



A.D. MDLXII

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

**SCUOLA DI DOTTORATO DI RICERCA IN SCIENZE
BIOMEDICHE**

Direttore: Prof. Eusebio Tolu

**INDIRIZZO IN FISIOLOGIA, FARMACOLOGIA, MORFOLOGIA,
FISIOPATOLOGIA DEL SISTEMA NERVOSO**

Responsabile: Prof V. Anania

**AGGIORNAMENTO SULLA EPIDEMIOLOGIA
DELLA SCLEROSI MULTIPLA NEL NORD
SARDEGNA: UN TRISTE PRIMATO**

TUTOR:

PROF. STEFANO SOTGIU

CO-TUTORE:

DOTT.SSA MAURA PUGLIATTI

TESI DI:

DOTT.SSA PAOLA COSSU

ANNO ACCADEMICO 2009-2010

INDICE

1. INTRODUZIONE	4
1.1. La Sclerosi Multipla	4
1.1.1. Fisiopatologia	4
1.1.2. Immunopatologia	7
1.1.3. Caratteristiche cliniche	8
1.1.4. Diagnosi	10
1.2. Eziopatogenesi della SM	16
1.2.1. I fattori ambientali	17
1.2.2. La genetica	21
1.3. La geoepidemiologia della SM	24
1.4. L'epidemiologia della SM in Sardegna	27
1.4.1. La Sardegna	27
1.4.2. Studi Epidemiologici sulla Sclerosi Multipla in Sardegna	32
2. OBIETTIVI	41
3. METODI	43
3.1. Area di studio	43
3.2. Il registro dei casi di SM e i criteri diagnostici	45
3.3. Aggiornamento dei casi di SM	47
3.4. Analisi statistica	49
4. RISULTATI	52
4.1. Incidenza cruda e standardizzata	52
4.2. Età all'esordio	53
4.3. Studio della distribuzione di SM nel tempo e per sesso	54
4.3.1. Analisi per coorte d'esordio	54
4.3.2. Analisi per coorti di nascita	54
4.3.3. Analisi del rischio differenziale	55
4.4. Prevalenza cruda e standardizzata	56
4.5. Sopravvivenza	57
5. DISCUSSIONE E CONCLUSIONI	58
6. BIBLIOGRAFIA	68
7. TABELLE	85
8. FIGURE	88

Abbreviazioni

SM	Sclerosi multipla
SNC	Sistema nervoso centrale
EAE	Encefalite allergica sperimentale
RRSM	Sclerosi multipla a ricadute e remissioni
PPSM	Sclerosi multipla primariamente progressiva
SPSM	Sclerosi multipla secondariamente progressiva
RPSM	Sclerosi multipla recidivante progressiva
RM	Risonanza Magnetica
Gd	Gadolinio
CIS	Sindrome clinicamente isolata
PEV	Potenziali evocati visivi
EBV	Epstein-Barr virus
UVR	Radiazioni ultraviolette
MHC	Complesso maggiore di istocompatibilità
HLA	Human Leukocyte Antigen
IDDM	Diabete mellito insulino dipendente

1. INTRODUZIONE

1.1. La sclerosi multipla

La sclerosi multipla (SM) è la prima causa non traumatica di disabilità nei giovani adulti. Dal punto di vista patogenetico è una malattia infiammatoria demielinizzante del sistema nervoso centrale (SNC) caratterizzata ricadute cliniche e remissioni e da una progressiva disabilità. Presenta inoltre una notevole variabilità nel decorso, nelle localizzazioni e nelle caratteristiche fisiopatologiche delle lesioni.

