

1222·2022
800
ANNI



**UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA**

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

LA TOMOGRAFIA A COERENZA OTTICA (OCT) NELL'ATROFIA MULTISISTEMICA: UNO STUDIO COMPARATIVO VERSO LA MALATTIA DI PARKINSON E LA SCLEROSI MULTIPLA

RELATORE: Prof. Angelo Antonini

CORRELATRICE: Dott.ssa Marta Campagnolo

LAUREANDA: Maria Elena Fraccalanza

ANNO ACCADEMICO 2021/2022

INDICE

1. Introduzione	5
1.1 - Le α -sinucleinopatie.....	5
1.2 - Atrofia multisistemica	6
1.2.1 - Epidemiologia, eziologia e patogenesi	7
1.2.2 - Clinica.....	9
1.2.3 - Diagnosi.....	11
1.2.4 - Diagnosi differenziali	15
1.2.5 - Prognosi	16
1.2.6 - Terapia	17
1.3 - Malattia di Parkinson.....	19
1.3.1 - Epidemiologia, eziologia e patogenesi	19
1.3.2 - Clinica.....	21
1.3.3 - Diagnosi.....	23
1.3.4 - Diagnosi differenziali	25
1.3.5 - Prognosi	27
1.3.6 - Terapia	27
1.4 - La neuroinfiammazione nelle patologie neurologiche e nelle α - sinucleinopatie.....	29
1.5 - Nuovi metodi diagnostici nelle patologie neurodegenerative.....	32
1.5.1 - Uso della OCT nelle patologie neurodegenerative	35
2. Scopo dello studio.....	39
3. Materiali e metodi	41
3.1 - Popolazione.....	41
3.2 - Valutazione Clinica.....	42
3.3 - Valutazione in imaging.....	45
3.4 - Tomografia a coerenza ottica.....	46

3.5 - Analisi statistiche	49
4. Risultati	51
4.1 - Caratteristiche demografiche della popolazione di studio	51
4.2 - Valutazione clinica.....	52
4.3 - Valutazione in imaging	54
4.4 - Tomografia a coerenza ottica	55
5. Discussione	63
6. Conclusioni.....	73
7. Bibliografia.....	75

RIASSUNTO

Presupposti: la diagnosi delle α -sinucleinopatie, malattie neurodegenerative come l'atrofia multisistemica (MSA) e la malattia di Parkinson (PD), è prettamente clinica; date le frequenti sovrapposizioni tra gli aspetti clinici, la diagnosi differenziale può essere gravata da errori. Emerge quindi la necessità di trovare nuovi e precisi *markers* di malattia che possano coadiuvare nella diagnosi. Inoltre, recenti studi hanno constatato che la neuroinfiammazione potrebbe avere un ruolo importante nella patogenesi della MSA, fatto che permette di accomunarla alla sclerosi multipla (SM), di cui da tempo è nota la patogenesi infiammatoria.

Scopo dello studio: definire il possibile ruolo della tomografia a coerenza ottica (OCT) nella MSA, identificandone i parametri che possano fungere da *biomarkers* ai fini della diagnosi e nel follow-up. Valutare le possibili correlazioni tra i parametri OCT e dati clinici e di imaging disponibili nei pazienti MSA. Comparare i dati OCT dei pazienti MSA con quelli raccolti in pazienti PD e SM.

Materiali e metodi: soggetti con MSA, PD, SM e controlli sani (HC) sono stati sottoposti a scansioni OCT peripapillari e maculari. I pazienti MSA e PD sono stati valutati clinicamente tramite la scala COMPASS31 per i sintomi disautonomici e tramite le scale UMSARS e MDS-UPDRS, rispettivamente, per stimare il grado di severità della malattia. Il gruppo MSA è stato inoltre valutato tramite esami di imaging.

Risultati: analizzando le scansioni OCT di 9 soggetti con diagnosi di MSA, 10 di PD, 9 di SM e 10 controlli (HC), il volume totale dello strato plessiforme esterno (OPL) della retina è risultato significativamente maggiore nei PD rispetto a MSA, HC e SM, e nel gruppo SM rispetto a MSA; lo spessore dell'*inner ring* (IR) dell'OPL è significativamente ridotto nella MSA rispetto a PD e SM, e lo spessore dell'*outer ring* (OR) è significativamente maggiore nei PD rispetto a MSA e HC. La MSA presenta quindi indici OPL ridotti rispetto a PD. Lo spessore dell'IR mostra una lieve correlazione lineare con la durata di malattia nella MSA. Non sono state trovate analogie significative in OCT tra MSA e PD, né tra MSA e SM. Il numero degli spots iperreflettenti retinici (HRF), segno di attivazione

microgliale locale, è risultato significativamente maggiore in tutti i gruppi patologici rispetto ai controlli sani.

Conclusioni: gli indici dello strato OPL variano significativamente tra MSA, PD, SM e controlli sani. Lo studio pone le basi per l'uso della OCT nella valutazione delle patologie neurodegenerative, che è auspicabile venga indagato ulteriormente in futuro.

ABSTRACT

Background: the diagnosis of α -synucleinopathies, a group of neurodegenerative diseases including multiple system atrophy (MSA) and Parkinson's disease (PD), is mostly based on clinical findings. Due to the strong overlap between clinical presentations, the differential diagnosis between α -synucleinopathies is complicated and prone to misdiagnosis. Additional α -synucleinopathies diagnostic biomarkers are therefore needed. Moreover, recent studies have found that neuroinflammation could play a prominent role in the pathogenesis of MSA, as it is known to do in the pathogenesis of multiple sclerosis.

Aim of the study: to define the diagnostic and prognostic role of optical coherence tomography (OCT) biomarkers in relation to MSA. To evaluate the possible correlations between OCT biomarkers and clinical and imaging findings in MSA. To compare OCT findings in MSA with those observed in PD and SM.

Methods: we enrolled patients with MSA, PD, SM and healthy controls (HC). All participants underwent OCT peripapillary and macular examination. MSA and PD patients were also evaluated with COMPASS31 score to assess autonomic symptoms and UMSARS and MDS-UPDRS scores, respectively, to estimate disease severity. MSA patients also underwent neuroradiological evaluation.

Results: we analyzed OCT scans from 9 patients with MSA, 10 with PD, 9 with SM and 10 healthy controls. The retinal outer plexiform layer (OPL) total volume was greater in PD than MSA, HC and SM, and was greater in SM than MSA; OPL inner ring (IR) was thinner in MSA compared to PD and SM; OPL outer ring (OR) was thicker in PD compared to MSA and HC. OPL indexes were generally reduced in MSA compared to PD. OPL IR thickness showed a slight linear correlation with disease duration in MSA. No substantial OCT parameters analogies were found, neither between MSA and PD, nor between MSA and SM. The number of retinal hyperreflective foci (HRF), a marker of local microglial activation, was significantly higher among the three disease groups in comparison with HC.

Conclusions: OPL indexes are significantly different between MSA, PD, SM and HC. This study paves the way to give more future insight into the use of OCT in the evaluation of neurodegenerative diseases.

1. Introduzione

1.1 - Le α -sinucleinopatie

Le α -sinucleinopatie sono un gruppo di patologie neurodegenerative che comprendono la malattia di Parkinson (PD), l'atrofia multisistemica (MSA), l'insufficienza autonoma pura (PAF) e la demenza a corpi di Lewy (LBD). Tutte queste entità sono caratterizzate dall'accumulo di aggregati patologici di α -sinucleina in differenti regioni del sistema nervoso centrale, ma sono stati ritrovati aggregati proteici anche in regioni nel sistema nervoso periferico, come le fibre nervose autonome ma anche le fibre somatiche cutanee¹.

L' α -sinucleina è una proteina normalmente presente nei neuroni, codificata dal gene SNCA (*synuclein alpha*), la cui funzione non è ancora stata completamente chiarita. È stato ipotizzato un suo possibile ruolo nella dinamica delle vescicole sinaptiche, nel trasporto intracellulare o come proteina chaperon, implicata cioè nel corretto ripiegamento tridimensionale delle altre proteine².

Dal punto di vista neuropatologico, nelle α -sinucleinopatie si riscontrano aggregati di α -sinucleina in diverse sedi del sistema nervoso centrale e periferico. L' α -sinucleina che compone gli aggregati risulta essere *misfolded*, possiede cioè una conformazione anomala rispetto all' α -sinucleina fisiologica: infatti, gli aggregati sono costituiti da fibrille proteiche insolubili, mentre l' α -sinucleina è normalmente presente in forma di monomeri idrosolubili³.

La motivazione per cui l' α -sinucleina cambia conformazione e forma aggregati è ancora oggetto di indagini. Studi sul comportamento dell' α -sinucleina hanno mostrato che sarebbe proprio il *misfolding* a scatenare la formazione di aggregati anomali³. Si pensa che alla base del *misfolding* possano esserci varie cause: è stato visto che, a seguito della fosforilazione dell' α -sinucleina sulla serina-129, la proteina tende a cambiare conformazione e ad aggregare, suggerendo che possa essere proprio la fosforilazione l'evento alla base della formazione degli accumuli proteici⁴. Ancora, mutazioni del gene SNCA potrebbero originare proteine malfunzionanti e più prone al *misfolding*⁵, oppure anche il solo eccesso relativo della proteina in forma fisiologica, dovuto ad esempio ad aumentata trascrizione o a diminuita degradazione, potrebbe scatenare il cambiamento conformazionale e quindi l'aggregazione⁶.

In ogni caso, la presenza di questi aggregati proteici patologici risulta tossica per i neuroni e porta alla degenerazione neuronale, un altro elemento neuropatologico comune alle α -sinucleinopatie. Tra i meccanismi di tossicità degli aggregati proteici sono stati descritti, ad esempio, l'aumento di permeabilità della membrana cellulare e l'accelerazione dei meccanismi di apoptosi³.

Nell'ambito delle α -sinucleinopatie, le sedi in cui si ritrovano gli aggregati proteici anomali sono diverse e permettono di differenziare le diverse entità cliniche:

- nella malattia di Parkinson (PD) e nella demenza a corpi di Lewy (LBD) si riscontrano nei neuroni del sistema nervoso centrale (SNC) e prendono il nome di corpi di Lewy, se localizzati nel soma, e neuriti di Lewy, se localizzati nei prolungamenti assionali;
- nell'insufficienza autonoma pura (PAF) si riscontrano nei nervi periferici del sistema nervoso autonomo;
- nell'atrofia multisistemica (MSA) si ritrovano nel citoplasma degli oligodendrociti e vengono definiti inclusioni citoplasmatiche gliali (GCIs, *glial cytoplasmic inclusions*) o corpi di Papp-Lantos, ma sono anche riscontrabili meno frequentemente nel nucleo degli oligodendrociti e nel nucleo e nel citoplasma dei neuroni⁷.

Inoltre, studi recenti hanno provato che l' α -sinucleina anomala presente negli aggregati non ha la stessa conformazione in tutte le α -sinucleinopatie: ad esempio, gli aggregati di α -sinucleina che formano i corpi di Lewy nel Parkinson differiscono per conformazione (in termini biotecnologici, *strain*) da quelli che formano i corpi di Papp-Lantos nella MSA^{8,9}.

1.2 - Atrofia multisistemica

L'atrofia multisistemica (MSA, *multiple system atrophy*) è una malattia appartenente al gruppo delle α -sinucleinopatie caratterizzata da deposizione di α -sinucleina anomala nel citoplasma degli oligodendrociti in diverse regioni del sistema nervoso centrale. Dal punto di vista clinico, la MSA fa parte dei cosiddetti parkinsonismi atipici, ovvero patologie come la paralisi sopranucleare progressiva (PSP), la demenza a corpi di Lewy (LBD) e la degenerazione corticobasale (CBD), che possiedono alcune caratteristiche clinico-patologiche in comune con

la malattia di Parkinson, ma che differiscono da quest'ultima per altri sostanziali tratti, tra cui specifici aspetti clinici, la risposta alle terapie e l'evoluzione temporale.

La localizzazione e i pattern di deposizione dell' α -sinucleina hanno permesso l'identificazione di due distinte varianti clinico-patologiche di MSA:

- la variante parkinsoniana (MSA-P), caratterizzata da inclusioni citoplasmatiche gliali (GCI) di α -sinucleina osservate principalmente a livello della via nigrostriatale;
- la variante cerebellare (MSA-C), con localizzazione prevalente della proteina nei fasci olivo-ponto-cerebellari.

1.2.1 - Epidemiologia, eziologia e patogenesi

La MSA è una malattia neurodegenerativa rara, con un'incidenza di circa 0.6 casi ogni 100.000 abitanti per anno e una prevalenza da 3.4 a 4.9 casi su 100.000 abitanti, che aumenta a quasi 7.8 su 100.000 se si considera la popolazione oltre i 40 anni d'età¹⁰. La variante parkinsoniana (MSA-P) è da 2 a 4 volte più frequente nei paesi occidentali¹¹, mentre la variante cerebellare (MSA-C) è prevalente nei paesi asiatici¹⁰.

Non vi è una chiara differenza epidemiologica tra i due sessi, che vengono colpiti da MSA in egual misura, e l'età media di esordio della malattia è tra i 50 e i 60 anni¹⁰. La sopravvivenza media è di 6-9 anni dall'esordio dei sintomi¹².

L'atrofia multisistemica è considerata una patologia sporadica, anche se è stato ipotizzato un possibile ruolo concomitante di fattori ambientali, genetici o epigenetici¹². È stata osservata una maggiore prevalenza della malattia in alcune regioni del mondo (Nord America, Europa, Giappone)¹⁰ e in alcune etnie, dove sono state identificate anche rare forme familiari di MSA legate a specifiche mutazioni (mutazione *loss of function* del gene COQ2, codificante per l'enzima che sintetizza il coenzima Q10, nei pazienti asiatici) o a polimorfismi genetici (locus Synuclein Alpha, in pazienti Europei)¹⁰.

Il processo patogenetico della MSA non è stato ancora completamente chiarito ed è tuttora oggetto di ricerca. Sono state formulate delle ipotesi riguardo la sequenza di eventi patogenetici che sarebbero alla base della malattia^{10,12}: la formazione dei

depositi citoplasmatici di α -sinucleina negli oligodendrociti sarebbe preceduta dallo spostamento della fosfoproteina-25 α (p25 α), uno stabilizzatore della guaina mielinica, nel soma degli oligodendrociti. Ciò porterebbe ad un maggior *uptake* e/o ad una aumentata espressione di α -sinucleina negli oligodendrociti e sarebbe poi proprio l'interazione tra la p25 α e la α -sinucleina a causare la fosforilazione a livello della serina 129 e in seguito l'aggregazione della α -sinucleina in inclusioni citoplasmatiche insolubili. L' α -sinucleina è una proteina normalmente presente a livello neuronale e nella forma fisiologica possiede una conformazione a monomero solubile. A seguito della fosforilazione, tuttavia, l' α -sinucleina sarebbe più predisposta a cambiare conformazione, passando da monomeri singoli a oligomeri insolubili e poi a fibrille amiloidi insolubili ricche di strutture a β -foglietto; quest'ultima conformazione è propria della α -sinucleina che costituisce gli aggregati intracitoplasmatici⁸.

La presenza di questi aggregati proteici non solo interferisce con la funzione di supporto neuronale svolta dagli oligodendrociti, ma fa anche in modo che l' α -sinucleina con conformazione anomala venga rilasciata nello spazio extracellulare e venga captata dai neuroni vicini, causando la formazione di inclusioni proteiche anche in sede neuronale. La perdita della funzione trofica e di sostegno degli oligodendrociti, associata alla disfunzione neuronale secondaria alle inclusioni di α -sinucleina e all'attivazione della microglia dovuta a processi di neuroinfiammazione reattiva portano, agendo sinergicamente, alla perdita neuronale e alla degenerazione di specifiche aree cerebrali, con conseguente astrogliosi¹³. Infine, la α -sinucleina *misfolded* sarebbe in grado di propagarsi, in modo simile a come accade per le malattie da prioni, verso altre aree cerebrali, causandone la degenerazione^{10,12}.

Dal punto di vista clinico-patologico, sono state identificate due distinte varianti di atrofia multisistemica in base alla localizzazione dei depositi dell' α -sinucleina, la variante parkinsoniana (MSA-P) e la variante cerebellare (MSA-C). È stato osservato che le aree che maggiormente vanno incontro a degenerazione nell'atrofia multisistemica sono la via nigrostriatale (principalmente nella variante MSA-P), i fasci olivo-ponto-cerebellari (principalmente nella MSA-C) e anche alcune regioni del sistema nervoso autonomo, che comprendono l'ipotalamo, i nuclei noradrenergici e serotoninergici del tronco encefalico, il nucleo dorsale del vago e il nucleo ambiguo. Queste aree rispecchiano quelli che sono i riscontri

clinici predominanti nella MSA: parkinsonismo nella variante MSA-P, atassia cerebellare nella MSA-C e, in entrambe le varianti, sintomi disautonomici.

1.2.2 - Clinica

Dal punto di vista clinico, l'atrofia multisistemica è caratterizzata da:

- disturbi della sfera autonoma (presenti in tutti i pazienti);
- segni e sintomi di interessamento extrapiramidale che configurano un quadro di parkinsonismo (prevalenti nella MSA-P);
- segni e sintomi suggestivi di un coinvolgimento cerebellare (prevalenti nella MSA-C).

In realtà, non bisogna considerare vincolante la corrispondenza assoluta tra le due varianti parkinsoniana e cerebellare e le possibili presentazioni cliniche, visto che, come è stato riscontrato¹⁴, con l'evoluzione temporale della malattia il disturbo motorio prevalente può cambiare, ed è possibile che, per esempio, un paziente con una diagnosi di MSA-P ad un certo punto sviluppi anche sintomi cerebellari. Le due denominazioni di MSA-P e MSA-C sono infatti riferite al tipo di disturbo motorio prevalente al momento della diagnosi, ma non si esclude che esso possa variare nel tempo.

a) Disautonomia

I disturbi disautonomici coinvolgono molteplici sistemi e apparati. Frequente è, ad esempio, l'ipotensione ortostatica. La definizione di ipotensione ortostatica prevede una riduzione della pressione arteriosa sistolica di almeno 20 mmHg o diastolica di almeno 10 mmHg nell'arco dei primi 3 minuti dal passaggio dalla posizione supina a quella eretta¹⁵. Tuttavia, essendo la componente disautonomica piuttosto marcata nella MSA, non è infrequente trovare livelli di ipotensione anche più estremi di tali valori¹⁶; per questo, nei criteri del *Second consensus statement on the diagnosis of multiple system atrophy*¹⁴ si è deciso di inserire dei *cutoff* di ipotensione più pronunciati rispetto a quelli della definizione standard, e cioè una riduzione sistolica di almeno 30mmHg o diastolica di almeno 15mmHg, il cui riscontro permette la diagnosi di MSA probabile. Invece, per la diagnosi di MSA possibile si considerano gradi di ipotensione meno marcati, che non soddisfano i criteri per la MSA probabile.

L'ipotensione ortostatica può essere un riscontro asintomatico, ma più frequentemente si presenta con capogiri, debolezza, nausea fino alla sincope¹⁰. Una problematica frequentemente associata all'ipotensione ortostatica è la tendenza a presentare elevati valori pressori in clinostatismo (ipertensione supina), prevalentemente notturni. Sono spesso presenti anche disturbi genito-urinari, che comprendono sia problemi nella minzione (incontinenza urinaria, urgenza minzionale, difficoltà nel completo svuotamento della vescica o ritenzione urinaria) sia disturbi della sfera sessuale (disfunzione erettile nell'uomo, ridotta sensibilità genitale nella donna)¹².

Tra i disturbi dell'apparato gastrointestinale, il più frequente è la stipsi ostinata, ma vengono spesso riferiti anche disfagia, diarrea e alvo alterno, senso di ripienezza (*fullness*) post prandiale precoce, nausea e vomito, dolori addominali di tipo crampiforme¹⁰.

Possono anche essere presenti turbe vasomotorie, con discromie delle estremità e disturbi della termoregolazione come ipoidrosi o anidrosi¹². Vengono talvolta riportati anche disturbi secretomotori (scialorrea, xerostomia, xeroftalmia), anomalie dei riflessi pupillomotori¹⁰ (eccessiva intolleranza alla luce diurna), e disturbi respiratori come stridor laringeo notturno e apnee del sonno¹³. Infine, frequenti sono i disturbi del sonno REM (*REM sleep behaviour disorders*, RBD), come agitazione notturna e sogni inquieti¹².

I disturbi disautonomici, di norma, precedono l'esordio dei sintomi motori di mesi o anni: uno studio ha rilevato che nel 75% dei pazienti analizzati i disturbi disautonomici erano iniziati ben 4 anni prima dell'esordio dei sintomi motori¹⁷. I disturbi disautonomici si configurano quindi come prodromici rispetto alle altre manifestazioni della MSA; è importante tenere conto di questo aspetto ai fini della diagnosi precoce di malattia.

b) Parkinsonismo

I segni e sintomi di coinvolgimento del sistema extrapiramidale comprendono bradicinesia, rigidità e instabilità posturale con tendenza alle cadute, che compare più precocemente di quanto avviene nella malattia di Parkinson. Il riscontro di tremore è meno frequente e si tratta di un tremore di tipo posizionale o intenzionale, in contrasto con il tremore a riposo tipico della malattia di Parkinson¹⁴. Il parkinsonismo dell'atrofia multisistemica mostra, in

linea con gli altri parkinsonismi atipici, una risposta incostante e parziale alla terapia con levodopa, che risulta efficace solo nel 30-40% dei pazienti^{10,14}.

c) Coinvolgimento cerebellare

I segni e i sintomi cerebellari includono marcia atassica con instabilità posturale, difficoltà nell'articolazione della parola (disartria), atassia degli arti e disturbi dell'oculomotricità come nistagmo e saccadi ipometriche¹².

Si possono ritrovare, infine, segni di disfunzione delle vie piramidali (come segno di Babinski¹⁰ e iperreflessia), disfunzioni esecutive frontali¹⁰, crisi patologiche di pianto o risata di tipo pseudobulbare, mioclono degli arti e peri-buccale e distonia oro-facciale. Inoltre, si possono rilevare anche deformità assiali come l'anterocollo, ovvero una esagerata anteposizione del capo, la cosiddetta sindrome di Pisa (laterodeviatazione del tronco) e la camptocormia (una marcata anteroflessione del tronco, che si accentua camminando).

1.2.3 - Diagnosi

Dal punto di vista clinico, quanto osservato nei pazienti con MSA è in parte sovrapponibile ai reperti presenti in altre malattie neurodegenerative, in particolare la malattia di Parkinson. Per questo motivo la misdiagnosi è frequente, soprattutto all'esordio e nei primi anni di malattia e nell'ambito delle sinucleinopatie, con un tasso di errore diagnostico di circa il 30%¹⁸.

Il primo e più importante strumento diagnostico è l'osservazione degli aspetti clinici. La diagnosi può poi essere supportata da esami di imaging e di medicina nucleare, ma nessun esame è in grado di dare certezza diagnostica, non essendoci di fatto alcun tratto assolutamente patognomonico della malattia. Al momento la diagnosi di certezza si ottiene solamente con il dato neuropatologico autoptico.

I criteri di riferimento per la diagnosi di atrofia multisistemica sono quelli del *Second consensus statement on the diagnosis of multiple system atrophy*¹⁴, redatti nel 2008. Si tratta di criteri validati e ampiamente utilizzati; tuttavia, è necessario premettere che un loro limite sta nella scarsa sensibilità per la diagnosi delle fasi precoci di malattia. Al fine di migliorare l'accuratezza diagnostica nella fase precoce di malattia, sono stati messi a punto nel 2022 dalla *Movement Disorders*

Society dei nuovi criteri diagnostici¹⁹, di cui si attende la validazione tramite studi prospettici e clinicopatologici.

I criteri del *Second consensus statement on the diagnosis of multiple system atrophy* individuano tre diverse categorie di classificazione diagnostica, che dividono la diagnosi di atrofia multisistemica in certa, probabile e possibile¹⁴.

La diagnosi di certezza richiede il riscontro in sede autoptica di inclusioni citoplasmatiche di α -sinucleina negli oligodendrociti e alterazioni neurodegenerative nel sistema nigrostriatale e/o olivopontocerebellare (Tabella I). Fino al momento dell'autopsia la diagnosi può essere quindi solo presuntiva.

La diagnosi è probabile se si è in presenza di una patologia sporadica, progressiva, con esordio in età adulta, caratterizzata da disfunzioni rigorosamente definite del sistema nervoso autonomo, come incontinenza urinaria, disfunzione erettile e ipotensione ortostatica più severa rispetto ai criteri diagnostici standard, in associazione ad un parkinsonismo poco responsivo alla levodopa (MSA-P) o ad una sindrome cerebellare (MSA-C) (Tabella II).

La diagnosi è infine possibile in caso di una patologia sporadica, progressiva, con esordio in età adulta, caratterizzata da parkinsonismo oppure sindrome cerebellare, associata ad almeno un segno di alterazione disautonomica (urgenza minzionale, svuotamento vescicale incompleto, disfunzione erettile, ipotensione ortostatica che rientra nei criteri diagnostici standard) e ad almeno un segno di alterazione clinica (segno di Babinski, iperreflessia, stridor, episodi di soffocamento) o all'imaging (atrofia dei nuclei della base e del cervelletto in risonanza magnetica, ipometabolismo delle stesse sedi alla PET con ¹⁸fluorodesossiglucosio, o segni di denervazione nigrostriatale alla SPECT) (Tabella III).

