrophy: state of the art and future perspectives. *Acta Neuropathologica Communications*. 12 luglio 2019;7(1):113.

-
44. Marques O, Outeiro TF. Alpha-synuclein: from secretion to dysfunction and death. *Cell Death Dis.* luglio 2012;3(7):e350–e350.
 45. Bendor JT, Logan TP, Edwards RH. The Function of α -Synuclein. *Neuron.* 18 settembre 2013;79(6):1044–66.
 46. Cooper AA, Gitler AD, Cashikar A, Haynes CM, Hill KJ, Bhullar B, et al. α -Synuclein Blocks ER-Golgi Traffic and Rab1 Rescues Neuron Loss in Parkinson's Models. *Science.* 21 luglio 2006;313(5785):324–8.
 47. Chandra S, Gallardo G, Fernández-Chacón R, Schlüter OM, Südhof TC. α -Synuclein Cooperates with CSP α in Preventing Neurodegeneration. *Cell.* 4 novembre 2005;123(3):383–96.
 48. Goedert M, Jakes R, Spillantini MG. The Synucleinopathies: Twenty Years On. *Journal of Parkinson's Disease.* 1 gennaio 2017;7(s1):S51–69.
 49. Jellinger KA, Wenning GK, Stefanova N. Is Multiple System Atrophy a Prion-like Disorder? *International Journal of Molecular Sciences.* gennaio 2021;22(18):10093.
 50. Cavaliere F, Cerf L, Dehay B, Ramos-Gonzalez P, De Giorgi F, Bourdenx M, et al. In vitro α -synuclein neurotoxicity and spreading among neurons and astrocytes using Lewy body extracts from Parkinson disease brains. *Neurobiology of Disease.* 1 luglio 2017;103:101–12.
 51. Kisos H, Pukaß K, Ben-Hur T, Richter-Landsberg C, Sharon R. Increased Neuronal α -Synuclein Pathology Associates with Its Accumulation in Oligodendrocytes in Mice Modeling α -Synucleinopathies. *PLOS ONE.* 15 ottobre 2012;7(10):e46817.
 52. Reyes JF, Rey NL, Bousset L, Melki R, Brundin P, Angot E. Alpha-synuclein transfers from neurons to oligodendrocytes. *Glia.* 2014;62(3):387–98.
 53. Kragh CL, Fillon G, Gysbers A, Hansen HD, Neumann M, Richter-Landsberg C, et al. FAS-Dependent Cell Death in α -Synuclein Transgenic Oligodendrocyte Models of Multiple System Atrophy. *PLOS ONE.* 25 gennaio 2013;8(1):e55243.
 54. Schottlaender LV, Bettencourt C, Kiely AP, Chalasani A, Neerghen V, Holton JL, et al. Coenzyme Q10 Levels Are Decreased in the Cerebellum of Multiple-System Atrophy Patients. *PLOS ONE.* 19 febbraio 2016;11(2):e0149557.
 55. Compta Y, Giraldo DM, Muñoz E, Antonelli F, Fernández M, Bravo P, et al. Cerebrospinal fluid levels of coenzyme Q10 are reduced in