1.1.1. Fisiopatologia

La principale causa di ricaduta clinica di malattia è una demielinizzazione segmentale, che, portando ad una perdita degli internodi della mielina è la principale responsabile del blocco di conduzione assonale nel sito della lesione (Mc Donald e Sears, 1970). Gli effetti fisiopatologici sulle fibre nervose possono riguardare sia l'ineccitabilità che l'ipereccitabilità e la reintegrazione funzionale alla perdita strutturale permanente

dovuta alla degenerazione. Tuttavia la presenza di una lesione non necessariamente si accompagna alla comparsa di sintomi, anche quando la lesione si trova in una area clinicamente eloquente del SNC. Infatti il SNC ha una sostanziale capacità di riserva funzionale così che il 50% o più degli assoni può essere perso senza che deficit clinici diventino manifesti. Le lesioni causano dei sintomi quando la maggior parte degli assoni sono demielinizzati e falliscono nella conduzione, se questo non accade la lesione infiammatoria può rimanere subclinica. Tuttavia la patofisiologia della demielinizzazione non si limita al successo o al fallimento nella conduzione nervosa, ma gli assoni possono anche diventare ipereccitabili e generare treni di impulsi spuri ed ectopici che contribuiscono a vari fenomeni “positivi”. I deficit, oltre che dalla demielinizzazione, sono dovuti alla degenerazione assonale e all’infiammazione. Una caratteristica dei pazienti con SM è loro la capacità di avere un apparente completo recupero dopo le ricadute, includendo anche quelle caratterizzate da deficit neurologici severi. Remissioni complete sono molto frequenti nelle fasi precoci di malattia. Possono essere identificati tre

importanti meccanismi, la cui relativa importanza varia nei diversi pazienti, nelle diverse lesioni, e nell'ambito di un singolo paziente, nelle diverse fasi di malattia. Inizialmente la comparsa di un blocco di conduzione o di una disfunzione sinaptica possono essere dovuti a mediatori dell'infiammazione in un tessuto strutturalmente normale. In un secondo tempo cambiamenti plastici in network neuronali superstiti sopperiscono alla perdita di funzione. Infine cambiamenti adattativi e/o la riparazione mediante rimielinizzazione porta al recupero della funzione in assoni dove la conduzione era stata in precedenza compromessa. Tuttavia, con il passare del tempo tali processi compensatori diventano meno efficaci e la degenerazione assonale diventa dominante. È noto che la degenerazione assonale inizia nelle fasi precoci di malattia ma, a causa della ridondanza del SNC, le perdite debbono accumularsi prima di divenire clinicamente manifeste e divenire causa di disabilità irreversibile (Compston e Coles, 2008).

Inoltre sebbene la SM sia generalmente considerata una malattia della sostanza bianca del SNC vi è un coinvolgimento anche della sostanza grigia e dei nuclei cerebrali profondi (Kidd et al, 1999).

1.1.2. Immunopatologia

L'eziologia della SM è tuttora sconosciuta anche se il quadro istologico delle lesioni, i dati genetici, il parallelismo con l'encefalomielite allergica/autoimmune sperimentale (EAE) e la risposta alla terapia immunomodulante e immunosoppressiva supportano l'idea che la SM sia una malattia autoimmune mediata da una aberrante risposta dei linfociti T CD4+ attivati e diretti contro i componenti della mielina.

I meccanismi immunopatogenetici alla base delle nuove lesioni della sostanza bianca sono il danno della barriera ematoencefalica, gli infiltrati perivascolari di cellule infiammatorie mononucleate, la demielinizzazione e il danno assonale sia all'interno della lesione che distalmente a causa della degenerazione Walleriana. È questo tipo di danno che viene limitato dai farmaci immunomodulanti e immunosoppressori

utilizzati nella cura della SM. I meccanismi alla base del danno a livello della sostanza grigia sono invece ancora sconosciuti ma, probabilmente, sono associati ad una risposta infiammatoria compartimentalizzata senza una alterazione della barriera ematoencefalica. La scarsa efficacia dei farmaci immunomodulatori nella fase cronica lentamente progressiva della malattia può essere in parte spiegata dalla compartimentalizzazione di questa reazione infiammatoria nel SNC (Pirko et al, 2007).