Tabella I - criteri per la diagnosi di certezza di MSA. Adattata da Gilman et al., *Second consensus statement on the diagnosis of multiple system atrophy*¹⁴

Criteria for the diagnosis of certainty of MSA
riscontro in sede autoptica di inclusioni citoplasmatiche di α -sinucleina negli oligodendrociti
alterazioni neurodegenerative nel sistema nigrostriatale e/o olivopontocerebellare

Tabella II - criteri per la diagnosi di MSA probabile. Adattata da Gilman et al., Second consensus statement on the diagnosis of multiple system atrophy¹⁴

Criteri per la diagnosi di MSA probabile
Patologia sporadica, progressiva, con esordio in età adulta, caratterizzata da:
sintomi disautonomici come incontinenza urinaria (incapacità di controllo sulla minzione, eventualmente con disfunzione erettile) o ipotensione ortostatica (calo della pressione arteriosa sistolica di almeno 30 mmHg o diastolica di almeno 15 mmHg entro 3 minuti di ortostatismo) e
sindrome cerebellare (atassia della marcia con disartria cerebellare o disfunzioni oculomotorie cerebellari) oppure parkinsonismo poco responsivo alla levodopa (bradicinesia, rigidità, tremore o instabilità posturale)

Tabella III - criteri per la diagnosi di MSA possibile. Adattata da Gilman et al., Second consensus statement on the diagnosis of multiple system atrophy¹⁴

Criteri per la diagnosi di MSA possibile
Patologia sporadica, progressiva, con esordio in età adulta, caratterizzata da:
parkinsonismo (bradicinesia, rigidità, tremore o instabilità posturale) oppure
sindrome cerebellare (atassia della marcia con disartria cerebellare, atassia degli arti o disfunzioni oculomotorie cerebellari) e
almeno un segno di disfunzione autonoma (urgenza minzionale, aumentata frequenza o incompleto svuotamento vescicale non altrimenti spiegabili, disfunzione erettile o calo ortostatico della pressione arteriosa che non rientra nei criteri richiesti per la diagnosi di MSA probabile) e
almeno un segno di alterazione clinica o all'imaging:
- possibile MSA-P o MSA-C:
<ul style="list-style-type: none"> • Babinski positivo con iperreflessia • stridor
- possibile MSA-P:
<ul style="list-style-type: none"> • parkinsonismo rapidamente progressivo • poca responsività alla levodopa • instabilità posturale entro 3 anni dall'esordio dei sintomi motori • atassia della marcia, disartria cerebellare, atassia degli arti o disfunzioni oculomotorie cerebellari • disfagia entro 5 anni dall'esordio dei sintomi motori • atrofia in RM di putamen, peduncoli cerebellari medi, ponte o cervelletto • ipometabolismo alla FDG-PET in putamen, tronco o cervelletto
- possibile MSA-C:
<ul style="list-style-type: none"> • parkinsonismo (bradicinesia e rigidità) • atrofia alla RM di putamen, peduncoli cerebellari medi o ponte

- ipometabolismo alla FDG-PET del putamen
- denervazione dopaminergica presinaptica nigrostriatale alla SPECT o PET

Come già anticipato, non esistono al momento esami strumentali in grado di identificare con sufficiente sensibilità e specificità l'atrofia multisistemica. Sono state descritte tuttavia alcune caratteristiche che la rendono distinguibile da altri parkinsonismi.

Dal punto di vista clinico, un possibile dato che può permettere di differenziare la malattia di Parkinson dall'MSA è la presenza di ipo/anosmia, che risulta più frequente e marcata nella malattia di Parkinson rispetto alla MSA, in cui i pazienti hanno funzione olfattiva conservata o solo moderatamente ridotta²⁰.

In risonanza magnetica, sono stati individuati dei segni caratteristici di MSA:

- *hot cross bun sign*: un'iperintensità cruciforme in sequenze T2 a livello del ponte²¹;
- *putaminal slit*: un'iperintensità in T2 al margine del putamen²¹⁻²³.

Nella MSA si osserva inoltre atrofia a carico di putamen, peduncoli cerebellari medi, ponte e cervelletto con dilatazione del IV ventricolo. Infine le sequenze pesate in diffusione (DWI, *diffusion weighted imaging*), permettono di distinguere l'atrofia multisistemica nella variante parkinsoniana (MSA-P) dalla malattia di Parkinson, in quanto nella MSA-P il putamen e il peduncolo cerebellare medio mostrano una maggior diffusività tissutale (misurata tramite il coefficiente apparente di diffusione, ADC) rispetto alla malattia di Parkinson²¹. Nella malattia di Parkinson i reperti alla risonanza magnetica sono generalmente normali²³.

Un'altra indagine spesso utile, anche se non specifica, è la PET con ¹⁸fluorodesossiglucosio (FDG-PET), che è in grado di evidenziare ipometabolismo delle strutture dei gangli della base (soprattutto il putamen) e cerebellari^{22,23}.

Inoltre, la scintigrafia con ¹²³I-metaiodobenzilguanidina (¹²³I-MIBG), che quantifica l'innervazione simpatica post-gangliare cardiaca, mostra un'ipocaptazione marcata nella malattia di Parkinson mentre la captazione è normale o solo lievemente diminuita nella MSA²⁴. Questo dato è motivato dal fatto che nella MSA la disfunzione è a carico dei neuroni autonomici pre-gangliari, mentre nella malattia di Parkinson il deficit è post-gangliare; di conseguenza la scintigrafia con ¹²³I-MIBG sarà positiva per denervazione cardiaca

solo in caso di PD. Ad ogni modo, il riscontro di denervazione cardiaca non porta con certezza a escludere la MSA, dal momento che una parte dei pazienti (stimata fino ad un terzo) può presentare comunque denervazione cardiaca e, al contrario, l'innervazione cardiaca può essere preservata in soggetti con malattia di Parkinson in stadio iniziale²³. Secondo alcuni autori, la scintigrafia con ¹²³I-MIBG risulterebbe per questo meno accurata della risonanza in DWI nel distinguere l'atrofia multisistemica dalla malattia di Parkinson¹⁸.

Recentemente, inoltre, sono stati descritti risultati promettenti dall'uso della biopsia di cute per distinguere l'atrofia multisistemica nella variante parkinsoniana e la malattia di Parkinson con associata disfunzione autonoma: ricercando i depositi di α -sinucleina nei nervi periferici, è emerso che, nella MSA-P, essi sono maggiormente presenti nelle fibre nervose somatiche, ma non nelle fibre autonome, mentre nella malattia di Parkinson sono proprio le fibre autonome post-gangliari a presentare i depositi proteici²².

Negli ultimi anni, grande attenzione è stata posta proprio nella definizione di marker diagnostici precoci di malattia, che possano supportare una diagnosi quanto più precoce e precisa di MSA.

1.2.4 - Diagnosi differenziali

La malattia di Parkinson e altri parkinsonismi atipici come la paralisi sopranucleare progressiva (PSP) e la demenza a corpi di Lewy (LBD) possono risultare indistinguibili dall'atrofia multisistemica nelle prime fasi della malattia, ma possono essere distinte da quest'ultima per il diverso decorso (rapidamente progressivo nei parkinsonismi atipici, più lento della malattia di Parkinson tipica) e per alcuni segni semeiologici particolari (quali l'oftalmoplegia verticale nella PSP o l'insorgenza di demenza in fasi relativamente precoci di malattia nella LBD)²⁵.

Secondo uno studio retrospettivo eseguito su pazienti che avevano ricevuto una diagnosi clinica di MSA²⁶, l'autopsia ha confermato la diagnosi solo nei 2/3 dei pazienti; nei restanti casi, la patologia più rilevata all'autopsia era la LBD, che entra in diagnosi differenziale con l'atrofia multisistemica dato che entrambe presentano sintomi extrapiramidali e disturbi disautonomici. Tuttavia, diversamente dalla demenza a corpi di Lewy, la MSA non presenta generalmente disturbi cognitivi, se non in fase molto avanzata di malattia.

Tra le possibili diagnosi differenziali deve essere considerata anche l'atassia idiopatica cerebellare ad esordio tardivo²⁷, che condivide con l'atrofia multisistemica i sintomi cerebellari tipici soprattutto della MSA-C, ma non presenta né i disturbi del sonno REM né la disautonomia severa. Sempre in riferimento al fenotipo MSA-C, altre diagnosi differenziali in questo caso sono le sindromatologie atassiche acquisite da esposizione ad alcol, chemioterapici o da deficit di vitamina E, o ancora le atassie paraneoplastiche o autoimmuni²³.

Infine, nel caso in cui la presentazione clinica fosse prevalentemente caratterizzata da disfunzione autonoma isolata, un'altra possibile diagnosi differenziale della MSA è l'insufficienza autonoma pura²⁸, anch'essa una sinucleinopatia, in cui però i depositi di α -sinucleina sono localizzati nei gangli autonomi.

Una diagnosi errata o tardiva ha conseguenze importanti sulla prognosi, sull'evoluzione clinica e sulle scelte terapeutiche, aumentando anche il rischio di effetti avversi e riducendo la possibilità di essere reclutati per trials clinici.

1.2.5 - Prognosi

La storia naturale dell'atrofia multisistemica prevede un decorso progressivo che, a seguito di un graduale peggioramento dei sintomi sia motori che non motori, porta al decesso nell'arco di 9 anni in media dall'esordio¹². Entro 3 anni dall'esordio dei sintomi motori il 50% dei pazienti non è più in grado di deambulare autonomamente e si osserva una marcata compromissione dell'autonomia nelle attività della vita quotidiana (*activities of daily life*, ADL), fino ad arrivare all'allettamento entro 6-8 anni dall'esordio¹⁰.

L'exitus sopraggiunge prevalentemente per complicanze legate all'allettamento o per disregolazione acuta dei centri autonomi del tronco che controllano i sistemi cardiovascolare e respiratorio.

Fattori prognostici negativi sono un'età avanzata al momento dell'esordio, il fenotipo con sintomi parkinsoniani (MSA-P) e l'insorgenza precoce di disfunzioni autonome severe, mentre tra i fattori che predicono un *outcome* più positivo si annoverano il fenotipo cerebellare (MSA-C) e l'insorgenza più tardiva di disautonomia¹⁰.

1.2.6 - Terapia

Per quanto riguarda la terapia, non esistono al momento farmaci specifici per l'atrofia multisistemica, né con potenziale *disease-modifying*, che siano in grado cioè di modificare significativamente il decorso della malattia.

Il trattamento ha quindi lo scopo di gestire i sintomi, sia motori che non motori.

I sintomi parkinsoniani vengono trattati con levodopa, anche se l'efficacia della terapia è molto minore rispetto al caso della malattia di Parkinson. Il tasso di risposta nella MSA è stimato intorno al 30-40%, e tende a ridursi nel tempo. Al fine di testare l'efficacia del farmaco, si possono aumentare gradatamente le dosi di levodopa fino a 1g/die, se tollerata¹⁴. Per i sintomi cerebellari non esiste invece un farmaco specifico, anche se trials clinici hanno dimostrato tuttavia benefici nella somministrazione di buspirone o gabapentin²⁹.

Per l'incontinenza o l'urgenza minzionale, legate a un'iperattività vescicale, possono essere usati farmaci anti-muscarinici con lo scopo di indurre un rilassamento del muscolo detrusore. Per lo stesso principio, la ritenzione urinaria può essere alleviata da agenti colinergici che facciano contrarre il detrusore, e come ultima ratio, si può ricorrere all'autocaterizzazione¹⁰.

Nel trattamento dell'ipotensione ortostatica, è fondamentale la condivisione con i pazienti di una serie di indicazioni comportamentali, volte a gestire i sintomi legati ai ridotti valori pressori con conseguente ipoperfusione in diversi distretti del corpo: eseguire passaggi posturali gradualmente, evitare pasti troppo ricchi e l'esposizione a temperature troppo elevate e ad ambienti eccessivamente umidi, evitare alcolici (in quanto vasodilatatori) o caffè (per l'effetto diuretico), aumentare l'introito idrico e la quantità di sale nella dieta. Dal punto di vista farmacologico, si possono somministrare simpaticomimetici come midodrina, un α_1 -agonista che agisce sugli α -recettori arteriosi con effetto di vasocostrizione e quindi aumento della pressione, oppure droxidopa, un precursore della noradrenalina, che si lega agli stessi recettori vascolari¹²; può essere somministrata anche la desmopressina, un analogo sintetico dell'ormone antidiuretico (ADH), mentre il fludrocortisone, corticosteroide che agisce aumentando la ritenzione idrosalina a livello renale e quindi la volemia, è considerato off-label, in quanto non è stato ancora oggetto di studi che ne provino l'efficacia¹⁰.

La ventilazione a pressione positiva (C-PAP) è utile per risolvere lo stridor notturno e le apnee del sonno³⁰, mentre nei casi più gravi si può ricorrere all'iniezione unilaterale di tossina botulinica a livello delle corde vocali. Sempre la tossina botulinica è impiegata nel trattamento della scialorrea³¹, in quanto inibisce l'innervazione colinergica delle ghiandole salivari, così come il glicopirrolato, un agente anticolinergico che diminuisce la produzione di secreto nella stessa sede³².

È inoltre necessario porre attenzione ai possibili episodi disfagici; si possono utilizzare addensanti da sciogliere nei liquidi per facilitarne il transito, oltre ad educare i pazienti ad assumere posizioni più sicure durante la deglutizione: tenere il mento in basso, ad esempio, agevola il transito del bolo in faringe e poi in esofago.

La stipsi viene trattata con misure non farmacologiche, quali aumentato esercizio fisico, maggior introito di fibre e liquidi ed eventualmente lassativi al bisogno; tra questi il macrogol, un lassativo osmotico, si è dimostrato efficace nell'alleviare i sintomi legati alla stipsi³³.

Nel trattamento della disfunzione erettile si possono considerare gli inibitori della fosfodiesterasi-5, come il sildenafil, tenendo conto però del fatto che l'effetto vasodilatante di questi farmaci può esacerbare i sintomi dell'ipotensione ortostatica¹².

I disturbi del sonno REM, infine, possono essere gestiti con farmaci appartenenti al gruppo delle benzodiazepine, come clonazepam a basse dosi, oppure con regolatori del ritmo sonno-veglia come la melatonina¹⁰.

Riguardo le terapie *disease-modifying*, un trial randomizzato e controllato del 2012 che prevedeva l'infusione di cellule staminali mesenchimali autologhe ha dato risultati promettenti³⁴. Il razionale alla base dell'uso delle staminali mesenchimali è legato al fatto che queste potrebbero sia sostituire neuroni danneggiati, sia prevenire l'ulteriore neurodegenerazione tramite il rilascio di fattori neurotrofici o l'attenuazione della neuroinfiammazione; tuttavia, il limite di tale trial è un effetto avverso sviluppato a seguito della procedura: dopo l'infusione si è registrata, infatti, un'aumentata insorgenza di infarti cerebrali, fatto che rende il trapianto di staminali autologhe non proponibile come opzione terapeutica.

Un altro target terapeutico fondamentale è l' α -sinucleina, per la quale si sta lavorando sia allo sviluppo di anticorpi specifici in grado di creare una risposta immunitaria, sia al potenziamento dei meccanismi di degradazione cellulare, stimolando ad esempio il sistema proteasomiale o la via di degradazione lisosomiale³⁵. Per il suo ruolo patogenetico nei confronti della neurodegenerazione, anche l'eccessiva attivazione della microglia è un potenziale bersaglio terapeutico¹².

1.3 - Malattia di Parkinson

La malattia di Parkinson (PD) è la seconda malattia neurodegenerativa più frequente dopo la malattia di Alzheimer⁵ ed è la forma di parkinsonismo più frequente³⁶. Il parkinsonismo è una sindrome clinica caratterizzata da sintomi motori come la bradicinesia, la rigidità muscolare, il tremore e l'instabilità posturale, comune a varie patologie, tra cui appunto la malattia di Parkinson, l'atrofia multisistemica, la paralisi sopranucleare progressiva, la degenerazione corticobasale e la demenza a corpi di Lewy.

1.3.1 - Epidemiologia, eziologia e patogenesi

Si stima che l'incidenza della malattia di Parkinson (PD) nel mondo spazi dai 5 ai 35 nuovi casi per 100.000 individui all'anno e che la prevalenza sia del 3% negli individui sopra gli 80 anni; gli uomini sono circa due volte più colpiti rispetto alle donne e l'età media di esordio della malattia è intorno alla quinta decade⁵. La mortalità associata alla malattia di Parkinson non aumenta rispetto a quella della popolazione generale nell'arco della prima decade di malattia, ma raddoppia da quel momento in poi, rendendo comunque possibile la convivenza con la malattia anche per oltre 20 anni e giustificando l'aumento della prevalenza della malattia negli anni⁵.

La maggior parte dei casi di PD sono idiopatici, anche se sono noti geni le cui mutazioni predispongono a malattia di Parkinson: tra questi si annoverano i geni SNCA, codificante per l' α -sinucleina, LRRK2, codificante per l'enzima *leucine-rich repeat kinase*, PRKN, codificante per la proteina parkina e PINK1, codificante per l'enzima *PTEN-induced kinase 1*³⁷.

Dal punto di vista fisiopatologico, la malattia di Parkinson è caratterizzata dalla perdita di neuroni dopaminergici della sostanza nera mesencefalica³⁶. La sostanza nera è, insieme al corpo striato (formato da nucleo caudato e putamen), parte della via nigrostriatale, una via dopaminergica deputata al controllo del movimento involontario e facente parte del sistema extrapiramidale. La degenerazione dei neuroni dopaminergici è conseguente all'accumulo neuronale di aggregati patologici di α -sinucleina, che prendono il nome di corpi Lewy se localizzati nel soma e neuriti di Lewy se localizzati nei prolungamenti assonali.

Fisiologicamente, la segnalazione dopaminergica a partenza della sostanza nera e diretta verso il corpo striato è importante per la modulazione di due vie implicate nel controllo del movimento: la via diretta, che dai nuclei della base porta ad un effetto disinibitorio sul talamo, con effetto finale di attivazione della corteccia motoria, e la via indiretta, che tramite l'inibizione del talamo porta all'inibizione della corteccia motoria⁵. Il bilanciamento tra queste due vie parallele, la via diretta facilitatoria del movimento, la via indiretta inibitoria, è cruciale per garantire che i movimenti vengano eseguiti in maniera controllata. Complessivamente, la presenza di dopamina sposta l'equilibrio tra le due vie in senso facilitatorio e permette l'accesso dei neuroni talamici alla corteccia motoria.

Nella malattia di Parkinson, la perdita del segnale dopaminergico a livello della via nigrostriatale ha l'effetto di aumentare i meccanismi inibitori che agiscono sul talamo, con conseguente minore stimolazione corticale e riduzione dei movimenti. Ciò giustifica la presenza dei sintomi motori prevalenti nella malattia di Parkinson, quali la bradicinesia e la difficoltà ad iniziare il movimento, la rigidità e il tremore.

Nella malattia di Parkinson si riscontrano tuttavia anche sintomi non motori, come disturbi del sonno REM e disturbi disautonomici; il motivo della presenza di manifestazioni non motorie risiede nel fatto che nella malattia di Parkinson non vengono colpiti esclusivamente i neuroni della sostanza nera, ma ci sono molte altre sedi in cui si ritrovano i depositi di α -sinucleina. Le sedi di danno e la sequenza con cui vengono coinvolte sono descritte nella cosiddetta ipotesi di Braak³⁸. Essa sostiene che la diffusione degli aggregati di α -sinucleina proceda in direzione caudo-craniale, interessando inizialmente il SNP e in particolare il sistema nervoso enterico (SNE), proseguendo poi nel midollo allungato, nel tegmento pontino, nel mesencefalo e nel diencefalo, arrivando infine alla

corteccia. Questa differenza temporale nel coinvolgimento di varie strutture nervose rispecchia l'evoluzione clinica della malattia di Parkinson: i sintomi non motori, come la stipsi, dovuta al coinvolgimento del SNE, l'anosmia, dovuta al coinvolgimento dei bulbi olfattivi, e i disturbi del sonno REM, dovuti al coinvolgimento del tegmento pontino, possono essere presenti fino a 20 anni prima dei disturbi motori (periodo prodromico)³⁷. I sintomi motori esordiscono quando oltre il 50% dei neuroni dopaminergici della sostanza nera è degenerato.

1.3.2 - Clinica

La malattia di Parkinson si presenta clinicamente con sintomi motori e sintomi non motori.

a) Sintomi motori

L'esordio dei sintomi motori è unilaterale e l'asimmetria solitamente persiste nel corso della malattia⁵.

Il sintomo cardine è la bradicinesia, ovvero la lentezza nell'esecuzione dei movimenti. Oltre alla lentezza, la bradicinesia è caratterizzata anche dalla diminuzione dell'ampiezza dei movimenti ripetitivi: ripetendo una stessa azione più e più volte, l'escursione del movimento diminuirà gradualmente³⁶. La bradicinesia è un sintomo sempre presente nella malattia di Parkinson, diversamente dagli altri sintomi motori: fino al 20% dei pazienti, ad esempio, non presenta tremore³⁷.

La rigidità muscolare è un altro sintomo importante nel quadro del parkinsonismo^{36,37}. Quella tipica del parkinsonismo è una rigidità indipendente dalla velocità del movimento, a differenza della rigidità che consegue alle condizioni di spasticità piramidale. La rigidità è obiettivabile facendo muovere passivamente un arto rilassato; nei casi di rigidità importante si può presentare il cosiddetto segno della troclea o ruota dentata: mobilizzando passivamente il polso o il gomito, si percepisce un movimento a scatti.

Un ulteriore sintomo presente è il tremore a riposo, che tipicamente coinvolge all'inizio l'estremità distale di un arto superiore, per estendersi in seguito all'arto inferiore omolaterale. È un tremore ritmico, ha una frequenza di 4-6 Hz e tipicamente cessa con l'azione, a differenza del tremore cerebellare.

Si rileva, infine, instabilità posturale, ovvero deficit nel mantenimento dell'equilibrio durante la camminata, la stazione eretta e i passaggi posturali³⁶. All'instabilità posturale si possono associare atteggiamenti in anteroflessione del tronco (la cosiddetta camptocormia) o laterodeviiazione del tronco (sindrome di Pisa). Un ulteriore segno di instabilità posturale sono le alterazioni della deambulazione: i passi sono lenti e di ridotta ampiezza, c'è difficoltà nei cambi di direzione e nell'avvio della marcia (*freezing*) e i movimenti pendolari degli arti (sincinesie) sono ridotti. Si perdono inoltre i riflessi posturali, testabili all'obiettività eseguendo il *pull test*, consistente nello sbilanciare il paziente spingendolo all'indietro, e aumenta la tendenza alle cadute⁵.

b) Sintomi non motori

I sintomi non motori sono molteplici, essendoci nella malattia di Parkinson numerose altre sedi di danno oltre alla via nigrostriatale. Essi, come già affermato, possono precedere nell'insorgenza i sintomi motori.

Tra i sintomi non motori si annoverano i disturbi del sonno, quali insonnia, sonnolenza diurna e disturbi del sonno REM³⁶; questi ultimi sono spesso presenti nel periodo che precede l'insorgenza dei sintomi motori (periodo prodromico) e, tra i sintomi prodromici nell'ambito delle α -sinucleinopatie sono quelli che avrebbero il maggior rischio di fenocconversione alla malattia di Parkinson conclamata (la loro presenza è associata ad una elevata probabilità di sviluppare la malattia in futuro)³⁹.

I disturbi disautonomici sono frequenti. La stipsi è il sintomo più frequente nel periodo prodromico³⁷, ma vengono osservati anche disturbi urinari (incontinenza urinaria e frequenza minzionale), l'ipotensione ortostatica, la disfagia e le disfunzioni della sfera sessuale.

Non sono rari i disturbi psichiatrici⁵, come depressione, ansia e disfunzioni cognitive fino alla demenza, tipica degli stadi più avanzati di malattia e giustificata dal coinvolgimento corticale, che secondo la teoria di Braak è l'evento più tardivo nella patogenesi della malattia³⁸. Possono anche essere presenti psicosi e allucinazioni.

Un altro disturbo frequentemente riferito in fase prodromica è l'iposmia³⁶, ovvero la riduzione della sensibilità olfattiva, giustificata dalla deposizione degli aggregati di α -sinucleina a livello dei bulbi olfattivi.

1.3.3 - Diagnosi

Come per la MSA, anche per quanto riguarda la malattia di Parkinson va considerata la possibilità di misdiagnosi, viste le numerose sovrapposizioni tra i suoi aspetti clinici e quelli di altri quadri patologici, primi fra tutti i parkinsonismi atipici. Secondo una metanalisi, infatti, l'accuratezza della diagnosi clinica di PD non supera l'80%⁴⁰.

La diagnosi di malattia di Parkinson è una diagnosi clinica e resta una diagnosi di natura presuntiva, essendo possibile fare diagnosi di certezza solamente in due casi, ovvero con la ricerca di geni malattia nei casi di PD geneticamente determinato, oppure con il riscontro in sede autoptica dei caratteri neuropatologici tipici della malattia nel PD sporadico³⁷.

Nel 2015 la *Movement Disorder Society* (MDS) ha redatto i criteri per la diagnosi clinica di malattia di Parkinson⁴¹. Tali criteri, sebbene siano stati inizialmente pensati per essere usati nel campo della ricerca, sono attualmente i più utilizzati al fine della diagnosi clinica²⁵. Secondo la MDS, la diagnosi clinica di PD si basa sul riscontro, all'esame obiettivo neurologico, di un parkinsonismo definito dalla presenza di bradicinesia più almeno un altro segno tra rigidità muscolare e tremore a riposo di 4-6 Hz di frequenza. A questo requisito imprescindibile si associano criteri di supporto, criteri di esclusione e le cosiddette *red flags*, in presenza delle quali si sospetta una diagnosi alternativa (Tabella IV).