-
- multiple system atrophy. *Parkinsonism & Related Disorders*. 1 gennaio 2018;46:16–23.
56. Mitsui J, Matsukawa T, Yasuda T, Ishiura H, Tsuji S. Plasma Coenzyme Q10 Levels in Patients With Multiple System Atrophy. *JAMA Neurology*. 1 agosto 2016;73(8):977–80.
57. Fellner L, Stefanova N. The Role of Glia in Alpha-Synucleinopathies. *Mol Neurobiol*. 1 aprile 2013;47(2):575–86.
58. Valera E, Spencer B, Mott J, Trejo M, Adame A, Mante M, et al. MicroRNA-101 Modulates Autophagy and Oligodendroglial Alpha-Synuclein Accumulation in Multiple System Atrophy. *Frontiers in Molecular Neuroscience* [Internet]. 2017 [citato 9 settembre 2022];10. Disponibile su: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnmol.2017.00329>
59. Miki Y, Tanji K, Mori F, Tataru Y, Utsumi J, Sasaki H, et al. AMBRA1, a novel α -synuclein-binding protein, is implicated in the pathogenesis of multiple system atrophy. *Brain Pathol*. 15 marzo 2017;28(1):28–42.
60. Don AS, Hsiao JHT, Bleasel JM, Coultas TA, Halliday GM, Kim WS. Altered lipid levels provide evidence for myelin dysfunction in multiple system atrophy. *Acta Neuropathologica Communications*. 29 ottobre 2014;2(1):150.
61. Tison F, Wenning G k., Daniel S e., Quinn N p. The pathophysiology of parkinsonism in multiple system atrophy. *European Journal of Neurology*. 1995;2(5):435–44.
62. Wichmann T. Changing views of the pathophysiology of Parkinsonism. *Movement Disorders*. 2019;34(8):1130–43.
63. Diener HC, Dichgans J. Pathophysiology of cerebellar ataxia. *Movement Disorders*. 1992;7(2):95–109.
64. Asahina M, Vichayanrat E, Low DA, Iodice V, Mathias CJ. Autonomic dysfunction in parkinsonian disorders: assessment and pathophysiology. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1 giugno 2013;84(6):674–80.
65. McKay JH, Cheshire WP. First symptoms in multiple system atrophy. *Clin Auton Res*. 1 aprile 2018;28(2):215–21.
66. Jung YJ, Kim HJ, Yoo D, Choi JH, Im JH, Yang HJ, et al. Various Motor and Non-Motor Symptoms in Early Multiple System Atrophy. *NDD*. 2019;19(5–6):238–43.

-
67. Palma JA, Norcliffe-Kaufmann L, Kaufmann H. Diagnosis of multiple system atrophy. *Autonomic Neuroscience*. 1 maggio 2018;211:15–25.
 68. Ortiz JF, Betté S, Tambo W, Tao F, Cozar JC, Isaacson S. Multiple System Atrophy – Cerebellar Type: Clinical Picture and Treatment of an Often-Overlooked Disorder. *Cureus*. 12(9):e10741.
 69. Grossauer A, Sidoroff V, Heim B, Seppi K. Symptomatic Care in Multiple System Atrophy: State of the Art. *Cerebellum* [Internet]. 17 maggio 2022 [citato 10 settembre 2022]; Disponibile su: <https://doi.org/10.1007/s12311-022-01411-6>
 70. Lazzeri G, Franco G, Difonzo T, Carandina A, Gramegna C, Vergari M, et al. Cognitive and Autonomic Dysfunction in Multiple System Atrophy Type P and C: A Comparative Study. *Frontiers in Neurology* [Internet]. 2022 [citato 11 settembre 2022];13. Disponibile su: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fneur.2022.912820>
 71. Cochen De Cock V. Sleep Abnormalities in Multiple System Atrophy. *Curr Treat Options Neurol*. 20 aprile 2018;20(6):16.
 72. Gilman S, Wenning GK, Low PA, Brooks DJ, Mathias CJ, Trojanowski JQ, et al. Second consensus statement on the diagnosis of multiple system atrophy. *Neurology*. 26 agosto 2008;71(9):670–6.
 73. Stankovic I, Quinn N, Vignatelli L, Antonini A, Berg D, Coon E, et al. A critique of the second consensus criteria for multiple system atrophy. *Movement Disorders*. 2019;34(7):975–84.
 74. Wenning GK, Stankovic I, Vignatelli L, Fanciulli A, Calandra-Buonaura G, Seppi K, et al. The Movement Disorder Society Criteria for the Diagnosis of Multiple System Atrophy. *Movement Disorders*. 2022;37(6):1131–48.
 75. Lamotte G, Kaufmann H. Movement disorder society criteria for the diagnosis of multiple system atrophy—what’s new? *Clin Auton Res*. 1 giugno 2022;32(3):163–5.
 76. Jellinger KA. Potential clinical utility of multiple system atrophy biomarkers. *Expert Review of Neurotherapeutics*. 2 dicembre 2017;17(12):1189–208.
 77. Doty RL, Shaman P, Dann M. Development of the University of Pennsylvania Smell Identification Test: a standardized microencapsulated test of olfactory function. *Physiol Behav*. marzo 1984;32(3):489–502.
 78. Iodice V, Lipp A, Ahlskog JE, Sandroni P, Fealey RD, Parisi JE, et al. Autopsy confirmed multiple system atrophy cases: Mayo experience