1.1.3. Caratteristiche cliniche

Dal punto di vista clinico la malattia è caratterizzata da una varietà di segni e sintomi che interessano diversi sistemi funzionali del SNC e che rappresentano la diversa espressione di lesioni focali encefaliche, midollari o del nervo ottico. I deficit neurologici e i sintomi possono presentarsi con diversi profili temporali e modalità di insorgenza.

La maggior parte dei pazienti presentano un esordio brusco con successive ricadute e remissioni (SM recidivante-remittente,

SMRR). La ricaduta generalmente è caratterizzata da sintomi motori, sensitivi, visivi o da interessamento del tronco encefalo che si possono presentare singolarmente o associati, seguita da completo recupero o da deficit residui dopo la risoluzione della crisi e nessuna progressione della malattia durante i periodi intercritici. Solo una minoranza presenta una progressione della malattia ab initio, generalmente con una paraparesi spastica o atassica, plateau occasionali e temporanei senza riesacerbazioni acute (SM primariamente progressiva, SMPP).

Il progressivo accumulo di disabilità è il risultato di due meccanismi: 1) un peggioramento a gradini causato dall'incompleto recupero delle lesioni acute, e 2) un lento e graduale peggioramento che caratterizza le forme primariamente progressive. Le forme secondariamente progressive (SMSP) sono caratterizzate da una continua progressione della malattia dopo un periodo di tempo descrivibile come recidivante remittente con o senza sovrapposizioni di ricadute, remissioni o plateau. Nelle forme recidivanti progressive (SMPR) la malattia è progressiva ab

initio ma con chiare esacerbazioni acute seguite o meno da completo recupero.

1.1.4. Diagnosi

La diagnosi si basa su dati clinici, come la storia clinica e l'esame obiettivo neurologico, e indagini paracliniche come le immagini di Risonanza Magnetica (RM), l'esame del liquido cefalorachidiano e i potenziali evocati. Tradizionalmente i criteri diagnostici per una diagnosi di "SM clinicamente definita" richiedono l'evidenza clinica di due o più lesioni della sostanza bianca in almeno due diverse occasioni (Schumacher et al, 1965). Nel 1983 questi criteri furono modificati da Poser e colleghi che introdussero l'uso di test paraclinici (Poser et al, 1983). Questi criteri diagnostici furono utilizzati per circa 20 anni fino a che non furono rivisti nel 2001 da un panel internazionale che dette maggiore rilevanza al ruolo della RM nella diagnosi di SM (Criteri di Mc Donald) (Mc Donald et al, 2001). Questi criteri sono stati ulteriormente rivisti nel 2005 da Polman e colleghi (Polman et al, 2005). Tra i limiti della classificazione diagnostica

basata sui criteri di McDonald vi è, come riconosciuto dagli autori stessi, la mancanza di una considerazione sistematica dei reperti RM del midollo. E' noto che la presenza di lesioni midollari è, in generale, un reperto con una maggiore specificità patologica rispetto al riscontro di lesioni encefaliche, in quanto, a differenza di queste ultime, si riscontra molto raramente in situazioni di invecchiamento fisiologico. Un altro limite dei criteri di McDonald si basa sui principi troppo restrittivi consentiti per l'utilizzo delle nuove lesioni T2 per la dimostrazione di una disseminazione temporale della malattia. Uno dei problemi fondamentali emerso in seguito alla pubblicazione dei criteri di McDonald è l'eccessiva importanza attribuita da alcuni alla RM per porre una diagnosi di SM. La revisione del 2005 ribadisce come i criteri di McDonald non possano essere applicati senza un'accurata valutazione clinica del paziente. In particolare, una corretta classificazione dei sintomi e segni d'esordio come monofocali (indicativi di una lesione singola) o multifocali (indicativi della presenza di più di una lesione) è fondamentale per il concetto di disseminazione nello spazio e nel tempo della

malattia, che sono i due requisiti fondamentali per la diagnosi. Viene inoltre ribadita la necessità di segni clinici obiettivabili in presenza di sintomi vaghi o indefiniti (anche di fronte a riscontri “paraclinici” suggestivi). Infine, la diagnosi di SM richiede l’esclusione di tutte le patologie alternative, che potrebbero mimarla. La modifica fondamentale apportata dai criteri di Polman consiste nell’incorporazione delle lesioni a livello del midollo spinale nei criteri per la dimostrazione della disseminazione spaziale della SM. In base ai criteri di Polman, la disseminazione spaziale alla RM richiede la presenza di almeno tre delle seguenti quattro condizioni:

- una lesione captante gadolinio (Gd) (encefalica o midollare) o, in alternativa,
- nove o più lesioni iperintense in T2 (encefaliche o midollari);
- una o più lesioni sottotentoriali o midollari;
- una o più lesioni sottocorticali;
- tre o più lesioni periventricolari.

Le lesioni midollari devono avere delle caratteristiche tipiche di SM (modesto o assente rigonfiamento, inequivocabilmente

iperintense in T2, almeno 3 mm di dimensioni, devono estendersi per non più di 2 mielomeri in lunghezza, e devono occupare solo una parte della sezione trasversa del midollo).

Viene inoltre ribadito come una lesione midollare captante gadolinio può contare sia come lesione captante che come lesione infratentoriale (soddisfacendo pertanto 2 condizioni).

La disseminazione temporale può essere dimostrata sia sul piano clinico che su quello strumentale (RM).

Disseminazione temporale clinica: occorrenza di un secondo episodio di disfunzione neurologica con caratteristiche compatibili con ricaduta clinica di SM. Per confermare la disseminazione temporale della patologia, devono essere trascorsi almeno 30 giorni tra l'esordio del primo episodio e l'esordio del secondo.

Disseminazione temporale alla RM: a) presenza di una lesione captante Gd ad un esame eseguito almeno 3 mesi dopo l'insorgenza dell'attacco clinico, in una sede differente da quella dell'attacco stesso; b) presenza di una nuova lesione in T2 rispetto ad un esame eseguito almeno 30 giorni dopo l'insorgenza

dell'attacco clinico (criterio valido per ogni esame successivo al basale di riferimento). I criteri di Polman indicano come alterazioni suggestive di SM i seguenti reperti paraclinici: a) esame del liquor cefalorachidiano (condotto con tecniche di isoelettrofocusing): presenza di bande oligoclonali esclusivamente liquorali (assenti nel siero) oppure incremento dell'IgG Index. Viene tuttavia ribadito come questi reperti abbiano limitata specificità ed accuratezza (ad esempio, presenti in mielopatie da retrovirus); b) potenziali evocati visivi (PEV): aumento di latenza dell'onda con relativa conservazione della morfologia. In un paziente con una sindrome clinicamente isolata (CIS), vanno distinte due possibili situazioni già al momento del primo attacco: 1) paziente con un attacco e reperti obiettivi compatibili con singola lesione (presentazione clinica monosintomatica). Per arrivare ad una diagnosi di SM sono necessari: a) dimostrazione della disseminazione spaziale della patologia con i criteri di RM, oppure con la presenza di almeno due lesioni e di positività dei reperti liquorali; b) dimostrazione

della disseminazione temporale della patologia con i criteri di RM oppure con il verificarsi di un secondo attacco clinico.

2) Paziente con un attacco e reperti obiettivi compatibili con la presenza di due o più lesioni (ad esempio, calo del visus associato a parestesie agli arti inferiori). Per arrivare ad una diagnosi di SM è necessaria la dimostrazione della disseminazione temporale della patologia (con i criteri di RM), oppure con il verificarsi di un secondo attacco clinico. Rispetto ai precedenti criteri di McDonald, la revisione di Polman semplifica i criteri per la diagnosi di SMPP, ridimensionando il ruolo dato al contributo liquorale e fornendo una descrizione più dettagliata dei reperti di RM dell'encefalo e del midollo spinale solitamente riscontrati in questo fenotipo di malattia.