Tabella IV - Criteri MDS per la diagnosi clinica di malattia di Parkinson. Adattata da Postuma et al., *MDS clinical diagnostic criteria for Parkinson's disease*⁴¹

Presenza di una sindrome parkinsoniana all'esame neurologico
<ul style="list-style-type: none"> - bradicinesia, più almeno uno dei seguenti segni: - tremore a riposo 4-6 Hz, rigidità
Criteri di supporto
<ul style="list-style-type: none"> - responso eccellente alla terapia con levodopa - presenza di discinesia indotte da levodopa - tremore a riposo di un arto - presenza di iposmia o denervazione simpatica cardiaca alla scintigrafia con ¹²³I-MIBG

Criteri di esclusione
<ul style="list-style-type: none"> - segni cerebellari inequivocabili - paralisi dello sguardo verticale - diagnosi di demenza frontotemporale (variante comportamentale o PPA) - parkinsonismo limitato agli arti inferiori per > 3 anni - uso di farmaci con effetti anti-dopaminergici (sospetto di PD indotto da farmaci) - assenza di responso alla L-Dopa - deficit corticale sensitivo, aprassia degli arti, afasia progressiva - signalling dopaminergico pre-sinaptico normale all'imaging
Red Flags suggestive di una diagnosi alternativa
<ul style="list-style-type: none"> - rapida progressione del deficit nella deambulazione (uso di carrozzina entro 5 anni) - assenza di progressione a 5 anni - disfonia severa, disartria o disfagia entro 5 anni - stridor inspiratorio - disfunzione autonoma severa entro 5 anni (ipotensione ortostatica sintomatica, incontinenza o ritenzione urinaria) - cadute ricorrenti entro 3 anni - anterocollo severo o contratture agli arti entro 10 anni - assenza di sintomi non motori tipici di PD a 5 anni - simmetria persistente dei sintomi motori

A partire dal riscontro imprescindibile di parkinsonismo, in base alla presenza o all'assenza dei criteri di supporto, di esclusione e delle *red flags* si possono delineare due diverse categorie diagnostiche, malattia di Parkinson clinicamente stabilita e malattia di Parkinson clinicamente probabile.

La diagnosi di PD clinicamente stabilita prevede:

- riscontro di parkinsonismo, ovvero bradicinesia più almeno un altro segno tra tremore a riposo e rigidità;
- almeno 2 criteri di supporto;
- assenza di criteri di esclusione;
- assenza di *red flags*.

La diagnosi di PD clinicamente probabile prevede invece:

- riscontro di parkinsonismo, ovvero bradicinesia più almeno un altro segno tra tremore a riposo e rigidità;
- assenza di criteri di esclusione;

-
- presenza di al massimo 2 *red flags*, controbilanciate da altrettanti criteri di supporto.

Ciò che emerge dallo studio di validazione dei criteri MDS⁴² è che le due categorie diagnostiche possiedono livelli di accuratezza differenti: la diagnosi di PD clinicamente probabile è associata ad alti valori di sensibilità e specificità, rispettivamente 96% e 95%, mentre la diagnosi di PD clinicamente stabilita è ancora più specifica (98%), minimizzando quindi la possibilità di diagnosi false negative, ma per via dei criteri più stringenti presenta una minore sensibilità (60%). In ogni caso, un possibile limite dei criteri diagnostici MDS è la loro applicazione nella diagnosi degli *early stages* di malattia: come è stato rilevato, infatti, la sensibilità e soprattutto la specificità della diagnosi di PD clinicamente probabile in pazienti con durata di malattia minore di 5 anni erano inferiori rispetto ai pazienti con maggiore durata di malattia (rispettivamente 92% e 87%)²⁵.

Nei casi in cui i reperti all'obiettività neurologica non siano di univoca interpretazione, può essere utilizzata la scintigrafia cerebrale (SPECT) con DaT-scan, un tracciante che si lega al trasportatore della dopamina (DaT) presente a livello dei neuroni pre-sinaptici della sinapsi nigro-striatale e indaga quindi lo stato della trasmissione dopaminergica³⁶. Se si dimostra la captazione del tracciante, significa che il neurone è integro e quindi il *signalling* è funzionante, al contrario una ipocaptazione è segno di degenerazione neuronale. La sensibilità della SPECT con DaT-scan nel rilevare della perdita neuronale a livello della via nigro-striatale è elevata (98%)⁴³, tuttavia non si riesce a distinguere la malattia di Parkinson dai parkinsonismi atipici (MSA, PSP, LBD), in cui si rileva comunque ipocaptazione del tracciante.

1.3.4 - Diagnosi differenziali

Come già affermato, non è semplice distinguere la malattia di Parkinson dai parkinsonismi atipici: in entrambi i casi i reperti al DaT-scan sono suggestivi di degenerazione nigro-striatale e spesso le presentazioni cliniche possono essere molto simili, se si pensa che, ad esempio, alcuni dei sintomi non motori della

malattia di Parkinson, come i disturbi disautonomici, si ritrovano anche nella MSA.

Come riportato in precedenza, tuttavia, la scintigrafia cardiaca con ^{123}I -MIBG riesce a differenziare pazienti con malattia di Parkinson e MSA, mostrando ipocaptazione del tracciante nel primo caso e captazione normale o minimamente ridotta nel secondo²⁴. Anche il ricorso alla biopsia di cute è utile nella diagnosi differenziale: nella malattia di Parkinson si rilevano infatti depositi di α -sinucleina a livello delle fibre autonome post-gangliari, mentre nella MSA variante parkinsoniana i depositi si localizzano nelle fibre nervose somatiche²².

Numerosi indici morfometrici ricavati dalle immagini di risonanza magnetica cerebrale sono stati proposti come possibili marker per la diagnostica differenziale tra PSP e malattia di Parkinson. Tra questi il MRPI (*magnetic resonance parkinsonism index*, calcolato moltiplicando il rapporto tra l'area del ponte e l'area del mesencefalo e il rapporto tra la larghezza del peduncolo cerebellare medio e la larghezza del peduncolo cerebellare superiore), sembra essere promettente nel differenziare i pazienti con PSP (che dimostrano valori di MRPI significativamente maggiori) rispetto ai pazienti con malattia di Parkinson⁴⁴.

Ricadono tra le diagnosi differenziali della malattia di Parkinson anche quadri come il tremore essenziale e il tremore distonico; in questi casi, tuttavia, al di là degli aspetti clinici, la scintigrafia con DaT-scan è dirimente, rilevando una normale captazione del tracciante³⁷.

Ci possono essere, inoltre, numerose cause che possono condurre a una presentazione clinica con sintomi parkinsoniani. Si parla, in questo caso, di parkinsonismi secondari. Tra questi rientra, ad esempio, il parkinsonismo vascolare, dovuto a ripetuti insulti ischemici a livello dei gangli della base; esso può essere distinto dalla malattia di Parkinson grazie alla risonanza magnetica, che mostra i segni del danno ischemico nel caso del parkinsonismo secondario³⁶. Sono parkinsonismi secondari anche il parkinsonismo iatrogeno, derivato dall'uso di farmaci come i neurolettici e il metoclopramide, che basano il proprio meccanismo d'azione sul blocco dei recettori dopaminergici, simulando un deficit nella via nigro-striatale quando essa è funzionalmente integra, e il parkinsonismo dovuto all'accumulo di metalli pesanti nei gangli della base, per motivi di esposizione ambientale (il manganese nelle esposizioni lavorative) o per motivi metabolici (il ferro nella malattia di Wilson)²⁵.

1.3.5 - Prognosi

La malattia di Parkinson presenta un decorso progressivo, caratterizzato da un graduale peggioramento delle condizioni cliniche. E' comunque possibile una convivenza relativamente lunga con la malattia, come testimonia una metanalisi secondo la quale la sopravvivenza dei pazienti dopo la diagnosi di PD spazi da 7 ai 14 anni⁴⁵. La causa più frequente di exitus è la polmonite da aspirazione⁴⁶.

La stabilità nel tempo condizioni cliniche, così come un loro decadimento troppo rapido, non sono caratteristiche tipiche di PD e devono porre il sospetto di una diagnosi alternativa; sono infatti incluse tra le *red flags* dei criteri diagnostici MDS⁴¹.

1.3.6 - Terapia

Per il trattamento dei sintomi motori, la terapia cardine della malattia di Parkinson consiste nella somministrazione di levodopa, un precursore della dopamina, che va ad agire sul *signalling* dopaminergico deficitario. Attualmente viene considerata la terapia *gold standard* per la malattia di Parkinson e viene somministrata sotto forma di compresse associata ad inibitori dell'enzima dopa-decarbossilasi periferico quali carbidopa o benserazide³⁶. Tale enzima converte la levodopa in dopamina; se la sua azione non fosse inibita, la levodopa somministrata sarebbe interamente metabolizzata a livello periferico e non potrebbe raggiungere il SNC.

L'utilizzo prolungato di levodopa è tuttavia legato allo sviluppo di complicanze motorie, che si stima interessino fino al 50% dei pazienti dopo 5 anni di malattia⁵. Tali complicanze sono le discinesie, ovvero movimenti involontari di aspetto coreico o distonico legati al picco di concentrazione plasmatica del farmaco, e le fluttuazioni motorie, ovvero l'alternanza di momenti in cui le performance motorie sono nettamente migliori (periodi *on*) e momenti in cui sono peggiori (periodi *off*). Le complicanze motorie si devono in gran parte alla breve emivita plasmatica della levodopa e alla variabilità possibile nell'assorbimento gastrointestinale del farmaco; per tale motivo, nel corso della malattia si tende a rendere le somministrazioni di levodopa sempre più frequenti, simulando la secrezione endogena della dopamina, e a ricorrere ad altri farmaci oltre alla levodopa, come ad esempio gli inibitori dell'enzima COMT (catecol-O-metiltransferasi). I farmaci di questa classe (Entacapone, Tolcapone, Opicapone)

inibiscono l'enzima che degrada la levodopa, aumentandone così l'emivita, e sono indicati specialmente nei pazienti che sviluppano complicanze motorie⁴⁷.

Si possono considerare anche i farmaci dopamino-agonisti (Ropirinolo, Pramipexolo, Rotigotina), che agiscono mimando l'effetto della dopamina a livello dei recettori dopaminergici. Il loro utilizzo è indicato sia nelle fasi precoci di malattia, anche al posto della levodopa, sia nelle fasi più tardive in associazione ad essa per evitare complicanze motorie⁵. Il rationale per il loro impiego in fasi tardive sta nella maggior emivita rispetto alla levodopa e nell'effetto sinergico sui recettori dopaminergici ottenibile con l'uso combinato di dopamino-agonisti e levodopa.

Una ulteriore classe di farmaci sono gli inibitori dell'enzima monoamino-ossidasi B (MAO-B), Selegilina, Rasagilina e Safinamide. La MAO-B rappresenta un altro meccanismo di degradazione della dopamina, quindi questi farmaci agiscono essenzialmente aumentando l'emivita del neurotrasmettitore. Anch'essi trovano impiego sia in monoterapia, sia in associazione alla levodopa nelle fasi tardive di malattia, per potenziarne gli effetti⁴⁸.

Nella maggior parte dei casi le complicanze motorie associate all'uso di levodopa tendono a diventare sempre più severe; perciò, nelle fasi avanzate di malattia in cui si sono esaurite le combinazioni terapeutiche a disposizione, si valutano terapie di secondo livello. Queste sono l'infusione continua di levodopa, previo posizionamento di PEG, direttamente a livello intestinale, che garantisce livelli stabili di principio attivo nel sangue, e la *deep brain stimulation* (DBS), consistente nell'impianto di elettrocateretri a livello dei gangli della base, precisamente nel nucleo subtalamico o nel globo pallido interno⁵. Il funzionamento della DBS si basa sulla stimolazione elettrica dei gangli della base, regolandone il *signalling* e alleviando notevolmente i sintomi motori del parkinsonismo⁴⁹.

Per il trattamento dei sintomi non motori, bisogna considerare che spesso essi non rispondono alle terapie dopaminergiche⁵; è necessario quindi utilizzare farmaci che agiscano sulle specifiche condizioni.

Per quanto riguarda i disturbi disautonomici, l'ipotensione ortostatica può essere trattata agendo sull'espansione della volemia con il fludrocortisone, che aumenta la ritenzione idrosalina, o sul tono arteriolare, con l'agonista α 1-adrenergico

midodrina. Farmaci ad azione antimuscarinica come l'ossibutinina o la tolterodina sono indicati per l'incontinenza urinaria, dato che aumentano il rilassamento del muscolo detrusore della vescica, mentre la stipsi può essere trattata con lassativi osmotici quali macrogol e lubiprostone, un farmaco che, agendo sui canali del cloro, intensifica la secrezione intestinale e facilita il transito⁵⁰.

Per gestire i possibili disturbi comportamentali sono indicati antipsicotici come la quetiapina e la clozapina, in quanto rispetto ad altri farmaci della stessa classe hanno un minor effetto antagonista sui recettori dopaminergici ed evitano quindi di peggiorare i sintomi motori⁵¹.

Infine, per trattare i disturbi cognitivi nelle fasi avanzate di malattia può essere considerato l'uso di inibitori dell'enzima colinesterasi come donepezil e rivastigmina, motivato dal fatto che, alla base dei deficit cognitivi nella malattia di Parkinson, si ritiene esserci una diminuzione del *signalling* colinergico⁵¹.

1.4 - La neuroinfiammazione nelle patologie neurologiche e nelle α -sinucleinopatie

Il concetto di neuroinfiammazione è stato ampiamente dibattuto e studiato nell'ambito delle patologie neurologiche, in particolare nelle malattie infiammatorie del sistema nervoso centrale, tra le quali la più frequente è la sclerosi multipla.

La sclerosi multipla è una malattia infiammatoria cronica demielinizzante del sistema nervoso centrale, caratterizzata da lesioni a carico specialmente della sostanza bianca, ma riscontrate anche della sostanza grigia. Tali lesioni, ben visibili in risonanza magnetica, sarebbero causate dall'azione di linfociti T autoreattivi che, dopo essersi sensibilizzati in periferia verso antigeni self come la MBP (*myelin basic protein*, proteina basica della mielina), attraversano la barriera emato-encefalica e danno inizio ad una cascata infiammatoria che, tramite il rilascio di citochine e il reclutamento di ulteriori cellule immunitarie porta, infine, al danno a carico della mielina⁵². Una delle conseguenze della cascata infiammatoria è l'attivazione permanente della microglia, una popolazione cellulare che origina dalla linea monocitica-macrofagica e che normalmente svolge un ruolo di sorveglianza immunitaria all'interno del SNC.

La presenza di microglia attivata si riscontra soprattutto nelle lesioni della sostanza grigia, delle quali l'attivazione della microglia sembra uno dei fattori patogenetici principali⁵³⁻⁵⁵. Un recente lavoro ha descritto nella sclerosi multipla cluster di microglia attivata presenti anche a livello retinico, denominati spot iperreflettenti (HRF, *hyperreflecting foci*) e visibili alla OCT in alcuni strati della retina (INL e GCIP, cioè l'unione di IPL e GCL)⁵⁶. Gli HRF sarebbero presenti in numero statisticamente maggiore rispetto ai controlli sani nell'INL dei soggetti con sclerosi multipla *relapsing-remittent*, e il loro numero sarebbe correlato sia al volume dell'INL sia al volume delle lesioni della sostanza grigia, rendendo quindi il riscontro degli HRF alla OCT un promettente *biomarker* per analizzare l'andamento della malattia.

Oltre all'attivazione della microglia nelle lesioni della sostanza grigia, un'altra importante caratteristica istopatologica della sclerosi multipla è la presenza, nelle aree di lesione, di zone di astrogliosi reattiva⁵⁵. Gli astrociti, cellule facenti parte della cosiddetta macroglia, sono implicati in funzioni come il supporto neuronale, il riciclo dei neurotrasmettitori e la regolazione dell'apporto vascolare. L'astrogliosi (o, semplicemente, gliosi) è l'insieme delle modifiche a carico degli astrociti che si verificano in risposta a qualsiasi tipo di insulto a livello del SNC, sia esso di natura ischemica, infettiva, neurodegenerativa o infiammatoria; in risposta ad esso, gli astrociti possono proliferare e dare inizio ad un processo riparativo con formazione di un tessuto simil-cicatriziale.

Nell'ambito delle patologie neurodegenerative, nei pazienti con MSA è stata osservata la presenza di caratteristiche come perdita neuronale selettiva e degenerazione assonale, zone di demielinizzazione, astrogliosi reattiva e presenza di microglia attivata¹³. Anche nella MSA si ritrovano, quindi, segni istopatologici di coinvolgimento del sistema immunitario, in parte sovrapponibili ai reperti presenti nella sclerosi multipla.

L'astrogliosi nella MSA è, come nella sclerosi multipla, secondaria alla morte neuronale, che nella MSA avviene in parte per la perdita del supporto neurotrofico gliale e in parte per la disfunzione neuronale dovuta alla presenza di depositi di α -sinucleina anche nei neuroni. È stato dimostrato da analisi immunoistochimiche che l'astrogliosi nella MSA si localizza, in modo abbastanza selettivo, in zone in cui la presenza di α -sinucleina è più importante, rispecchiando quindi il grado di neurodegenerazione e fungendone quasi da marker¹³. La neurodegenerazione e la

conseguente astrogliosi si localizzano soprattutto nelle vie nigrostriatale e olivo-ponto-cerebellare, ma anche in altre zone del SNC, quali ad esempio i centri autonomici. Questa correlazione diretta tra la presenza di depositi di α -sinucleina e l'astrogliosi nella MSA sembra invece non esserci nella malattia di Parkinson, in cui le zone che mostrano più depositi proteici presentano, invece, un grado di astrogliosi sostanzialmente normale⁵⁷.

In aggiunta, anche nella MSA sono state osservate aree di demielinizzazione, che sono il tratto patologico principale delle lesioni della sclerosi multipla. La patogenesi di queste lesioni nella MSA non è stata ancora del tutto chiarita, ma si è visto che la loro presenza è collegata anch'essa, così come l'astrogliosi, al grado di severità dei depositi oligodendrogliali di α -sinucleina¹³. Non a caso le regioni caratterizzate da demielinizzazione sono le stesse in cui si ritrovano maggiori livelli di depositi proteici e quindi di neurodegenerazione e astrogliosi, ovvero le vie nigrostriatale e olivo-ponto-cerebellare, ma anche la capsula esterna e la sostanza bianca cerebellare.

Infine, sono state ritrovate anche nella MSA prove dell'attivazione della microglia in risposta alla degenerazione neuronale. La componente microgliale si localizza anch'essa, come tutti gli altri reperti menzionati, nelle zone colpite dai GCIs (*glial cytoplasmic inclusions*) e si riscontra maggiormente nelle aree di sostanza bianca caratterizzate da demielinizzazione lieve o moderata¹³. La microglia attivata avrebbe inoltre essa stessa un ruolo attivo nella neurodegenerazione, tramite la produzione di specie reattive dell'ossigeno (prodotte dalla sintetasi inducibile dell'ossido nitrico, iNOS)⁵⁸. Uno stato di attivazione perenne della microglia, indotto dai depositi di α -sinucleina, avrebbe un ruolo causale nella genesi della morte neuronale e propagherebbe il processo di neurodegenerazione. Questa ipotesi è stata investigata da due studi su modelli animali: nel primo, il rapporto causale tra microglia attivata e morte neuronale veniva provato dal fatto che, nei casi in cui veniva somministrata minociclina, che riesce a reprimere l'azione della microglia grazie al suo effetto anti-neuroinfiammatorio e anti-apoptotico, il grado di degenerazione dei neuroni dopaminergici era ridotto rispetto ai controlli⁵⁹. Nel secondo studio si dimostrava che, tramite l'inibizione della mieloperossidasi (MPO), un enzima coinvolto nella produzione di specie reattive dell'ossigeno, veniva ridotto il grado di attivazione della microglia e diminuiva con essa anche la perdita neuronale⁶⁰.

Entrambi gli studi, tuttavia, non hanno dimostrato per i due trattamenti proposti (minociclina e inibitori della MPO) effetti tali da renderli candidabili a diventare terapie *disease-modifying*: in particolare, nel primo studio la minociclina non si è rivelata abbastanza neuroprotettiva nel lungo termine, e nel secondo studio il trattamento con inibitori della MPO diminuiva l'attivazione della microglia ma non il livello di astrogliosi, che restava invariato. Ciononostante, i due lavori evidenziano come nella MSA la neuroinfiammazione abbia non solo un ruolo patogenetico molto importante, ma rappresenti anche un potenziale target terapeutico non sintomatico, bensì *disease-modifying*.

1.5 - Nuovi metodi diagnostici nelle patologie neurodegenerative

Negli ultimi anni la necessità della diagnosi precoce delle malattie neurodegenerative ha assunto sempre più importanza. In particolare, la ricerca si sta focalizzando su marker diagnostici precoci, che permettano di riconoscere la malattia più precocemente di quanto non accada applicando i criteri diagnostici clinici, che permettono di fare diagnosi sulla base della presenza di segni e sintomi, ovvero quando la malattia è ormai conclamata. L'interesse verso la diagnosi degli stadi precoci è motivato dal fatto che i pazienti *early stage* sono i più richiesti dai trials clinici volti a trovare terapie potenzialmente curative (*disease-modifying*).

Tra le tecniche diagnostiche emergenti nell'ambito delle malattie neurodegenerative, si annoverano la tomografia a coerenza ottica (OCT) e la biopsia di cute.

a) Biopsia di cute

Per quanto riguarda la biopsia di cute, il suo impiego è giustificato dal fatto che sono stati dimostrati, nell'ambito di α -sinucleinopatie come PD, MSA, PAF e LBD, depositi di α -sinucleina fosforilata nei nervi cutanei⁶¹.

Per individuare la presenza di aggregati proteici anomali, e quindi fare diagnosi di α -sinucleinopatia, il materiale biopsiato può essere analizzato tramite due metodi: il primo metodo è l'immunofluorescenza, che rileva, previa incubazione del campione con anticorpi specifici anti α -sinucleina fosforilata sulla serina 129, non solo la presenza di aggregati, ma anche la loro morfologia (si possono infatti distinguere aggregati fibrillari e non, aggregati che

mantengono epitopi presenti nella α -sinucleina nativa e aggregati che non li mantengono) e la loro localizzazione. Il riscontro di una diversa localizzazione degli aggregati permetterebbe di facilitare la diagnosi differenziale tra le varie α -sinucleinopatie: si è visto, infatti, che nella MSA-P gli aggregati proteici sono presenti nelle fibre nervose somatiche, mentre nella malattia di Parkinson la sede di depositi sono le fibre autonome post-gangliari²².

Il secondo metodo di analisi è la RT-QuIC (*real-time quaking-induced conversion*), una tecnica di amplificazione in vitro che determina l'attività di *seeding* delle proteine *misfolded*, ovvero la loro capacità di indurre il *misfolding* e l'aggregazione di proteine in forma nativa, una caratteristica simile al comportamento biologico dei prioni.

Entrambi i metodi, l'immunofluorescenza e la RT-QuIC, hanno dimostrato elevata sensibilità e specificità nel distinguere le α -sinucleinopatie dai controlli sani, anche se è stata rilevata per l'immunofluorescenza una maggiore accuratezza diagnostica⁶¹. L'accuratezza di tali analisi ha reso inoltre la cute una matrice sempre più preferibile rispetto al liquor (su cui veniva in passato eseguita la RT-QuIC), anche perché il prelievo di cute è un metodo meno invasivo e meno legato a complicanze.

Il riscontro di aggregati anomali di α -sinucleina nella cute risulta quindi un promettente elemento per avvalorare la diagnosi di α -sinucleinopatia e ne rappresenta inoltre un possibile *biomarker* precoce, in quanto gli aggregati si ritrovano sin dalle fasi prodromiche quando i sintomi tipici possono ancora mancare²⁵.

b) Tomografia a coerenza ottica (OCT)

La tomografia a coerenza ottica è un esame di diagnostica per immagini che permette di studiare in vivo le strutture oculari in modo molto preciso e non invasivo: senza somministrare agenti midriatici, si segue con lo sguardo una fonte luminosa all'interno di un macchinario. Lo strumento restituisce delle immagini *cross-sectional* ad elevata risoluzione delle strutture di interesse: la porzione maggiormente studiata in OCT è il segmento oculare posteriore (che comprende la coroide, la retina e il nervo ottico), ma anche il segmento anteriore dell'occhio (con la cornea e la camera anteriore) si presta ad essere studiato tramite questo esame.

Durante lo sviluppo embrionale, la retina e il nervo ottico originano dal diencefalo. È ragionevole considerare tali strutture come parte del SNC, alla luce dell'origine embriologica e della composizione istologica: retina e nervo ottico sono composti da neuroni il cui comportamento ricalca quello dei neuroni del SNC, tanto che il nervo ottico può essere preso a modello per studiare il comportamento dei neuroni cerebrali in seguito a insulti lesivi⁶². Un vantaggio dello studio della retina nelle patologie neurodegenerative è inoltre dato dalla relativa accessibilità di questa struttura rispetto all'encefalo.

La retina è la tonaca più interna del bulbo oculare⁶³. Il suo spessore si assottiglia progressivamente, essendo la zona più posteriore spessa 0,4 mm e quella anteriore 0,1 mm. La sua struttura è suddivisa, come già menzionato, in vari strati sovrapposti: il RNFL è composto dagli assoni dei neuroni dello strato sottostante, le cellule gangliari (GCL); tali assoni convergono poi a livello del disco ottico originando il nervo ottico. Lo strato plessiforme interno (IPL) contiene le terminazioni nervose delle cellule bipolari e delle cellule amacrine, con le quali i dendriti delle cellule gangliari contraggono sinapsi. Le cellule bipolari hanno la funzione di trasmettere il segnale dai fotorecettori alle cellule gangliari retiniche, mentre le cellule amacrine, caratteristicamente provviste di dendriti ma non di assoni, hanno il ruolo di modulare la rete di comunicazione sinaptica. Nello strato nucleare interno (INL) vi sono i nuclei, appunto, delle cellule bipolari, amacrine, orizzontali (sono interneuroni inibitori) e di Müller; queste ultime sono cellule gliali che si distribuiscono lungo tutto lo spessore della retina e hanno il compito di mantenere l'omeostasi retinica in termini, ad esempio, di bilancio idrico, assorbimento di neurotrasmettitori e trasporto ionico. Nello strato plessiforme esterno (OPL) hanno luogo le sinapsi tra le terminazioni dei fotorecettori, le cellule bipolari e le cellule orizzontali, che formano le cosiddette *triadi*. I nuclei di coni e bastoncelli si trovano nello strato nucleare esterno (ONL), mentre i loro segmenti esterni, dalla cui forma queste cellule prendono il nome, si localizzano nello strato dei fotorecettori. Lo strato dell'epitelio pigmentato ospita cellule epiteliali provviste di microvilli che sostengono i fotorecettori nei processi di nutrimento e ricambio cellulare, mentre la coroide è uno strato di natura vascolare, che provvede all'irrorazione degli strati più esterni della retina e riceve sangue dalle arterie ciliari posteriori.

Si noti che gli strati più interni della retina vengono invece vascolarizzati dall'arteria centrale della retina.