-
- and role of autonomic function tests. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. aprile 2012;83(4):453–9.
79. Stankovic I, Fanciulli A, Kostic VS, Krismer F, Meissner WG, Palma JA, et al. Laboratory-Supported Multiple System Atrophy beyond Autonomic Function Testing and Imaging: A Systematic Review by the MODIMSA STUDY GROUP. *Movement Disord Clin Pract*. aprile 2021;8(3):322–40.
 80. Kim HJ, Jeon B, Fung VSC. Role of Magnetic Resonance Imaging in the Diagnosis of Multiple System Atrophy. *Mov Disord Clin Pract*. gennaio 2017;4(1):12–20.
 81. Feng J ying, Huang B, Yang WQ, Zhang Y hu, Wang L min, Wang L juan, et al. The putaminal abnormalities on 3.0T magnetic resonance imaging: can they separate parkinsonism-predominant multiple system atrophy from Parkinson’s disease? *Acta Radiol*. 1 marzo 2015;56(3):322–8.
 82. Sugiyama A, Yokota H, Yamanaka Y, Mukai H, Yamamoto T, Hirano S, et al. Vertical pons hyperintensity and hot cross bun sign in cerebellar-type multiple system atrophy and spinocerebellar ataxia type 3. *BMC Neurology*. 27 aprile 2020;20(1):157.
 83. Chen HC, Lee LH, Lirng JF, Soong B wen. Radiological hints for differentiation of cerebellar multiple system atrophy from spinocerebellar ataxia. *Sci Rep*. 22 giugno 2022;12(1):10499.
 84. Zhu S, Deng B, Huang Z, Chang Z, Li H, Liu H, et al. “Hot cross bun” is a potential imaging marker for the severity of cerebellar ataxia in MSA-C. *npj Parkinsons Dis*. 15 febbraio 2021;7(1):1–8.
 85. Baggio HC, Abos A, Segura B, Campabadal A, Uribe C, Giraldo DM, et al. Cerebellar resting-state functional connectivity in Parkinson’s disease and multiple system atrophy: Characterization of abnormalities and potential for differential diagnosis at the single-patient level. *NeuroImage: Clinical*. 1 gennaio 2019;22:101720.
 86. Meijer FJA, van Rumund A, Fasen B a. CM, Titulaer I, Aerts M, Esselink R, et al. Susceptibility-weighted imaging improves the diagnostic accuracy of 3T brain MRI in the work-up of parkinsonism. *AJNR Am J Neuroradiol*. marzo 2015;36(3):454–60.
 87. Sjöström H, Granberg T, Westman E, Svenningsson P. Quantitative susceptibility mapping differentiates between parkinsonian disorders. *Parkinsonism & Related Disorders*. 1 novembre 2017;44:51–7.
 88. Han YH, Lee JH, Kang BM, Mun CW, Baik SK, Shin Y il, et al. Topographical differences of brain iron deposition between

