UNIVERSITÀ DI PARMA

DIPARTIMENTO DI MEDICINA E CHIRURGIA

CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN PSICOBIOLOGIA E NEUROSCIENZE COGNITIVE

RUOLO DEI NUOVI INIBITORI DELLE MONOAMINO-OSSIDASI NEL CONTROLLO DEI DISTURBI DEL SONNO NEI PAZIENTI CON MALATTIA DI PARKINSON

Relatore:

Chiar.mo Prof. **ENZO POLI**

Correlatore:

Dr.Ssa **CARLOTTA MUTTI**

Controrelatore:

Chiar.mo Prof. **LIBORIO PARRINO**

Laureanda:

ROBERTA BEATRICE SARNATARO

ANNO ACCADEMICO 2020-2021

Abstract

Introduzione: la malattia di Parkinson è una patologia neurodegenerativa associata a carenza di dopamina a livello nigrostriatale. Sebbene classicamente sia sempre stata associata alla triade sintomatologica motoria, quali tremore a riposo, rigidità e bradicinesia, è ormai noto da tempo che i pazienti presentino molti altri sintomi non motori, i quali impattano ugualmente sulla loro qualità di vita. I disturbi del sonno sono tra i più importanti problemi non motori associati alla malattia di Parkinson e riconoscono una patogenesi complessa. È noto che alcuni farmaci anti-Parkinson possano influenzare la qualità del sonno o lo stato di vigilanza nei pazienti parkinsoniani. Abbiamo deciso di analizzare l'influenza degli inibitori delle monoamino-ossidasi di tipo B (IMAO-B) nel modulare la qualità del sonno nella malattia di Parkinson.

Metodi. In questo studio monocentrico con disegno caso-controllo sono stati confrontati tra loro pazienti in monoterapia con dopamino-agonisti con pazienti in politerapia con dopamino-agonisti e IMAO-B, regolarmente in cura presso l'ambulatorio malattie extrapiramidali dell'UOC di Neurologia dell'AOU di Parma. Ai pazienti sono stati somministrati tre questionari validati per la valutazione della sonnolenza diurna, della qualità del sonno e della qualità della vita (ESS, PSQI, SF-36).

Risultati. I pazienti in terapia con IMAO-B presentavano complessivamente una migliore qualità del sonno ed una riduzione della sonnolenza diurna rispetto ai pazienti trattati con il solo dopamino-agonista. Differenze significative sono state riscontrate anche nel rapporto energia/stanchezza, nel benessere emotivo, e nel funzionamento sociale (componenti del questionario SF-36).

Conclusioni. Sebbene lo studio sia limitato da una ridotta numerosità campionaria, i nostri risultati documentano un miglioramento della qualità del sonno e di alcuni parametri della qualità della vita nei pazienti in terapia con IMAO-B. Sono necessari ulteriori studi su casistiche più ampie e, idealmente, comprensivi anche di indagini strumentali, per confermare l'impatto di questi farmaci sulla sintomatologia non motoria associata alla malattia di Parkinson.

Role of new monoamine oxidase inhibitors in the control of sleep disorders in patients with Parkinson's disease

Introduction: Parkinson's disease is a neurodegenerative disorder, primarily caused by dopamine deficiency in the nigrostriatal area. The disease manifests itself with a classic motor triad, namely tremor at rest, rigidity and bradykinesia, that overshadows the other non-motor symptoms, despite their significant impact on the quality of life of the patients. Among these symptoms, sleep disturbances represent a typical feature of the disease, characterized by a complex pathogenesis. It is known that some antiparkinsonian drugs can influence the quality of sleep or daytime sleepiness in parkinsonian patients. Therefore, we decided to analyze the effects of monoamine oxidase inhibitors type B (IMAO-B) over the quality of sleep in Parkinson's disease.

Methods. In this single-center study with case-control design, patients in monotherapy with dopaminergic agonists were compared with patients in polytherapy with the association dopaminergic agonists - IMAO-B. The patients are being treated at the outpatient clinic for extrapyramidal disorders of the Neurology Unit of the AOU of Parma. Patients were given three validated questionnaires, to assess daytime sleepiness, overall quality of sleep and perceived quality of life (ESS, PSQI, SF-36).

Results. Patients treated with IMAO-B showed a better quality of sleep and a reduction in daytime sleepiness, when compared with patients treated with dopaminergic agonists. Significant differences were also found in energy/fatigue ratio, emotional well-being and social functioning (components of the SF-36 questionnaire).

Conclusions: Although the study is limited by the small sample size, our results suggest an improvement in the quality of sleep and in the quality of life in patients on IMAO- B medications. Further studies carried out with larger size samples and instrumental analysis are required, to confirm the impact of these medications on the non-motor symptoms associated with Parkinson's disease.

Indice

Capitolo 1: La malattia di Parkinson 7

Introduzione 7

Cenni di neurofisiologia 10

Classificazione dei parkinsonismi primitivi 11

Parkinsonismi secondari 13

Fattori genetici 14

Opzioni terapeutiche: i principali farmaci antiparkinson 17

Dopamino-agonisti 20

Inibitori delle acetilcolinesterasi 22

Capitolo 2: il sonno nel soggetto parkinsoniano 25

Generalità 25

Basi neuroanatomiche e funzionali 26

Stadi del sonno 27

Introduzione 35

Obiettivi dello studio 35

Metodi 36

Soggetti 36

Strumenti 37

Procedura 38

Analisi 38

Risultati 39

Discussione 45

Conclusione 49

Bibliografia 50

Appendice 1: criteri di scoring RAND-36 54

Capitolo 1: La malattia di Parkinson

Introduzione

La malattia di Parkinson fu descritta per la prima volta da James Parkinson nel 1817, come "paralisi agitante" (*shaking palsy*). Ad oggi, il morbo di Parkinson viene definito come una malattia neurodegenerativa progressiva che interessa il sistema nervoso centrale, manifestantesi con disturbi del movimento, tipicamente *discinesie*, cui si associa una sintomatologia variegata. Alcuni di questi sintomi derivano da un'alterazione del controllo motorio e sono comuni a diverse patologie, denominate collettivamente *Parkinsonismi*, i quali verranno approfonditi successivamente.

La malattia di Parkinson non ha sempre una causa nota, si tratta dunque nella maggior parte dei casi di una malattia *idiopatica.* Esistono tuttavia parkinsonismi che hanno una causa definita, ad esempio quelli di origine vascolare, che sono tipicamente secondari a fenomeni ischemici o emorragici. L'origine può essere traumatica e si verifica caratteristicamente nel caso degli sport da contatto, tipicamente il pugilato, come successo in maniera emblematica a Mohammed Alì, ben noto ex-pugile americano. Inoltre, i segni e sintomi della malattia di Parkinson si possono riscontrare in soggetti che hanno subito un'esposizione a sostanze tossiche, come il manganese ed altri metalli pesanti, oppure a particolari sostanze come la MPTP (N-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetraidropiridina), un sottoprodotto della sintesi clandestina di composti oppiacei come la petidina, che viene inavvertitamente assunto insieme al farmaco oppioide da chi ne faccia abuso.

A prescindere dalla causa, il meccanismo patogenetico alla base dello sviluppo della malattia di Parkinson è da ritrovarsi nella perdita di neuroni dopaminergici a livello della *substantia nigra*, componente dei gangli della base, strutture del sistema extrapiramidale implicate nel controllo motorio. Si è osservato che i soggetti affetti da tale malattia presentano, a livello di queste strutture, agglomerati citoplasmatici ed extracellulari costituiti da *α-sinucleina*, denominati *corpi di Lewy (*Lashuel, 2020); tali aggregati proteici sono riscontrabili, oltre che nel Parkinson, in altre patologie

neurodegenerative, come ad esempio la Malattia di Alzheimer e la Demenza a corpi di Lewy (Federico *et al.,* 2014).

Si ipotizza che, a seguito dell'accumulo di corpi di Lewy nel citoplasma neuronale, venga innescato un processo di apoptosi cellulare, esitante nella depauperazione dei neuroni dopaminergici che proiettano verso il nucleo striato, compromettendo il corretto funzionamento dei network di controllo motorio sottocorticali. I sintomi cominciano a comparire quando la popolazione di neuroni dopaminergici è ridotta di circa il 70-80%.

Nella malattia di Parkinson idiopatica la causa scatenante di questa degenerazione è ancora ignota; tuttavia, sono state formulate diverse ipotesi in merito. Si pensa che nello sviluppo dei corpi di Lewy siano coinvolte diverse proteine, fisiologicamente importanti per i processi di neurotrasmissione: tra queste annoveriamo la già citata α-*sinucleina*, normalmente deputata alla degradazione delle vescicole sinaptiche, e le *ubiquitine*, implicate nella degradazione delle proteine intracellulari. La mancata attività di tali proteine ed il successivo accumulo di proteine non processate creano un ambiente sfavorevole, che porta al rilascio di mediatori proinfiammatori, produzione di radicali liberi dell'ossigeno e conseguente aumento dello stress ossidativo, preludio di morte cellulare (Federico *et al*.,2014).

Il sistema colinergico e la malattia di Parkinson

Le tre principali strutture con proiezioni colinergiche nell'encefalo sono: *il complesso basale del prosencefalo*, che costituisce la principale afferenza colinergica della corteccia cerebrale, e che sappiamo essere colpita nella malattia di Parkinson (Mesulam, & Geula, 1988); *il nucleo pedunculo-pontino* ed il *complesso tegmentale laterodorsale*, un centro del tronco encefalico che fornisce afferenze colinergiche al talamo, al cervelletto, a diversi altri nuclei del tronco encefalico, ad alcuni neuroni striatali e al midollo spinale (Hecker *et al.,*1992).

Nella malattia di Parkinson, conseguentemente alla riduzione del tono dopaminergico, si assiste ad un ipertono della trasmissione colinergica, sostenuta dagli interneuroni striatali; la funzione

fisiologica di tali interneuroni consiste nella modulazione dell'eccitabilità neuronale, soprattutto dei motoneuroni a proiezione spinale, ed è ipotizzato, ma ancora oggetto di studio, il ruolo di tali neuroni nella regolazione della plasticità sinaptica a livello striatale.

La manifestazione clinica di questa ipersensibilizzazione è data dalla componente ipocinetica della sintomatologia parkinsoniana (Tanimura *et al*., 2018).

Alcuni lavori hanno indagato il ruolo della neurotrasmissione colinergica sulla modulazione del rilascio di dopamina: difatti, pare che la modulazione colinergica faciliti il rilascio di dopamina a seguito di un potenziale di azione, ma al contempo ne limiti la secrezione in seguito ad un *burst* di potenziali d'azione; contrariamente, l'inibizione o l'antagonismo dei recettori colinergici determinava un aumento del rilascio di dopamina durante i *burst* di potenziali d'azione (Zhou *et al*.,2001; Exley & Cragg, 2008).

Alla luce di quanto esposto, si comprende il razionale di utilizzo di farmaci inibitori di tale neurotrasmissione, somministrati in associazione a farmaci mirati al ripristino del tono dopaminergico (Tanimura *et al*., 2018).

Anche se la malattia di Parkinson viene tradizionalmente considerata come una sindrome motoria secondaria alla denervazione dopaminergica nigrostriatale, studi recenti focalizzano la propria attenzione sulle caratteristiche non motorie di questa patologia (Bohnen & Albin, 2011).

Le comorbidità non motorie, come ad esempio il deterioramento cognitivo, sono probabilmente il risultato di una complessa compresenza di degenerazioni multisistemiche e carenze di neurotrasmettitori, che si estendono ben oltre la classica concezione della perdita di neuroni dopaminergici nigrostriatali; un riscontro caratteristico nella demenza parkinsoniana è la presenza di corpi di Lewy. Lewy ha identificato per primo queste strutture microfibrillari nei neuroni del nucleo basale di Meynert, fonte dell'innervazione colinergica della corteccia cerebrale (Bohnen & Albin, 2011).

Anche se la denervazione colinergica è riconosciuta come caratteristica della malattia di Alzheimer, gli studi di neuroimaging in vivo effettuati su pazienti parkinsoniani con demenza hanno rivelato che

la perdita di marcatori colinergici cerebrali risulta sovrapponibile, se non più grave, rispetto al prototipo, la demenza di Alzheimer. Tali studi di imaging concordano con i riscontri anatomopatologici post-mortem, che suggeriscono che la degenerazione del sistema colinergico del proencefalo basale appaia presto nella malattia di Parkinson, peggiorando in coincidenza con l'esordio clinico della demenza (Bohnen & Albin, 2011).

Recenti evidenze indicano anche che la denervazione colinergica subcorticale, probabilmente causata dalla degenerazione dei neuroni del nucleo pedunculo-pontino del tronco encefalico, potrebbe essere correlata alla presenza dei disturbi dell'andatura e dell'equilibrio non dipendenti dalla dopamina, comprese le cadute, nella malattia di Parkinson (Bohnen & Albin, 2011).