1.5.1 - Uso della OCT nelle patologie neurodegenerative

Gli strati retinici sono ben identificabili alla OCT, che permette di calcolarne gli spessori e i volumi. Gli spessori dei vari strati retinici misurati con la OCT sono proporzionali alla densità dei neuroni che compongono ogni strato; più uno strato è assottigliato rispetto ai valori di un database normativo, che raccoglie gli spessori calcolati in un ampio numero di pazienti sani, più avanzato sarà il grado di degenerazione dei neuroni al suo interno⁶⁴.

Il razionale alla base dell'uso della OCT nella diagnosi e nel monitoraggio delle malattie neurodegenerative è la correlazione tra gli spessori dei vari strati retinici e la densità dei neuroni al loro interno.

In quest'ottica, la OCT trova spazio anche nello studio dei parkinsonismi, in quanto malattie neurodegenerative. Numerosi lavori hanno confrontato i risultati della OCT in pazienti affetti da parkinsonismi tipici e non, in modo da caratterizzarne le differenze e agevolare la diagnosi differenziale tra queste forme. Generalmente, la OCT individua nei parkinsonismi un diffuso assottigliamento dello strato delle fibre nervose (RNFL)⁶⁵⁻⁶⁷, in accordo con i risultati ottenuti in altre malattie neurodegenerative, anche non sinucleinopatie, come la sclerosi multipla.

È stato rilevato che nell'atrofia multisistemica lo spessore del RNFL risulta significativamente ridotto rispetto ai controlli sani e ai casi di malattia di Parkinson^{66,68}. Anche nella paralisi sopranucleare progressiva (PSP, un altro parkinsonismo atipico) si riscontra una riduzione significativa del RNFL rispetto ai controlli e ai casi di Parkinson^{65,67,69}. Il maggiore assottigliamento del RNFL, e quindi la maggiore degenerazione retinica che differenzia MSA e PSP dalla malattia di Parkinson, rispecchierebbe la più pronunciata atrofia cerebrale presente in questi due parkinsonismi atipici rispetto al Parkinson classico; questo dato emerge da studi di risonanza magnetica che mettevano a confronto i vari parkinsonismi⁶⁵.

Inoltre, si sono riscontrate anche ulteriori particolarità tipiche della MSA, ovvero un significativo assottigliamento, rispetto ai controlli sani, dello spessore globale

della macula (CMT, *central macular thickness*, calcolato intorno alla fovea) soprattutto nella zona esterna o *outer ring*⁶⁶ (Fig. 1).

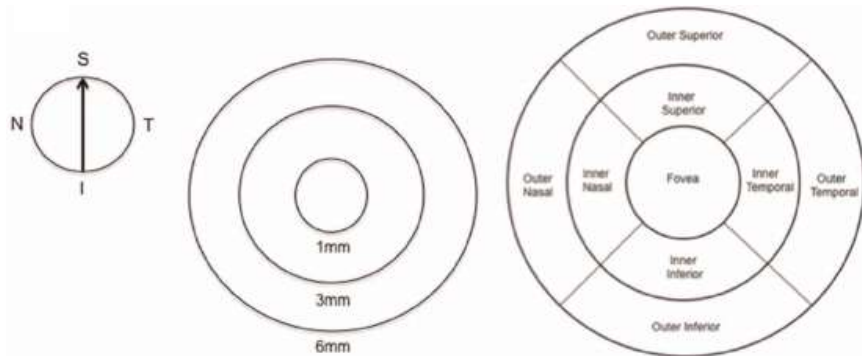


Fig. 1 – nel mezzo, schema della divisione in settori (rings) della zona maculare della retina, e a destra schema della divisione ulteriore dei rings in quadranti (adattata da Adhi M et al., *Macular Thickness by Age and Gender in Healthy Eyes Using Spectral Domain Optical Coherence Tomography*⁷⁰)

Sempre nella MSA è stato rilevato, rispetto alla malattia di Parkinson, un significativo assottigliamento del RNFL peripapillare (pRNFL, misurato attorno al disco ottico) nei quadranti superiore, nasale e inferiore (Fig. 2) ma non nel quadrante temporale, il cui coinvolgimento resta invece più indicativo di malattia di Parkinson⁶⁶.

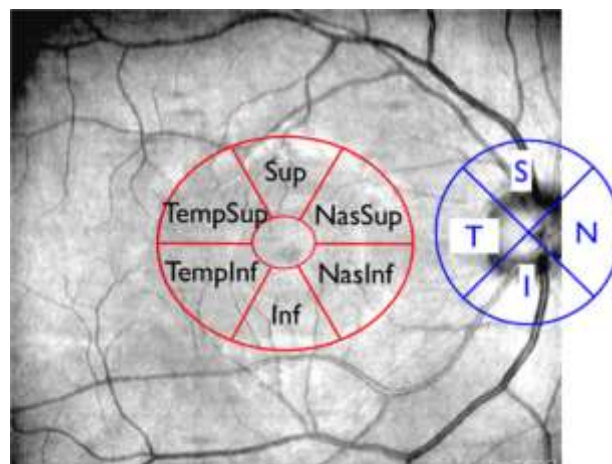


Fig. 2 - schema della divisione in quadranti della regione maculare (a sinistra, in rosso) e della zona peripapillare (a destra, in blu) della retina (da Carbonelli M. et al., *Macular Microcysts in Mitochondrial Optic Neuropathies: Prevalence and Retinal Layer Thickness Measurement*)⁷¹

Tale differenza nel coinvolgimento di quadranti e settori viene motivata da un'ipotesi riportata in una recente *review*, che sostiene che nella MSA e nel Parkinson sarebbero colpite cellule retiniche diverse, rispettivamente le cellule gangliari M e le cellule gangliari P⁶⁶.

Nella MSA verrebbero danneggiate di più le cellule gangliari M, che si localizzano soprattutto alla periferia della retina (nell'*outer ring* infatti, come già detto, si registra un grado di degenerazione maggiore rispetto all'*inner ring*) e i cui assoni entrano nel nervo ottico a livello della papilla nei settori superiori, inferiori e nasali. Le cellule M hanno assoni voluminosi che, dopo essere usciti dal bulbo oculare, vengono ricoperti da oligodendrociti in misura maggiore rispetto agli assoni delle cellule P, che sono invece più piccoli. Nella MSA gli aggregati di α -sinucleina a livello degli oligodendrociti causano la disfunzione di questi ultimi e quindi un mancato supporto gliale, che porta alla degenerazione dei neuroni che più richiedono questo supporto, cioè proprio le cellule M. Le cellule M partecipano alla via visiva magnocellulare, responsabile dell'analisi degli oggetti in movimento ma non della visione fine e dettagliata.

Dal punto di vista clinico, il coinvolgimento delle cellule M è provato dal fatto che nella MSA non si registrano deficit nell'acuità visiva o nella distinzione cromatica, supportando l'ipotesi di una degenerazione retinica periferica piuttosto che centrale, ipotesi che è stata confermata da analisi istologiche⁶⁶. Inoltre, un altro fattore rilevato da questi recenti studi è stato il fatto che nella MSA lo spessore del pRNFL era correlato in modo indirettamente proporzionale con la severità della malattia.

Nella malattia di Parkinson sarebbero invece più coinvolte le cellule gangliari P, localizzate nella zona centrale della retina e responsabili della visione dettagliata e fine. I loro assoni formano le porzioni temporali del nervo ottico ed è proprio la porzione temporale del RNFL peripapillare ad essere maggiormente assottigliata, come già detto, nella malattia di Parkinson⁷². Questo dato viene rispecchiato dai riscontri clinici: i pazienti con Parkinson sviluppano infatti, diversamente dal caso della MSA, sintomi visivi quali deficit dell'acuità visiva, minore capacità di distinguere il colore e diminuita sensibilità al contrasto⁷³.

Appare chiaro, quindi, che nella malattia di Parkinson la riduzione di spessore del RNFL riguarda soprattutto i settori temporali della retina in modo caratteristico rispetto ad altri parkinsonismi^{66,69,74}; tuttavia è stato riscontrato da altri studi anche

un assottigliamento di strati retinici più interni, come il GCL, l'IPL e l'INL rispetto ai controlli sani^{74,75}, e ciò può essere motivato dal fatto che in questi strati si localizzano cellule dopaminergiche, in cui sono state ritrovate inclusioni di α -sinucleina^{65,67,76}. Per quanto riguarda la correlazione tra lo spessore degli strati retinici e la severità della malattia di Parkinson, i risultati riscontrati non sono univoci: alcuni studi hanno notato un rapporto inverso tra spessore del pRNFL e severità di malattia misurata con la scala validata UPDRS⁶⁹, altri invece non hanno rilevato questa interdipendenza⁷⁴.

I risultati della OCT nella sclerosi multipla mostrano, anche in questo caso, una riduzione significativa dello spessore sia del RNFL sia dello strato delle cellule gangliari (GCL) e si è visto che tale riduzione è correlata con i caratteri clinici, la durata di malattia e i reperti in risonanza magnetica⁷⁷. Tale correlazione ha reso la OCT una delle indagini più eseguite nel monitoraggio clinico della sclerosi multipla.

Diversamente dall'atrofia multisistemica, in cui si riscontra un assottigliamento del RNFL ma non vi sono disturbi visivi, nella sclerosi multipla questi ultimi sono presenti molto spesso: l'infiammazione del nervo ottico o neurite ottica, che si manifesta con la perdita più o meno temporanea della funzione visiva (scotoma), può comparire nel corso della malattia nel 70% dei pazienti ed è inoltre il sintomo di presentazione della malattia nel 25% dei casi⁷⁸. Si ritiene che la diminuzione dello spessore del RNFL nella sclerosi multipla sia una conseguenza della neurite ottica: essa causa una degenerazione assonale diretta del nervo ottico che si ripercuote sullo spessore del RNFL, diminuendolo. È possibile, tuttavia, avere nella sclerosi multipla un assottigliamento del RNFL anche in assenza di neurite ottica, grazie ad un meccanismo detto di degenerazione trans-sinaptica retrograda⁶²: lesioni presenti nelle zone posteriori della via ottica (ad esempio nelle radiazioni ottiche) si trasmettono al nervo ottico causandone la perdita assonale e l'associato assottigliamento del RNFL.

La possibilità di meccanismi di degenerazione trans-sinaptica retrograda delle cellule gangliari è stata confermata da studi su casi di ictus della corteccia visiva o delle vie ottiche posteriori.

2. Scopo dello studio

Lo scopo di questo studio è di definire il possibile ruolo della tomografia a coerenza ottica (OCT) nell'atrofia multisistemica. In particolare, l'obiettivo è quello di identificare i parametri della OCT che possano essere utilizzati come *biomarkers* e misure di *outcome* nei pazienti con MSA, sia in termini di diagnosi che di follow-up a lungo termine. La OCT viene proposta inoltre come strumento di supporto per la diagnosi differenziale nell'ambito delle α -sinucleinopatie, tramite l'identificazione di eventuali pattern specifici di ciascuna patologia.

Tra gli obiettivi secondari, verrà inoltre valutata la presenza di possibili correlazioni tra i parametri OCT e i dati clinici e di imaging disponibili nei pazienti con MSA e i dati clinici disponibili nei pazienti con malattia di Parkinson.

Inoltre, verranno comparati i dati OCT dei pazienti MSA con quelli raccolti in pazienti con malattia di Parkinson e con sclerosi multipla. Si è scelto di confrontare la MSA con la malattia di Parkinson per indagare all'OCT le differenze tra le due entità, permettendo così di agevolare la diagnosi differenziale, ma anche le similarità, con l'obiettivo di delineare eventuali pattern OCT specifici delle α -sinucleinopatie.

Il confronto tra MSA e SM è motivato invece dalla volontà di individuare eventuali analogie in OCT tra le due patologie, che possano essere segno della patogenesi neuroinfiammatoria condivisa dalle due entità.

3. Materiali e metodi

3.1 - Popolazione

Per questo studio sono stati considerati pazienti affetti da atrofia multisistemica (MSA) e malattia di Parkinson (PD) valutati presso la Clinica Neurologica dell'Università di Padova nel periodo 2019-2022.

La diagnosi di MSA è stata eseguita seguendo i criteri redatti nel 2008 dal *Second consensus statement on the diagnosis of multiple system atrophy*¹⁴. Essi, come descritto in precedenza, sono essenzialmente basati sull'osservazione degli aspetti clinici (riscontro di parkinsonismo e/o interessamento cerebellare, unitamente alla presenza di disturbi disautonomici) e possono essere supportati da esami di imaging o di medicina nucleare. Tali criteri sono ampiamente utilizzati, ma data la scarsa sensibilità per la diagnosi negli *early stages*, sono stati sottoposti a revisione nel 2022 dalla *Movement Disorders Society*, che ha redatto dei nuovi criteri diagnostici¹⁹ di cui si attende la validazione.

La diagnosi di PD è stata eseguita secondo i criteri pubblicati nel 2015 dalla *Movement Disorder Society*⁴¹, che si avvalgono anch'essi principalmente dell'osservazione clinica (riscontro di un parkinsonismo definito da bradicinesia più almeno un altro segno tra rigidità muscolare e tremore a riposo, associato a criteri di supporto, criteri di esclusione e *red flags*). La diagnosi clinica è stata poi rafforzata dall'esecuzione di DaT-scan.

Come popolazione di controllo, sono stati considerati pazienti affetti da sclerosi multipla (SM) valutati presso la Clinica Neurologica dell'Università di Padova nel periodo 2014-2022, e soggetti sani (HC, *healthy controls*) di età e sesso simili a quelli dei pazienti.

La diagnosi di SM è stata eseguita seguendo i criteri di McDonald aggiornati al 2017⁷⁹. Si tratta di criteri clinici e strumentali che hanno lo scopo di dimostrare la disseminazione spaziale (DIS) delle lesioni demielinizzanti, concetto che implica il coinvolgimento di più aree del SNC contemporaneamente, e la disseminazione temporale (DIT), ossia la cronicizzazione della patologia testimoniata da almeno due ricadute cliniche o dallo sviluppo di una nuova lesione in sequenze T2 alla

risonanza magnetica; secondo i nuovi criteri del 2017, inoltre, la disseminazione temporale può essere dimostrata anche con la presenza di IgG oligoclonali nel liquor, che sono indice di cronicizzazione del processo infiammatorio.

3.2 - Valutazione Clinica

L'esame obiettivo neurologico generale, eseguito in tutti pazienti, è stato integrato da apposite scale graduate validate, mirate a valutare in dettaglio le funzioni motorie e quelle relative al possibile coinvolgimento del sistema autonomico.

a) Scala UMSARS per l'atrofia multisistemica

La scala validata UMSARS (*Unified Multiple System Atrophy Rating Scale*)⁸⁰ è uno strumento di valutazione multimodale formulato nel 2004 per monitorare l'andamento clinico della MSA. Essa comprende quattro sezioni diverse, ciascuna con vari items, a cui viene assegnato un punteggio tanto maggiore quanto maggiore è il grado di compromissione.

La prima sezione (UMSARS-I) è di carattere anamnestico e contiene 12 items corrispondenti ad azioni semplici (quali, ad esempio, parlare, mangiare, camminare) e ad *activities of daily life*, (come vestirsi o scrivere), ma indaga anche alcune funzioni autonome (funzione digestiva, urinaria, sessuale e la presenza di sintomi in ortostatismo).

La seconda sezione (UMSARS-II) è focalizzata sull'analisi della capacità motoria e comprende 14 items corrispondenti a prove obiettivabili dall'esaminatore per sondare disturbi sia extrapiramidali (rigidità, tremore a riposo...), sia cerebellari (tremore intenzionale, prove di diadococinesia...), ma valuta anche eventuali deficit nell'esecuzione di altri tipi di movimenti complessi (come alzarsi da una sedia). La necessità di accorpate in un'unica sezione i diversi tipi di presentazioni motorie della MSA nasce da un motivo preciso; la valutazione della MSA per mezzo di scale valutative già esistenti, come la UPDRS o la ICARS (*International Cooperative Ataxia Rating Scale*) non è risultata affidabile, in quanto la presenza di segni cerebellari può compromettere la valutazione del parkinsonismo secondo la scala UPDRS, e viceversa⁸⁰. Come già detto, non è infrequente nella MSA che la presentazione motoria prevalente al momento della diagnosi cambi nel tempo, o che ci sia una compresenza di sintomi cerebellari e parkinsoniani insieme. Alla luce di

questa criticità sono dunque state unite in un'unica sezione tutte le possibili presentazioni motorie.

Per ognuno degli items contenuti nelle prime due sezioni, è stato formulato un punteggio da 0 (nessuna limitazione) a 4 punti (limitazione severa). Il punteggio massimo raggiungibile nella sezione UMSARS-I è 48 punti e nella UMSARS-II 56 punti.

La terza sezione (UMSARS-III) è incentrata sulle funzioni autonome cardiovascolari e include la misurazione della pressione sistolica e diastolica e della frequenza cardiaca e la presenza di sintomi quali giramenti di testa, vista offuscata, debolezza in ortostatismo.

La quarta sezione (UMSARS-IV) valuta infine il grado complessivo di disabilità del paziente, attribuendo da 1 a 5 punti in base alla gravità della condizione.

La scala validata UMSARS è il primo strumento di valutazione realizzato per l'atrofia multisistemica. E' uno strumento che si è dimostrato affidabile, come emerge dallo studio di validazione effettuato su 40 pazienti⁸⁰, e dimostra inoltre di correlare con altre scale valutative, quali la scala UPDRS (specifica per il parkinsonismo) e la scala ICARS (specifica per l'atassia cerebellare) che venivano utilizzate in precedenza per la valutazione della MSA.

In fase di costruzione, si è voluto intenzionalmente assegnare alla scala UMSARS delle componenti proprie sia di sintomi parkinsoniani, sia di atassia, sia di deficit motori di altro tipo, in modo tale da poter misurare direttamente la disabilità funzionale, indipendentemente dai sintomi motori sottostanti. Per tale motivo la UMSARS appare, rispetto alle altre scale, più adatta per rispecchiare la complessità del deficit motorio presente nella MSA.

b) Scala MDS-UPDRS per la malattia di Parkinson

Per quanto riguarda invece i pazienti con malattia di Parkinson, è stata utilizzata la scala MDS-UPDRS⁸¹ (*Movement Disorder Society - Unified Parkinson's Disease Rating Scale*) per la valutazione della condizione clinica. Essa misura il grado di disabilità globale associato alla malattia di Parkinson secondo un'ottica multimodale, analizzando diversi ambiti della vita quotidiana e diverse tasks motorie ed è uno strumento affidabile per valutare l'andamento della malattia.

Tale strumento nasce da una revisione della nota scala UPDRS, sviluppata nel 1987. La scala MDS-UPDRS ha mantenuto la struttura della UPDRS, ma ha modificato il raggruppamento di alcuni items, ne ha aggiunti di nuovi e ha rinnovato il sistema di punteggio associato ad ogni item, eliminando le risposte dicotomiche di tipo sì/no e applicando invece un sistema numerico da 0 a 4 punti in base al grado di disabilità.

La scala MDS-UPDRS si compone di quattro sezioni. La prima, denominata *Nonmotor Experiences of Daily Living*, contiene 13 items in forma di questionario da sottoporre al caregiver o al paziente stesso e indaga, tra le altre cose, lo stato cognitivo e dell'umore, la presenza di sonnolenza e affaticabilità, ma anche disfunzioni autonome quali costipazione e problemi urinari.

La seconda sezione è chiamata *Motor Experiences of Daily Living* e valuta, tramite 13 items in forma di questionario, la capacità di eseguire azioni comuni quali parlare, mangiare, vestirsi, lavarsi, camminare (inclusa la presenza di freezing della marcia). La terza parte, *Motor Examination*, si compone di 18 tasks motorie che il paziente dovrà eseguire e l'esaminatore dovrà valutare. Esse includono, ad esempio, la prova del *finger tapping*, alzarsi da una sedia, la valutazione della stabilità posturale, la presenza e il tipo di tremore. L'ultima sezione è infine denominata *Motor Complications* e stabilisce la presenza di discinesie e fluttuazioni motore.

Ogni item prevede un punteggio da 0 a 4 in base alla severità del deficit o del sintomo associato.

La scala MDS-UPDRS è risultata essere più completa rispetto alla UPDRS, in quanto presenta un numero maggiore di items legati a sintomi non motori; tra questi, l'item relativo all'affaticabilità, ad esempio, è stato aggiunto perché, per ammissione dei pazienti, tale sintomo aveva risvolti molto importanti nella vita quotidiana ma non era presente nella scala UPDRS⁸². Inoltre, un'altra differenza con la scala precedente sta nel fatto che la MDS-UPDRS è più sensibile nel distinguere i gradi lievi di disabilità; questo la rende un importante presupposto per il reclutamento di pazienti da inserire nei trials clinici, che si focalizzano ormai sempre di più sugli stadi più precoci di malattia (*early disease*).

c) Scala COMPASS31

La scala validata COMPASS31 (*Composite Autonomic Symptom Score*)⁵⁶ è invece volta esclusivamente alla valutazione delle funzioni del sistema nervoso autonomo. È uno strumento in forma di questionario comprendente 31 domande afferenti a sei domini diversi: intolleranza ortostatica (4 domande), funzione vascolare (3 domande), funzione secretiva esocrina (4 domande), funzione gastrointestinale (12 domande), funzione vescicale (3 domande), funzione pupillare (5 domande).

Per ciascun dominio, le domande valutano la presenza di sintomi, la loro frequenza, la loro gravità e la loro evoluzione nel tempo. Per il calcolo del punteggio totale, è necessario sommare i punti raccolti in ciascun dominio e moltiplicare poi le somme ottenute per un fattore moltiplicativo diverso per ciascun dominio. Ad ogni dominio è stato assegnato un fattore moltiplicativo specifico tenendo conto del fatto che non tutti i domini hanno la stessa importanza per la valutazione delle funzioni autonome: ad esempio, la presenza di intolleranza ortostatica ha maggior importanza rispetto ai riflessi pupillari.

La scala è stata costruita in modo tale che il punteggio minimo raggiungibile sia 0 e il massimo sia 100. COMPASS31 si è dimostrata una scala affidabile e di più facile utilizzo rispetto agli score precedenti, COMPASS e ASP, di cui il COMPASS31 è una rivisitazione semplificata⁸³.

3.3 - Valutazione in imaging

Il sottogruppo di pazienti MSA è stato valutato tramite PET-RM, completata dal calcolo degli indici di neurodegenerazione: GCA score (atrofia corticale globale), Koedam score (atrofia parietale), MTA score (atrofia temporo-mesiale), Fazekas score (sofferenza vascolare cronica) e dalla ricerca di alterazioni di ponte, mesencefalo o peduncoli cerebellari. Tali indagini di imaging, in particolare la valutazione in RM, non sono solo volte a supportare la diagnosi, ma anche a definire possibili quadri di comorbidità (ad esempio su base vascolare).

3.4 - Tomografia a coerenza ottica

Come già anticipato, la tomografia a coerenza ottica è un esame di diagnostica per immagini per lo studio in vivo delle strutture oculari.

La tecnica di funzionamento della OCT si basa sull'emissione da parte di una sorgente luminosa di un fascio di luce a bassa coerenza nella lunghezza d'onda del vicino infrarosso. Il fascio di luce attraversa i tessuti oculari, penetrando per poche centinaia di micron, e tessuti riflettono poi le onde luminose con tempi diversi; il *delay* misurato tra i fasci di luce riflessi varia con la profondità e la consistenza del tessuto⁷². È un concetto simile a quello che spiega il funzionamento dell'ecografia, con la differenza che, invece di emettere ultrasuoni, il macchinario emette energia luminosa.

La risoluzione delle immagini ottenute tramite OCT è ottima, stimata dai 20 ai 5µm, proporzionalmente migliore di quella che si riesce ad ottenere con la risonanza magnetica⁶⁴. Per la notevole resa e la facilità e rapidità di esecuzione, la OCT è diventata l'esame standard per il monitoraggio di maculopatie, retinopatia diabetica e glaucoma, ma trova anche spazio, come precedentemente affermato, nello studio delle malattie neurodegenerative.

Tramite la OCT si possono quantificare gli spessori dei vari strati della retina (Fig.3), che in senso antero-posteriore sono:

- la membrana limitante interna
- lo strato delle fibre nervose (RNFL)
- lo strato delle cellule gangliari (GCL)
- lo strato plessiforme interno (IPL)
- lo strato nucleare interno (INL)
- lo strato plessiforme esterno (OPL)
- lo strato nucleare esterno (ONL)
- membrana limitante esterna (EML)
- lo strato dei fotorecettori (coni e bastoncelli)
- l'epitelio pigmentato retinico (RPE)
- la membrana di Bruch
- la coroide

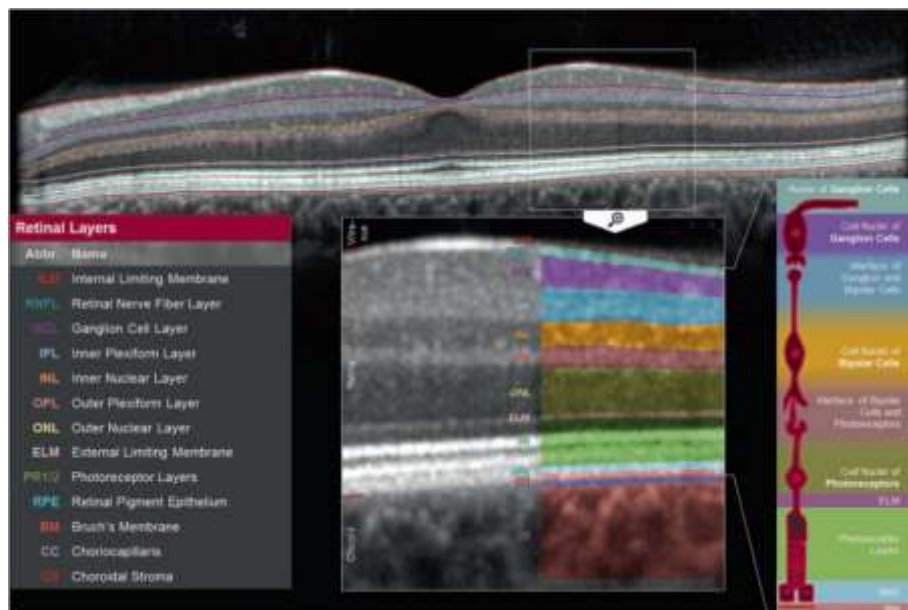


Fig. 3 – Scansione OCT parafoveale che mostra i vari strati retinici (da Aumann et al., *Optical Coherence Tomography (OCT): Principle and Technical Realization*⁶⁴)

Tutti i pazienti oggetto di studio sono stati sottoposti a tomografia a coerenza ottica con lo strumento SPECTRALIS® HRA+OCT (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Germany). Le scansioni OCT sono state acquisite per entrambi gli occhi, senza l'utilizzo di agenti midriatici, in una stanza in penombra da operatori esperti.