In pazienti con esordio subdolo e progressivo di disturbi neurologici suggestivi di SM, la diagnosi di SMPP secondo i criteri di Polman può essere fatta in presenza di: progressione clinica della malattia per almeno un anno (dimostrata retrospettivamente o prospettivamente) e due dei seguenti criteri:

a) RM encefalo positiva (presenza di nove o più lesioni T2 alla

RM dell'encefalo, oppure 4 lesioni in T2 e PEV positivi); b) RM midollo positiva (2 lesioni focali in T2); c) esame liquor positivo (evidenza di bande oligoclonali, o aumento dell'IgG index, o entrambi).

Le caratteristiche di questi nuovi criteri enfatizzano dati clinici obbiettivi, si basano sulla disseminazione delle lesioni nello spazio e nel tempo, supportano l'uso di test paraclinici per la conferma della diagnosi e per l'esclusione delle diagnosi false positive e negative, permettono una più precoce diagnosi e si focalizzano sulla specificità piuttosto che sulla sensibilità.

1.2. Eziopatogenesi della SM

La causa della SM è ancora sconosciuta. Fattori ambientali, genetici e immunologici sono stati considerati nell'eziologia di questa complessa, multifattoriale ed eterogenea malattia. Verosimilmente più fattori ambientali interagiscono ad un certo punto della vita di un individuo con un tratto genetico complesso (predisposizione genetica) dando vita ad una risposta immunitaria abnorme contro la mielina del SNC. È verosimile che ci sia un

effetto cumulativo e anche che l'eziologia sia eterogenea con una differente combinazione di fattori che agisce su individui differenti.

1.2.1. Fattori ambientali

Numerosi dati epidemiologici indicano un ruolo importante dei fattori ambientali in questa malattia. Di seguito alcuni esempi. La distribuzione della SM nel mondo può essere descritta sommariamente come caratterizzata da un aumento di frequenza man mano che ci si allontana dall'equatore, con alcune zone che fanno eccezione sia per quanto riguarda le alte che le basse frequenze (Kurtzke, 1975; 1993).

Numerosi studi inoltre mostrano un aumento dell'incidenza della SM nel tempo, sebbene questi dati potrebbero essere falsati da un miglior accertamento dei casi e da nuove tecniche diagnostiche (Koch-Henriksen e Sorensen, 2010). Un altro dato che fa pensare ad un ruolo di fattori ambientali è un aumento di incidenza maggiore nelle femmine rispetto ai maschi. Orton e colleghi (Orton et al, 2006) hanno riportato un significativo incremento di

incidenza di SM nelle donne Canadesi, negli ultimi 30 anni, ma non negli uomini, alla base di un cambiamento nel rapporto donne:uomini da 1,3 fino a 3,2. Che tipo di fattore ambientale abbia portato a questo cambiamento ancora non è chiaro.

Gli studi sui migranti mostrano come, nonostante la SM sia comune nelle regioni abitate da nord Europei, questa distribuzione sia modificata a seconda di dove questi individui abbiano vissuto le fasi precoci della loro vita (Gale e Martyn, 1995). Studi condotti in Sud Africa (Dean e Kurtzke, 1971), Israele (Kahana et al, 2008), Hawaii (Detels et al, 1977) e su immigranti in UK (Elian et al, 1990) correlano il rischio di sviluppare SM con il luogo di residenza da bambini. Alla migrazione da zone ad alto rischio a zone a basso rischio durante l'infanzia si associa un rischio ridotto di sviluppare SM, come alla migrazione da zone con bassa prevalenza verso zone con alta prevalenza si associa un aumentato rischio rispetto alle popolazioni d'origine. Tuttavia analisi basate su una popolazione Australiana omogenea, che utilizzano i 15 anni come punto di stratificazione, non mostrano nessun effetto legato all'età di