Cenni di neurofisiologia

Vi sono stati molteplici studi mirati a comprendere come la perdita di input dopaminergico ai neuroni del neostriato possa dare origine alle manifestazioni cliniche del PD (Hornykiewicz, 1973). I gangli della base possono essere considerati come un circuito modulatore, che regola il flusso di informazioni dalla corteccia motoria ai motoneuroni spinali (Albin *et al.,*1989).

Il *neostriato* è la principale struttura di input dei gangli della base, che riceve afferenze glutammatergiche eccitatorie da molteplici aree corticali; la maggior parte dei neuroni dello striato sono neuroni di *relay*, ovvero di ritrasmissione proiettanti alla corteccia, e dal punto di vista funzionale ciò significa che vi è un continuo controllo sull'esecuzione motoria attraverso questo circuito di strutture sottocorticali.

I neuroni di relay sopra citati proiettano anche ad altre strutture dei gangli della base: un piccolo ma importante gruppo di neuroni striatali è costituito da interneuroni, che fungono da canale di comunicazione tra i neuroni striatali, permettendone la sincronizzazione (Brunton *et al.*, 2017). L'attività principale di questi neuroni è la facilitazione dell'atto motorio, intesa come inizio dell'attività motoria successivamente alla rappresentazione corticale di esecuzione del movimento, e la sua modulazione attraverso il controllo del tono muscolare; va da sé che un'alterazione di tale

controllo porta alla comparsa di tutti i sintomi caratteristici della malattia di Parkinson, ovvero la difficoltà nell'iniziare un movimento, assieme alla lentezza di esecuzione, la rigidità posturale ed il tremore a riposo.

Classificazione dei parkinsonismi primitivi

È possibile identificare diverse forme di parkinsonismi, la più frequente delle quali è quella idiopatica, seguita da forme atipiche e genetiche, in genere associate ad un esordio precoce di malattia.

Tra le forme idiopatiche, la malattia di Parkinson rappresenta la forma più comune; viene considerato il risultato dell'interazione di fattori sia ambientali, sia genetici, e solo in rari casi diventa possibile ascriverne la causa ad uno solo dei fattori implicati (Federico *et al*., 2014).

Il Parkinson idiopatico può essere definito come una malattia a decorso cronico progressivo, caratterizzata da tremore a riposo, rigidità, bradi-acinesia e instabilità posturale. Per quanto riguarda la componente neuropatologica, si riscontrano le già citate alterazioni degenerative della substantia nigra e dei gangli della base, in seguito alla quale viene a mancare la neuromodulazione striatale sul movimento.

Un'altra forma di parkinsonismo primitivo è il parkinsonismo giovanile, che compare prima dei quaranta/cinquanta anni: questo tipo di parkinsonismo ha la stessa sintomatologia di esordio della malattia di Parkinson "classica", quali lentezza del movimento, il tremore e la rigidità (Federico *et al*., 2014).

Le mutazioni che causano questa tipologia di parkinsonismo sono a carico del gene PARK2, PINK1 e PARK7 (Thomsen & Rodnitzky, 2010).

Nell'ambito dei parkinsonismi atipici, possiamo invece annoverare l'atrofia multisistemica, la paralisi sovranucleare progressiva, la degenerazione corticobasale e la demenza a corpi di Lewy.

La MSA risulta caratterizzata da automatismi motori, dall'assenza della risposta alla levodopa e viene caratteristicamente definita come asimmetrica; tale sintomatologia trova causa nella perdita di neuroni dei gangli della base, del cervelletto e dei nuclei olivari inferiori. Dal punto di vista clinico,

è caratterizzata da bradicinesia e rigidità, mentre i caratteristici tremori mancano o, se presenti, sono simmetrici, e diversamente dalla malattia di Parkinson, possono coinvolgere il capo (Federico *et al*., 2014). Inoltre, sono presenti una sindrome cerebellare ed una sindrome autonomica, manifeste con ipotensione ed incontinenza. Risulta quindi possibile fare una distinzione tra diverse forme di MSA in base al sistema maggiormente colpito, ovvero una forma con prevalente degenerazione nigrostriatale, una forma olivo-ponto-cerebellare con prevalenti segni cerebellari ed una forma caratterizzata da disfunzione autonomica progressiva.

La *paralisi sovranucleare progressiva* è una malattia neurodegenerativa, costituita da una sindrome extrapiramidale caratterizzata da paralisi dello sguardo e spesso instabilità posturale e rigidità, oltre che da un quadro degenerativo corticale. Le lesioni neuronali sono secondarie all'accumulo di proteina tau a livello dei gangli della base, del mesencefalo, del tegmento pontino, del cervelletto e della corteccia cerebrale. La malattia esordisce generalmente dopo i 40 anni e, nel giro di 6-10 anni, costringe il paziente sulla sedia a rotelle o a letto. Non esiste terapia realmente efficace, in quanto risulta essere resistente alla L-Dopa e agli altri farmaci antiparkinsoniani di attuale impiego.

La *degenerazione cortico-basale*, nota anche come *sindrome dell'arto alieno*, è invece caratterizzata da atrofia corticale, specialmente in sede fronto-parietale, nonché a livello della substantia nigra e del nucleo striato. Da un punto di vista clinico, si caratterizza per la coesistenza di un tremore ad alta frequenza, asimmetrico, acinesia e rigidità, oltre che sintomi sia corticali, sia psichiatrici. I sintomi corticali sono rappresentati dall'aprassia, ossia la perdita della capacità di eseguire un movimento volontario, e dall'arto alieno, ovvero la percezione dell'attività dell'arto come autonoma. La sintomatologia psichiatrica è rappresentata prevalentemente da apatia, depressione e agitazione (Federico *et al*., 2014).

La *demenza a corpi di Lewy* è un altro parkinsonismo atipico, caratterizzato dalla presenza di corpi di Lewy in sede corticale e subcorticale, determinanti una tipica atrofia frontotemporale. Dal punto di vista clinico, la malattia si manifesta con un declino cognitivo progressivo che può portare alla demenza e che spesso si associa ad allucinazioni visive fluttuanti, segni extrapiramidali e disturbi del

sonno REM. I farmaci anti-parkinson spesso migliorano i disturbi motori, ma peggiorano quelli psichiatrici (Federico *et al*., 2014). La diagnosi differenziale tra malattia di Parkinson e demenza a corpi di Lewy diffusa si basa quindi sul riconoscimento di un parkinsonismo che evolve, nel giro di un anno, in una grave forma di demenza.

Parkinsonismi secondari

Tra le forme di parkinsonismo con causa ben definita acquisita, ricordiamo le forme maggiormente frequenti, ovvero quelle a genesi vascolare, iatrogena, e tossica.

Il parkinsonismo vascolare è una sindrome bradicinetica, caratterizzata dall'assenza di tremore e da una scarsa risposta alla L-Dopa, con una progressione 'a gradini' rispetto alle forme idiopatiche. La conferma diagnostica viene ricavata dagli studi di neuroimaging (TC encefalo, RM encefalo) che permettono di evidenziare lesioni vascolari a livello dei gangli della base. I pazienti maggiormente a rischio sono coloro affetti da ipertensione arteriosa non trattata, diabete, età avanzata, dislipidemie e molteplici patologie cardiovascolari (Federico *et al*., 2014).

Per quanto riguarda invece le forme iatrogene, si fa riferimento principalmente a sindromi parkinsoniane insorte come conseguenza di alcune terapie farmacologiche, specialmente con farmaci antagonisti dei recettori dopaminergici. Infatti, l'inibizione di tali recettori, e quindi della neurotrasmissione dopaminergica, può provocare l'insorgenza di una sindrome parkinsoniana, che si manifesta con i tipici segni e sintomi della malattia di Parkinson, quali appunto tremore, bradicinesia e rigidità muscolare. Tuttavia, a differenza delle forme idiopatiche, le forme iatrogene tendono a recedere (quanto meno in parte) dopo la sospensione del trattamento farmacologico causante.

Tra i farmaci maggiormente coinvolti nello sviluppo di parkinsonismi iatrogeni vi sono i cosiddetti ***neurolettici***, farmaci dotati di una potente azione anti-dopaminergica (antagonisti D_2), rappresentati soprattutto dai butirrifenoni, *aloperidolo* e *droperidolo*, e dalle fenotiazine, come la *clorpromazina*. Anche alcuni farmaci procinetici, come la *metoclopramide e la levo-sulpiride*, possono produrre parkinsonismo da farmaco, in quanto pure dotati di attività inibitoria sui recettori D_2.

Riguardo alle forme ad eziologia tossica, si deve riportare che alcuni metalli pesanti con effetti neurotossici sono stati associati a parkinsonismi secondari. Il manganese è stato uno dei principali elementi associati al parkinsonismo, ma anche il mercurio, che rappresenta il metallo pesante neurotossico più conosciuto. Il mercurio può infatti facilmente penetrare attraverso la barriera emato-encefalica e conseguentemente passare al liquor e quindi accumularsi nel citoplasma neuronale. Depositi di ioni Fe^{2+} nella materia grigia profonda dei gangli della base e del mesencefalo sono stato associato con la genesi del morbo di Parkinson; il ferro va ad attivare una serie di reazioni, come ad esempio la reazione di Fenton, che esita nella produzione di alti livelli di perossido di idrogeno, contribuente all'ulteriore aumento dello stress ossidativo. Dopo aver indotto apoptosi, questi metalli vengono rilasciati nello spazio extracellulare, ove possono essere fagocitati da cellule a funzione macrofagica, come le cellule gliali e i neuro-melanociti, dove poi l'azione citotossica e pro-apoptotica viene perpetuata. Dato che i neuro-melanociti all'interno della substantia nigra sono coinvolti nella sintesi della dopamina, si viene a comprendere la patogenesi di tale disturbo.

È stato dimostrato che i livelli di mercurio rilevabili nel sangue erano sei volte più elevati negli individui con malattia di Parkinson rispetto ai controlli sani. In un altro studio più ampio, la presenza di livelli elevati di mercurio a livello ematico pazienti con PD si correlava con un aumento di 8 volte del rischio di sviluppare la malattia (Bjorklund *et al.,* 2018).

Fattori genetici

È risaputo che alterazioni nella struttura delle proteine possono essere causati non solo da fattori ambientali, ma anche da fattori genetici. Sebbene la diagnosi di malattia di Parkinson sia ancora principalmente basata su criteri morfologici (studi di neuroimaging) e clinici, si ritiene che i test genetici possano costituire una parte importante della diagnostica nei pazienti con malattia di Parkinson. Infatti, sembra lecito supporre che la comprensione dei meccanismi dell'interazione tra i geni associati alla patogenesi della malattia di Parkinson e gli altri fattori di rischio possa portare a identificare percorsi di danno selettivo attualmente sconosciuti.

Descritti come i primi geni associati a malattia di Parkinson, *SNCA* e *la Parkina* sono attualmente anche i più studiati (Oczkowska & Kozubski, 2013). *La Parkina* viene definito come un enzima E3 ligasi, coinvolto nel processo di ubiquitinazione di proteine destinate degradazione proteasomica (Federico *et al*., 2014). Tuttavia, possiede altre funzioni e, tra queste, quella che sembra avere un ruolo chiave nella patogenesi della malattia di Parkinson è di tipo mitocondriale (Federico *et al*., 2014). Si ritiene che le mutazioni nei suddetti geni possano influenzare non solo la manifestazione della malattia di Parkinson, ma anche il decorso della malattia e la rapidità di progressione (Oczkowska & Kozubski, 2013).

Vi sono anche altri geni chiamati in causa nella genesi del PD, che esporremo in base agli alleli causanti malattia.

Le mutazioni a carico di un allele dominante possono determinare la sintesi di una proteina funzionalmente alterata: possiamo avere sia proteine iperfunzionanti rispetto alla norma, sia proteine la cui funzionalità risulta ridotta, se non addirittura annullata. Inoltre, se tali mutazioni determinano alterazioni della struttura proteica tali da alterarne le proprietà fisico-chimiche, e potenzialmente di conseguenza la loro degradazione, queste possono precipitare nell'ambiente intra- ed extra- cellulare e formare degli aggregati insolubili.

L'alfa-sinucleina, codificata dai geni *PARK1/4*, è un ottimo esempio di proteina che fisiologicamente svolge delle funzioni fondamentali per l'omeostasi neuronale; tuttavia, quando una mutazione a carico dei geni PARK1/4 determina una alterazione della struttura tridimensionale della proteina, questa a sua volta causa una alterazione delle proprietà fisico-chimiche della stessa, con conseguente precipitazione nell'ambiente cellulare e formazione di aggregati, non metabolizzabili.