Il protocollo di acquisizione della tomografia a coerenza ottica comprendeva:

- una scansione circolare di 3,4 mm di diametro medio centrata sulla testa del nervo ottico (peripapillare);
- una serie di 25 scansioni lineari verticali a livello della macula, automaticamente centrate sulla fovea.

Per ciascuna delle due sedi di scansione sono stati valutati diversi parametri.

Nelle scansioni peripapillari è stato misurato lo spessore in μm del RNFL; a livello peripapillare, infatti, il RNFL è più rappresentato, essendo la papilla ottica il punto in cui gli assoni delle cellule gangliari convergono per formare il nervo ottico. Sono stati considerati sia lo spessore complessivo del RNFL (G-pRNFL), sia gli spessori dei singoli quadranti del RNFL, ossia il quadrante nasale (N-pRNFL), temporale (T-pRNFL), nasale inferiore (NI-pRNFL), nasale superiore (NS-pRNFL), temporale inferiore (TI-pRNFL) e temporale superiore (TS-pRNFL), incluso lo spessore del fascio papillo-maculare (PMB-pRNFL), un'area

del RNFL posta all'estremità temporale. È stato inoltre calcolato il rapporto tra spessore nasale e spessore temporale del RNFL (N/T ratio) e tra spessore superiore e spessore inferiore (S/I ratio).

Per quanto riguarda le scansioni maculari, invece, l'area maculare ottenuta è stata segmentata automaticamente dal software dello strumento in 9 settori, secondo una divisione riconosciuta a livello internazionale, la mappa ETDRS (*early treatment diabetic retinopathy study*). I settori comprendono una zona centrale circolare (corrispondente alla fovea) di 1 mm di diametro, un anello interno (*inner ring*) di 3 mm di diametro, suddiviso in quattro quadranti (superiore, inferiore, nasale, temporale) e un anello esterno (*outer ring*) di 6 mm di diametro, suddiviso in altrettanti quadranti (Fig. 4).

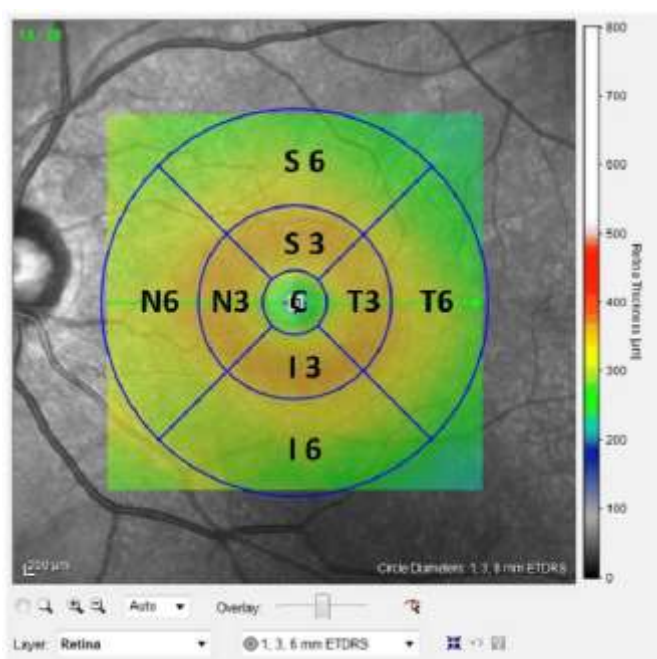


Fig. 4 – mappa ETDRS della regione maculare (da Ferreira J. et al., *Retinal Neurodegeneration in Diabetic Patients Without Diabetic Retinopathy*⁸⁴)

Di ciascuna scansione maculare il software *Spectralis* presente nello strumento ha segmentato automaticamente i diversi strati retinici (RNFL, GCL, IPL, INL, OPL, ONL, RPE). Le scansioni sono state poi rivalutate da neurologi esperti, per correggere eventuali errori nella separazione automatica degli strati.

Sono stati dunque presi in considerazione i seguenti parametri delle scansioni maculari: volume totale degli strati retinici RNFL, GCL, IPL, INL, OPL, ONL,

RPE, IRL (*inner retinal layers*, comprendente gli strati RNFL, GCL, IPL e INL) e ORL (*outer retinal layers*, comprendente gli strati OPL, ONL e RPE) e volume della retina totale, e spessore totale della retina e degli strati retinici. Non sono stati considerati gli spessori di ogni strato in ciascuno dei 9 settori ETDRS, bensì si è scelto di raggruppare i settori dell'*inner ring*, ovvero S1, I1, N1, T1, in un singolo dato (IR) che rappresenta la media tra gli spessori interni, e lo stesso si è fatto con i settori dell'*outer ring*, cioè i valori degli spessori in S2, I2, N2, T2 sono stati mediati per ottenere il dato OR. Ciò è stato fatto per superare il problema della specularità tra settori nasali e temporali tra i due occhi.

Infine, è stato considerato un ulteriore parametro, ovvero il numero degli spots iperreflettenti (HRF). Gli HRF sono le manifestazioni della presenza di cluster di microglia attivata a livello retinico e sono definiti come elementi puntiformi isolati, di <30 µm di diametro, con riflettività moderata (cioè simile a quella del RNFL), ma senza coni d'ombra posteriori. Essi vengono contati, per convenzione, negli strati più interni della retina (INL e GCIP, cioè l'unione di GCL e IPL), nell'area compresa tra due linee perpendicolari alla membrana di Bruch tracciate a 1500 µm dal centro della fovea⁵⁶. Per l'individuazione degli HRF si utilizza, in particolare, la scansione maculare verticale che passa esattamente in mezzo alla fovea.

Non sono state incluse nell'analisi le scansioni di qualità non adeguata (<15 dB) secondo i criteri OSCAR-IB⁸⁵: in particolare, per 2 pazienti MSA sono state ottenute scansioni adeguate solo per uno dei due occhi, per 1 paziente MSA non è stato possibile acquisire alcuna scansione, per 1 paziente PD è stata acquisita solo quella peripapillare e per 1 paziente PD solo la maculare dell'occhio sinistro.

3.5 - Analisi statistiche

Le differenze presenti tra i gruppi dei parkinsonismi (MSA e PD), il gruppo SM e i soggetti sani tra le variabili demografiche sono state valutate per le variabili continue e discrete mediante analisi della varianza (ANOVA), eseguita tramite il test non parametrico di Kruskal-Wallis, seguito dal test post-hoc Mann-Whitney e mediante test χ^2 , rispettivamente.

Le differenze presenti tra i vari gruppi per i parametri OCT sono state valutate mediante analisi della varianza (ANOVA) eseguita tramite il test non parametrico di Kruskal-Wallis, seguito dal test post-hoc Mann-Whitney.

La possibile correlazione lineare tra parametri OCT risultati significativi dal precedente confronto e le variabili cliniche demografiche e cliniche (dipendenza dall'età, dalla durata di malattia, score UMSARS e MDS-UPDRS) è stata invece verificata con test di regressione lineare univariata.

La differenza è considerata statisticamente significativa se il *p value* è < 0.05.

Per l'analisi statistica dei dati all'OCT bisogna tenere in considerazione che in ogni paziente si eseguono due misurazioni, una per ciascun occhio, e la differenza intra-paziente per i due occhi può essere anche non trascurabile. Per questo, nel caso di una numerosità campionaria $N > 50$ per gruppo, bisognerebbe utilizzare per un modello statistico specifico (GEE, *Generalized Estimating Equation*) che permette l'analisi di misure ripetute sullo stesso soggetto, senza limiti a priori sulla distribuzione normale della varianza intra-soggetti, consentendo l'inclusione nel modello non solo di possibili errori tra misure ripetute ma anche fattori di lateralizzazione patologia-specifici, come teorizzato dalle raccomandazioni per gli studi quantitativi sulla OCT (criteri APOSTEL⁸⁶). Con la numerosità campionaria presente in questo studio, tuttavia, non è stato possibile utilizzare tale modello statistico, perciò si è scelto di considerare come dato OCT la media tra i due occhi dello stesso paziente, in linea con l'atteggiamento già tenuto in letteratura per confrontare i dati OCT nei parkinsonismi⁶⁷. La scelta della media tra i valori dei due occhi è stata rafforzata dall'esecuzione del test non parametrico per campioni appaiati di Wilcoxon: la differenza tra i due occhi non è risultata statisticamente significativa.

4. Risultati

4.1 - Caratteristiche demografiche della popolazione di studio

Sono stati considerati 9 pazienti con diagnosi di MSA secondo i criteri del *Second consensus statement on the diagnosis of multiple system atrophy*¹⁴ (3 maschi, 6 femmine, età media $61,1 \pm 10,4$). Cinque pazienti presentavano un quadro di prevalente parkinsonismo suggestivo di MSA-P, mentre nei restanti 4 pazienti erano prevalenti segni e sintomi cerebellari suggestivi di MSA-C.

Sono state inoltre considerate due ulteriori coorti di pazienti, una costituita da soggetti diagnosticati affetti da malattia di Parkinson (10 pazienti, 7 maschi, 3 femmine, età media $64,1 \pm 6,4$) e una costituita da 9 soggetti con sclerosi multipla (3 maschi, 6 femmine, età media $67,4 \pm 4,5$). È stato poi considerato un gruppo di 10 soggetti sani (4 maschi, 6 femmine, età media $51,2 \pm 8,6$).

La durata media di malattia per i due gruppi è di $2,44 \pm 1$ anno per il gruppo MSA e $2,4 \pm 1,48$ anni per il gruppo PD (tabella V).

I pazienti MSA inizialmente reclutati erano 10 e i pazienti PD 11, ma l'impossibilità per 1 paziente MSA e 1 paziente PD di portare a termine l'esame OCT (per una severa miopia) ha comportato l'esclusione di questi due soggetti da tutte le successive elaborazioni statistiche.

Non sono state documentate differenze significative fra i 3 sottogruppi di pazienti (MSA, PD, SM) per quanto riguarda l'età media e la durata di malattia. Una differenza statisticamente significativa è stata osservata nell'età dei soggetti sani quando comparata con l'età media dei pazienti (MSA, PD, SM) (p value = 0,002).

Tabella V - caratteristiche demografiche della popolazione.

	HC N=10		MSA N=9		PD N=10		SM N=9		K-W ANOVA
	media	DS	media	DS	media	DS	media	DS	p-value
età	51,200	8,664	61,111	10,482	64,100	6,420	67,444	4,531	0,002 §
durata di malattia (anni)			2,444	1,014	2,400	1,487			0,479
sexso (M %)	40%		33%		70%		33%		0,306

(legenda: DS = deviazione standard)

4.2 - Valutazione clinica

a) Scale di valutazione clinica nei pazienti con MSA

Il sottogruppo MSA è stato valutato clinicamente con la scala specifica per la malattia UMSARS, composta dalle sezioni I (valutazione di *activities of daily life* e funzioni autonome), II (analisi della capacità motoria) III (misurazione di pressione arteriosa e frequenza cardiaca) e IV (grado complessivo di disabilità). I punteggi medi UMSARS sono pari a $16,1 \pm 12,7/48$ all'UMSARS I, $16,3 \pm 10,7/56$ all'UMSARS II, $2 \pm 1,3/5$ all'UMSARS IV e $35,1 \pm 25,5/109$ come punteggio UMSARS totale (tabella VI).

Punteggi più elevati corrispondono ad un grado di compromissione clinica maggiore e quindi a una maggiore gravità della malattia.

Tabella VI - punteggi medi secondo la scala validata UMSARS per il gruppo MSA.

	media	DS
UMSARS I	16,111	12,703
UMSARS II	16,333	10,782
UMSARS IV	2,000	1,323
UMSARS totale	35,111	25,566

b) Scale di valutazione clinica nei pazienti con PD

Il sottogruppo PD è stato valutato clinicamente con la scala specifica per la malattia MDS-UPDRS, composta dalle sezioni I (valutazione cognitiva, affettiva, autonoma), II (capacità di eseguire gesti motori semplici e *activities of daily life*), III (valutazione motoria) e IV (discinesie e fluttuazioni motorie).

I punteggi medi MDS-UPDRS sono pari a $4,2 \pm 4,6$ all'MDS-UPDRS I, $3,6 \pm 3,1$ all'MDS-UPDRS II, $12,8 \pm 5,7$ all'MDS-UPDRS III e $20,6 \pm 11,7$ come punteggio MDS-UPDRS totale (tabella VII).

Anche in questo caso, punteggi più elevati corrispondono ad un grado di compromissione clinica maggiore.

Tabella VII - punteggi medi secondo la scala validata MDS-UPDRS per il gruppo PD.

	media	DS
MDS-UPDRS I	4,200	4,686
MDS-UPDRS II	3,600	3,169
MDS-UPDRS III	12,800	5,788
MDS-UPDRS totale	20,600	11,730

c) Valutazione del coinvolgimento del sistema nervoso autonomo in MSA e PD

La scala COMPASS31 è stata utilizzata per la valutazione quantitativa del coinvolgimento del sistema nervoso autonomo nei pazienti con MSA e PD. Vengono valutate le funzionalità di sei diversi domini: intolleranza ortostatica (OH), funzione vascolare, secretiva esocrina, gastrointestinale, genitourinaria e pupillare. Per il gruppo MSA, il punteggio medio del dominio OH è di $12 (\pm 13,2)$, della funzione vascolare è $0 (\pm 0)$, della funzione secretiva esocrina è $4,7 (\pm 2,9)$, della funzione gastrointestinale è $5,8 (\pm 1,9)$, della funzione genitourinaria $0,9 (\pm 1,1)$ e di quella pupillare $0,6 (\pm 1,2)$, con un punteggio medio totale di $24,2 (\pm 16,5)$. Per il gruppo PD, invece, il punteggio medio del dominio OH è di $4,8 (\pm 10,11)$, della funzione vascolare è $0,9 (\pm 1,3)$, della funzione secretiva esocrina è $7,7 (\pm 3,3)$, della funzione gastrointestinale è $4,2 (\pm 3,3)$, della funzione genitourinaria $0,4 (\pm 0,9)$ e di quella pupillare $1,6 (\pm 1,1)$, con un punteggio medio totale di $19,8 (\pm 18,4)$.

Emerge una differenza significativa per la funzione vasomotoria, che risulta più compromessa nel gruppo PD rispetto al gruppo MSA (p value = 0,039).

Si è rilevata anche una peggiore funzione secretomotoria nel gruppo PD, ma la differenza non è risultata statisticamente significativa. In ogni caso, non è stata rilevata una differenza nel punteggio medio totale tra i due gruppi (tabella VIII).

Tabella VIII - differenze tra punteggi medi alla scala COMPASS31, globali e divisi per domain, tra il gruppo MSA e il gruppo PD.

COMPASS31	MSA		PD		Kruskal Wallis ANOVA
	media	DS	media	DS	p-value
Total OH	12,000	13,267	4,800	10,119	0,156
Total Vasomotor	0,000	0,000	0,913	1,324	0,039 §
Total Secretomotor	4,756	2,984	7,704	3,376	0,054
Total GI	5,834	1,996	4,272	3,325	0,144
Total GU	0,987	1,170	0,444	0,936	0,185
Total Pupillomotor	0,697	1,283	1,683	1,158	0,081
COMPASS31 Total score	24,273	16,584	19,816	18,430	0,288

Legenda: OH = ipotensione ortostatica, GI = funzione gastrointestinale, GU = funzione genitourinaria.

4.3 - Valutazione in imaging

Nell'ambito dell'iter diagnostico dei pazienti affetti da MSA, è stata eseguita anche una valutazione di imaging tramite PET-MRI. L'esame è stato svolto solamente su 7 pazienti; i 2 pazienti restanti sono stati esclusi dalla valutazione tramite PET-MRI in quanto aventi controindicazione, a causa di insufficienza renale cronica, alla somministrazione del mezzo di contrasto per la risonanza magnetica.

La risonanza magnetica evidenzia atrofia nei gangli della base o nei peduncoli cerebellari medi, e in un caso si è riscontrata iperintensità lineare in T2 alla periferia dello striato. Sono stati inoltre calcolati gli indici di neurodegenerazione: GCA score (atrofia corticale globale), Koedam score (atrofia parietale), MTA score (atrofia temporo-mesiale), Fazekas score (sofferenza vascolare cronica) e alterazioni mesencefaliche. Dall'analisi di tali indici non si evidenzia atrofia corticale, parietale o temporo-mesiale. In due casi si nota atrofia dei peduncoli

cerebellari e in un solo caso si nota iperintensità periventricolare (Fazekas score 3). Infine alla PET si nota ipometabolismo, specialmente nei nuclei della base.

4.4 - Tomografia a coerenza ottica

La tabella IX illustra i risultati delle misurazioni a livello peripapillare per il calcolo dello spessore in μm del pRNFL all'interno della popolazione.

I parametri considerati sono stati:

- lo spessore nei settori nasale (N), nasale inferiore (NI) e superiore (NS);
- lo spessore del fascio papillo-maculare (PMB);
- lo spessore nei settori temporale (T), temporale inferiore (TI) e superiore (TS);
- lo spessore medio globale (G);
- i rapporti tra spessori nasali e temporali (N/T ratio) e superiori e inferiori (S/I ratio).

Riguardo ai parametri considerati, non sono emerse differenze statisticamente significative tra i sottogruppi, con valori di spessore del pRNFL omogenei.

Tabella IX - valori dello spessore in μm del pRNFL misurati alle scansioni peripapillari.

pRNFL thickness (μm)	HC		MSA		PD		SM		Kruskal Wallis ANOVA
	media	DS	media	DS	media	DS	media	DS	p-value
N	73,100	11,462	80,889	17,727	76,500	11,236	68,000	15,071	0,290
NI	115,900	17,795	127,389	27,855	114,000	17,038	119,111	21,907	0,695
NS	107,650	8,443	113,500	25,335	109,091	15,928	105,722	27,381	0,554
PMB	51,900	4,915	54,556	7,572	51,136	8,256	50,056	9,774	0,641
T	65,900	4,993	66,778	9,118	65,273	11,457	64,333	12,225	0,964
TI	142,050	14,925	140,944	35,271	133,818	18,747	140,889	27,574	0,754
TS	134,050	13,502	133,000	14,877	134,773	24,236	132,722	14,780	0,985
G	97,200	8,443	101,389	13,157	96,864	12,242	95,333	12,412	0,700
N/T ratio	1,115	0,177	1,251	0,398	1,206	0,245	1,099	0,302	0,783
S/I ratio	0,945	0,095	0,942	0,181	0,983	0,086	0,920	0,093	0,185

Per quanto riguarda invece le scansioni maculari, i risultati ottenuti sono riportati nella tabella X.

Sono stati misurati i seguenti parametri:

- i volumi (*total volume*, TV) in mm³ dei singoli strati retinici e della retina globale;
- gli spessori in µm dei singoli strati e della retina, considerando la media degli spessori dei settori interni (*inner ring*, IR) e di quelli esterni (*outer ring*, OR);
- il rapporto INL/OPL, sia per i volumi che per gli spessori, in quanto è un indice già usato in letteratura per la distinzione all'OCT tra i parkinsonismi⁶⁷.

Tabella X - valori degli spessori (in µm) e dei volumi (in mm³) degli strati retinici e della retina globale alle scansioni maculari.

	HC		MSA		PD		SM		K-W ANOVA
	media	DS	media	DS	media	DS	media	DS	p-value
NFL TV	0,830	0,068	0,852	0,052	0,892	0,139	0,844	0,115	0,600
NFL IR	20,537	1,216	21,000	1,991	21,688	2,336	20,278	2,000	0,361
NFL OR	32,650	3,199	33,889	2,378	35,087	5,921	33,319	4,895	0,638
GCL TV	1,078	0,090	1,068	0,120	1,076	0,103	1,026	0,090	0,584
GCL IR	50,388	4,623	48,903	5,134	50,663	6,404	47,639	4,230	0,596
GCL OR	35,438	3,105	35,375	4,482	35,050	3,279	33,750	3,097	0,646
IPL TV	0,891	0,068	0,887	0,083	0,903	0,066	0,867	0,069	0,650
IPL IR	41,612	3,321	40,139	3,537	42,013	3,676	40,361	3,700	0,622
IPL OR	29,025	2,419	29,250	3,040	29,200	2,203	28,222	2,288	0,765
INL TV	0,946	0,053	0,927	0,075	0,955	0,049	0,924	0,050	0,404
INL IR	38,188	3,107	37,333	4,600	39,525	2,904	37,444	2,846	0,622
INL OR	32,675	1,999	31,972	1,975	32,550	1,715	31,889	1,860	0,765
IRL TV	6,277	0,291	6,274	0,215	6,397	0,298	6,089	0,311	0,233
IRL IR	253,325	12,858	251,125	8,620	260,200	11,118	246,917	11,321	0,089
IRL OR	214,887	10,760	214,778	8,694	217,063	12,230	207,250	11,600	0,346
OPL TV	0,814	0,067	0,789	0,032	0,856	0,034	0,834	0,046	0,015 §
OPL IR	32,963	3,718	31,597	2,912	35,225	2,261	35,125	2,640	0,032 §
OPL OR	27,417	1,919	27,042	0,755	28,825	1,282	28,000	1,483	0,026 §
ONL TV	1,722	0,178	1,747	0,108	1,717	0,119	1,594	0,142	0,097
ONL IR	69,737	7,870	72,125	6,263	71,213	4,966	66,181	5,662	0,205
ONL OR	57,425	5,864	57,458	3,191	56,212	4,522	52,167	5,094	0,065
ORL TV	2,263	0,058	2,213	0,088	2,300	0,063	2,274	0,070	0,069

ORL IR	82,425	2,239	79,847	3,820	83,537	2,307	82,347	2,598	0,131
ORL OR	78,875	2,193	77,444	2,966	80,412	2,423	79,444	2,481	0,075
RPE TV	0,414	0,024	0,412	0,045	0,444	0,030	0,443	0,040	0,064
RPE IR	15,988	1,160	15,653	1,708	17,038	0,956	16,875	1,632	0,105
RPE OR	14,262	0,958	14,194	1,508	15,088	1,199	15,264	1,501	0,226
Retina TV	8,539	0,334	8,489	0,289	8,696	0,296	8,363	0,354	0,181
Retina IR	335,700	14,013	331,014	11,317	343,750	11,766	329,347	12,624	0,099
Retina OR	293,612	12,023	292,306	11,168	297,512	11,989	286,708	13,214	0,424
INL/OPL TV	1,165	0,059	1,177	0,123	1,118	0,067	1,111	0,092	0,423
INL/OPL IR	1,166	0,100	1,197	0,230	1,127	0,124	1,072	0,124	0,35
INL/OPL OR	1,178	0,084	1,183	0,081	1,131	0,070	1,142	0,096	0,42

Osservando i *p-values*, emergono differenze statisticamente significative tra i gruppi per quanto riguarda lo strato plessiforme esterno (OPL), sia per gli spessori che per i volumi.

La figura 5 analizza le differenze del volume dell'OPL tra i gruppi. In particolare, il volume nel gruppo PD è significativamente maggiore rispetto al gruppo HC, al gruppo MSA e al gruppo SM. Inoltre, il volume del gruppo SM è significativamente maggiore rispetto al gruppo MSA.

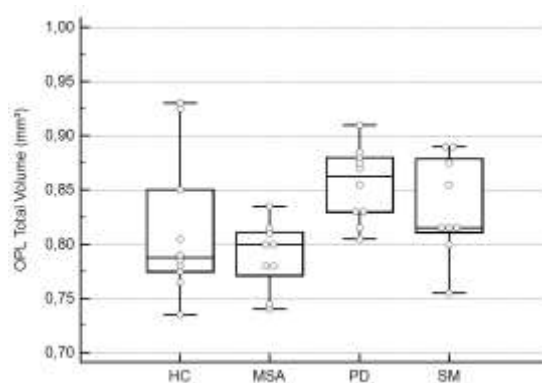


Fig. 5 – differenze nel volume totale dell'OPL tra i gruppi.

La figura 6 analizza le differenze tra i gruppi per quanto riguarda lo spessore medio dell'*inner ring* dell'OPL. In questo caso si segnala per il gruppo MSA un significativo assottigliamento sia rispetto al gruppo PD, sia rispetto al gruppo SM.

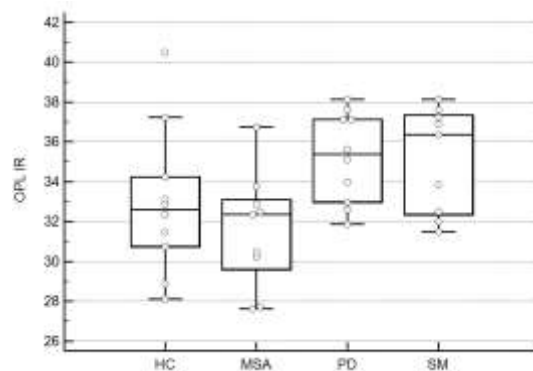


Fig. 6 – differenze nello spessore medio dell'OPL inner ring tra i gruppi.

Infine la figura 7 analizza le differenze tra i gruppi per quanto riguarda lo spessore medio dell'outer ring dell'OPL. Si è rilevato per il gruppo PD uno spessore significativamente maggiore rispetto sia al gruppo HC, sia al gruppo MSA.