-
- progressive supranuclear palsy and parkinsonian variant multiple system atrophy. *Journal of the Neurological Sciences*. 15 febbraio 2013;325(1):29–35.
89. Marques TM, Kuiperij HB, Bruinsma IB, van Rumund A, Aerts MB, Esselink RAJ, et al. MicroRNAs in Cerebrospinal Fluid as Potential Biomarkers for Parkinson's Disease and Multiple System Atrophy. *Mol Neurobiol*. 1 dicembre 2017;54(10):7736–45.
90. Bargar C, De Luca CMG, Devigili G, Elia AE, Cilia R, Portaleone SM, et al. Discrimination of MSA-P and MSA-C by RT-QuIC analysis of olfactory mucosa: the first assessment of assay reproducibility between two specialized laboratories. *Molecular Neurodegeneration*. 11 dicembre 2021;16(1):82.
91. Kauppila LA, Ten Holter SEM, van de Warrenburg B, Bloem BR. A Guide for the Differential Diagnosis of Multiple System Atrophy in Clinical Practice. *Journal of Parkinson's Disease*. 1 gennaio 2022;Preprint(Preprint):1–13.
92. Kim HJ, Jeon BS, Jellinger KA. Diagnosis and differential diagnosis of MSA: boundary issues. *J Neurol*. 1 agosto 2015;262(8):1801–13.
93. Kaufmann H, Norcliffe-Kaufmann L, Palma JA, Biaggioni I, Low PA, Singer W, et al. Natural history of pure autonomic failure: A United States prospective cohort. *Annals of Neurology*. 2017;81(2):287–97.
94. Wenning GK, Stefanova N. Recent developments in multiple system atrophy. *J Neurol*. 1 novembre 2009;256(11):1791–808.
95. Burns MR, McFarland NR. Current Management and Emerging Therapies in Multiple System Atrophy. *Neurotherapeutics*. 1 ottobre 2020;17(4):1582–602.
96. Mészáros L, Hoffmann A, Wihan J, Winkler J. Current Symptomatic and Disease-Modifying Treatments in Multiple System Atrophy. *International Journal of Molecular Sciences*. gennaio 2020;21(8):2775.
97. Zhang M, He T, Wang Q. Effects of Non-invasive Brain Stimulation on Multiple System Atrophy: A Systematic Review. *Frontiers in Neuroscience* [Internet]. 2021 [citato 14 settembre 2022];15. Disponibile su: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnins.2021.771090>
98. Palma JA, Kaufmann H. Treatment of autonomic dysfunction in Parkinson disease and other synucleinopathies. *Movement Disorders*. 2018;33(3):372–90.

-
99. Zhang Q, Yang X, Song H, Jin Y. Cognitive behavioral therapy for depression and anxiety of Parkinson's disease: A systematic review and meta-analysis. *Complement Ther Clin Pract*. maggio 2020;39:101111.
 100. Lee PH, Lee JE, Kim HS, Song SK, Lee HS, Nam HS, et al. A randomized trial of mesenchymal stem cells in multiple system atrophy. *Ann Neurol*. 1 luglio 2012;72(1):32–40.
 101. Hindawi. Phase I Trial of Intra-arterial Administration of Autologous Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells in Patients with Multiple System Atrophy [Internet]. [citato 14 settembre 2022]. Disponibile su: <https://www.hindawi.com/journals/sci/2021/9886877/>
 102. Novak P, Williams A, Ravin P, Zurkiya O, Abduljalil A, Novak V. Treatment of multiple system atrophy using intravenous immunoglobulin. *BMC Neurol*. 1 novembre 2012;12:131.
 103. Treatment Pipeline Non-Pharmaceutical [Internet]. Multiple System Atrophy Coalition. [citato 27 settembre 2022]. Disponibile su: <https://www.multiplesystematrophy.org/msa-research/msa-treatment-pipeline/treatment-pipeline-non-pharmaceutical/>
 104. Foubert-Samier A, Pavy-Le Traon A, Guillet F, Le-Goff M, Helmer C, Tison F, et al. Disease progression and prognostic factors in multiple system atrophy: A prospective cohort study. *Neurobiology of Disease*. giugno 2020;139:104813.
 105. Schrag A, Geser F, Stampfer-Kountchev M, Seppi K, Sawires M, Köllensperger M, et al. Health-related quality of life in multiple system atrophy. *Mov Disord*. 6 giugno 2006;21(6):809–15.
 106. Wenning GK, Tison F, Seppi K, Sampaio C, Diem A, Yekhlef F, et al. Development and validation of the Unified Multiple System Atrophy Rating Scale (UMSARS). *Mov Disord*. dicembre 2004;19(12):1391–402.
 107. Krismer F, Palma JA, Calandra-Buonaura G, Stankovic I, Vignatelli L, Berger AK, et al. The Unified Multiple System Atrophy Rating Scale: Status, Critique, and Recommendations. *Movement Disorders* [Internet]. [citato 14 settembre 2022];n/a(n/a). Disponibile su: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/mds.29215>
 108. Oba H, Yagishita A, Terada H, Barkovich AJ, Kutomi K, Yamauchi T, et al. New and reliable MRI diagnosis for progressive supranuclear palsy. *Neurology*. 28 giugno 2005;64(12):2050–5.