Una mutazione puntiforme nel gene dell'*alfa-sinucleina* è stata inizialmente individuata in una famiglia italiana affetta da una forma dominante di malattia di Parkinson (Federico *et.al*., 2014). Un incremento di *alfa-sinucleina* citoplasmatica va così ad assumere un significato patogenetico per la malattia di Parkinson. Mutazioni sia pure puntiformi del gene codificante causano un'alterazione delle proprietà costitutive di aggregazione della proteina, o ne rendono difficoltosa l'ubiquitinazione

e, quindi, la degradazione da parte del proteasoma. Allo stesso modo, le duplicazioni e triplicazioni di alcuni segmenti del gene determinano la produzione di una proteina più lunga, e al contempo determinano un'aumentata produzione di questa (Federico *et al*., 2014). Altre mutazioni chiamate in causa nella genesi del PD sono state identificate a carico della *leucine-rich repeat kinase 2* (*LRRK2* o *PARK/8*), che risulta essere una proteina multidominio anche detta *dardarina*. Le mutazioni del complesso *LRRK2* vengono associate allo sviluppo di forme cliniche tremorigene a decorso lento e benigno, con scarsa associazione a demenza (Federico *et al*., 2014).

Gli alleli recessivi vanno invece a determinare alterazioni della normale fisiologia, portando alla produzione di proteine con perdita di funzione, che generalmente vengono associati a forme di parkinsonismo a esordio precoce (prima dei 40 anni), che più frequentemente presentano disturbi della deambulazione, tremore a riposo agli arti inferiori e fenomeni distonici, con decorso più favorevole rispetto alla malattia di Parkinson idiopatica ed una migliore risposta alla terapia (Federico *et al*., 2014).

Le mutazioni della *parkina*, codificata dal gene *PARK/2*, sono la seconda causa più comune di parkinsonismi genetici L-Dopa-responsivi. La *parkina* è un enzima coinvolto nel processo di ubiquitinazione di proteine destinate alla degradazione; le mutazioni che interessano tale enzima portano inevitabilmente alla formazione di aggregati proteici intracellulari, preludio di fenomeni pro-apoptotici.

Le caratteristiche cliniche della maggior parte delle forme in omozigosi sono ben distinguibili dalla malattia di Parkinson sporadica, e costituiscono il quadro del cosiddetto parkinsonismo giovanile autosomico recessivo con esordio precoce e decorso lento e benigno (Federico *et al*., 2014).

La proteina *PINK1*, codificata dal gene *PARK6*, è una chinasi mitocondriale che sembra condividere lo stesso pathway della *parkina*; di conseguenza, questo va a supportare l'ipotesi che una disfunzione mitocondriale possa essere il momento patogenetico fondamentale di alcune forme di parkinsonismo autosomico recessivo (Federico *et al.,* 2014).

Infine, mutazioni in omozigosi della glucocerebrosidasi portano allo sviluppo della malattia di Gaucher, una malattia da accumulo lisosomale di glucocerebrosidi per alterazione della glucocerebrosidasi. La stessa mutazione, in eterozigosi, aumenta di cinque volte il rischio di sviluppare la malattia di Parkinson (Federico *et al.,* 2014).

Opzioni terapeutiche: i principali farmaci antiparkinson

Tra le strategie terapeutiche, la più ovvia consiste nel ristabilire il tono della trasmissione dopaminergica nella via nigrostriatale, anche se l'inibizione della neurotrasmissione colinergica (antagonista della trasmissione dopaminergica) o la modulazione della neurotrasmissione glutammatergica rappresentano approcci praticabili. Le decisioni terapeutiche si basano sulla valutazione complessiva del paziente, che tiene conto non solo della disabilità clinica, dello stadio della patologia e delle comorbidità, ma anche delle sue necessità, dell'età, dell'attività lavorativa e del contesto sociale (Federico *et al*., 2014).

Una delle opzioni terapeutiche è la *levodopa (L-Dopa)*; questo farmaco, la cui somministrazione è finalizzata al potenziamento della neurotrasmissione dopaminergica residua, riesce solitamente a ridurre la frequenza di fenomeni motori, come la bradicinesia e la rigidità, migliorando la deambulazione già dopo 1-2 settimane di trattamento. Il farmaco è tuttavia gravato di effetti indesiderati precoci, che includono nausea, inappetenza e debolezza. Tali effetti vengono generalmente tollerati quando il dosaggio viene aumentato gradualmente e quando si effettuano trattamenti accessori per controllarne la sintomatologia, ad esempio l'uso di antiemetico come il domperidone (antagonista dopaminergico D2 che non ha accesso al sistema extrapiramidale). Possono tuttavia presentarsi anche effetti indesiderati tardivi da L-Dopa, che coinvolgono la sfera psichica e che sono tipicamente rappresentati da ipomania, depressione, allucinazioni (Federico *et al*., 2014). Inoltre, si può aggiungere che la L-Dopa è considerabile un *profarmaco*, in quanto immediato precursore della dopamina; il razionale di utilizzo sta nel fatto che, una volta assorbita dal tratto gastrointestinale, questa viene distribuita nell'organismo dal flusso ematico, per poi essere

convertita nei neuroni nigrostriatali in dopamina pronta per ripristinare la neurotrasmissione compromessa.

Gli effetti combinati della progressione della malattia e del trattamento prolungato con L-Dopa provocano, nella maggior parte dei pazienti, complicazioni di tipo motorio che si dividono in due categorie: le *fluttuazioni* e le *discinesie*.

La più comune tra le fluttuazioni motorie è il fenomeno del '*wearing off*', consistente nella progressiva riduzione della durata dell'effetto terapeutico di ogni singola dose e dunque nella ricomparsa precoce dei sintomi. Per quanto riguarda invece le discinesie, si tratta di movimenti involontari degli arti e del distretto oro-facciale; esse in corso di trattamento con L-Dopa sembrano essere dovute alle fluttuazioni del livello ematico della stessa; si mostrano discinesie corrispondenti al picco ematico, così come discinesie ad andamento bifasico, ovvero all'inizio e alla fine dell'effetto di ciascuna somministrazione. (Federico *et al*., 2014).

Per ovviare a queste problematiche, si è introdotta in terapia l'associazione di levodopa ed inibitori delle dopa-decarbossilasi periferiche, *Carbidopa* e *Benserazide*. Tali farmaci, inibendo la conversione della L-Dopa in dopamina a livello periferico, determinano una maggiore biodisponibilità centrale della L-Dopa.

Un'altra classe di farmaci utilizzata nel trattamento del Parkinson è quella degli inibitori delle *Catecol-O-Metil-Transferasi (COMT)*; le *COMT* sono degli enzimi che provvedono a degradare la L-Dopa, sia nel sistema nervoso centrale sia a livello periferico, con formazione di 3-O-metildopa. Tale metabolita, di per sé inerte, sembra inibire il trasportatore degli aminoacidi acromatici nei capillari cerebrali, riducendo così il trasporto della L-Dopa a livello della barriera emato-encefalica. L'inibizione delle *COMT*, quindi va ad aumentare l'emivita plasmatica della L-Dopa e ne incrementa la biodisponibilità, senza aumentare la massima concentrazione plasmatica. Gli inibitori delle *COMT* attualmente in commercio sono l'entacapone e il tolcapone (Federico *et al*., 2014). L'entacapone esplica il suo effetto terapeutico mediante l'inibizione reversibile delle *COMT*, principalmente a livello dei tessuti periferici come lo stomaco, l'intestino e i reni, andando a determinare un incremento

della quantità di L-Dopa che viene trasportata a livello cerebrale (Federico *et al*.,2014). Il tolcapone, inibitore delle *COMT* ad azione centrale, fu inizialmente ritirato dal commercio nei Paesi della Comunità Europea nel 1998, a causa del rischio di epatotossicità potenzialmente fatale e della sindrome neurolettica maligna. In seguito, è stato reintrodotto in commercio anche in Italia nel 2004, con l'indicazione di uno stretto monitoraggio della funzionalità epatica. (Federico *et al*., 2014).

Un'altra opzione è fornita dagli inibitori delle *monoaminoossidasi* B, i quali, interferendo col metabolismo encefalico della dopamina, determinano un aumento della stessa a livello delle sinapsi, ripristinando dunque il fisiologico tono neurotrasmettitoriale.

Esistono due isoforme di *monoaminoossidasi*, denominate A e B; mentre l'isoforma A presenta una maggiore affinità per la noradrenalina e la serotonina (*5*-idrossitriptamina, *5-HT*), l'isoforma B presenta una maggiore affinità per la dopamina e risulta particolarmente rappresentata a livello delle vie extrapiramidali. Dunque, gli inibitori selettivi delle monoaminossidasi di tipo B, che vanno ad interferire con la degradazione della levodopa senza incidere significativamente su quella delle altre monoamine, vengono ben tollerati e possono essere somministrati una volta al giorno, ma risultano meno efficaci della L-Dopa.

Selegilina e *Rasagilina*, due molecole rappresentanti la classe degli inibitori delle monoaminossidasi potrebbero avere un ruolo protettivo nella malattia di Parkinson, in quanto vanno a ridurre lo stress ossidativo, derivante anche dalla degradazione della dopamina; determinano un effetto neuroprotettivo attraverso l'induzione dell'espressione di geni codificanti ad azione antiossidante, nonché di proteine ad azione anti-apoptotica e di fattori di crescita neuronali (Naoi *et al.,* 2020). Per quanto riguarda gli effetti avversi, purtroppo se ne annoverano molteplici; di particolare interesse il fatto che la selegilina può essere convertita metabolicamente in metanfetamina e anfetamina, sostanze stimolanti che inducono ansia, agitazione e, potenzialmente, insonnia (Moore & Saadabadi, 2020).

Dopamino-agonisti

Gli agonisti dopaminergici sono agenti terapeutici comunemente usati nel trattamento della malattia di Parkinson; diversamente dalla L-Dopa, queste sono molecole di sintesi che esplicano la medesima funzione del neurotrasmettitore mancante nel Parkinson agendo come agonisti selettivi dei recettori dopaminergici. La monoterapia con i dopamino-agonisti può controllare i sintomi motori nelle prime fasi della malattia, ma la maggior parte dei pazienti richiede l'aggiunta di L-DOPA entro 2-5 anni dall'inizio della malattia; tuttavia, questa famiglia di farmaci è associata a specifici effetti collaterali, che possono diminuire significativamente la qualità della vita dei pazienti con PD. I dopamino-agonisti sono comunemente divisi in due gruppi: agonisti derivati dall'ergolina (*ergot-derivati*) e non derivati dall'ergolina (*non ergot-derivati*) (Borovac, 2016).

Gli agonisti ergolinici rappresentano la prima generazione di dopamino-agonisti, associati al rischio di gravosi effetti collaterali, quali la fibrosi peritoneale, polmonare e cardiaca/valvolare (Reichmann *et al*., 2006). Conseguentemente, gli agenti più recenti e più utilizzati nella pratica clinica sono i *derivati di sintesi*, che interagiscono quasi esclusivamente con i recettori D2 e D3 con elevata affinità, pur mostrando una modesta interazione farmacodinamica con altri recettori (Jankovic *et al*., 2012).

Gli agonisti dopaminergici non mostrano la medesima selettività recettoriale: alcuni di questi, principalmente gli ergot-derivati, interagiscono sia con i recettori D2-like che con i D1-like, mentre i derivati non ergolinici hanno una maggiore selettività, e dunque una minima interazione, con i recettori D1-like. Conseguentemente, si comprende come i derivati non ergolinici, essendo più selettivi per il target di nostro interesse terapeutico, risultino più sicuri.

Più in dettaglio, gli agonisti dopaminergici derivati dell'ergot, quali *bromocriptina*, *lisuride*, *pergolide* e *cabergolina* si legano con alta affinità alla famiglia dei recettori D2, ma mostrano anche vari gradi di affinità ai recettori *D1-like*, ai recettori adrenergici e serotoninergici (Rossi *et al.,* 2017). Agenti più recenti come *ropinirolo* e *pramipexolo* sono più specifici, poiché si legano solo ai recettori D2 e D3 con alta affinità, mentre la *rotigotina* ha mostrato un'affinità più ampia e comprende i recettori D1, D4 e D5 (Rossi *et al.,* 2017).

I moderni approcci terapeutici verso la malattia di Parkinson spesso vedono i dopamino-agonisti come prima linea terapeutica per le fasi iniziali della malattia di Parkinson, per poi associarli con la levodopa nelle fasi successive della malattia, qualora venga meno il controllo dei sintomi. In questo caso, le dosi di levodopa dovrebbero essere titolate alla dose minima efficace, per evitare le già citate anomalie discinetiche e fluttuazioni motorie (Tarakad & Jankovic, 2017).

I farmaci di questo gruppo più comunemente usati sono *pramipexolo* e *ropinirolo*; questi sono i dopamino-agonisti più comunemente prescritti negli Stati Uniti (USA), ma tra gli altri rappresentanti di questa categoria farmacologica figurano *rotigotina*, *piribedil* e *apomorfina* (Borovac, 2016). L'apomorfina è un agonista dopaminergico con affinità recettoriale simile alla dopamina e viene prescritta per uso sottocutaneo, iniezione in bolo od infusione continua; è generalmente usata come terapia di salvataggio per gravi periodi 'off' intrattabili in pazienti con PD fluttuante, grazie alla sua rapida insorgenza e potente risposta. Diversi studi, tra cui uno condotto nel 1988 (Stibe *et al.,* 1988) indicano che l'infusione sottocutanea continua durante le ore di veglia porta ad una grande riduzione dei periodi off giornalieri, discinesia e dosaggio giornaliero di levodopa.