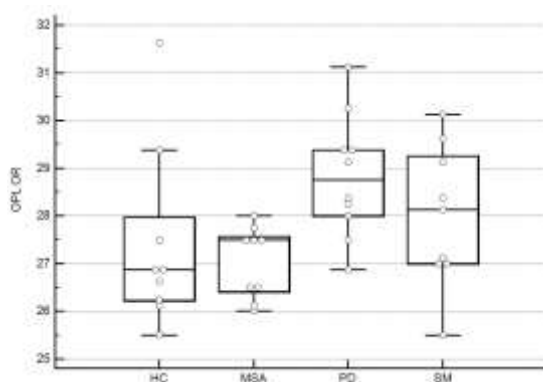


Fig. 7 - differenze nello spessore medio dell'OPL outer ring tra i gruppi.

In generale, quindi, si nota come nel gruppo MSA ci siano valori sia di volume che di spessore dello strato OPL significativamente ridotti rispetto al gruppo PD.

In seguito, essendo risultati gli indici dello strato OPL i valori più informativi dalle analisi precedenti, si è analizzato il loro rapporto con altre variabili, per vedere se ci fosse qualche altra correlazione che potesse giustificare il variare degli indici dell'OPL in base alla sottopopolazione.

Volendo cercare un eventuale legame tra gli indici dell'OPL e l'età, che era l'unica variabile demografica che cambiava sensibilmente tra le sottopopolazioni, si è visto che non sussiste alcuna correlazione tra essi: i valori di spessore e volume dell'OPL non cambiano sensibilmente al passare degli anni all'interno della popolazione di studio (Fig. 8).

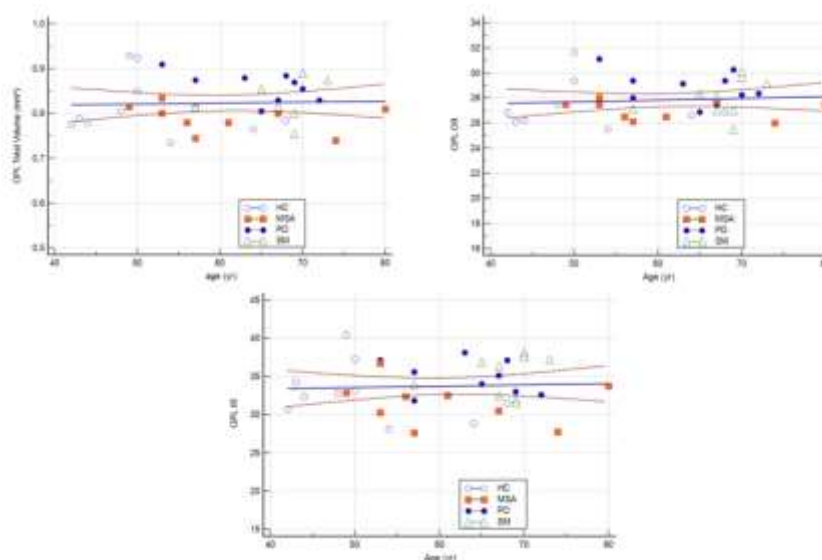


Fig. 8 – *indici dello strato OPL al variare dell'età.*

Si è anche cercata una interdipendenza tra indici dello strato OPL e dati clinici quali la durata di malattia e il punteggio alle scale validate nei gruppi delle α -sinucleinopatie, MSA e PD.

Per il gruppo MSA, si nota che il volume e gli spessori dell'*inner ring* e dell'*outer ring* aumentano all'aumentare della durata di malattia, senza tuttavia raggiungere una correlazione statisticamente significativa (Fig. 9). Il parametro la cui relazione lineare con la durata di malattia si avvicina di più alla significatività è lo spessore dell'*inner ring* (p value = 0,08).

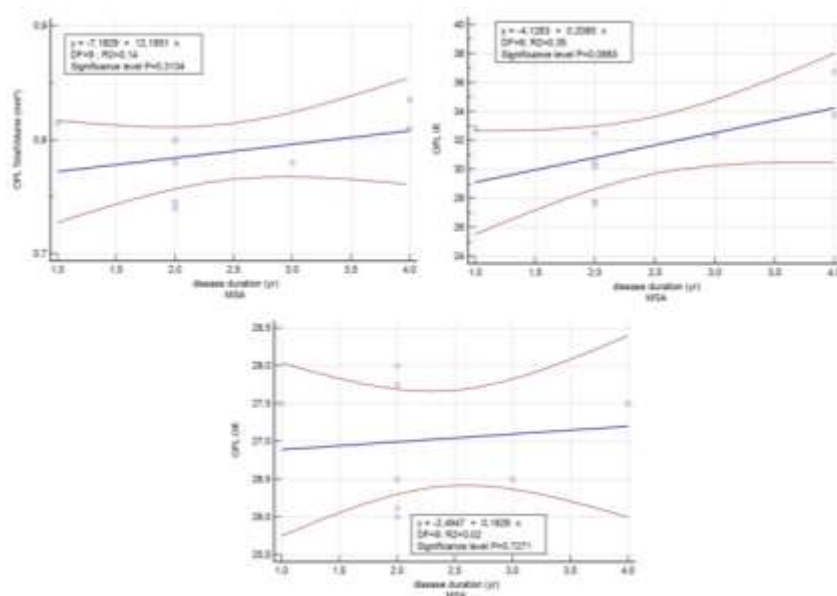


Fig. 9 – *relazione tra indici dello strato OPL e durata di malattia nel gruppo MSA.*

Anche per il gruppo PD si evince che il volume e gli spessori dell'*inner ring* e dell'*outer ring* aumentano all'aumentare della durata di malattia, ma anche in questo caso la correlazione non raggiunge la significatività statistica (Fig. 10).

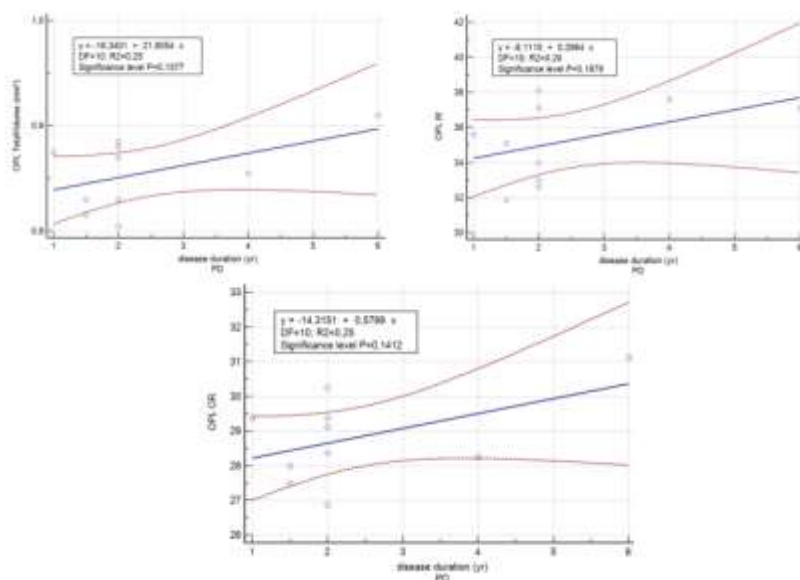


Fig. 10 – relazione tra indici dello strato OPL e durata di malattia nel gruppo PD.

Analizzando poi il rapporto tra gli indici dello strato OPL e i punteggi alle scale di valutazione clinica, si è valutata la relazione tra lo spessore dell'*inner ring* dell'OPL e il punteggio totale medio alla scala UMSARS per il gruppo MSA, e la relazione tra lo spessore dell'*inner ring* dell'OPL e il punteggio medio al MDS-UPDRS III per il gruppo PD.

Si è rilevato che lo spessore dell'*inner ring* dell'OPL diminuisce all'aumentare del punteggio totale medio UMSARS nel gruppo MSA, e aumenta all'aumentare del punteggio medio al MDS-UPDRS III nel gruppo PD (Fig. 11), senza comunque raggiungere la significatività.

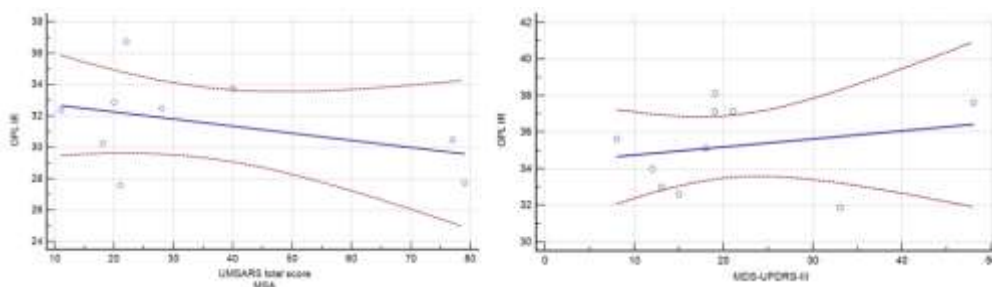


Fig. 11 – relazione tra lo spessore dell'OPL nell'*inner ring* e punteggio totale UMSARS per il gruppo MSA (sinistra), e punteggio al MDS-UPDRS III nel gruppo PD (destra).

Non sono state rilevate correlazioni dei dati OCT con i punteggi allo score COMPASS31, né per quanto riguarda i punteggi totali medi, né per i punteggi parziali divisi per dominio.

Per quanto riguarda l'analisi degli spots iperreflettenti retinici (HRF), i risultati sono riportati nella tabella XI. Gli HRF sono stati contati singolarmente negli strati interni della retina, ovvero l'INL e il GCIP (formato da GCL e IPL), e anche globalmente come HRF negli *inner retinal layers* (IRL). Si nota che in tutti i sottogruppi patologici è presente un numero di HRF significativamente maggiore in tutti gli strati considerati rispetto ai controlli sani.

Tabella XI - numero di HRF nei vari gruppi.

	HC		MSA		PD		MS		K-W ANOVA
	media	DS	media	DS	media	DS	media	DS	p-value
HRF INL	20,834	1,8007	23,778	5,1302	29,6	3,1252	26,75	3,7832	0,0001 §
HRF GCIP	26,134	6,6282	38,306	6,3686	41,175	12,0416	40,694	8,0349	0,002 §
HRF IRL	46,969	7,5687	62,083	10,4268	70,775	12,6812	60,569	20,486	0,004 §

Analizzando singolarmente il numero di HRF presenti nello strato INL nei vari gruppi, emerge che non solo tutti i gruppi patologici presentano valori significativamente più elevati rispetto ai controlli, ma anche che il sottogruppo PD mostra un numero significativamente maggiore di HRF rispetto al gruppo MSA (Fig. 12).

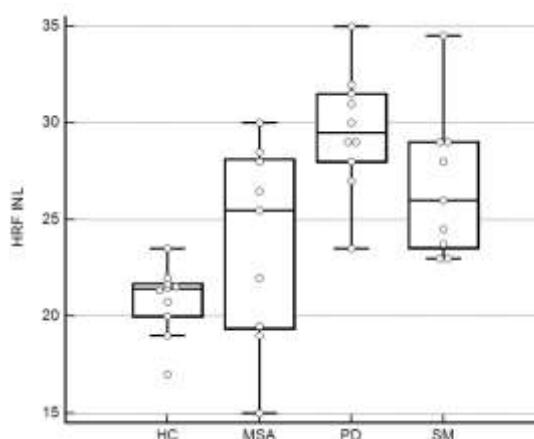


Fig. 12 – confronto tra il numero di HRF nello strato INL nei vari gruppi.

Se invece si considera la quantità di HRF presenti nello strato GCIP, si vede che, ancora una volta, i sottogruppi patologici presentano un numero significativamente maggiore di HRF rispetto ai controlli, ma non mostrano differenze sostanziali tra un gruppo patologico e l'altro; lo stesso si può concludere per l'analisi degli HRF globali negli strati retinici interni (Fig. 13).

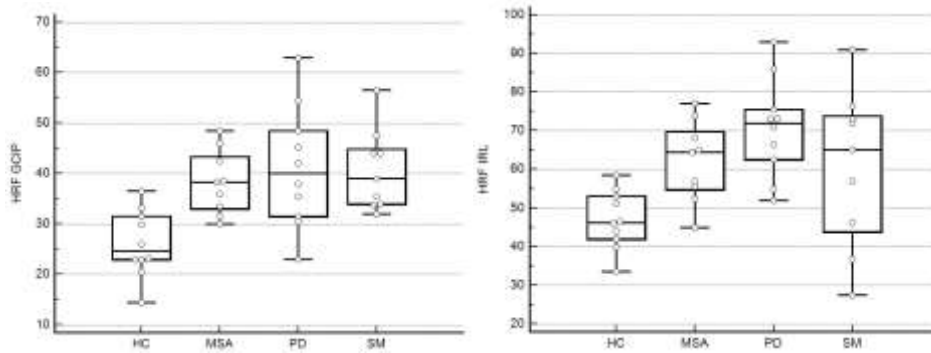


Fig. 13 – confronto tra il numero di HRF nello strato GCIP, a sinistra, e negli strati retinici interni (IRL), a destra, nei vari gruppi.

5. Discussione

Lo scopo di questo studio è la definizione del possibile ruolo dell'OCT nell'ambito delle patologie neurodegenerative, in particolare per quanto riguarda l'individuazione di eventuali *markers* precoci che possano fungere da elementi di supporto nella diagnosi di MSA e nella diagnostica differenziale con la malattia di Parkinson.

Recentemente, l'utilizzo di metodiche non invasive per lo studio della retina è stato proposto nell'ambito di numerose patologie neurologiche, tra cui quelle infiammatorie del sistema nervoso centrale e quelle neurodegenerative, in particolare i parkinsonismi. Nello specifico, lo strato delle fibre nervose retiniche peripapillari (pRNFL) e le modifiche del suo spessore sono stati individuati come *marker* di neurodegenerazione nell'ambito della sclerosi multipla^{77,87,88} e tali parametri possono essere utilizzati anche per predire l'eventuale evoluzione della disabilità in questi pazienti.

Numerosi studi condotti nei pazienti con parkinsonismi hanno indagato il pattern di variazione dello strato pRNFL, con risultati controversi.

Uno studio di Fischer et al. su 10 pazienti MSA e 10 soggetti sani ha rilevato un significativo assottigliamento del pRNFL (soprattutto nel settore nasale) nel gruppo MSA rispetto ai controlli⁶⁸. Sempre nell'ambito dei parkinsonismi, Alkabi et al. hanno invece mostrato una riduzione significativa dello spessore del pRNFL nella paralisi sopranucleare progressiva (PSP), un parkinsonismo atipico, rispetto ai controlli, mentre non emergevano differenze tra i pazienti con malattia di Parkinson e i soggetti sani⁶⁹. Bisogna però specificare che, pur essendo la PSP classificata all'interno dei parkinsonismi atipici, essa si discosta dalla MSA per quanto riguarda la neuropatologia: la PSP, infatti, non presenta accumuli proteici di α -sinucleina ma di proteina Tau (è definita una *taupatia*). Inoltre, una caratteristica clinica della PSP è la presenza di disturbi della motilità oculare come la paralisi dello sguardo verticale, per questo non si esclude che i dati OCT nei pazienti con PSP possano essere inficiati dalla minor compliance dei soggetti nell'esecuzione dell'esame.

Una metanalisi che ha preso in considerazione studi su pazienti con malattia di Parkinson comparati con soggetti sani ha evidenziato uno spessore del pRNFL significativamente minore nei pazienti PD rispetto ai sani⁷². Altri lavori in cui i risultati OCT di pazienti con PD e parkinsonismi (MSA, PSP, CBD) sono stati

confrontati con soggetti sani non hanno segnalato invece differenze nello spessore del pRNFL né tra le varie α -sinucleinopatie, né tra pazienti e controlli^{67,89}. Il nostro studio è in linea con questi ultimi risultati, non mostrando differenze statisticamente significative tra i gruppi per quanto riguarda lo spessore medio del pRNFL.

Alla luce della scarsa riproducibilità dei risultati, sembra quindi che lo spessore medio del pRNFL non si possa considerare un parametro adatto a supportare la diagnosi e la diagnostica differenziale delle α -sinucleinopatie. Un altro limite di questo indice è il fatto che presenta un'elevata variabilità all'interno dei soggetti sani, testimoniata da recenti studi di comparazione dei dati OCT tra soggetti con α -sinucleinopatie e controlli^{65,67}. Non riuscendo quindi a trovare un *range* di valori di riferimento che sia distintivo della popolazione sana, risulta difficile e poco affidabile valutare i casi patologici.

Anche per quanto riguarda i dati ottenuti dalle scansioni maculari i riscontri in letteratura risultano eterogenei: in generale si evidenzia una tendenza, nella malattia di Parkinson, alla riduzione dello spessore degli strati più interni della retina (GCL, IPL, INL) rispetto ai controlli sani^{74,75}, ma è anche stato rilevato che gli stessi strati sono più assottigliati nella MSA e nella PSP rispetto alla malattia di Parkinson e ai controlli sani⁶⁵ e che lo spessore di GCL, IPL e INL può essere, nei pazienti PD, addirittura aumentato rispetto ai controlli e agli altri parkinsonismi⁶⁷. A livello maculare nella sclerosi multipla si evidenzia invece, secondo recenti lavori, una riduzione significativa dello spessore di GCL e IPL rispetto ai controlli sani^{77,88}.

I risultati ottenuti in questo studio non mostrano differenze significative tra i gruppi sia per quanto riguarda i volumi, sia per quanto riguarda gli spessori dei vari strati retinici; questo dato è in linea con quanto riportato in una recente *review* che ha considerato studi su pazienti con malattia di Parkinson e parkinsonismi atipici, che evidenzia come gli spessori retinici nella MSA non siano diversi da quelli presenti nei pazienti PD e nei controlli⁶⁶.

Dalle nostre analisi emergono però delle differenze significative tra i gruppi per quanto riguarda lo strato plessiforme esterno (OPL), che presenta un volume aumentato nel gruppo PD rispetto al gruppo HC, al gruppo MSA e al gruppo SM, ed è aumentato di volume anche nel gruppo SM rispetto al gruppo MSA.

Lo spessore medio dell'*inner ring* (IR) dell'OPL è significativamente maggiore nel gruppo PD e nel gruppo SM rispetto al gruppo MSA, mentre lo spessore medio dell'*outer ring* (OR) dell'OPL è significativamente maggiore nel gruppo PD sia rispetto al gruppo HC, sia al gruppo MSA.

Analizzando i nostri dati, emerge quindi un reperto OCT sostanzialmente diverso tra malattia di Parkinson e MSA: gli indici dello strato OPL (volume e spessori) sono significativamente maggiori nel gruppo PD rispetto al gruppo MSA. Questo comportamento si ritrova anche in uno studio di Schneider et al, che riporta uno spessore medio dell'OPL significativamente ridotto nell'MSA rispetto al gruppo PD⁶⁵, ma non viene confermato da altri lavori, che non mostrano differenze sostanziali nello spessore dell'OPL tra le due patologie^{66,67}. Studi futuri dalle più ampie numerosità potrebbero delineare in modo migliore il ruolo effettivo degli indici dello strato OPL nella diagnostica differenziale delle α -sinucleinopatie.

Un elemento interessante è il fatto che sia il volume dell'OPL sia il suo spessore nell'OR siano maggiori nella malattia di Parkinson rispetto ai controlli sani. Intuitivamente, ci si aspetterebbe nel campione patologico un assottigliamento e una perdita di volume degli strati retinici, segno di atrofia neuronale secondaria alla neurodegenerazione che si è propagata anche ai neuroni della retina. Uno studio neuropatologico di Liets et al. ha mostrato che la neurodegenerazione retinica non si manifesta solo con l'assottigliamento, ma anche con l'aumento di spessore degli strati, e menziona come esempio l'aumento di spessore negli strati ONL e OPL. L'aumentato spessore sarebbe motivato dallo *sprouting* locale dei dendriti delle cellule bipolari che avverrebbe come reazione compensatoria alla neurodegenerazione retinica^{65,90}. Ipotizzando quindi che i depositi intra-retinici di α -sinucleina riscontrati nella malattia di Parkinson⁶⁵ comportino degenerazione e atrofia neuronale - e questo potrebbe trovare conferma nel fatto che i pazienti con PD presentano effettivamente, come già menzionato, deficit visivi⁷³ -, la risposta alla degenerazione sarebbe la crescita di dendriti delle cellule bipolari attraverso gli strati ONL e OPL e quindi in ultima analisi l'aumento di spessore di questi strati. Bisogna notare, tuttavia, che i nostri dati evidenziano spessori e volumi aumentati solo per lo strato OPL, mentre per l'ONL non si notano differenze tra i gruppi.

Il riscontro di un volume significativamente maggiore dello strato OPL nei pazienti con malattia di Parkinson rispetto ai sani è stato già evidenziato in due

precedenti studi^{91,92}, che motivano l'aumento di volume con la possibile localizzazione in tale strato dei depositi di α -sinucleina. Un maggiore volume dell'OPL sarebbe quindi un marker della presenza retinica di aggregati proteici. Come giustificazione di questa teoria viene citato uno studio istopatologico su modelli animali, che illustra come uno degli strati retinici con la maggior espressione fisiologica di α -sinucleina sia proprio lo strato OPL⁹³. Si potrebbe concludere, quindi, che essendo presente già fisiologicamente nell'OPL una maggior espressione di α -sinucleina rispetto ad altri strati, lo sviluppo patologico della malattia di Parkinson a livello retinico possa avere inizio proprio in questa sede, portando all'aumento volumetrico dello strato.

Anche la MSA è una α -sinucleinopatia, ma i nostri dati mostrano che essa presenta valori di volume dell'OPL ridotti rispetto al gruppo PD, e in linea con i valori dei controlli sani; questo dato può essere motivato dal fatto che nella MSA gli aggregati proteici di α -sinucleina anomala non si localizzano nei neuroni, come nella malattia di Parkinson, ma negli oligodendrociti, e mentre la retina è costituita da neuroni, che possono quindi racchiudere i depositi di α -sinucleina nel caso della malattia di Parkinson, è priva di cellule gliali, dato che la glia inizia a ricoprire gli assoni delle fibre del nervo ottico solo una volta che è emerso dal bulbo oculare. Studi neuropatologici, infatti, non hanno evidenziato la presenza di α -sinucleina nella retina di pazienti MSA⁹⁴, mentre aggregati proteici anomali sono stati riscontrati a livello retinico nel caso dei PD^{65,76}.

A differenza di quanto riportato in letteratura, nella nostra coorte non è stata osservata alcuna correlazione tra gli indici dello strato OPL e l'età dei pazienti: spessori e volumi non variano sensibilmente all'aumentare dell'età e si mantengono tendenzialmente stabili nel tempo. In letteratura si segnala tuttavia che l'OPL, come gli altri strati retinici, tenderebbe a diminuire il suo spessore a partire dai 50 anni d'età, arrivando a perdere anche 0.38 μm per decade⁹⁵. Tale discordanza con la letteratura potrebbe essere imputabile all'omogeneità delle età medie tra i gruppi: i pazienti MSA, PD e SM hanno età media nell'ambito della sesta decade. Considerando però che i controlli sani hanno età media di 51 anni, ci si sarebbe aspettati una differenza (spessore maggiore per i controlli rispetto ai gruppi patologici) che però non è stata rilevata.

Per quanto riguarda le possibili correlazioni tra i parametri OCT e le variabili cliniche, è stato osservato che per la MSA esiste un lieve trend di correlazione diretta tra gli spessori dell'IR e dell'OR e la durata di malattia, seppure senza raggiungere la significatività statistica. Lo stesso tipo di correlazione si è ritrovato per gli spessori dell'IR e dell'OR nel gruppo PD: anch'essi tendono ad aumentare con la durata di malattia. Nessuno di questi risultati raggiunge la significatività statistica, tuttavia le deboli correlazioni rilevate possono indicare nei parametri dello strato OPL gli oggetti di uno studio futuro: in un lavoro dal disegno longitudinale prospettico si potrebbe indagare come variano gli indici OPL all'aumentare della durata della MSA o della malattia di Parkinson, per verificarne un eventuale ruolo di indicatori prognostici di malattia.

Per quanto riguarda invece il rapporto tra la gravità della condizione (quantificata dalle scale di valutazione clinica) e gli indici OPL, non è stata trovata alcuna correlazione tra parametri OCT e la severità dei disturbi disautonomici valutata con la scala COMPASS31. Si è rilevato inoltre che lo spessore dell'IR dell'OPL diminuisce all'aumentare del punteggio totale alla scala UMSARS nel gruppo MSA, e aumenta all'aumentare del punteggio all'MDS-UPDRS III nel gruppo PD, senza comunque raggiungere la significatività. Questi esiti vengono solo parzialmente confermati dalla letteratura; per la MSA è già stata notata una correlazione inversa tra punteggio medio alla scala UMSARS e spessore perifoveale della retina⁹⁶: all'aumentare della scala UMSARS, e quindi all'aumentare della gravità della condizione clinica, lo spessore totale retinico perifoveale diminuisce. Riguardo alla malattia di Parkinson invece sono stati riportati risultati controversi, con studi che mostrano che lo spessore perifoveale della retina diminuisce al progredire del punteggio all'MDS-UPDRS III⁹⁷, e studi che non hanno rilevato invece alcuna interdipendenza⁷⁴.