migrazione, suggerendo che il rischio di esposizione interessa un più ampio range di età rispetto a quello suggerito in precedenza dagli studi australiani (Hammond et al, 2000). Inoltre pazienti con SM riferiscono di aver contratto il morbillo, parotite, rosolia e il virus di Epstein-Barr (EBV) più tardi rispetto ai controlli (Martyn et al, 1993). In particolare, su una popolazione di 3 milioni di persone, l'infezione da EBV nel giovane adulto aumenta il rischio di sviluppare SM (RR 3,0, IC95% 1,3-6,5) (Levin et al, 2003). Questi dati supportano la cosiddetta "hygiene hypothesis" per la quale individui che non vengono esposti alle infezioni durante l'infanzia, a causa di un ambiente più pulito, sviluppano delle aberranti risposte alle infezioni quando vengono esposti da giovani adulti. Lang e colleghi (Lang et al, 2002) hanno descritto le basi di un possibile un mimetismo molecolare tra il EBV e proteine "self". Una risposta immune verso il virus cross-reagisce con la mielina e induce demielinizzazione: quattro contatti peptidici del recettore T-cell ristretto DRB1 sono identici per la proteina basica della mielina e per l'EBV. Inoltre recenti studi non confermati suggeriscono che un'alta percentuale di cellule B,

all'interno delle lesioni croniche di SM, è infettata da EBV (Serafini et al, 2007). Numerosi altri virus e batteri sono stati cercati da laboratori indipendenti nei liquidi biologici di pazienti con SM ma con risultati non univoci (Sotgiu et al, 2004; Giovannoni et al, 2006).

Inoltre visto che la distribuzione della SM correla con la latitudine è stato ipotizzato un ruolo della luce solare e delle radiazioni ultraviolette (UVR) anche sulla base dei loro effetti biologici modulanti sulla risposta Th1 mediata. Studi ecologici hanno mostrato una forte correlazione inversa tra UVR e SM ed una minor frequenza di tumori della pelle legati all'esposizione solare nei pazienti con SM rispetto ai controlli (Goldacre et al, 2004). La vitamina D3, prodotta nella pelle esposta alle radiazioni UV, come 1,25-diidrossicalciferolo attenua l'induzione e la progressione della EAE, modello sperimentale animale della SM (Van Amerongen et al, 2004; Chang et al, 2010). Inoltre un alto *intake* di vitamina D è stato associato ad un più basso rischio di sviluppare SM (Ascherio e Munger, 2007). Studi sulla variazione stagionale del mese di nascita in diversi Paesi mostrano un

eccesso di nascite tra pazienti con SM in primavera. Questo potrebbe essere interpretato con il fatto che le loro madri, durante la gravidanza in inverno, abbiano livelli più bassi di vitamina D (Willer et al, 2005). Numerosi altri fattori ambientali sono stati studiati ma senza evidenze significative. Tra questi i solventi organici, l'amalgama dentaria, i traumi, lo stress psicologico, i grassi nella dieta, gli antiossidanti, il livello di educazione scolastica, il fumo di sigaretta, e gli estrogeni.

1.2.2. La Genetica

La SM ha un tasso di familiarità di circa il 20%. In generale la riduzione del rischio si riduce dal 3% nei parenti di primo grado (fratelli 5%, genitori 2% e figli 2%) all'1% nei parenti di secondo e terzo grado biologico. Questo conferisce ai parenti un rischio relativo rispettivamente di 9,2, 3,4 e 2,9, rispetto alla popolazione generale (Sadovnick et al, 1988; Robertson et al, 1996; Carton et al, 1997). Studi sui gemelli in Canada e UK hanno mostrato un tasso di concordanza maggiore nei gemelli omozigoti rispetto a quelli dizigoti (25% vs 5%) (Mumford et al, 1994; Willer et al,

2003). Individui adottati subito dopo la nascita che hanno nella loro famiglia adottiva dei membri malati di SM hanno lo stesso rischio della popolazione generale e quindi inferiore rispetto ai parenti biologici del caso indice (Ebers et al, 1995). Il rischio è inoltre più alto nei figli con entrambi i genitori affetti piuttosto che con un solo genitore affetto (Robertson et al, 1997; Ebers et al 2000). Questi studi mostrano come, nei cluster familiari e nella suscettibilità individuale, i fattori genetici siano determinanti. L'associazione tra SM e alleli del complesso maggiore di istocompatibilità (MHC) è nota dai primi anni '70 (Compston et al, 1976). Sono stati identificati i marker DR15 e il DQ16 e i corrispondenti genotipi DRB1*1501, DRB5*0101, DQA1*0102, and DQB2*0602 (Olerup et al, 1991).