Ropinirolo e *pramipexolo* hanno una maggiore selettività per i recettori *D2-like*, e come la levodopa, questi possono alleviare i sintomi clinici della PD, sebbene il pramipexolo mostri una predilezione per i recettori D3 ed il ropinirolo per i D2; la durata d'azione di questi farmaci è spesso maggiore di quella della levodopa, arrivando a 6-8 ore, e risultano particolarmente efficaci nel trattamento dei pazienti che hanno sviluppato fenomeni *on/off*. Sia il ropinirolo che il pramipexolo sono disponibili in formulazioni a rilascio prolungato, richiedenti una mono-somministrazione quotidiana, che sono più convenienti e possono ridurre gli effetti avversi secondari alle fluttuazioni plasmatiche del farmaco, secondarie a loro volta alla somministrazione intermittente. È inoltre stato dimostrato come la somministrazione transdermica di rotigotina produca livelli plasmatici stabili nelle 24 ore, e questa è indicata come farmaco di prima linea per il trattamento del morbo di Parkinson idiopatico, in fase iniziale come monoterapia o in combinazione con levodopa (Brunton *et al*., 2017). Diversi studi

controllati con placebo hanno dimostrato l'efficacia della rotigotina sia come monoterapia per i primi casi di PD che come trattamento combinato con L-DOPA nella PD avanzata (Frampton, 2019).

Pramipexolo e ropinirolo possono produrre effetti collaterali quali allucinazioni o confusione mentale, simile a quella osservata con levodopa, e possono causare nausea e ipotensione ortostatica per via della loro azione non esclusivamente sui recettori *D2-like;* la terapia con tali farmaci deve essere iniziata a basse dosi titolate lentamente per minimizzare questi effetti. Un altro effetto collaterale descritto in corso di terapia con dopaminergici, che spesso ne limita l'utilizzo, è la possibilità di slatentizzazione di comportamenti compulsivi del tipo gambling (gioco d'azzardo). Gli agonisti dopaminergici, così come la levodopa stessa, sono inoltre associati ad astenia e sonnolenza (Federico *et al*., 2014).

Inibitori delle acetilcolinesterasi

Fisiologicamente, il tono anergico encefalico viene regolato anche attraverso l'azione di un altro sistema di degradazione delle amine biogene, ovvero le acetilcolinesterasi; tali enzimi, come implicato dal nome, sono deputati alla degradazione dell'acetilcolina. Data la concomitante riduzione del tono colinergico, assieme a quello dopaminergico, nella malattia di Parkinson, è stato ipotizzato un ruolo terapeutico anche per farmaci inibitori di questi enzimi.

L'impiego di farmaci anticolinesterasici contribuisce al miglioramento della sintomatologia parkinsoniana; l'inibizione della degradazione dell'acetilcolina comporta una maggior presenza della stessa nel vallo sinaptico, così da stimolare maggiormente i recettori postsinaptici. Non essendo farmaci agonisti dei recettori colinergici postinaptici, ma determinando un'aumentata concentrazione dell'agonista fisiologico degli stessi, sono quindi considerati dei *colinomimetici indiretti* (Rossi *et al.,* 2017).

Per quanto riguarda l'impiego terapeutico, specialmente nelle malattie dementigene come il morbo di Alzheimer, le molecole maggiormente utilizzate sono il *Donepezil*, un inibitore specifico dell'acetilcolinesterasi, con una biodisponibilità vicina al 100 % quando assunto per via orale (Rossi *et al.,* 2017), la *Rivastigmina*, inibitore di acetilcolinesterasi e butirrilcolinesterasi, e la *Galantamina*, agente anche come modulatore allosterico dei recettori nicotinici. (Rossi *et al.,* 2017). Queste molecole sono degli inibitori reversibili; è interessante notare come, invece, il blocco irreversibile di tali enzimi risulti tossico, come tristemente noto dall'impiego di inibitori irreversibili quali i gas nervini (Sarin, Tabun) o i pesticidi organo-fosforici, potenziali cause di intossicazione.

Pur rappresentando una valida terapia antiparkinsoniana, questi farmaci sono gravati da maggior frequenze di eventi avversi, motivo per cui vengono impiegati solo in associazione ad altre categorie farmacologiche e non come trattamento di prima linea.

Sebbene ci sia un grande supporto sperimentale per l'ipotesi che la dopamina e l'acetilcolina esercitino effetti opposti sui circuiti striatali, vi sono anche prove a supporto di una loro azione sinergica, condizionata dalle tempistiche di rilascio sinaptico dei suddetti neurotrasmettitori (Tanimura *et al.*, 2018).

In sintesi, stante la complessità delle opzioni farmacologiche e i potenziali effetti collaterali ad essi associati, molti medici preferiscono iniziare la terapia dei pazienti più giovani con un agonista dopaminergico e/o con i-MAO-B, per ridurre la frequenza di complicazioni motorie e le fluttuazioni cliniche, mentre, nei pazienti più anziani o in quelli con sostanziali comorbidità, l'associazione levodopa/carbidopa risulta essere generalmente meglio tollerata (Brunton *et al.,* 2017). Spesso il paziente con malattia di Parkinson richiede il ricorso ad una politerapia, con combinazioni di farmaci diversi e tra loro complementari.

Capitolo 2: il sonno nel soggetto parkinsoniano

Generalità

Il sonno rappresenta una fase di attività cerebrale che si alterna ciclicamente alla veglia differenziandosi da essa, che risulta indispensabile per salute e la sopravvivenza dell'individuo. Il sonno è relativamente indipendente da stimoli esterni, in quanto questi possono risultare capaci di interromperlo, ma non di influire su di esso. Veglia e sonno, nella loro ciclica alternanza, governata dal processo omoestatico e dal processo circadiano, risultano essere regolati da strutture situate nel tronco encefalico.

La *vigilanza* è una funzione di competenza della sostanza reticolare ascendente, un insieme di nuclei che si estende caudo-cranialmente a livello del ponte e del mesencefalo, avente funzione attivatrice sulla corteccia. La principale differenza tra sonno e veglia è l'assenza, nel primo, di consapevolezza di sé e dell'ambiente esterno.

Il sonno è classificabile in due macrofasi: *REM* (*Rapid Eye Movement*) e *NREM* (non *REM*), i cui corrispettivi neuroanatomici hanno sede, rispettivamente, nei nuclei catecolaminergici ponto-bulbari e nei nuclei serotoninergici del rafe mediano.

Il controllo nervoso dei ritmi circadiani viene attuato, sotto lo stimolo della luce, dai nuclei sovrachiasmatici, siti nella regione ventrale anteriore dell'ipotalamo. Lesioni di questi nuclei provocano infatti una totale disorganizzazione dei ritmi di riposo e di attività, nonché della regolazione della temperatura corporea e dell'alimentazione.

Parallelamente il 'fabbisogno' di sonno dipende anche dal cosiddetto processo omeostatico, modulato dalla durata della veglia. In condizioni fisiologiche, l'equilibrio tra omeostatico e circadiano porta ad una corretta e regolare alternanza tra sonno e veglia, secondo il fabbisogno della persona.

Basi neuroanatomiche e funzionali

La fisiologia del sonno e delle diverse funzioni delle fasi *NREM* e *REM* è sottesa da una specifica base neuroanatomica e, di conseguenza funzionale, del SNC. Come accennato precedentemente, il sonno viene regolato da diverse strutture site nel tronco encefalico e rappresentate da:

- *nuclei serotoninergici*, situati vicino alla linea mediana del ponte, a livello del rafe mediano
- *nuclei noradrenergici*, concentrati nel *locus coeruleus* e nei nuclei ad esso correlati nella porzione centrale del tegmento mesencefalico caudale e nelle aree tegmentali ventro-laterali
- *nuclei colinergici*, siti nel gruppo dei nuclei peduncolo-pontini e nelle aree tegmentali dorso-laterali.

Durante la veglia, i neuroni eccitatori noradrenergici e serotoninergici risulterebbero maggiormente attivi, con una minore attività dei neuroni colinergici; durante il sonno *NREM*, invece, vi sarebbe un progressivo declino dell'attività inibitoria, con conseguente aumento di quella colinergica; conseguentemente il sonno *REM* si verificherebbe al termine di questa transizione, cioè alla netta prevalenza di attività dei neuroni colinergici. I circuiti aminergici risulterebbero poi regolati nella loro attività da specifici nuclei ipotalamici secernenti *ipocretina (*Fronczek *et al.,*2007).

I centri dopaminergici situati all'interno della formazione reticolare ascendente a loro volta, parrebbero avere un ruolo di rilievo nell'omeostasi del sonno, come testimoniato dalla diminuzione dell'attività onirica e dalla possibile insonnia manifesti in pazienti parkinsoniani o in trattamento con antagonisti dopaminergici, e dall'aumento di questa attività in pazienti parkinsoniani trattati con L-Dopa.

Durante la veglia, l'attività elettrica dei neuroni corticali tende ad essere caratterizzata da scariche asincrone, che successivamente vanno a rallentare e a sincronizzarsi durante il sonno *NREM*; nel sonno *REM* il quadro EEG torna ad avere un aspetto asincrono (Federico *et al*., 2014).

Riguardo le funzioni del sonno, la prima e più ovvia è quella di riposo, cioè di recupero fisico e psichico; tuttavia, il sonno non va considerato come un mero recupero di energie in un periodo di bassa attività funzionale. Benché non esistano teorie definitive, pare che questo meccanismo sia fondamentale per il corretto svolgimento di altre attività cerebrali, come la facilitazione della funzione motoria ed il consolidamento dell'apprendimento, oltre che per la preparazione dell'organismo ad accadimenti futuri sulla base delle esperienze passate.

Si è molto discusso anche riguardo alle funzioni dei sogni: la teoria attualmente più accreditata riconosce nei sogni una scarica emotiva finalizzata a gratificare, quantomeno parzialmente, istinti e desideri subconsci o repressi, oltre che la già citata funzione di apprendimento mnemonico-comportamentale (Eiser, 2005).

La deprivazione del sonno negli animali da esperimento comporta la morte (Everson *et al*., 1989), mentre nell'essere umano si manifesta un corteo di sintomi: sonnolenza, fatica ed irritabilità progressivamente più intense, insieme a difficoltà di concentrazione ed a peggioramento dell'attività manuale, fino a disturbi percettivi e difficoltà di orientamento (Killgore,2010).

Stadi del sonno

In base a criteri elettroencefalografici, sono stati definiti tre distinti stadi del sonno, riconducibili a due meccanismi fisiologici di base che si alternano:

Stadio N1: l'EEG assume un voltaggio progressivamente più basso, con frequenze miste e riduzione dell'attività alfa (<50% dell'epoca di sonno), associata a movimenti lenti degli occhi e ad un iniziale calo del tono muscolare. Possono osservarsi punte al vertice.

Stadio N2: l'EEG risulta caratterizzato da un'attività di fondo in banda theta oltre che dalla presenza di fusi del sonno (onde con frequenza pari a circa 12-16 Hz, prevalenti sulle derivazioni centrali) e da complessi K (onde ampie e polifasiche, lente e a voltaggio elevato, spesso con ampiezza maggiore sulle derivazioni anteriori).

Stadio N3: l'EEG mostra attività di fondo in banda delta, di alto voltaggio (sonno a onde lente). Il tono muscolare solitamente è più basso rispetto agli stadi precedenti.

Sonno REM: l'EEG si desincronizza, ossia assume un quadro caratterizzato da onde a basso voltaggio ed alta frequenza, simile a quello della veglia. Possono osservarsi le cosiddette 'onde a dente di sega', tipiche di questo stadio di sonno. Si associa la presenza di diffusa atonia muscolare, con l'eccezione di alcuni muscoli di supporto della respirazione e della muscolatura estrinseca dell'occhio che presenta episodi di movimenti oculari rapidi a palpebre chiuse (REM, *rapid eye movements*); (Federico A. *et al*., 2014).

Nella prima parte di una tipica notte di sonno, le persone normali passano consecutivamente attraverso le fasi N1, N2, N3 del sonno *NREM*; successivamente, dopo circa 90 minuti, si verifica il primo ciclo di sonno *REM*, generalmente preceduto da un aumento transitorio dei movimenti corporei; questo ciclo si ripete dalle quattro alle sei volte per notte (Federico *et.al*., 2014). I cicli successivi al primo presentano una graduale riduzione della durata dello stadio N3, e nell'ultima parte di un normale sonno notturno, il ciclo si riduce all'alternanza del sonno N2-N1 e del sonno REM. Generalmente la durata dei cicli di sonno REM aumenta col ripetersi dei cicli (Federico *et al*., 2014).