Considerando la malattia di Parkinson, dai nostri dati si evince come gli indici dello strato OPL (specialmente gli spessori) abbiano la tendenza, pur non statisticamente significativa, a crescere all'aumentare della durata di malattia e dei punteggi alle scale di valutazione clinica, delineando quindi un andamento in correlazione diretta con la progressione di malattia. Per quanto riguarda invece la MSA, i risultati delle correlazioni tra parametri OCT e variabili cliniche sono in apparente contraddizione tra di loro: gli indici dello strato OPL tendono ad

umentare al progredire della durata di malattia, ma diminuiscono al crescere dei punteggi allo score UMSARS. Essendo la MSA una malattia neurodegenerativa avente durata di malattia e gravità direttamente correlate, ci si aspetterebbe che gli indici dello strato OPL abbiano lo stesso andamento al variare di questi due parametri. Nel nostro studio, tuttavia, gli indici OPL hanno andamenti opposti in relazione alla durata e alla gravità della MSA; ciò potrebbe essere dovuto a una mancata corrispondenza, nel campione MSA, tra durata di malattia e punteggio alla scala UMSARS. Analizzando infatti le singole durate di malattia e i singoli punteggi UMSARS, si evince come effettivamente non vi sia una simmetria così forte tra durata di malattia e gravità della condizione clinica: ad esempio, due pazienti con durata di malattia di 2 anni hanno raggiunto un punteggio UMSARS totale rispettivamente di 79 e 77, indicativo di quadri clinici piuttosto avanzati per la loro durata di malattia, mentre una paziente con durata di malattia di 4 anni aveva un punteggio totale di 22 e un paziente con durata 3 anni ha raggiunto un punteggio di 11. Potrebbero essere presenti, quindi, dei fattori confondenti, come ad esempio delle condizioni patologiche concomitanti (ipertensione, insufficienza renale cronica, ipertiroidismo, disturbi dell'umore sono alcune delle comorbidità rilevate nel sottogruppo MSA), che influiscono sul punteggio della scala UMSARS e impediscono che esso dipenda unicamente dalla patologia di base. Allo stesso modo, le comorbidità presenti nei pazienti MSA possono influire sull'applicabilità e sulla qualità dei dati OCT.

Il potenziale ruolo degli indici dello strato OPL quali *biomarkers* nell'ambito delle α -sinucleinopatie dovrà essere definito tramite studi futuri che coinvolgano ampie numerosità.

In conclusione, nella nostra coorte non è stata osservata alcuna correlazione significativa tra i parametri OCT e gli indici di progressione di malattia quali durata e punteggi alle scale di valutazione clinica, in linea con quanto riportato in precedenti studi^{65,67}.

Un altro obiettivo di questo lavoro era il confronto tra parametri OCT di MSA e PD, volendo ricercare eventuali analogie che risultassero proprie delle α -sinucleinopatie e permettessero di distinguerle alla OCT da altre patologie

neurodegenerative. Non sono state tuttavia riscontrate delle similarità tra MSA e PD tali da definire un pattern α -sinucleinopatia-specifico.

Per quanto riguarda l'ultimo obiettivo di questo studio, non sono stati rilevati aspetti OCT simili tra MSA e SM che possano indicare come lo stesso aspetto patogenetico, ovvero la neuroinfiammazione, si manifesti alla OCT nelle due diverse malattie. Al momento attuale, non sono presenti in letteratura studi che confrontino i dati OCT nei pazienti MSA e SM.

Analizzando i nostri dati, emerge il fatto che nel gruppo SM sia il volume totale sia lo spessore dell'IR dell'OPL sono significativamente maggiori rispetto al gruppo MSA. Tuttavia, entrambi i parametri, spessore e volume, di entrambi i gruppi non sono significativamente diversi dai valori riscontrati nei controlli sani e non sono quindi definibili valori francamente patologici. Non avendo quindi riscontrato indici dello strato OPL nettamente patologici né nel gruppo MSA, né nel gruppo SM, il confronto tra i due diversi gruppi non è giustificato, in quanto i valori riscontrati rientrano nel range di valori proprio dei controlli sani.

Infine, un ulteriore focus del nostro lavoro è il confronto degli spots iperreflettenti retinici (HRF) presenti nei vari gruppi. Gli HRF sono un *biomarker* retinico nei confronti del quale è stata posta molta attenzione negli ultimi anni, soprattutto in relazione al suo possibile utilizzo come *marker* prognostico nella sclerosi multipla^{56,98}. La teoria più accreditata è che gli HRF siano la manifestazione visibile dei cluster di microglia attivata presenti a livello retinico⁵⁶. La microglia retinica presenta le stesse caratteristiche morfologiche e funzionali della microglia cerebrale, si attiva cioè nel contesto di reazioni infiammatorie conseguenti ad un danno ed è capace di rilasciare citochine ed attivare il complemento, con il risultato di perpetrare ulteriormente la reazione infiammatoria⁹⁹. In quest'ottica, gli HRF vengono considerati *markers* dell'attività infiammatoria retinica e quindi della presenza di danno e di attività di malattia.

I nostri risultati mostrano che in tutti i sottogruppi patologici osservati (PD, MSA, SM) il numero di HRF rilevati negli strati retinici interni (sia singolarmente nell'INL e nel GCIL, sia globalmente negli IRL) è significativamente maggiore rispetto a quello rilevato nei soggetti sani, indicando la presenza di un maggiore *rate* di attivazione microgliale nei gruppi patologici. Si parla di *rate* in quanto

l'attivazione della microglia retinica è un processo altamente dinamico e la conta degli HRF rispecchia una situazione momentanea. In ogni caso, il riscontro nei gruppi patologici di una quantità nettamente maggiore di HRF ne conferma il possibile utilizzo come *markers* di situazioni patologiche.

Uno dei presupposti su cui questo lavoro si è basato è che, nella MSA, la componente neuroinfiammatoria ha un ruolo patogenetico molto importante, fatto che ha motivato il confronto con la sclerosi multipla, patologia nettamente neuroinfiammatoria prima che neurodegenerativa. Si è voluto quindi valutare se la nota componente neuroinfiammatoria cerebrale presente nelle due patologie si propagasse in qualche modo alla retina e fosse visibile tramite la conta degli HRF. Non è stata evidenziata una quantità di HRF particolarmente alta nel gruppo MSA e nel gruppo SM rispetto al gruppo PD, e anzi i valori registrati nei tre gruppi patologici sono piuttosto omogenei tra loro, segno che il riscontro di quantità elevate di HRF rispetto ai soggetti sani potrebbe essere un *marker* aspecifico di malattia, non legato a una particolare patogenesi. Una recente *review* rafforza questa ipotesi, affermando che si riscontra microglia retinica attivata anche in patologie come la retinopatia diabetica o il glaucoma⁹⁹.

I nostri dati indicano inoltre come nello strato INL sia presente per il gruppo PD un maggior *rate* di attivazione microgliale rispetto al gruppo MSA; questo dato potrebbe essere espressione di un livello di danno retinico maggiore nella malattia di Parkinson. Se la presenza di HRF sia il vero *marker* di tale danno, e quale sia la sua patogenesi, sono interrogativi che meritano di trovare risposta in lavori futuri. Non vi sono, infatti, al momento studi di comparazione degli HRF nei parkinsonismi.

I limiti di questo studio sono dovuti innanzitutto alla bassa numerosità campionaria, giustificata dal fatto che la MSA, diversamente dalla sclerosi multipla o dalla malattia di Parkinson, è una malattia rara. Essendo il nostro lavoro focalizzato in primis sulla MSA, si sono reclutati tutti i pazienti MSA afferenti al nostro centro al momento dell'inizio dello studio, ovvero 9. La numerosità degli altri gruppi è stata poi costruita sulla base di questo numero, al fine di rendere i campioni omogenei.

In secondo luogo, una criticità che bisogna considerare è la difficoltà intrinseca nell'esecuzione dell'OCT. L'esame richiede un certo grado di collaborazione da

parte del paziente, che idealmente dovrebbe stare il più immobile possibile; per alcuni pazienti, specialmente quelli in condizioni cliniche più compromesse, è uno sforzo non indifferente e comporta la necessità di fare pause frequenti durante le misurazioni o addirittura interrompere l'esame. Non si esclude che l'affaticamento dei pazienti e i conseguenti riposizionamenti davanti al macchinario abbiano portato ad errori di misurazione. A partire da questa difficoltà, si potrebbe proporre di adattare i protocolli di acquisizione OCT in base alla malattia e alle condizioni del paziente, che possono essere molto diverse quando per esempio si considerano pazienti più anziani o con comorbidità.

Infine, un ulteriore limite dello studio è il fatto che non per tutti i pazienti si disponeva delle scansioni per entrambi gli occhi: per 4 pazienti è stata eseguita la scansione maculare di un solo occhio e per 3 pazienti è stata eseguita solo una scansione peripapillare. L'impossibilità di acquisire le scansioni per entrambi gli occhi è dovuta ad affaticamento del paziente, che ha portato all'interruzione dell'esame, oppure a comorbidità oculari.

6. Conclusioni

Il nostro studio ha evidenziato come esistano differenze significative alla OCT tra i pazienti con α -sinucleinopatie per quanto riguarda il volume e gli spessori dell'*inner ring* e dell'*outer ring* dello strato plessiforme esterno (OPL) della retina. Studi futuri dalle più ampie numerosità potrebbero indagare in modo migliore se e a che punto gli indici dello strato OPL possano avere un effettivo ruolo nella diagnosi differenziale delle α -sinucleinopatie.

Inoltre, il riscontro in tutti i gruppi patologici di una quantità significativamente maggiore di foci iperreflettenti retinici (HRF) rende questi ultimi dei *marker* aspecifici di condizione patologica, presenti non solo nella sclerosi multipla, come già è stato dimostrato, ma anche nelle α -sinucleinopatie

Il presente lavoro si configura come studio pilota, sottolineando la necessità di continuare a indagare sull'uso della OCT nelle patologie neurodegenerative, tramite studi longitudinali che analizzino i legami tra i parametri OCT, e in particolare lo strato OPL, e gli indici di progressione di malattia. L'importanza del disegno longitudinale risiede nel fatto che la maggior parte degli studi attualmente svolti sui parametri OCT nelle malattie neurodegenerative è di tipo *cross-sectional*.

Inoltre, studi che coinvolgano più ampie numerosità campionarie potrebbero ricercare in modo più approfondito la presenza di pattern OCT specifici di α -sinucleinopatia.

7. Bibliografia

- (1) Wang, Z.; Becker, K.; Donadio, V.; Siedlak, S.; Yuan, J.; Rezaee, M.; Incensi, A.; Kuzkina, A.; Orrú, C. D.; Tatsuoka, C.; Liguori, R.; Gunzler, S. A.; Caughey, B.; Jimenez-Capdeville, M. E.; Zhu, X.; Doppler, K.; Cui, L.; Chen, S. G.; Ma, J.; Zou, W.-Q. Skin α -Synuclein Aggregation Seeding Activity as a Novel Biomarker for Parkinson Disease. *JAMA Neurol.* **2021**, *78* (1), 30. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2020.3311>.
- (2) Vekrellis, K.; Xilouri, M.; Emmanouilidou, E.; Rideout, H. J.; Stefanis, L. Pathological Roles of α -Synuclein in Neurological Disorders. *Lancet Neurol.* **2011**, *10* (11), 1015–1025. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(11\)70213-7](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(11)70213-7).
- (3) Melki, R. Role of Different Alpha-Synuclein Strains in Synucleinopathies, Similarities with Other Neurodegenerative Diseases. *J. Park. Dis.* **5** (2), 217–227. <https://doi.org/10.3233/JPD-150543>.
- (4) Wang, Y.; Shi, M.; Chung, K. A.; Zabetian, C. P.; Leverenz, J. B.; Berg, D.; Srulijes, K.; Trojanowski, J. Q.; Lee, V. M.-Y.; Siderowf, A. D.; Hurtig, H.; Litvan, I.; Schiess, M. C.; Peskind, E. R.; Masuda, M.; Hasegawa, M.; Lin, X.; Pan, C.; Galasko, D.; Goldstein, D. S.; Jensen, P. H.; Yang, H.; Cain, K. C.; Zhang, J. Phosphorylated α -Synuclein in Parkinson's Disease. *Sci. Transl. Med.* **2012**, *4* (121), 121ra20. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3002566>.
- (5) Poewe, W.; Seppi, K.; Tanner, C. M.; Halliday, G. M.; Brundin, P.; Volkman, J.; Schrag, A.-E.; Lang, A. E. Parkinson Disease. *Nat. Rev. Dis. Primer* **2017**, *3* (1), 17013. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.13>.
- (6) Kim, C.; Lee, S.-J. Controlling the Mass Action of α -Synuclein in Parkinson's Disease. *J. Neurochem.* **2008**, *107* (2), 303–316. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2008.05612.x>.
- (7) Coon, E. A.; Singer, W. Synucleinopathies. *Contin. Minneap. Minn* **2020**, *26* (1), 72–92. <https://doi.org/10.1212/CON.0000000000000819>.
- (8) Prusiner, S. B.; Woerman, A. L.; Mordes, D. A.; Watts, J. C.; Rampersaud, R.; Berry, D. B.; Patel, S.; Oehler, A.; Lowe, J. K.; Kravitz, S. N.; Geschwind, D. H.; Glidden, D. V.; Halliday, G. M.; Middleton, L. T.; Gentleman, S. M.; Grinberg, L. T.; Giles, K. Evidence for α -Synuclein Prions Causing Multiple System Atrophy in Humans with Parkinsonism. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2015**, *112* (38). <https://doi.org/10.1073/pnas.1514475112>.
- (9) Donadio, V.; Incensi, A.; El-Agnaf, O.; Rizzo, G.; Vaikath, N.; Del Sorbo, F.; Scaglione, C.; Capellari, S.; Elia, A.; Stanzani Maserati, M.; Pantieri, R.; Liguori, R. Skin α -Synuclein Deposits Differ in Clinical Variants of Synucleinopathy: An in Vivo Study. *Sci. Rep.* **2018**, *8* (1), 14246. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-32588-8>.

-
- (10) Fanciulli, A.; Wenning, G. K. Multiple-System Atrophy. *N. Engl. J. Med.* **2015**, *372* (3), 249–263. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1311488>.
- (11) Köllensperger, M.; Geser, F.; Ndayisaba, J.-P.; Boesch, S.; Seppi, K.; Ostergaard, K.; Dupont, E.; Cardozo, A.; Tolosa, E.; Abele, M.; Klockgether, T.; Yekhlief, F.; Tison, F.; Daniels, C.; Deuschl, G.; Coelho, M.; Sampaio, C.; Bozi, M.; Quinn, N.; Schrag, A.; Mathias, C. J.; Fowler, C.; Nilsson, C. F.; Widner, H.; Schimke, N.; Oertel, W.; Del Sorbo, F.; Albanese, A.; Pellecchia, M. T.; Barone, P.; Djaldetti, R.; Colosimo, C.; Meco, G.; Gonzalez-Mandly, A.; Berciano, J.; Gurevich, T.; Giladi, N.; Galitzky, M.; Rascol, O.; Kamm, C.; Gasser, T.; Siebert, U.; Poewe, W.; Wenning, G. K.; EMSA-SG. Presentation, Diagnosis, and Management of Multiple System Atrophy in Europe: Final Analysis of the European Multiple System Atrophy Registry. *Mov. Disord. Off. J. Mov. Disord. Soc.* **2010**, *25* (15), 2604–2612. <https://doi.org/10.1002/mds.23192>.
- (12) Krismer, F.; Wenning, G. K. Multiple System Atrophy: Insights into a Rare and Debilitating Movement Disorder. *Nat. Rev. Neurol.* **2017**, *13* (4), 232–243. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2017.26>.
- (13) Jellinger, K. A. Multiple System Atrophy: An Oligodendroglioneuronal Synucleinopathy1. *J. Alzheimers Dis.* **2018**, *62* (3), 1141–1179. <https://doi.org/10.3233/JAD-170397>.
- (14) Gilman, S.; Wenning, G. K. Second Consensus Statement on the Diagnosis of Multiple System Atrophy. **2008**, *7*.
- (15) Freeman, R.; Wieling, W.; Axelrod, F. B.; Benditt, D. G.; Benarroch, E.; Biaggioni, I.; Cheshire, W. P.; Chelimsky, T.; Cortelli, P.; Gibbons, C. H.; Goldstein, D. S.; Hainsworth, R.; Hilz, M. J.; Jacob, G.; Kaufmann, H.; Jordan, J.; Lipsitz, L. A.; Levine, B. D.; Low, P. A.; Mathias, C.; Raj, S. R.; Robertson, D.; Sandroni, P.; Schatz, I.; Schondorff, R.; Stewart, J. M.; van Dijk, J. G. Consensus Statement on the Definition of Orthostatic Hypotension, Neurally Mediated Syncope and the Postural Tachycardia Syndrome. *Clin. Auton. Res. Off. J. Clin. Auton. Res. Soc.* **2011**, *21* (2), 69–72. <https://doi.org/10.1007/s10286-011-0119-5>.
- (16) Sun, Z.; Jia, D.; Shi, Y.; Hou, X.; Yang, X.; Guo, J.; Li, N.; Wang, J.; Sun, Q.; Zhang, H.; Lei, L.; Shen, L.; Yan, X.; Xia, K.; Jiang, H.; Tang, B. Prediction of Orthostatic Hypotension in Multiple System Atrophy and Parkinson Disease. *Sci. Rep.* **2016**, *6*, 21649. <https://doi.org/10.1038/srep21649>.
- (17) Jecmenica-Lukic, M.; Poewe, W.; Tolosa, E.; Wenning, G. K. Premotor Signs and Symptoms of Multiple System Atrophy. *Lancet Neurol.* **2012**, *11* (4), 361–368. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(12\)70022-4](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(12)70022-4).
- (18) Bajaj, S.; Krismer, F.; Palma, J.-A.; Wenning, G. K.; Kaufmann, H.; Poewe, W.; Seppi, K. Diffusion-Weighted MRI Distinguishes Parkinson Disease from the Parkinsonian Variant of Multiple System Atrophy: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLOS ONE* **2017**, *12* (12), e0189897. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0189897>.

-
- (19) Wenning, G. K.; Stankovic, I.; Vignatelli, L.; Fanciulli, A.; Calandra-Buonaura, G.; Seppi, K.; Palma, J.-A.; Meissner, W. G.; Krismer, F.; Berg, D.; Cortelli, P.; Freeman, R.; Halliday, G.; Höglinger, G.; Lang, A.; Ling, H.; Litvan, I.; Low, P.; Miki, Y.; Panicker, J.; Pellecchia, M. T.; Quinn, N.; Sakakibara, R.; Stamelou, M.; Tolosa, E.; Tsuji, S.; Warner, T.; Poewe, W.; Kaufmann, H. The Movement Disorder Society Criteria for the Diagnosis of Multiple System Atrophy. *Mov. Disord. Off. J. Mov. Disord. Soc.* **2022**. <https://doi.org/10.1002/mds.29005>.
- (20) Glass, P. G.; Lees, A. J.; Mathias, C.; Mason, L.; Best, C.; Williams, D. R.; Katzenschlager, R.; Silveira-Moriyama, L. Olfaction in Pathologically Proven Patients with Multiple System Atrophy. *Mov. Disord.* **2012**, *27* (2), 327–328. <https://doi.org/10.1002/mds.23972>.
- (21) Pellecchia, M. T.; Barone, P.; Mollica, C.; Salvatore, E.; Ianniciello, M.; Longo, K.; Varrone, A.; Vicidomini, C.; Picillo, M.; De Michele, G.; Filla, A.; Salvatore, M.; Pappatà, S. Diffusion-Weighted Imaging in Multiple System Atrophy: A Comparison between Clinical Subtypes. *Mov. Disord.* **2009**, *24* (5), 689–696. <https://doi.org/10.1002/mds.22440>.
- (22) Donadio, V.; Incensi, A.; Rizzo, G.; De Micco, R.; Tessitore, A.; Devigili, G.; Del Sorbo, F.; Bonvegna, S.; Infante, R.; Magnani, M.; Zenesini, C.; Vignatelli, L.; Cilia, R.; Eleopra, R.; Tedeschi, G.; Liguori, R. Skin Biopsy May Help to Distinguish Multiple System Atrophy–Parkinsonism from Parkinson’s Disease With Orthostatic Hypotension. *Mov. Disord.* **2020**, *35* (9), 1649–1657. <https://doi.org/10.1002/mds.28126>.
- (23) Palma, J.-A.; Norcliffe-Kaufmann, L.; Kaufmann, H. Diagnosis of Multiple System Atrophy. *Auton. Neurosci.* **2018**, *211*, 15–25. <https://doi.org/10.1016/j.autneu.2017.10.007>.
- (24) Orimo, S.; Suzuki, M.; Inaba, A.; Mizusawa, H. 123I-MIBG Myocardial Scintigraphy for Differentiating Parkinson’s Disease from Other Neurodegenerative Parkinsonism: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Parkinsonism Relat. Disord.* **2012**, *18* (5), 494–500. <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2012.01.009>.
- (25) Tolosa, E.; Garrido, A.; Scholz, S. W.; Poewe, W. Challenges in the Diagnosis of Parkinson’s Disease. *Lancet Neurol.* **2021**, *20* (5), 385–397. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(21\)00030-2](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(21)00030-2).
- (26) Koga, S.; Aoki, N.; Uitti, R. J.; van Gerpen, J. A.; Cheshire, W. P.; Josephs, K. A.; Wszolek, Z. K.; Langston, J. W.; Dickson, D. W. When DLB, PD, and PSP Masquerade as MSA: An Autopsy Study of 134 Patients. *Neurology* **2015**, *85* (5), 404–412. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000001807>.
- (27) Lin, D. J.; Hermann, K. L.; Schmahmann, J. D. The Diagnosis and Natural History of Multiple System Atrophy, Cerebellar Type. *Cerebellum Lond. Engl.* **2016**, *15* (6), 663. <https://doi.org/10.1007/s12311-015-0728-y>.
- (28) Kaufmann, H.; Norcliffe-Kaufmann, L.; Palma, J.-A.; Biaggioni, I.; Low, P. A.; Singer, W.; Goldstein, D. S.; Peltier, A. C.; Shibao, C. A.; Gibbons, C.

- H.; Freeman, R.; Robertson, D.; Autonomic Disorders Consortium. Natural History of Pure Autonomic Failure: A United States Prospective Cohort. *Ann. Neurol.* **2017**, *81* (2), 287–297. <https://doi.org/10.1002/ana.24877>.
- (29) Gazulla, J.; Errea, J.; Benavente, I.; Tordesillas, C. Improvement of Ataxia in Cortical Cerebellar Atrophy with the Drug Gabapentin. *Clin. Neuropharmacol.* **2003**, *26* (5), 225–226. <https://doi.org/10.1097/00002826-200309000-00003>.
- (30) Iranzo, A. Sleep and Breathing in Multiple System Atrophy. *Curr. Treat. Options Neurol.* **2007**, *9* (5), 347–353.
- (31) Mancini, F.; Zangaglia, R.; Cristina, S.; Sommaruga, M. G.; Martignoni, E.; Nappi, G.; Pacchetti, C. Double-Blind, Placebo-Controlled Study to Evaluate the Efficacy and Safety of Botulinum Toxin Type A in the Treatment of Drooling in Parkinsonism. *Mov. Disord. Off. J. Mov. Disord. Soc.* **2003**, *18* (6), 685–688. <https://doi.org/10.1002/mds.10420>.
- (32) Seppi, K.; Ray Chaudhuri, K.; Coelho, M.; Fox, S. H.; Katzenschlager, R.; Perez Lloret, S.; Weintraub, D.; Sampaio, C.; the collaborators of the Parkinson's Disease Update on Non-Motor Symptoms Study Group on behalf of the Movement Disorders Society Evidence-Based Medicine Committee. Update on Treatments for Nonmotor Symptoms of Parkinson's Disease—an Evidence-Based Medicine Review. *Mov. Disord. Off. J. Mov. Disord. Soc.* **2019**, *34* (2), 180–198. <https://doi.org/10.1002/mds.27602>.
- (33) Eichhorn, T. E.; Oertel, W. H. Macrogol 3350/Electrolyte Improves Constipation in Parkinson's Disease and Multiple System Atrophy. *Mov. Disord. Off. J. Mov. Disord. Soc.* **2001**, *16* (6), 1176–1177. <https://doi.org/10.1002/mds.1211>.
- (34) Lee, P. H.; Lee, J. E.; Kim, H.-S.; Song, S. K.; Lee, H. S.; Nam, H. S.; Cheong, J.-W.; Jeong, Y.; Park, H.-J.; Kim, D. J.; Nam, C. M.; Lee, J. D.; Kim, H. O.; Sohn, Y. H. A Randomized Trial of Mesenchymal Stem Cells in Multiple System Atrophy. *Ann. Neurol.* **2012**, *72* (1), 32–40. <https://doi.org/10.1002/ana.23612>.
- (35) Dehay, B.; Bourdenx, M.; Gorry, P.; Przedborski, S.; Vila, M.; Hunot, S.; Singleton, A.; Olanow, C. W.; Merchant, K. M.; Bezard, E.; Petsko, G. A.; Meissner, W. G. Targeting α -Synuclein for Treatment of Parkinson's Disease: Mechanistic and Therapeutic Considerations. *Lancet Neurol.* **2015**, *14* (8), 855–866. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(15\)00006-X](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(15)00006-X).
- (36) Armstrong, M. J.; Okun, M. S. Diagnosis and Treatment of Parkinson Disease: A Review. *JAMA* **2020**, *323* (6), 548. <https://doi.org/10.1001/jama.2019.22360>.
- (37) Bloem, B. R.; Okun, M. S.; Klein, C. Parkinson's Disease. *The Lancet* **2021**, *397* (10291), 2284–2303. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)00218-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)00218-X).
- (38) Braak, H.; Del Tredici, K.; Rüb, U.; de Vos, R. A. I.; Jansen Steur, E. N. H.; Braak, E. Staging of Brain Pathology Related to Sporadic Parkinson's

-
- Disease. *Neurobiol. Aging* **2003**, *24* (2), 197–211. [https://doi.org/10.1016/s0197-4580\(02\)00065-9](https://doi.org/10.1016/s0197-4580(02)00065-9).
- (39) Postuma, R. B.; Iranzo, A.; Hu, M.; Högl, B.; Boeve, B. F.; Manni, R.; Oertel, W. H.; Arnulf, I.; Ferini-Strambi, L.; Puligheddu, M.; Antelmi, E.; Cochen De Cock, V.; Arnaldi, D.; Mollenhauer, B.; Videnovic, A.; Sonka, K.; Jung, K.-Y.; Kunz, D.; Dauvilliers, Y.; Provini, F.; Lewis, S. J.; Buskova, J.; Pavlova, M.; Heidbreder, A.; Montplaisir, J. Y.; Santamaria, J.; Barber, T. R.; Stefani, A.; St Louis, E. K.; Terzaghi, M.; Janzen, A.; Leu-Semenescu, S.; Plazzi, G.; Nobili, F.; Sixel-Doering, F.; Dusek, P.; Bes, F.; Cortelli, P.; Ehgoetz Martens, K.; Gagnon, J.-F.; Gaig, C.; Zucconi, M.; Trenkwalder, C.; Gan-Or, Z.; Lo, C.; Rolinski, M.; Mahlknecht, P.; Holzknecht, E.; Boeve, A. R.; Teigen, L. N.; Toscano, G.; Mayer, G.; Morbelli, S.; Dawson, B.; Pelletier, A. Risk and Predictors of Dementia and Parkinsonism in Idiopathic REM Sleep Behaviour Disorder: A Multicentre Study. *Brain J. Neurol.* **2019**, *142* (3), 744–759. <https://doi.org/10.1093/brain/awz030>.
- (40) Rizzo, G.; Copetti, M.; Arcuti, S.; Martino, D.; Fontana, A.; Logroscino, G. Accuracy of Clinical Diagnosis of Parkinson Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Neurology* **2016**, *86* (6), 566–576. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000002350>.
- (41) Postuma, R. B.; Berg, D.; Stern, M.; Poewe, W.; Olanow, C. W.; Oertel, W.; Obeso, J.; Marek, K.; Litvan, I.; Lang, A. E.; Halliday, G.; Goetz, C. G.; Gasser, T.; Dubois, B.; Chan, P.; Bloem, B. R.; Adler, C. H.; Deuschl, G. MDS Clinical Diagnostic Criteria for Parkinson’s Disease. *Mov. Disord. Off. J. Mov. Disord. Soc.* **2015**, *30* (12), 1591–1601. <https://doi.org/10.1002/mds.26424>.
- (42) Postuma, R. B.; Poewe, W.; Litvan, I.; Lewis, S.; Lang, A. E.; Halliday, G.; Goetz, C. G.; Chan, P.; Slow, E.; Seppi, K.; Schaffer, E.; Rios-Romenets, S.; Mi, T.; Maetzler, C.; Li, Y.; Heim, B.; Bledsoe, I. O.; Berg, D. Validation of the MDS Clinical Diagnostic Criteria for Parkinson’s Disease. *Mov. Disord. Off. J. Mov. Disord. Soc.* **2018**, *33* (10), 1601–1608. <https://doi.org/10.1002/mds.27362>.
- (43) Suwijn, S. R.; van Boheemen, C. J.; de Haan, R. J.; Tissingh, G.; Booij, J.; de Bie, R. M. The Diagnostic Accuracy of Dopamine Transporter SPECT Imaging to Detect Nigrostriatal Cell Loss in Patients with Parkinson’s Disease or Clinically Uncertain Parkinsonism: A Systematic Review. *EJNMMI Res.* **2015**, *5*, 12. <https://doi.org/10.1186/s13550-015-0087-1>.
- (44) Hussl, A.; Mahlknecht, P.; Scherfler, C.; Esterhammer, R.; Schocke, M.; Poewe, W.; Seppi, K. Diagnostic Accuracy of the Magnetic Resonance Parkinsonism Index and the Midbrain-to-Pontine Area Ratio to Differentiate Progressive Supranuclear Palsy from Parkinson’s Disease and the Parkinson Variant of Multiple System Atrophy. *Mov. Disord. Off. J. Mov. Disord. Soc.* **2010**, *25* (14), 2444–2449. <https://doi.org/10.1002/mds.23351>.