-
109. Massey LA, Jäger HR, Paviour DC, O'Sullivan SS, Ling H, Williams DR, et al. The midbrain to pons ratio. *Neurology*. 14 maggio 2013;80(20):1856–61.
 110. Cui SS, Ling HW, Du JJ, Lin YQ, Pan J, Zhou HY, et al. Midbrain/pons area ratio and clinical features predict the prognosis of progressive Supranuclear palsy. *BMC Neurology*. 30 marzo 2020;20(1):114.
 111. Picillo M, Tepezino MF, Abate F, Erro R, Ponticorvo S, Tartaglione S, et al. Midbrain MRI assessments in progressive supranuclear palsy subtypes. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1 gennaio 2020;91(1):98–103.
 112. Constantinides VC, Paraskevas GP, Velonakis G, Toulas P, Stamboulis E, Kapaki E. MRI Planimetry and Magnetic Resonance Parkinsonism Index in the Differential Diagnosis of Patients with Parkinsonism. *AJNR Am J Neuroradiol*. giugno 2018;39(6):1047–51.
 113. Mazzucchi S, Del Prete E, Costagli M, Frosini D, Paoli D, Migaletto G, et al. Morphometric imaging and quantitative susceptibility mapping as complementary tools in the diagnosis of parkinsonisms. *European Journal of Neurology*. 2022;29(10):2944–55.
 114. Möller L, Kassubek J, Südmeyer M, Hilker R, Hattingen E, Egger K, et al. Manual MRI morphometry in Parkinsonian syndromes. *Movement Disorders*. 2017;32(5):778–82.
 115. Quattrone A, Morelli M, Nigro S, Quattrone A, Vescio B, Arabia G, et al. A new MR imaging index for differentiation of progressive supranuclear palsy-parkinsonism from Parkinson's disease. *Parkinsonism & Related Disorders*. 1 settembre 2018;54:3–8.
 116. Heim B, Mangesius S, Krismer F, Wenning GK, Hussl A, Scherfler C, et al. Diagnostic accuracy of MR planimetry in clinically unclassifiable parkinsonism. *Parkinsonism Relat Disord*. gennaio 2021;82:87–91.
 117. Quattrone A, Morelli M, Vescio B, Nigro S, Le Piane E, Sabatini U, et al. Refining initial diagnosis of Parkinson's disease after follow-up: A 4-year prospective clinical and magnetic resonance imaging study. *Mov Disord*. aprile 2019;34(4):487–95.
 118. Madetko N, Alster P, Kutylowski M, Migda B, Nieciecki M, Koziorowski D, et al. Is MRPI 2.0 More Useful than MRPI and M/P Ratio in Differential Diagnosis of PSP-P with Other Atypical Parkinsonisms? *Journal of Clinical Medicine*. gennaio 2022;11(10):2701.