Questa associazione è più forte nella popolazione dell'Europa del Nord ma è stata trovata in tutte le popolazioni tranne che nei Sardi e in alcuni gruppi etnici nel Mediterraneo nei quali la SM si associa invece al DR4 (DRB1*0405–DQA1*0301–DQB1*0302) (Marrosu et al, 1992). Dopo queste prime scoperte, negli ultimi

30 anni, due tipi di approcci sono stati utilizzati senza successo per l'identificazione di altri geni legati alla SM.

Il primo attraverso studi di linkage o di associazione con geni candidati scelti a priori sulla base di conoscenze sulla patogenesi o selezionati in base ad altre procedure (Compston, 2005). Il secondo attraverso uno screening sull'intero genoma alla ricerca di un legame con una regione cromosomica di interesse (Sawcer et al, 1996) o una associazione tra markers e geni di suscettibilità dovuta al linkage disequilibrium (The Games Collaborative Group, 2006). Recenti studi, con potere adeguato e che utilizzano reagenti che permettono uno screening ad alta-densità del genoma o di regioni di interesse, hanno permesso di aggiungere alla lista dei geni di suscettibilità l'effetto protettivo conferito dall'HLA-C554 e da HLA-DRB1*11 (Yeo et al, 2007; Dean et al, 2008) e l'aumentata suscettibilità associata con un marker a singolo nucleotide delle catene α del recettore per l'interluchina-2 e l'interluchina-7 (Ramagopalan et al, 2007; Gregory et al, 2007). Inoltre uno studio condotto da Ebers e colleghi hanno mostrato come anche nei Sardi l'HLA-DRB1*01 è significativamente

meno rappresentato nelle forme di SM con decorso più aggressivo rispetto alle forme benigne (De Luca et al, 2007). Una variazione all'interno del gene CLEC16A è stata associata nei Sardi sia alla SM che al diabete mellito di tipo 1 (Zoledziewska et al, 2009). Inoltre di recente è stata riscontrata nei Sardi una associazione anche con il gene CBLB che codifica per un regolatore negativo della risposta immune adattativa (Serra et al, 2010).

1.3. La geoepidemiologia della SM.

Gli studi epidemiologici sulla SM furono rari fino alla metà del XX secolo. Nel 1922 Davenport descrisse una più alta frequenza di malattia tra i soldati dell'esercito Americano arruolati negli stati settentrionali e notò un rischio più alto nelle persone di origini Scandinave suggerendo che ci fosse un effetto legato sia alla latitudine che a un possibile ruolo della razza (Compston et al, 2005). Nella seconda metà del XX secolo un importante contributo sulla distribuzione della SM nel mondo fu data da Kurtzke (Kurtzke, 1975) che per primo introdusse l'idea che la

distribuzione della SM fosse legata alla latitudine. Kurtzke divise la prevalenza in alta (>30 per 100.000), come quella trovata nel Nord Europa e nel Nord America, in media (5-30 per 100.000), come quella trovata nel Sud dell'Europa e degli USA, e bassa (<5 per 100.000) come quella trovata in Asia e Sud America. Questa distribuzione geografica della SM nonostante dia, in generale, una buona impressione della vera distribuzione della malattia, era in parte legata a variazioni legate al caso, all'utilizzo di differenti criteri diagnostici, all'inclusione di casi di SM possibile, errori di accertamento, bias di selezione e all'uso di tassi non aggiustati per età e sesso sulla popolazione generale.