Sintomi non motori della malattia di Parkinson

L'insonnia è senz'altro il disturbo del sonno più comune nella popolazione generale e la problematica più comune riscontrata nella pratica clinica; viene definita come una condizione di difficoltà nell'addormentamento o di mantenimento del sonno, risveglio precoce, tempo di sonno insufficiente o scarsa qualità del sonno, associati alla sensazione di non sentirsi riposati il mattino seguente, con conseguente scarso funzionamento diurno (Federico *et al*., 2014).

Nei pazienti affetti da malattia di Parkinson sono presenti fattori che peggiorano significativamente la qualità del sonno: si palesa una forte correlazione tra il grado di insonnia e la gravità dei sintomi motori, e va precisato che, durante la fase avanzata della malattia, i pazienti tendono ad assumere maggiori quantità di farmaci, elemento che può contemporaneamente contribuire a confondere il

quadro clinico e peggiorare l'insonnia (Overeem *et al*.,2018). In questi pazienti, particolare attenzione dovrebbe essere rivolta a quelli che sono i sintomi sensoriali e motori notturni ricorrenti, in quanto il disagio che si presenta durante la notte in questi pazienti può presentare molte cause.

La sindrome delle gambe senza riposo (*Restless Legs Syndrome*, *RLS*) è un altro disturbo di sonno, spesso associato al morbo di Parkinson, arrivando ad interessare il 12-21% dei pazienti e che può causare una grave forma di insonnia iniziale: è caratterizzata da una sensazione interiore sgradevole, localizzata generalmente tra il ginocchio e la caviglia, che insorge a riposo nella tarda serata e con maggior frequenza nella fase di rilassamento muscolare che usualmente precede il sonno; tale sintomatologia viene alleviata soltanto dal movimento, e talora risulta talmente intensa da richiedere al paziente di alzarsi o poggiare il piede su una superficie fredda per trovare sollievo; questo va chiaramente ad interferire con la possibilità di dare inizio al sonno, causando un'insonnia particolarmente grave (Federico *et al*., 2014).

Un altro fenomeno cui si può far riferimento è la *distonia mattutina*, che si verifica durante la parte finale della notte, ed è solitamente seguita da un normale risveglio: il paziente presenta contrazioni posturali delle dita dei piedi, in flessione o estensione, a volte con rotazione interna della caviglia; queste posture distoniche e il disagio ad esse associato possono causare disturbi del sonno nella malattia di Parkinson nonché ansia, scoraggiando i pazienti dal tentare di tornare a dormire (Overeem *et al*., 2018).

Allo stesso modo, una distonia che colpisce altre parti del corpo, come i muscoli del collo e della schiena, può verificarsi soltanto di notte, presumibilmente quando i livelli di dopamina cerebrale sono più bassi.

Anche la *bradicinesia notturna* può disturbare significativamente il sonno in alcuni pazienti con malattia di Parkinson, e dovrebbe essere affrontata: l''incapacità di girarsi nel letto, regolare i cuscini o lasciare il letto per recarsi in bagno, per esempio, possono produrre risvegli prolungati (Overeem, *et al*., 2018).

Un altro disturbo del sonno associato alla malattia di Parkinson è il *disturbo comportamentale del sonno REM (RBD)*, il quale risulta essere caratterizzato da violenti e spesso pericolosi attacchi di attività motoria, iniziati in concomitanza di sogni molto vividi, solitamente angosciosi e ben ricordati al mattino, ed alterazioni dell'eloquio con grida.

Un altro fattore di disturbo per il sonno dei pazienti parkinsoniani può essere la sindrome da apnea del sonno: questa viene classificata, in base al meccanismo fisiopatologico sottostante, in due tipologie, ovvero *sindrome delle apnee ostruttive* (*Obstructive Sleep Apnoea Syndrome*, *OSAS*) e *sindrome da apnea centrale del sonno* (*Central Sleep Apnoea Syndrome*, *CSAS*). La *OSAS* viene causata dall'ostruzione transitoria delle vie aeree superiori secondata alla perdita di tono della muscolatura faringea e linguale, mentre nella *CSAS* il problema risiede nell'alterato funzionamento del centro del respiro a livello bulbare e/o da concomitanti problematiche cardiovascolari.

La *OSAS* è caratterizzata da episodi ripetuti di completo o parziale arresto del flusso aereo oro-nasale, con mantenimento dell'escursione respiratoria toracica ed addominale, con conseguente ipossiemia intermittente e frammentazione del sonno; nei pazienti con apnee ostruttive del sonno il russamento assume delle caratteristiche particolari ovvero un forte russamento di tipo gutturale, presente da lungo tempo, interrotto da pause respiratorie, seguite da una ripresa della ventilazione particolarmente rumorosa. Il paziente riferisce sintomi minori, costituiti da risvegli frequenti per la necessità di urinare, per improvvise sensazioni di soffocamento o per abbondante sudorazione (Federico *et al.*, 2014). Il paziente con OSAS non trattata inoltre spesso sviluppa una grave sonnolenza diurna, con aumentato rischio di incidenti o complicanze.

Il fenomeno della *eccessiva sonnolenza diurna* (*Excessive Daytime Sleepiness*, *EDS*) risulta estremamente comune nel soggetto con malattia di Parkinson e può essere riferito dai pazienti o notato solo da chi li assiste come un sintomo significativo: sembra infatti probabile che in alcuni casi i pazienti con malattia di Parkinson siano inconsapevoli dei loro livelli di sonnolenza, arrivando spesso a negare persino i colpi di sonno rilevati durante indagini oggettive.

In alcune occasioni l'EDS deriva da un sonno frammentato o non ristoratore, può essere causato da una grave forma di insonnia o da un'OSAS non nota/non trattata. In altri casi l'EDS nella malattia di Parkinson potrebbe riconoscere come causa anche una alterazione del ritmo circadiano: la secrezione ciclica della melatonina, un marker di ritmicità endogena, si è dimostrata alterata nei pazienti con malattia di Parkinson, ed inoltre i pazienti che riportano sonnolenza sembrano avere ritmi particolarmente compromessi: spesso dormono diverse ore durante il giorno e non riescono a dormire di notte (Overeem *et al*., 2018).

In un recente studio (Schrempf *et al.,* 2018) si è valutato l'impatto della terapia con rasagilina sulla qualità del sonno dei pazienti con malattia di Parkinson e concomitanti disturbi del sonno; la sperimentazione è durata otto settimane, durante le quali ai pazienti venivano somministrate, oltre la loro terapia, rasagilina o un placebo, e successivamente sono stati quantificati i cambiamenti nel mantenimento del sonno e nella sua efficienza (Schrempf *et al.,* 2018).

Rispetto all'inizio dello studio, il mantenimento del sonno nel gruppo sperimentale è risultato significativamente aumentato; il trattamento con rasagilina ha ridotto significativamente il tempo di veglia dopo l'inizio del sonno, il numero di risvegli, la percentuale di sonno leggero e la sonnolenza diurna (misurata tramite la *Epworth Sleepiness Scale*) (Schrempf *et al.,* 2018)

Dunque, nei pazienti con malattia di Parkinson e concomitanti disturbi del sonno, la rasagilina ha mostrato effetti benefici sulla qualità del sonno, misurati tramite polisonnografia. Questi effetti, probabilmente, non erano legati al miglioramento motorio né si traducevano in una migliore percezione generale della qualità del sonno da parte dei pazienti (Schrempf *et al.,* 2018).

In un altro studio del 2016, alcuni pazienti trattati con rasagilina, sia in monoterapia, sia in terapia aggiuntiva ad altri antiparkinsoniani, hanno mostrato un miglioramento significativo della qualità del sonno dopo 2 mesi; tuttavia, non c'è stato nessun cambiamento nella sonnolenza diurna (Panisset *et al*., 2016). La Rasagilina è risultata sicura e ben tollerata, e questi dati indicano come potrebbe migliorare la qualità del sonno nei pazienti con malattia di Parkinson nel breve termine (Panisset *et al*., 2016).

Tanto nella pratica clinica quanto nella ricerca, i disturbi del sonno associati alla malattia di Parkinson sono stati oscurati dai sintomi motori, giustamente considerati sintomi cardinali della malattia. Negli ultimi decenni, invece, gli studi sul sonno nella malattia di Parkinson hanno aumentato la consapevolezza che i disturbi del sonno siano fortemente associati alla depressione (Kay *et al*., 2018). In questo studio di Kay e colleghi, la premessa era valutare se vi fosse un'associazione tra gravità dei disturbi del sonno e gravità della depressione in una popolazione più a rischio di disturbi del sonno, quali i pazienti con malattia di Parkinson; l'associazione lineare tra gravità delle alterazioni del sonno e della depressione era già nota, e l'obiettivo di tale studio era valutare la maggior gravità di questo quadro in una popolazione più fragile (Kay *et al*., 2018).

In uno studio del 2018, i ricercatori hanno cercato di valutare se l'associazione tra disturbi del sonno e gravità della depressione fosse maggiore nei pazienti con malattia di Parkinson rispetto ai controlli, ipotizzando che l'associazione sarebbe stata più forte nei pazienti con malattia di Parkinson. I risultati hanno mostrato che un minor tempo di sonno totale era associato a una maggiore gravità della depressione nei pazienti con malattia di Parkinson rispetto ai controlli (Kay *et al.*, 2018). I risultati di questo studio suggeriscono che un breve tempo totale di sonno auto-riferito può essere un importante fattore predittivo della gravità della depressione nei pazienti con malattia di Parkinson, e questo può essere più fortemente associato alla depressione nei pazienti parkinsoniani rispetto agli adulti senza malattia di Parkinson (Kay *et al*., 2018).

I disturbi del sonno nei pazienti con malattia di Parkinson sono molto comuni, e determinano un considerevole impatto negativo sulla loro qualità di vita; l'insonnia, la sonnolenza diurna con ipersonnia, la sindrome delle gambe senza riposo (RLS) e il disturbo del comportamento del sonno *REM* (*REM Behavioural Disorder*, *RBD*) rappresentano i disturbi del sonno più frequenti nella malattia di Parkinson.

Per la diagnosi dei disturbi del sonno viene raccomandato uno screening a cadenza regolare attraverso l'utilizzo di questionari convalidati come il *Pittsburgh Sleep Quality Index* (*PSQI*) o la *Medical Outcomes Study Sleep Scale* (*MOS*), mentre per valutare la sonnolenza diurna sono stati suggeriti la

Epworth Sleepiness Scale (*ESS*), il punteggio composito del sonno inappropriato (*Inappropriate Sleep Composite Score*, *ISCS*) e la *Stanford Sleepiness Scale* (*SSS*); tutti questi questionari dovrebbero essere usati in combinazione con una dettagliata anamnesi medica che si concentri sui comuni disturbi del sonno e sui farmaci e, se necessario, i pazienti dovrebbero essere indirizzati a specialisti del sonno o a laboratori specializzati per ulteriori indagini (Overeem*, et al*., 2018). La gestione dei disturbi del sonno nei pazienti con malattia di Parkinson inizia solitamente con l'ottimizzazione della terapia antiparkinsoniana, specialmente quella interferente con la neurotrasmissione dopaminergica, seguita poi dal trattamento specifico dei disturbi del sonno. Oltre a quanto già esposto sui disturbi del sonno nella malattia di Parkinson, è interessante riportare come il concetto di disturbo del comportamento del sonno *REM* (*RBD*) come segno precoce di malattie neurodegenerative emergenti risulti attualmente di grande interesse per la ricerca futura sui biomarcatori e le strategie di trattamento neuroprotettivo nelle malattie neurodegenerative, in particolare nel Parkinson (Overeem *et al*., 2018). A causa della potenziale complessità dei disturbi associati al sonno nella malattia di Parkinson, risulta difficile definire un profilo dei sintomi o costruire linee guida per la loro gestione; un ulteriore ostacolo è rappresentato dal fatto che il trattamento farmacologico convenzionale della malattia di Parkinson può alimentare, o addirittura causare, i sintomi legati al sonno. (Overeem*, et al*., 2018).

Per quanto concerne invece i disturbi dell'umore nel morbo di Parkinson, la situazione risulta parimenti complessa, ma probabilmente questi disturbi hanno un impatto indipendente sulla qualità del sonno; in particolare, l'ansia può aumentare l'agitazione notturna e la depressione può interrompere il sonno o i suoi tempi fisiologici. In generale, la scarsa qualità del sonno nei pazienti parkinsoniani sembrerebbe correlare con la gravità dei disturbi psichiatrici; l'ansia risulta probabilmente aumentata dalla bradicinesia notturna; inoltre, andrebbe preso in considerazione anche il ruolo della terapia farmacologica nella genesi dell'insonnia, in quanto gli agonisti dopaminergici, se assunti al momento di coricarsi, possono agire come psicostimolanti e ritardare l'inizio del sonno (Overeem*, et al*., 2018).