-
119. Suzuki M, Nakamura T, Hirayama M, Ueda M, Imai E, Harada Y, et al. Relationship between cardiac parasympathetic dysfunction and the anteroposterior diameter of the medulla oblongata in multiple system atrophy. *Clin Auton Res*. giugno 2020;30(3):231–8.
120. Litvan I, Goetz CG, Jankovic J, Wenning GK, Booth V, Bartko JJ, et al. What Is the Accuracy of the Clinical Diagnosis of Multiple System Atrophy?: A Clinicopathologic Study. *Archives of Neurology*. 1 agosto 1997;54(8):937–44.
121. Goetz CG, Tilley BC, Shaftman SR, Stebbins GT, Fahn S, Martinez-Martin P, et al. Movement Disorder Society-sponsored revision of the Unified Parkinson's Disease Rating Scale (MDS-UPDRS): Scale presentation and clinimetric testing results. *Movement Disorders*. 2008;23(15):2129–70.
122. Bhidayasiri R, Tarsy D. Parkinson's Disease: Hoehn and Yahr Scale. In: Bhidayasiri R, Tarsy D, curatori. *Movement Disorders: A Video Atlas: A Video Atlas* [Internet]. Totowa, NJ: Humana Press; 2012 [citato 16 settembre 2022]. pag. 4–5. (Current Clinical Neurology). Disponibile su: https://doi.org/10.1007/978-1-60327-426-5_2
123. Hobson J. The Montreal Cognitive Assessment (MoCA). *Occupational Medicine*. 1 dicembre 2015;65(9):764–5.
124. Arevalo-Rodriguez I, Smailagic N, Figuls MR i, Ciapponi A, Sanchez-Perez E, Giannakou A, et al. Mini-Mental State Examination (MMSE) for the detection of Alzheimer's disease and other dementias in people with mild cognitive impairment (MCI). *Cochrane Database of Systematic Reviews* [Internet]. 2015 [citato 17 settembre 2022];(3). Disponibile su: <https://www.cochranelibrary.com/cdsr/doi/10.1002/14651858.CD010783.pub2/full>
125. Ruzafa-Valiente E, Fernández-Bobadilla R, García-Sánchez C, Pagonabarraga J, Martínez-Horta S, Kulisevsky J. Parkinson's Disease—Cognitive Functional Rating Scale across different conditions and degrees of cognitive impairment. *Journal of the Neurological Sciences*. 15 febbraio 2016;361:66–71.
126. Edemekong PF, Bomgaars DL, Sukumaran S, Levy SB. Activities of Daily Living. 2021 [citato 17 settembre 2022]; Disponibile su: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470404>
127. Graf C. The Lawton Instrumental Activities of Daily Living Scale. *AJN The American Journal of Nursing*. aprile 2008;108(4):52–62.
128. Jackson-Koku G. Beck Depression Inventory. *Occupational Medicine*. 1 marzo 2016;66(2):174–5.