-
- (45) Macleod, A. D.; Taylor, K. S. M.; Counsell, C. E. Mortality in Parkinson's Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Mov. Disord. Off. J. Mov. Disord. Soc.* **2014**, *29* (13), 1615–1622. <https://doi.org/10.1002/mds.25898>.
- (46) Pennington, S.; Snell, K.; Lee, M.; Walker, R. The Cause of Death in Idiopathic Parkinson's Disease. *Parkinsonism Relat. Disord.* **2010**, *16* (7), 434–437. <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2010.04.010>.
- (47) Müller, T. Catechol-O-Methyltransferase Inhibitors in Parkinson's Disease. *Drugs* **2015**, *75* (2), 157–174. <https://doi.org/10.1007/s40265-014-0343-0>.
- (48) Fox, S. H.; Katzenschlager, R.; Lim, S.-Y.; Ravina, B.; Seppi, K.; Coelho, M.; Poewe, W.; Rascol, O.; Goetz, C. G.; Sampaio, C. The Movement Disorder Society Evidence-Based Medicine Review Update: Treatments for the Motor Symptoms of Parkinson's Disease. *Mov. Disord. Off. J. Mov. Disord. Soc.* **2011**, *26 Suppl 3*, S2-41. <https://doi.org/10.1002/mds.23829>.
- (49) Bratsos, S.; Karponis, D.; Saleh, S. N. Efficacy and Safety of Deep Brain Stimulation in the Treatment of Parkinson's Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Cureus* **2018**, *10* (10), e3474. <https://doi.org/10.7759/cureus.3474>.
- (50) Perez-Lloret, S.; Rey, M. V.; Pavy-Le Traon, A.; Rascol, O. Emerging Drugs for Autonomic Dysfunction in Parkinson's Disease. *Expert Opin. Emerg. Drugs* **2013**, *18* (1), 39–53. <https://doi.org/10.1517/14728214.2013.766168>.
- (51) Connolly, B.; Fox, S. H. Treatment of Cognitive, Psychiatric, and Affective Disorders Associated with Parkinson's Disease. *Neurother. J. Am. Soc. Exp. Neurother.* **2014**, *11* (1), 78–91. <https://doi.org/10.1007/s13311-013-0238-x>.
- (52) Garg, N.; Smith, T. W. An Update on Immunopathogenesis, Diagnosis, and Treatment of Multiple Sclerosis. *Brain Behav.* **2015**, *5* (9). <https://doi.org/10.1002/brb3.362>.
- (53) Magliozzi, R.; Reynolds, R.; Calabrese, M. MRI of Cortical Lesions and Its Use in Studying Their Role in MS Pathogenesis and Disease Course. *Brain Pathol.* **2018**, *28* (5), 735–742. <https://doi.org/10.1111/bpa.12642>.
- (54) Klaver, R.; Popescu, V.; Voorn, P.; Galis-de Graaf, Y.; van der Valk, P.; de Vries, H. E.; Schenk, G. J.; Geurts, J. J. G. Neuronal and Axonal Loss in Normal-Appearing Gray Matter and Subpial Lesions in Multiple Sclerosis. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* **2015**, *74* (5), 453–458. <https://doi.org/10.1097/NEN.000000000000189>.
- (55) Gh Popescu, B. F.; Lucchinetti, C. F. Meningeal and Cortical Grey Matter Pathology in Multiple Sclerosis. *BMC Neurol.* **2012**, *12* (1), 11. <https://doi.org/10.1186/1471-2377-12-11>.
- (56) Pengo, M.; Miante, S.; Franciotta, S.; Ponzano, M.; Torresin, T.; Bovis, F.; Rinaldi, F.; Perini, P.; Saiani, M.; Margoni, M.; Bertoldo, A.; Sormani, M. P.; Pilotto, E.; Midena, E.; Gallo, P.; Puthenparampil, M. Retinal Hyperreflecting Foci Associate With Cortical Pathology in Multiple

Sclerosis. *Neurol. - Neuroimmunol. Neuroinflammation* **2022**, 9 (4).
<https://doi.org/10.1212/NXI.0000000000001180>.

- (57) Tong, J.; Ang, L.-C.; Williams, B.; Furukawa, Y.; Fitzmaurice, P.; Guttman, M.; Boileau, I.; Hornykiewicz, O.; Kish, S. J. Low Levels of Astroglial Markers in Parkinson's Disease: Relationship to α -Synuclein Accumulation. *Neurobiol. Dis.* **2015**, 82, 243–253. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2015.06.010>.
- (58) Monzio Compagnoni, G.; Di Fonzo, A. Understanding the Pathogenesis of Multiple System Atrophy: State of the Art and Future Perspectives. *Acta Neuropathol. Commun.* **2019**, 7 (1), 113. <https://doi.org/10.1186/s40478-019-0730-6>.
- (59) Stefanova, N.; Reindl, M.; Neumann, M.; Kahle, P. J.; Poewe, W.; Wenning, G. K. Microglial Activation Mediates Neurodegeneration Related to Oligodendroglial Alpha-Synucleinopathy: Implications for Multiple System Atrophy. *Mov. Disord. Off. J. Mov. Disord. Soc.* **2007**, 22 (15), 2196–2203. <https://doi.org/10.1002/mds.21671>.
- (60) Stefanova, N.; Georgievska, B.; Eriksson, H.; Poewe, W.; Wenning, G. K. Myeloperoxidase Inhibition Ameliorates Multiple System Atrophy-like Degeneration in a Transgenic Mouse Model. *Neurotox. Res.* **2012**, 21 (4), 393–404. <https://doi.org/10.1007/s12640-011-9294-3>.
- (61) Donadio, V.; Wang, Z.; Incensi, A.; Rizzo, G.; Fileccia, E.; Vacchiano, V.; Capellari, S.; Magnani, M.; Scaglione, C.; Stanzani Maserati, M.; Avoni, P.; Liguori, R.; Zou, W. In Vivo Diagnosis of Synucleinopathies: A Comparative Study of Skin Biopsy and RT-QuIC. *Neurology* **2021**, 96 (20), e2513–e2524. <https://doi.org/10.1212/WNL.00000000000011935>.
- (62) London, A.; Benhar, I.; Schwartz, M. The Retina as a Window to the Brain—from Eye Research to CNS Disorders. *Nat. Rev. Neurol.* **2013**, 9 (1), 44–53. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2012.227>.
- (63) Anastasi, G.; Capitani S.; Carnazza M.L.; Cinti S.; Cremona O.; De Caro R. *Trattato Di Anatomia Umana*, 2010th ed.; EdiErmes: Milano; Vol. 3.
- (64) Aumann, S.; Donner, S.; Fischer, J.; Müller, F. Optical Coherence Tomography (OCT): Principle and Technical Realization. In *High Resolution Imaging in Microscopy and Ophthalmology*; Bille, J. F., Ed.; Springer International Publishing: Cham, 2019; pp 59–85. https://doi.org/10.1007/978-3-030-16638-0_3.
- (65) Schneider, M.; Müller, H.-P.; Lauda, F.; Tumani, H.; Ludolph, A. C.; Kassubek, J.; Pinkhardt, E. H. Retinal Single-Layer Analysis in Parkinsonian Syndromes: An Optical Coherence Tomography Study. *J. Neural Transm.* **2014**, 121 (1), 41–47. <https://doi.org/10.1007/s00702-013-1072-3>.
- (66) Ma, X.; Wang, Y.; Wang, N.; Zhang, R. Retina Thickness in Atypical Parkinsonism: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J. Neurol.* **2022**, 269 (3), 1272–1281. <https://doi.org/10.1007/s00415-021-10703-6>.

-
- (67) Albrecht, P.; Müller, A.-K.; Südmeyer, M.; Ferrea, S.; Ringelstein, M.; Cohn, E.; Aktas, O.; Dietlein, T.; Lappas, A.; Foerster, A.; Hartung, H.-P.; Schnitzler, A.; Methner, A. Optical Coherence Tomography in Parkinsonian Syndromes. *PLoS ONE* **2012**, *7* (4), e34891. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0034891>.
- (68) Fischer, M. D.; Synofzik, M.; Heidlauf, R.; Schicks, J.; Srulijes, K.; Kernstock, C.; Berg, D.; Schöls, L.; Schiefer, U. Retinal Nerve Fiber Layer Loss in Multiple System Atrophy. *Mov. Disord.* **2011**, *26* (5), 914–916. <https://doi.org/10.1002/mds.23523>.
- (69) Alkabie, S.; Lange, A.; Manogaran, P.; Stoessl, A. J.; Costello, F.; Barton, J. J. S. Optical Coherence Tomography of Patients with Parkinson's Disease and Progressive Supranuclear Palsy. *Clin. Neurol. Neurosurg.* **2020**, *189*, 105635. <https://doi.org/10.1016/j.clineuro.2019.105635>.
- (70) Adhi, M.; Aziz, S.; Muhammad, K.; Adhi, M. I. Macular Thickness by Age and Gender in Healthy Eyes Using Spectral Domain Optical Coherence Tomography. *PLoS ONE* **2012**, *7* (5), e37638. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0037638>.
- (71) Carbonelli, M.; La Morgia, C.; Savini, G.; Cascavilla, M. L.; Borrelli, E.; Chicani, F.; do V. F. Ramos, C.; Salomao, S. R.; Parisi, V.; Sebag, J.; Bandello, F.; Sadun, A. A.; Carelli, V.; Barboni, P. Macular Microcysts in Mitochondrial Optic Neuropathies: Prevalence and Retinal Layer Thickness Measurements. *PLOS ONE* **2015**, *10* (6), e0127906. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0127906>.
- (72) Chrysou, A.; Jansonius, N. M.; van Laar, T. Retinal Layers in Parkinson's Disease: A Meta-Analysis of Spectral-Domain Optical Coherence Tomography Studies. *Parkinsonism Relat. Disord.* **2019**, *64*, 40–49. <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2019.04.023>.
- (73) Satue, M.; Rodrigo, M. J.; Obis, J.; Vilades, E.; Gracia, H.; Otin, S.; Fuertes, M. I.; Alarcia, R.; Crespo, J. A.; Polo, V.; Larrosa, J. M.; Pablo, L. E.; Garcia-Martin, E. Evaluation of Progressive Visual Dysfunction and Retinal Degeneration in Patients With Parkinson's Disease. *Investig. Ophthalmology Vis. Sci.* **2017**, *58* (2), 1151. <https://doi.org/10.1167/iovs.16-20460>.
- (74) Huang, L.; Wang, C.; Wang, W.; Wang, Y.; Zhang, R. The Specific Pattern of Retinal Nerve Fiber Layer Thinning in Parkinson's Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J. Neurol.* **2021**, *268* (11), 4023–4032. <https://doi.org/10.1007/s00415-020-10094-0>.
- (75) Hajee, M. E.; March, W. F.; Lazzaro, D. R.; Wolintz, A. H.; Shrier, E. M.; Glazman, S.; Bodis-Wollner, I. G. Inner Retinal Layer Thinning in Parkinson Disease. *Arch. Ophthalmol. Chic. Ill 1960* **2009**, *127* (6), 737–741. <https://doi.org/10.1001/archophthalmol.2009.106>.
- (76) Veys, L.; Vandenabeele, M.; Ortuño-Lizarán, I.; Baekelandt, V.; Cuenca, N.; Moons, L.; De Groef, L. Retinal α -Synuclein Deposits in Parkinson's

-
- Disease Patients and Animal Models. *Acta Neuropathol. (Berl.)* **2019**, *137* (3), 379–395. <https://doi.org/10.1007/s00401-018-01956-z>.
- (77) Britze, J.; Frederiksen, J. L. Optical Coherence Tomography in Multiple Sclerosis. *Eye* **2018**, *32* (5), 884–888. <https://doi.org/10.1038/s41433-017-0010-2>.
- (78) Toosy, A. T.; Mason, D. F.; Miller, D. H. Optic Neuritis. *Lancet Neurol.* **2014**, *13* (1), 83–99. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(13\)70259-X](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(13)70259-X).
- (79) Thompson, A. J.; Banwell, B. L.; Barkhof, F.; Carroll, W. M.; Coetzee, T.; Comi, G.; Correale, J.; Fazekas, F.; Filippi, M.; Freedman, M. S.; Fujihara, K.; Galetta, S. L.; Hartung, H. P.; Kappos, L.; Lublin, F. D.; Marrie, R. A.; Miller, A. E.; Miller, D. H.; Montalban, X.; Mowry, E. M.; Sorensen, P. S.; Tintoré, M.; Traboulsee, A. L.; Trojano, M.; Uitdehaag, B. M. J.; Vukusic, S.; Waubant, E.; Weinshenker, B. G.; Reingold, S. C.; Cohen, J. A. Diagnosis of Multiple Sclerosis: 2017 Revisions of the McDonald Criteria. *Lancet Neurol.* **2018**, *17* (2), 162–173. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(17\)30470-2](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(17)30470-2).
- (80) Wenning, G. K.; Tison, F.; Seppi, K.; Sampaio, C.; Diem, A.; Yekhlief, F.; Ghorayeb, I.; Ory, F.; Galitzky, M.; Scaravilli, T.; Bozi, M.; Colosimo, C.; Gilman, S.; Shults, C. W.; Quinn, N. P.; Rascol, O.; Poewe, W.; and the Multiple System Atrophy Study Group. Development and Validation of the Unified Multiple System Atrophy Rating Scale (UMSARS). *Mov. Disord.* **2004**, *19* (12), 1391–1402. <https://doi.org/10.1002/mds.20255>.
- (81) Goetz, C. G.; Fahn, S.; Martinez-Martin, P.; Poewe, W.; Sampaio, C.; Stebbins, G. T.; Stern, M. B.; Tilley, B. C.; Dodel, R.; Dubois, B.; Holloway, R.; Jankovic, J.; Kulisevsky, J.; Lang, A. E.; Lees, A.; Leurgans, S.; LeWitt, P. A.; Nyenhuis, D.; Olanow, C. W.; Rascol, O.; Schrag, A.; Teresi, J. A.; Van Hilten, J. J.; LaPelle, N. Movement Disorder Society-Sponsored Revision of the Unified Parkinson's Disease Rating Scale (MDS-UPDRS): Process, Format, and Clinimetric Testing Plan. *Mov. Disord. Off. J. Mov. Disord. Soc.* **2007**, *22* (1), 41–47. <https://doi.org/10.1002/mds.21198>.
- (82) Goetz, C. G.; Tilley, B. C.; Shaftman, S. R.; Stebbins, G. T.; Fahn, S.; Martinez-Martin, P.; Poewe, W.; Sampaio, C.; Stern, M. B.; Dodel, R.; Dubois, B.; Holloway, R.; Jankovic, J.; Kulisevsky, J.; Lang, A. E.; Lees, A.; Leurgans, S.; LeWitt, P. A.; Nyenhuis, D.; Olanow, C. W.; Rascol, O.; Schrag, A.; Teresi, J. A.; van Hilten, J. J.; LaPelle, N. Movement Disorder Society-Sponsored Revision of the Unified Parkinson's Disease Rating Scale (MDS-UPDRS): Scale Presentation and Clinimetric Testing Results. *Mov. Disord.* **2008**, *23* (15), 2129–2170. <https://doi.org/10.1002/mds.22340>.
- (83) Sletten, D. M.; Suarez, G. A.; Low, P. A.; Mandrekar, J.; Singer, W. COMPASS 31: A Refined and Abbreviated Composite Autonomic Symptom Score. *Mayo Clin. Proc.* **2012**, *87* (12), 1196–1201. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2012.10.013>.
- (84) Ferreira, J.; Alves, M.; Dias-Santos, A.; Costa, L.; Santos, B.; Cunha, J.; Papoila, A. L.; Abegao Pinto, L. Retinal Neurodegeneration in Diabetic

-
- Patients Without Diabetic Retinopathy. *Investig. Ophthalmology Vis. Sci.* **2016**, *57*, 6455. <https://doi.org/10.1167/iovs.16-20215>.
- (85) Tewarie, P.; Balk, L.; Costello, F.; Green, A.; Martin, R.; Schippling, S.; Petzold, A. The OSCAR-IB Consensus Criteria for Retinal OCT Quality Assessment. *PLoS ONE* **2012**, *7* (4), e34823. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0034823>.
- (86) Cruz-Herranz, A.; Balk, L. J.; Oberwahrenbrock, T.; Saidha, S.; Martinez-Lapiscina, E. H.; Lagreze, W. A.; Schuman, J. S.; Villoslada, P.; Calabresi, P.; Balcer, L.; Petzold, A.; Green, A. J.; Paul, F.; Brandt, A. U.; Albrecht, P. The APOSTEL Recommendations for Reporting Quantitative Optical Coherence Tomography Studies. *Neurology* **2016**, *86* (24), 2303–2309. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000002774>.
- (87) Berek, K.; Hegen, H.; Hoher, J.; Auer, M.; Di Pauli, F.; Krajnc, N.; Angermann, R.; Barket, R.; Zinganell, A.; Riedl, K.; Deisenhammer, F.; Berger, T.; Bsteh, G. Retinal Layer Thinning as a Biomarker of Long-Term Disability Progression in Multiple Sclerosis. *Mult. Scler. Houndmills Basingstoke Engl.* **2022**, 13524585221097566. <https://doi.org/10.1177/13524585221097566>.
- (88) Petzold, A.; Balcer, L. J.; Calabresi, P. A.; Costello, F.; Frohman, T. C.; Frohman, E. M.; Martinez-Lapiscina, E. H.; Green, A. J.; Kardon, R.; Outteryck, O.; Paul, F.; Schippling, S.; Vermersch, P.; Villoslada, P.; Balk, L. J.; Aktas, O.; Albrecht, P.; Ashworth, J.; Asgari, N.; Balcer, L.; Balk, L.; Black, G.; Boehringer, D.; Behbehani, R.; Benson, L.; Bermel, R.; Bernard, J.; Brandt, A.; Burton, J.; Calabresi, P.; Calkwood, J.; Cordano, C.; Costello, F.; Courtney, A.; Cruz-Herranz, A.; Diem, R.; Daly, A.; Dollfus, H.; Fasser, C.; Finke, C.; Frederiksen, J.; Frohman, E.; Frohman, T.; Garcia-Martin, E.; Suárez, I. G.; Pihl-Jensen, G.; Graves, J.; Green, A.; Havla, J.; Hemmer, B.; Huang, S.-C.; Imitola, J.; Jiang, H.; Keegan, D.; Kildebeck, E.; Klistorner, A.; Knier, B.; Kolbe, S.; Korn, T.; LeRoy, B.; Leocani, L.; Leroux, D.; Levin, N.; Liskova, P.; Lorenz, B.; Preiningerova, J. L.; Martínez-Lapiscina, E. H.; Mikolajczak, J.; Montalban, X.; Morrow, M.; Nolan, R.; Oberwahrenbrock, T.; Oertel, F. C.; Oreja-Guevara, C.; Osborne, B.; Outteryck, O.; Papadopoulou, A.; Paul, F.; Petzold, A.; Ringelstein, M.; Saidha, S.; Sanchez-Dalmau, B.; Sastre-Garriga, J.; Schippling, S.; Shin, R.; Shuey, N.; Soelberg, K.; Toosy, A.; Torres, R.; Vidal-Jordana, A.; Villoslada, P.; Waldman, A.; White, O.; Yeh, A.; Wong, S.; Zimmermann, H. Retinal Layer Segmentation in Multiple Sclerosis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Lancet Neurol.* **2017**, *16* (10), 797–812. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(17\)30278-8](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(17)30278-8).
- (89) Mailankody, P.; Lenka, A.; Pal, P. K. The Role of Optical Coherence Tomography in Parkinsonism: A Critical Review. *J. Neurol. Sci.* **2019**, *403*, 67–74. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2019.06.009>.
- (90) Liets, L. C.; Eliasieh, K.; van der List, D. A.; Chalupa, L. M. Dendrites of Rod Bipolar Cells Sprout in Normal Aging Retina. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2006**, *103* (32), 12156–12160. <https://doi.org/10.1073/pnas.0605211103>.

-
- (91) Chorostecki, J.; Seraji-Bozorgzad, N.; Shah, A.; Bao, F.; Bao, G.; George, E.; Gorden, V.; Caon, C.; Frohman, E.; Bhatti, M. T.; Khan, O. Characterization of Retinal Architecture in Parkinson's Disease. *J. Neurol. Sci.* **2015**, *355* (1–2), 44–48. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2015.05.007>.
- (92) Unlu, M.; Gulmez Sevim, D.; Gultekin, M.; Karaca, C. Correlations among Multifocal Electroretinography and Optical Coherence Tomography Findings in Patients with Parkinson's Disease. *Neurol. Sci. Off. J. Ital. Neurol. Soc. Ital. Soc. Clin. Neurophysiol.* **2018**, *39* (3), 533–541. <https://doi.org/10.1007/s10072-018-3244-2>.
- (93) Martínez-Navarrete, G. C.; Martín-Nieto, J.; Esteve-Rudd, J.; Angulo, A.; Cuenca, N. Alpha Synuclein Gene Expression Profile in the Retina of Vertebrates. *Mol. Vis.* **2007**, *13*, 949–961.
- (94) Mendoza-Santiesteban, C. E.; Palma, J.-A.; Ortuño-Lizarán, I.; Cuenca, N.; Kaufmann, H. Pathologic Confirmation of Retinal Ganglion Cell Loss in Multiple System Atrophy. *Neurology* **2017**, *88* (23), 2233–2235. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000004020>.
- (95) Chua, J.; Tham, Y. C.; Tan, B.; Devarajan, K.; Schwarzhans, F.; Gan, A.; Wong, D.; Cheung, C. Y.; Majithia, S.; Thakur, S.; Fischer, G.; Vass, C.; Cheng, C.-Y.; Schmetterer, L. Age-Related Changes of Individual Macular Retinal Layers among Asians. *Sci. Rep.* **2019**, *9*, 20352. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-56996-6>.
- (96) Ahn, J.; Lee, J.-Y.; Kim, T. W. Retinal Thinning Correlates with Clinical Severity in Multiple System Atrophy. *J. Neurol.* **2016**, *263* (10), 2039–2047. <https://doi.org/10.1007/s00415-016-8230-0>.
- (97) Altıntaş, O.; Işeri, P.; Ozkan, B.; Çağlar, Y. Correlation between Retinal Morphological and Functional Findings and Clinical Severity in Parkinson's Disease. *Doc. Ophthalmol. Adv. Ophthalmol.* **2008**, *116* (2), 137–146. <https://doi.org/10.1007/s10633-007-9091-8>.
- (98) Pilotto, E.; Mianite, S.; Torresin, T.; Puthenparampil, M.; Frizziero, L.; Federle, L.; Gallo, P.; Midena, E. Hyperreflective Foci in the Retina of Active Relapse-Onset Multiple Sclerosis. *Ophthalmology* **2020**, *127* (12), 1774–1776. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2020.03.024>.
- (99) Rathnasamy, G.; Foulds, W. S.; Ling, E.-A.; Kaur, C. Retinal Microglia - A Key Player in Healthy and Diseased Retina. *Prog. Neurobiol.* **2019**, *173*, 18–40. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2018.05.006>.