Capitolo 3: Qualità del sonno nel paziente con Malattia di Parkinson, uno studio caso-controllo

Introduzione

Alla malattia di Parkinson si associano numerosi sintomi non motori, tra cui anche i disturbi del sonno. Tale associazione è nota da anni, e la sua genesi è considerata multifattoriale; tuttavia, spesso questi sintomi vengono messi in secondo piano rispetto ai sintomi motori, sebbene possano avere un impatto analogo sulla qualità di vita dei pazienti. Le evidenze scientifiche recenti hanno sottolineato l'utilità dei farmaci inibitori delle monoamino-ossidasi di tipo B nella cura del paziente con malattia di Parkinson, ed è stato ipotizzato un meccanismo neuro-protettivo operato da questi (Alborghetti et.al., 2019). Alla luce di tali incoraggianti premesse, l'utilizzo dei farmaci inibitori delle monoamino-ossidasi è ad oggi proposto al paziente con malattia di Parkinson fin dagli stadi iniziali della patologia, spesso in associazione con dopamino-agonisti o, più raramente, in monoterapia.

Obiettivi dello studio

L'obiettivo di questo studio è quello di indagare differenze in termini di qualità del sonno, qualità della vita e sonnolenza diurna tra pazienti con malattia di Parkinson che assumono IMAO-B e dopamino-agonisti (politerapia), e pazienti in terapia con soli dopamino-agonisti (monoterapia).

Lo studio si configura come un'indagine monocentrica con disegno caso-controllo.

L'endpoint primario di questo studio è la misurazione delle differenze in termini di qualità del sonno, misurata attraverso il punteggio ad un questionario validato (*PSQI*), tra i pazienti in monoterapia e quelli in politerapia.

Endpoints secondari includono: la misurazione della qualità della vita percepita e la sonnolenza diurna, attuata attraverso la somministrazione di questionari validati (*SF-36*, *ESS*), negli stessi due gruppi di pazienti.

Metodi

Soggetti

Nel periodo Luglio - Settembre 2021 abbiamo arruolato 17 pazienti adulti (>18 anni) affetti da malattia di Parkinson e regolarmente seguiti presso l'ambulatorio malattie extrapiramidali dell'AOU di Parma con i seguenti criteri:

Criteri di inclusione

- Età > 18 anni
- Diagnosi di malattia di Parkinson
- Durata di malattia < 15 anni
- Diagnosi clinica posta in accordo con i criteri diagnostici della Brain Bank
- Terapia cronica con dopamino-agonista (controlli) oppure con dopamino-agonista e IMAO-B (casi).

Criteri di esclusione

- Assunzione di farmaci ipnoinducenti >3 volte alla settimana negli ultimi 6 mesi

Il nostro campione consta di 17 soggetti, di età compresa tra i 49 ed i 77 anni (media 65,94, SD ± 8,41), 12 maschi (70,5%) e 5 femmine (29,5%) (rapporto M/F 2,4:1), con durata di malattia compresa tra 1 e 12 anni (media 3,7, SD ±2 ,49).

9 soggetti (52,94%) sono stati assegnati al gruppo di controllo (monoterapia con dopamino-agonista) e 8 soggetti (48,06%) al gruppo sperimentale (terapia con dopamino-agonista + mao-i); l'età media del gruppo di controllo era 66,33 (SD ± 7,61), quella del gruppo sperimentale 65,5 (SD ± 9,75), i rapporti M/F rispettivamente 2:1 e 3:1 (66,6%M, 33,3%F versus 75% M, 25% F), la durata di malattia media rispettivamente 4 anni (SD ± 3,31) e 3,37 anni (SD ± 1,18).

***Tabella 1*: Caratteristiche demografiche**

	Gruppo di controllo		Gruppo sperimentale	
	Media	*SD*	*Media*	*SD*
Età	66,33	7,61	65,50	9,75
Durata di malattia	4	3,31	3,37	1,18

Nota: questi parametri sono espressi in anni compiuti.

Strumenti

Per valutare la qualità del sonno, la sonnolenza diurna e la qualità della vita sono stati utilizzati 3 questionari validati rappresentati, rispettivamente da: *Pittsburgh Sleep Quality Index* (*PSQI*), *Epworth Sleepiness Scale* (*ESS*) e *Short Form Healt Survey* (*SF-36*).

PSQI: il questionario, composto di 10 item utilizzati per valutare numericamente 7 componenti, ciascuna indicativa di un aspetto della qualità del sonno, è stato somministrato a tutti i soggetti; la somma degli scores delle suddette componenti è stata considerata come punteggio complessivo del *PSQI*. Uno score maggiore di 5 è stato ritenuto indicativo di cattiva qualità del sonno.

ESS: ai soggetti venivano presentate 8 situazioni, chiedendo di quantificare la probabilità che si assopissero assegnando un punteggio da 0 a 3; punteggi superiori a 10 sono considerati indicativi di eccessiva sonnolenza diurna.

SF-36: per lo scoring di questo questionario è stata utilizzata la metodologia *RAND-36*: a ciascuno dei 36 item è stato assegnato un punteggio da 1 a 6, successivamente convertito secondo la tabella apposita (*appendice 1*); a seguire, sono state costruite le sottoscale del *RAND-36*, calcolando la media degli item indicati nella tabella; infine, la valutazione globale dell'*SF-36* è stata calcolata come media delle 8 sottoscale. Uno score globale inferiore a 40 è stato considerato come indicatore di percezione di cattiva qualità di salute.

Procedura

I pazienti sono stati arruolati in sede di visita neurologica di routine presso l'ambulatorio malattie extra-piramidali dell'AOU di Parma. Nella stessa sede è stato raccolto il consenso informato allo studio e sono stati consegnati al paziente i documenti informativi (lettera al medico di medicina generale, informativa al trattamento dati personali).

I questionari (PSQI, SF-36, ESS) sono stati somministrati ai pazienti in un secondo momento, a mezzo di colloquio telefonico, nel rispetto delle norme di distanziamento sociale vigenti in corso di pandemia da SARS-CoV2, e le risposte sono state registrate in un'apposita cartella dedicata su server dell'Azienda Ospedaliero-Universitaria di Parma con accesso protetto da password e limitato al personale autorizzato coinvolto nello studio.

Analisi

I dati, in forma anonimizzata, sono stati analizzati con il software RStudio. Rstudio è un software *open source* costituito da *pacchetti*, che comprendono specifiche funzioni atte a manipolare e visualizzare dati, utilizzato per analisi statistiche; tale strumento viene usato da ricercatori di vari campi. La versione di R che è stata usata per questo studio è la 4.1.0.

I pacchetti che sono stati utilizzati per eseguire l'analisi dei dati sono:

base (R Core Team, 2021): comprendente le funzioni base di Rstudio.

gmodels (Gregory et.al, 2018): in cui sono presenti vari strumenti per l'adattamento dei modelli, come il test del χ^2 (chi-quadrato).

effsize (Torchiano, 2020): contenente funzioni per il calcolo dei coefficienti di *effect size* (D di Cohen, G di Hedges).

rcmdr (Fox & Bouchet-Valat, 2020): Un'interfaccia grafica di base per R, basata sul pacchetto *tcltk*.

stats (R Core Team, 2021): contenente funzioni per calcoli statistici di base.

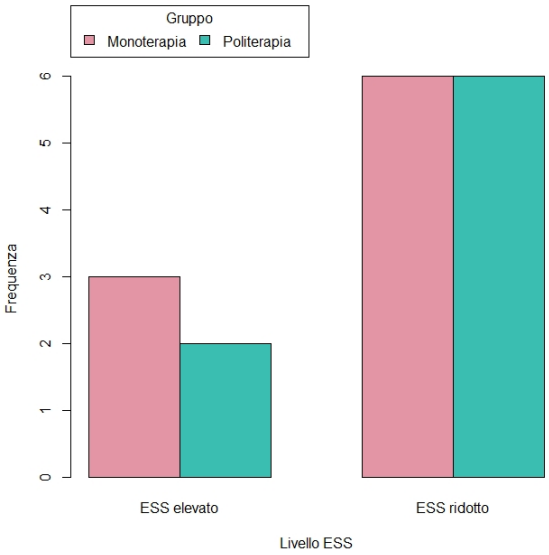
Le variabili di interesse sono rappresentate dai punteggi calcolati nei test somministrati.

Le variabili continue sono età, durata di malattia e scores ottenuti nei tre questionari validati, presentate come media e deviazione standard, mentre le variabili categoriali sono il gruppo di appartenenza dei soggetti e tre variabili create in un secondo momento, per stratificare i punteggi dei questionari come elevati o ridotti, e vengono presentate come frequenze relative; l'analisi volta alla ricerca di differenze statisticamente significative tra gruppo di controllo e sperimentale è stata effettuata, previo verifica dei prerequisiti, attraverso l'utilizzo di test *t* di Student per campioni indipendenti, o quando i prerequisiti non erano rispettati, con un test di Wilcoxon, mentre per le variabili categoriali è stato utilizzato il test del χ^2 (chi quadrato).

Risultati

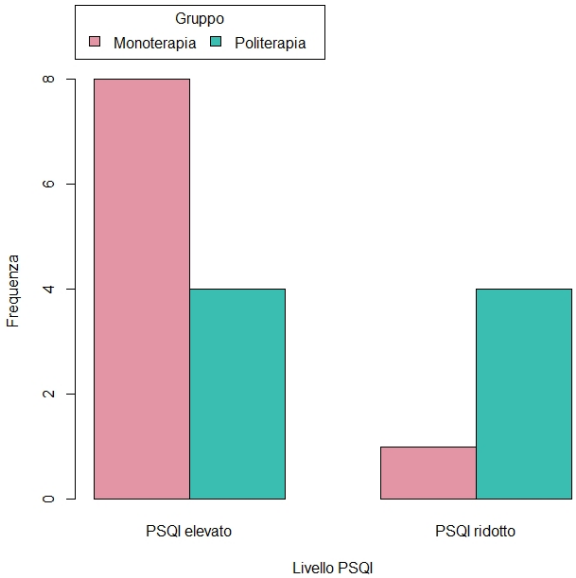
Sonnolenza diurna:

ESS: il punteggio medio è risultato 9,77 (SD ± 3,11) nel gruppo di controllo e 7,37 (SD ± 4,80) nel gruppo sperimentale. L'analisi di significatività statistica, effettuata con un test di Wilcoxon, ha mostrato una differenza significativa tra i due gruppi (p-value = 0,045).



Qualità del sonno:

PSQI: il punteggio medio nel gruppo di controllo è risultato 7,66 (SD ± 2,78), quello del gruppo sperimentale 4,87 (SD ± 2,64). L'analisi di significatività statistica, effettuata con *t*-test per campioni indipendenti, ha mostrato una significativa differenza tra i due gruppi (p-value=0,046). Andando ad analizzare le singole componenti del PSQI in base al gruppo di appartenenza, si sono osservati i seguenti risultati:



La componente 1, riguardante la qualità soggettiva del sonno, ha mostrato medie rispettivamente 1,55 (SD ± 1,01) nel gruppo di controllo e 0,87 (SD ± 0,64) nel gruppo sperimentale; un test di Wilcoxon non ha riportato significative differenze tra gruppi negli scores (p-value = 0,116).

La componente 2, relativo alla latenza del sonno, ha mostrato rispettivamente medie 1,11 (SD ± 1,05) nel gruppo di controllo e 0,75 (DS ± 1,03) nel gruppo sperimentale; un test di Wilcoxon non ha riportato significative differenze tra gruppi negli scores (p-value = 0,443).

La componente 3, relativo alla durata del sonno, ha mostrato rispettivamente medie di 1,556 (DS ± 0,52) nel gruppo di controllo e 0,85 (DS ± 0,99) nel gruppo sperimentale; un test di Wilcoxon non ha riportato significative differenze tra gruppi negli scores (p-value = 0,146).

La componente 4, riguardante l'efficacia abituale del sonno, ha mostrato rispettivamente punteggi medi di 0,556 (DS ± 0,72) nel gruppo di controllo e 0,5 (DS ± 0,92) nel gruppo sperimentale; un test di Wilcoxon non ha riportato significative differenze tra gruppi negli scores (p-value = 0,691).

La componente 5, riguardante i disturbi associati al sonno, ha riportato punteggi medi rispettivamente di 1,22 (DS ± 0,44) nel gruppo di controllo e 1,25 (DS ± 0,46) in quello sperimentale; un test di Wilcoxon non ha riportato significative differenze tra gruppi negli scores (p-value = 0,947).

La componente 6, relativo all'uso di ipnotici, ha mostrato medie rispettivamente di 0,55 (DS ± 0,88) nel gruppo di controllo e 0 (DS 0) nel gruppo sperimentale; un test di Wilcoxon ha riportato una differenza significativa tra i due (p-value = 0.047).

La componente 7, riguardante i disturbi durante il giorno, ha mostrato scores medi di 1,11 (DS ± 0,60) nel gruppo di controllo e 0,62 (DS ± 0,91) in quello sperimentale, rispettivamente; un test di Wilcoxon non ha riportato significative differenze tra gruppi negli scores (p-value = 0,181).