-
129. medInria [Internet]. [citato 27 settembre 2022]. Disponibile su: <https://med.inria.fr/>
130. (X)MedCon | Main / HomePage [Internet]. [citato 27 settembre 2022]. Disponibile su: <https://xmedcon.sourceforge.io/>
131. MicroDicom - Free DICOM viewer and software [Internet]. [citato 27 settembre 2022]. Disponibile su: <https://www.microdicom.com/>
132. Nigro S, Arabia G, Antonini A, Weis L, Marcante A, Tessitore A, et al. Magnetic Resonance Parkinsonism Index: diagnostic accuracy of a fully automated algorithm in comparison with the manual measurement in a large Italian multicentre study in patients with progressive supranuclear palsy. *Eur Radiol.* 1 giugno 2017;27(6):2665–75.
133. Quattrone A, Nicoletti G, Messina D, Fera F, Condino F, Pugliese P, et al. MR Imaging Index for Differentiation of Progressive Supranuclear Palsy from Parkinson Disease and the Parkinson Variant of Multiple System Atrophy. *Radiology.* gennaio 2008;246(1):214–21.
134. Clinical and Laboratory Standards Institute, curatore. *Defining, establishing and verifying reference intervals in the clinical laboratory: approved guideline.* 3. ed. Wayne, Pa: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2010. 60 pag. (Document / Clinical and Laboratory Standards Institute).
135. Reed AH, Henry RJ, Mason WB. Influence of statistical method used on the resulting estimate of normal range. *Clin Chem.* aprile 1971;17(4):275–84.
136. Abrahão A, Dutra LA, Braga Neto P, Pedroso JL, Oliveira RA de, Barsottini OGP. Cognitive impairment in multiple system atrophy: Changing concepts. *Dement neuropsychol.* dicembre 2011;5(4):303–9.
137. Albrecht F, Bisenius S, Neumann J, Whitwell J, Schroeter ML. Atrophy in midbrain & cerebral/cerebellar pedunculi is characteristic for progressive supranuclear palsy – A double-validation whole-brain meta-analysis. *Neuroimage Clin.* 19 febbraio 2019;22:101722.
138. Nisitani S, Miyoshi H, Katsuoka Y. Extensive Delayed Brain Atrophy after Resuscitation in a Patient with Multiple System Atrophy. *Frontiers in Neurology* [Internet]. 2018 [citato 27 settembre 2022];8. Disponibile su: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fneur.2017.00754>
139. van Eimeren T. Central autonomic dysfunction in multiple system atrophy: can we measure it with MRI? *Clin Auton Res.* giugno 2020;30(3):185–7.

RINGRAZIAMENTI

A conclusione di questo elaborato e del duro e impegnativo percorso in cui mi sono ritrovato, vorrei dedicare questo lavoro a tutte le persone che mi hanno accompagnato in questo cammino.

Prima di tutto desidero ringraziare i miei genitori, Hassania e Abdelkader, per avermi supportato nel migliore dei modi possibili, nonostante le numerose difficoltà, e per avermi aiutato nei momenti più difficili. Spero che questo traguardo possa rendervi orgogliosi e alleviare finalmente questo enorme peso.

Vorrei ringraziare, inoltre, i miei fratelli Anouar, Akram e Mouad, per tutti i momenti di felicità vissuti insieme e per aver tinto le mie giornate di un colore più acceso.

Infine, è doveroso citare anche il resto della famiglia, soprattutto i miei parenti più vicini e le persone che purtroppo sono venute a mancare in questi anni, oltre agli amici di famiglia che mi sono sempre rimasti accanto. Vi ringrazio per ogni gentilezza e per ogni speranza che mi avete offerto.

Per via della mia personalità, spesso timorosa, timida e a volte difficile da capire, durante questo percorso non mi sarei mai aspettato di costruire delle amicizie così belle e vivere delle esperienze così impattanti. Ci tengo, quindi, a ringraziare le persone che sono entrate a far parte della mia vita in questi anni: le zie, las populares e gli altri amici di università per i momenti felici e tristi che abbiamo vissuto insieme nei sei anni universitari e per aver scolpito insieme a me questa strada; i miei coinquilini degli ultimi due anni per le nuove esperienze e per avermi insegnato nuovi punti di vista; gli illuminati e il gruppo di capodanno per le avventure passate e per il fatto che, nonostante tutto, ci siate sempre stati; il gruppo di badminton per avermi insegnato e fatto apprezzare le gioie di questo nuovo hobby.

Infine, un ringraziamento speciale va ai Reggiani che ormai considero come dei fratelli, per avermi accompagnato giorno per giorno tra successi e avversità, per aver accettato le mie vulnerabilità e avermi aiutato a crescere. Senza di voi non ce l'avrei fatta.

Dedico a tutti voi questo importante traguardo e spero che questo lavoro funga da supporto alle persone che ne hanno bisogno.