***Tabella 2*: Risultati dei test somministrati**

	Gruppo di controllo		Gruppo sperimentale	
	Media	*SD*	*Media*	*SD*
ESS	9,77	3,11	7,37	4,80
PSQI	7,66	2,78	4,87	2,64
RAND-36	56,88	18,31	72,57	21,28

Nota: per il calcolo del RAND-36, consultare tabella apposita.

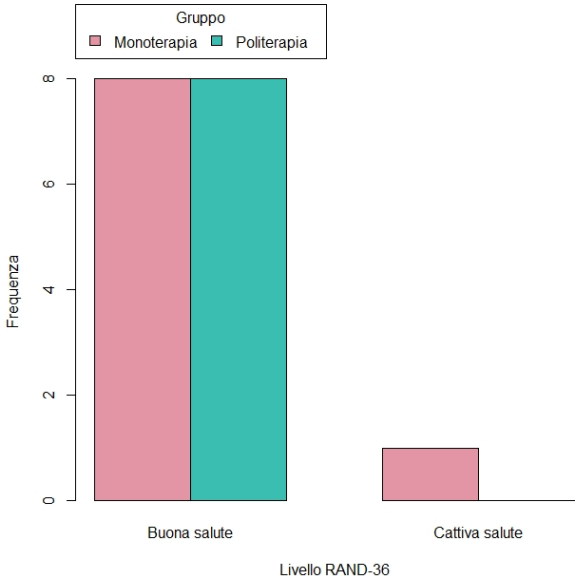
***Tabella 3*: scores Pittsburgh Sleep Quality Index per gruppo**

	Gruppo di controllo		Gruppo sperimentale		
	Media	*SD*	*Media*	*SD*	*p-value*
Qualità soggettiva del sonno	1,55	1,01	0,87	0,64	0.116
Latenza del sonno	1,11	1,05	0,75	1,03	0.443
Durata del sonno	1,55	0,52	0,85	0,99	0.146
Efficacia abituale del sonno	0,55	0,72	0,5	0,92	0.691
Disturbi associati al sonno	1,22	0,44	1,25	0,46	0,947
Uso di ipnotici	0,55	0,88	0	0	0,047
Disturbi durante il giorno	1,11	0,60	0,62	0,91	0,181

Nota: i gruppi sono stati confrontati con un test robusto (Wilcoxon).

Qualità della vita

RAND-36: gli scores hanno mostrato, rispettivamente nei gruppi di controllo e sperimentale, media 56,88 (SD ± 18,31) e 72,57 (SD ± 21,28); un *t*-test per campioni indipendenti ha mostrato come questi non varino significativamente tra i gruppi (p-value = 0,127).



Abbiamo poi analizzato le singole componenti del questionario SF-36 per gruppo;

Per quanto riguarda l'item 1, relativo al funzionamento fisico, per il gruppo di controllo si è ottenuta una media di 72,78 (SD±29,16) e per il gruppo sperimentale 82,38 (SD ± 17,09). Un test di Wilcoxon non ha riportato una differenza significativa in base al gruppo di appartenenza (p-value = 0,626).

Riguardo l'item 2, indagante le limitazioni del ruolo dovute alla salute fisica, la media nel gruppo di controllo è risultata 50 (SD ± 37,5), nel gruppo sperimentale 59,38 (SD ± 46,17); un test di Wilcoxon non ha riportato significative differenze tra i gruppi (p-value = 0.652).

Riguardo l'item 3, valutante le limitazioni dovute a problemi emotivi, la media per il gruppo di controllo risulta essere 44,44 (SD ± 33,33) e70,83 nello sperimentale (SD ± 33,03); un t-test per campioni indipendenti non ha mostrato differenze significative tra i gruppi (p-value = 0.122).

Per l'item 4, riguardante l'energia e la stanchezza, la media per il gruppo di controllo è risultata 48,89 (SD ± 19,32), per lo sperimentale 67,50 (SD ± 23,75); Un *t*-test ha evidenziato differenze statisticamente significative (p-value = 0.047).

Riguardo l'item 5, che fa riferimento al benessere emotivo, la media per il gruppo di controllo è risultata 60,89 (SD ± 12,12), 78,00 per il gruppo sperimentale (SD ± 24,84); un test di Wilcoxon ha evidenziato differenze significative in base al gruppo di appartenenza (p-value = 0.023).

Riguardo l'item 6, relativo al funzionamento sociale, il gruppo di controllo ha riportato uno score

medio di 62,5 (SD ± 25), quello sperimentale 87,50 (SD ± 16,36); un *t*-test ha mostrato una significativa differenza tra i due gruppi (p-value = 0.014).

Riguardo l'item 7, riguardante il dolore percepito, la media per il gruppo di controllo è risultata 70,56 (SD ± 22,93), quella del gruppo sperimentale 73,12 (SD ± 24,52); anche in questo caso, non sono state rilevate differenze significative (p-value = 0.826).

Riguardo l'item 8, inerente alla percezione generale di salute, la media per il gruppo di controllo risulta essere 45 (SD ± 23,31), per il gruppo sperimentale 61,88 (SD ± 19,80); anche in questo caso, non sono emerse differenze significative (p-value = 0.131).

Tabella 4: Scores SF-36 per gruppo

	Gruppo di controllo		Gruppo sperimentale		
	Media	*SD*	*Media*	*SD*	*p-value*
Funzionamento fisico	72,78	29,16	82,38	17,09	0.626
Limitazioni dovute alla salute fisica	50	37,5	59,38	46,17	0.652
Limitazioni dovute a problemi emotivi	44,44	33,33	70,83	33,03	0.122
Energia / Stanchezza	48,89	19,32	67,50	23,75	0.047
Benessere emotivo	60,89	12,12	78	24,84	0.023
Funzionamento sociale	62,5	25	87,50	16,36	0.014
Dolore	70,56	22,93	73,12	24,52	0.826
Salute generale	45	23,31	61,88	19,80	0.131

Nota: sono riportati gli scores grezzi, prima della conversione secondo metodo RAND-36.

***Tabella 5*: Suddivisione dei soggetti per livelli di gravità per ciascun gruppo**

	Gruppo di controllo		Gruppo sperimentale	
	Score ridotto	*Score elevato*	*Score ridotto*	*Score elevato*
ESS	6	3	6	2
PSQI	1	8	4	4
RAND-36	1	8	0	8

Nota: i cutoffs impiegati per l'analisi sono riportati nel testo.

Discussione

Dopo l'analisi statistica, abbiamo riscontrato significative differenze tra i gruppi di terapia nell'ESS, nel PSQI, nella sottoscala 6 del PSQI, relativa all'uso occasionale di ipnotici, e nelle sottoscale 4, 5,

6 dell'SF-36, relative al rapporto tra energia e stanchezza, al benessere emotivo, e al funzionamento sociale. Sulla base di questi risultati, si può affermare che i nostri soggetti in duplice terapia mostrano una minor sonnolenza diurna, una miglior qualità globale del sonno (pur non essendo state riscontrate significative differenze in tutti gli ambiti del PSQI) e, pur mancando una conferma statistica della differente percezione della qualità di vita, degli scores significativamente maggiori riguardo il rapporto energia / stanchezza, il benessere emotivo, ed il funzionamento sociale, quando confrontati con i pazienti in monoterapia.

Seppure con i limiti derivanti da una ridotta numerosità campionaria, il nostro studio pare documentare la presenza un effetto positivo sulla qualità del sonno nel paziente affetto da malattia di Parkinson in terapia cronica con l'associazione di IMAO-B e dopamino-agonisti. Alla luce di questi risultati, riteniamo che tale aspetto della gestione della salute dei pazienti affetti da malattia di Parkinson dovrebbe essere ulteriormente indagato: date le limitazioni del nostro studio, riteniamo che servano studi dotati di una maggiore numerosità campionaria, studi di coorte che seguano i medesimi pazienti nel tempo, dove si valuti se il passaggio da monoterapia a duplice terapia migliori la qualità del sonno, e studi che possano obiettivare questi riscontri attraverso l'uso di indagini strumentali, quali ad esempio la polisonnografia.

In uno studio condotto nel 2016, sono stati valutati gli effetti dell'aggiunta di Rasagilina alla terapia con levodopa sui disturbi del sonno in pazienti con morbo di Parkinson idiopatico; dopo 12 settimane di trattamento, la latenza media del sonno nel gruppo sperimentale era significativamente inferiore, e il miglioramento rispetto al basale era significativamente maggiore (P=0.001). Allo stesso modo, il tempo di sonno totale medio era significativamente maggiore (P=0.002) e il miglioramento medio rispetto al basale nel tempo di sonno totale era significativamente maggiore (P=0.026); si è evidenziato quindi come l'aggiunta di rasagilina alla terapia con levodopa abbia migliorato la durata e la qualità del sonno, e di conseguenza si potrebbe ipotizzare un ruolo terapeutico per i pazienti con malattia di Parkinson che soffrono di disturbi del sonno (Schettino *et al.,* 2016).

In uno studio del 2018, si è valutato l'effetto della rasagilina sulla qualità del sonno nei pazienti con malattia di Parkinson e disturbi del sonno; si è avviata una sperimentazione di otto settimane, durante le quali ai pazienti veniva somministrata rasagilina (1 mg al giorno) o un placebo; gli effetti sono stati misurati come cambiamenti nel mantenimento del sonno e la sua efficienza tra baseline e fine del periodo di trattamento. 20 pazienti su 30 sono stati randomizzati ed assegnati al gruppo che assumeva rasagilina (età media 69,9, SD ± 6,9 anni; 10 maschi). Rispetto a prima del trattamento, il mantenimento del sonno è stato significativamente aumentato; il trattamento con rasagilina ha quindi ridotto significativamente il tempo di veglia dopo l'inizio del sonno, il numero di risvegli, la percentuale di sonno leggero e la sonnolenza diurna (misurata tramite la *Epworth Sleepiness Scale*) (Schrempf W. *et al*., 2018).

Recenti ricerche puntano verso un possibile ruolo della via mesolimbico-corticale, facendo particolare riferimento all'area tegmentale ventrale e al nucleo accumbens, tipicamente implicati nel meccanismo di gratificazione, nella regolazione del sonno (Oishi & Lazarus, 2017). Nuove tecnologie di ricerca hanno permesso di dimostrare che la stimolazione dei neuroni dopaminergici del nucleo tegmentale ventrale sostiene lo stato di veglia, mentre la ciclicità del ritmo sonno/veglia non viene alterata dall'attivazione dei vicini neuroni dopaminergici della substantia nigra (Oishi *et al*., 2017). Questi studi suggeriscono quindi un ruolo dei neuroni dopaminergici del nucleo tegmentale ventrale nel consolidare lo stato di veglia.

Com'è possibile che i neuroni del nucleo tegmentale ventrale promuovano la veglia senza che il loro ritmo di scarica cambi durante i cicli sonno/veglia? Probabilmente questo meccanismo è sotteso dalla necessaria presenza di un appropriato stimolo cognitivo.

Lo striato ventrale è parte dei gangli della base, ed oltre a giocare un ruolo fondamentale nel sistema della ricompensa e nell'apprendimento, pare abbia un ruolo anche nella regolazione del ciclo sonno/veglia, anche se mancano forti evidenze di ciò in vivo.

I neuroni dello striato ventrale vengono regolati dalla dopamina, i cui livelli extracellulari sono aumentati durante la fase di attività e di veglia rispetto al sonno ad onde lente; poi, molteplici studi

hanno correlato i recettori dopaminergici e la loro azione all'arousal indotto da farmaci e alla veglia spontanea; tuttavia, è interessante notare come basse dosi di agonisti D2 abbiano un effetto promotore sul sonno (Monti *et al.,* 1988; Monti *et al.,* 1989), probabilmente per l'attivazione presinaptica dei recettori D2 (Monti & Monti, 2007). Contrariamente, l'attivazione dei recettori D1 (Ongini *et al*., 1993; Trampus *et al*., 1991; Trampus & Ongini, 1990) e l'antagonismo dei D2 (Ongini et al., 1993; Trampus & Ongini, 1990) sopprimono la veglia, suggerendo che serva l'azione di entrambi i recettori per mantenere la veglia. Sulla base di quanto riportato, parrebbe logico ipotizzare come un ripristino del tono dopaminergico con terapia antiparkinsoniana a base di dopamino agonisti, seppur non primariamente mirata ai circuiti neuronali indicati, possa influire beneficamente sulla regolazione del sonno in tali pazienti.

In uno studio vengono descritti una serie di meccanismi di controllo sull'attività onirica, regolata dalle diverse famiglie recettoriali per la dopamina (Oishi et al., 2017). Quale potrebbe essere la spiegazione di questo fenomeno? Potrebbe esserci una terapia migliore? Potremmo ipotizzare che gli IMAO-B, per la loro differente farmacodinamica, possano conseguentemente determinare un aumento dei livelli dopaminergici encefalici di minore entità e maggior durate rispetto ai dopamino-agonisti; tale differenza nelle fluttuazioni dei livelli di dopamina, d'altra parte, potrebbe esitare in una differente modulazione dei recettori dopaminergici precedentemente citati, e infine risultare in una miglior qualità del sonno, intesa come continuità e profondità.

Dal momento in cui il trend risulta positivo per quanto riguarda la qualità del sonno con l'associazione di due farmaci antiparkinsoniani, ci si potrebbe chiedere se questo sia dovuto al controllo della patologia oppure se tali farmaci abbiano un effetto sul sonno.

I potenziali benefici sul sonno dei farmaci IMAO-B risultano particolarmente interessanti a causa del loro ipotizzato meccanismo neuroprotettivo e, secondo alcune recenti ricerche, dell'azione *disease-modifying* degli stessi nei confronti della neurodegenerazione associata alla malattia di Parkinson. Inoltre, prendendo atto che la malattia di Parkinson risulta essere una condizione di bilance neuro-trasmettitoriali reciprocamente connesse, si potrebbe ipotizzare che la qualità del sonno possa

diventare un'utile sintesi per comprendere meglio e monitorare l'equilibrio tra le diverse componenti (biochimiche, neurofisiologiche, farmacologiche, cliniche) coinvolte.

Conclusione

Nel nostro campione, la terapia con aggiunta di rasagilina ha migliorato significativamente la qualità del sonno, ridotto la necessità di ricorso a farmaci ipnoinduttori, migliorato il funzionamento sociale, aumentato il livello di energia giornaliera soggettiva e aumentato il benessere emotivo percepito dai pazienti.

Alla luce dei dati raccolti durante questo studio, parrebbe sensato proporre l'introduzione degli inibitori delle MAO-B nella terapia dei pazienti parkinsoniani che manifestano disturbi del sonno tali da influire negativamente sulla qualità di vita percepita. Ovviamente, come già precisato nella discussione dei risultati, sono richiesti ulteriori studi, dotati di maggior potenza statistica, per validare ulteriormente questa idea.

Bibliografia

Albin, R. L., Young, A. B., & Penney, J. B. The functional anatomy of basal ganglia disorders. *TINS*, 1989; *12*:366–375.

Alborghetti, M., & Nicoletti, F. Different Generations of Type-B Monoamine Oxidase Inhibitors in Parkinson's Disease: From Bench to Bedside. *Current neuropharmacology*, 2019, 17: 861–873.

Bjorklund, G., Stejskal, V., Urbina, M. A., Dadar, M., Chirumbolo, S., & Mutter, J. Metals and Parkinson's Disease: Mechanisms and Biochemical Processes. *Curr. Med. Chem.*, 2018; 25: 2198–2214.

Bohnen, N. I., & Albin, R. L. The cholinergic system and Parkinson disease. *Behav. Brain Res.* 2011; 221: 564–573.

Borovac J. A. Side effects of a dopamine agonist therapy for Parkinson's disease: a mini-review of clinical pharmacology. *Yale J. Biol. Med.* 2016; 89: 37–47.

Brunton, L., Knollmann, B., & Hilal-Dandan, R. *Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics.* 2017; 13: 234.

Brunton, L., Knollmann, B., & Hilal-Dandan, R. *Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics.* 2017; 18: 331-332.

Dong, J., Cui, Y., Li, S., & Le, W. Current Pharmaceutical Treatments and Alternative Therapies of Parkinson's Disease. *Curr. Neuropharmacol.* 2016; *14*: 339–355.

Eiser A. S. Physiology and psychology of dreams. *Sem. Neurol.* 2005; *25*: 97–105.

Everson, C. A., Bergmann, B. M., & Rechtschaffen, A. Sleep deprivation in the rat: III. Total sleep deprivation. *Sleep* 1989; *12*:13–21.

Exley, R., & Cragg, S. J. Presynaptic nicotinic receptors: a dynamic and diverse cholinergic filter of striatal dopamine neurotransmission. *Br. J. Pharmacol.* 2008; *153:* 283–297.

Federico A., Caltagirone C., Provinciali L., Tedeschi G. *Neurologia Pratica*. 2014; 26-28: 309-489.

Fox, J., and Bouchet-Valat, M. (2020). Rcmdr: R Commander. R package version 2.7-1.

Frampton J. E. Rotigotine Transdermal Patch: A Review in Parkinson's Disease. *CNS Drugs*. 2019; *33*: 707–718.

Fronczek, R., Overeem, S., Lee, S. Y., Hegeman, I. M., van Pelt, J., van Duinen, S. G., Lammers, G. J., & Swaab, D. F. Hypocretin (orexin) loss in Parkinson's disease. *Brain J. Neurol.* 2007; *130*: 1577–1585.

Gregory R. Warnes and Ben Bolker and Thomas Lumley and Randall C Johnson. Contributions from Randall C. Johnson are Copyright SAIC-Frederick and Inc. Funded by the Intramural Research Program and of the NIH and National Cancer Institute and Center for Cancer Research under NCI, 2018, gmodels: Various R Programming Tools for Model Fitting [Computer Software Manual]

Heckers, S., Geula, C., & Mesulam, M. M. Cholinergic innervation of the human thalamus: dual origin and differential nuclear distribution. *J. Comp. Neurol.* 1992; 325: 68–82.

Hornykiewicz O. Dopamine in the basal ganglia. Its role and therapeutic implications (including the clinical use of L-DOPA). *Br. Med. Bull.* 1973; 29:172–178.

Jankovic, J., & Poewe, W. Therapies in Parkinson's disease. *Curr. Opinion Neurol.* 2012; *25*: 433–447.

Kay, D. B., Tanner, J. J., & Bowers, D. Sleep disturbances and depression severity in patients with Parkinson's disease. *Brain Behav.* 2018; 8: e00967.

Killgore W. D. Effects of sleep deprivation on cognition. *Prog. Brain Res.* 2010; 185: 105–129.

Lashuel H. A. Do Lewy bodies contain alpha-synuclein fibrils? and Does it matter? A brief history and critical analysis of recent reports. *Neurobiol. Dis.* 2020; 141:104876.

Mesulam, M. M., & Geula, C. Nucleus basalis (Ch4) and cortical cholinergic innervation in the human brain: observations based on the distribution of acetylcholinesterase and choline acetyltransferase. *J. Comp. Neurol.* 1988; 275: 216–240.

Monti, J. M., & Monti, D. The involvement of dopamine in the modulation of sleep and waking. *Sleep Med. Rev.* 2007;*11:* 113–133.

Monti, J. M., Hawkins, M., Jantos, H., D'Angelo, L., & Fernández, M. Biphasic effects of dopamine D-2 receptor agonists on sleep and wakefulness in the rat. *Psychopharmacol.* 1988; 95: 395-400.

Monti, J. M., Jantos, H., & Fernández, M. Effects of the selective dopamine D-2 receptor agonist, quinpirole on sleep and wakefulness in the rat. *Eur. J. Pharmacol.* 1989; 169: 61–66.

Moore, J. J., & Saadabadi, A. Selegiline. In *Stat Pearls*. StatPearls Publishing. 2020.

Naoi, M., Maruyama, W., & Shamoto-Nagai, M. Rasagiline and selegiline modulate mitochondrial homeostasis, intervene apoptosis system and mitigate α-synuclein cytotoxicity in disease-modifying therapy for Parkinson's disease. *J. Neural Transmission,*2020; 127: 131–147.

Oczkowska, A., Kozubski, W., Lianeri, M., & Dorszewska, J. Mutations in PRKN and SNCA Genes Important for the Progress of Parkinson's Disease. *Curr. Genomics*. 2013; 14*:* 502–517.

Oishi, Y., & Lazarus, M. The control of sleep and wakefulness by mesolimbic dopamine systems. *Neurosci. Res.* 2017; *118:* 66-73.

Oishi, Y., Suzuki, Y., Takahashi, K., Yonezawa, T., Kanda, T., Takata, Y., Cherasse, Y., & Lazarus, M. Activation of ventral tegmental area dopamine neurons produces wakefulness through dopamine D_2-like receptors in mice. *Brain structure & function*. 2017; 222: 2907–2915.

Ongini, E., Bonizzoni, E., Ferri, N., Milani, S., & Trampus, M. Differential effects of dopamine D-1 and D-2 receptor antagonist antipsychotics on sleep-wake patterns in the rat. *J. Pharmacol. Exp. Ther*. 1993; 266*:* 726–731.

Overeem, S., & Reading, P. *Sleep Disorders in Neurology: A Practical Approach*. 2018; 14: 210-215.

Panisset, M., Stril, J. L., Bélanger, M., Lehoux, G., Coffin, D., & Chouinard, S. Open-Label Study of Sleep Disturbances in Patients with Parkinson's Disease Treated with Rasagiline. *The Canadian journal of neurological sciences. Journal Can. Sci. Neurol.* 2016; 43*:* 809–814.

R Core Team (2021) R: A Language and Environment for Statistical Computing [Computer Software Manual]

R Core Team (2021) R: A Language and Environment for Statistical Computing [Computer Software Manual]

Reichmann, H., Bilsing, A., Ehret, R., Greulich, W., Schulz, J. B., Schwartz, A., & Rascol, O. Ergoline and non-ergoline derivatives in the treatment of Parkinson's disease. *J. Neurol*. 2006; 253: 36–38.

Rossi, F., Cuomo, V., & Riccardi, C. *Farmacologia. Principi di base e applicazioni terapeutiche*. 2016; 279.

Schettino, C., Dato, C., Capaldo, G., Sampaolo, S., Di Iorio, G., & Melone, M. A. Rasagiline for sleep disorders in patients with Parkinson's disease: a prospective observational study. *Neuropsych. Dis. Treat.* 2016; *12*: 2497–2502.

Schrempf, W., Fauser, M., Wienecke, M., Brown, S., Maaß, A., Ossig, C., Otto, K., Brandt, M. D., Löhle, M., Schwanebeck, U., Graehlert, X., Reichmann, H., & Storch, A. Rasagiline improves polysomnographic sleep parameters in patients with Parkinson's disease: a double-blind, baseline-controlled trial. *Eur. J. Neurol.* 2018; 25: 672–679.

Stibe, C. M., Lees, A. J., Kempster, P. A., & Stern, G. M. Subcutaneous apomorphine in parkinsonian on-off oscillations. *Lancet* 1988; 1*:*8582: 403–406.

Tanimura, A., Pancani, T., Lim, S., Tubert, C., Melendez, A. E., Shen, W., & Surmeier, D. J. Striatal cholinergic interneurons and Parkinson's disease. *Eur. J. Neurosci.* 2018; 47: 1148–1158.

Tarakad, A., & Jankovic, J. Diagnosis and Management of Parkinson's Disease. *Sem. Neurol.* 2017; 37*:* 118–126.

Thomsen, T. R., & Rodnitzky, R. L. Juvenile parkinsonism: epidemiology, diagnosis and treatment. *CNS Drugs* 2010; 24*:*6:467–477.

Torchiano M. (2020). effsize: Efficient Effect Size Computation [Computer Software Manual]

Trampus, M., & Ongini, E. The D1 dopamine receptor antagonist SCH 23390 enhances REM sleep in the rat. *Neuropharmacol*. 1990; 29: 889–893.

Trampus, M., Ferri, N., Monopoli, A., Ongini, E. The dopamine D1 receptor is involved in the regulation of REM sleep in the rat. *Eur. J. Pharmacol.* 1991; 194: 189-194.

Zhou, F. M., Liang, Y., & Dani, J. A. Endogenous nicotinic cholinergic activity regulates dopamine release in the striatum. *Nature Neurosci.* 2001; 4: 1224–1229.

Appendice 1: criteri di scoring RAND-36

How to Score the Rand SF-36 Questionnaire

STEP 1: SCORING QUESTIONS:

QUESTION NUMBER	ORIGINAL RESPONSE	RECORDED VALUE
1, 2, 20, 22, 34, 36	1	100
	2	75
	3	50
	4	25
	5	0
3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12	1	0
	2	50
	3	100
13, 14, 15, 16, 17, 18, 19	1	0
	2	100
21, 23, 26, 27, 30	1	100
	2	80
	3	60
	4	40
	5	20
	6	0
24, 25, 28, 29, 31	1	0
	2	20
	3	40
	4	60
	5	80
	6	100
32, 33, 35	1	0
	2	25
	3	50
	4	75

STEP 2: AVERAGING ITEMS TO FORM 8 SCALES:

SCALE	NUMBER OF ITEMS	AFTER RECORDING AS PER TABLE 1, AVERAGE THE FOLLOWING ITEMS
Physical functioning	10	3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12
Role limitations due to physical health	4	13, 14, 15, 16
Role limitations due to emotional problems	3	17, 18, 19
Energy/ fatigue	4	23, 27, 29, 31
Emotional well being	5	24, 25, 26, 28, 30
Social functioning	2	20, 32
Pain	2	21, 22
General health	5	1, 33, 34, 35, 36