Attualmente il numero totale di persone con SM nel mondo è stimato essere 2-2.5 milioni (Milo e Kahana, 2010). Globalmente, la prevalenza media della SM nel mondo è 30 per 100.000 (range: 5-80). La prevalenza varia tra <5 casi per 100.000 abitanti nelle aree tropicali o in Asia, e $>100-200$ casi per 100.000 abitanti nelle aree temperate, specialmente nelle popolazioni di origine nord europea come negli Stati Uniti, nel Canada, nella Nuova Zelanda e in parte della Australia. I Paesi che riportano le più alte stime di

prevalenza includono l'Ungheria (176 per 100.000), la Slovenia (150 per 100.000), la Germania (149 per 100.000), gli Stati Uniti d'America (135 per 100.000), il Canada (132,5 per 100.000), la Repubblica Ceca (130 per 100.000), la Norvegia (125 per 100.000), la Danimarca (122 per 100.000), la Polonia (120 per 100.000) e Cipro (110 per 100.000) (Tabella 1).

Globalmente l'incidenza media nel mondo è di 2,5 per 100.000 (range: 1,1-4). È più alta in Europa (3,8 per 100.000), seguita dai Paesi del Mediterraneo orientale (2 per 100.000), dall'America (1,5 per 100.000), dai Paesi del Pacifico occidentale (0,9 per 100.000) e dall'Africa (0,1 per 100.000). Non ci sono dati sul Sud-Est Asiatico (Tabella 1).

Dal punto di vista del reddito la prevalenza e l'incidenza annuale media di SM sono più alte nei Paesi ad alto reddito (89 per 100.000 e 3,6 per 100.000, rispettivamente), seguiti da quelli a reddito medio-alto (32 per 100.000 e 2,2 per 100.000), medio-basso (10 per 100.000 e 1,1 per 100.000), e dai Paesi a basso reddito (0,5 per 100.000 e 0,1 per 100.000).

Il range interquartile dell'età di esordio clinico della SM è tra i 25,3 e i 31,8 anni con una età media d'esordio di 29,2 anni.

Il rapporto donne/uomini di SM nel mondo è compreso tra 0,5 e 2 (Atlas MS Resources in the World 2008).

1.4. L'epidemiologia della SM in Sardegna

1.4.1. La Sardegna

La Sardegna ha una superficie complessiva di 24.090 km², è per estensione la seconda isola del Mediterraneo, nonché la terza regione italiana. La lunghezza tra i suoi punti più estremi (Punta Falcone a Nord e Capo Teulada a Sud) è di 270 km, mentre 145 sono i km di larghezza (da Capo dell'Argentiera a Ovest, a Capo Comino ad Est). La popolazione è di 1,68 milioni, per una densità demografica di 69 abitanti per km². La sua latitudine si situa tra il 41° 15' 42" ed 38° 51' 52", la longitudine 8° 8' e 9° 50' da Greenwich. Più dell'80% del territorio della Sardegna è montuoso e collinare; per il 67,9% è formato da colline e da altopiani rocciosi mentre le zone pianeggianti occupano il 18,5% del

territorio. Il clima mediterraneo è tipico di gran parte della Sardegna. Lungo le zone costiere, dove risiede la gran parte della popolazione, grazie alla presenza del mare si hanno inverni miti con temperatura quasi mai sotto lo zero. Le estati sono calde e secche, caratterizzate da una notevole ventilazione. Il basso tasso di umidità permette di sopportare le elevate temperature estive che raggiungono normalmente i 35 °C. Nelle zone interne il clima è più rigido. Sui massicci montuosi nei mesi invernali nevica frequentemente e le temperature scendono sotto lo zero. D'estate si mantiene fresco, soprattutto durante le ore notturne e raramente fa caldo per molti giorni consecutivi. Le precipitazioni risultano essere particolarmente scarse lungo le coste e nella zona meridionale, con medie inferiori ai 500 mm annui. Nelle aree interne la piovosità media è di 500-800 mm. La Sardegna è inoltre una regione molto ventosa. I venti dominanti sono il Maestrale e lo Scirocco.

I Sardi, originando da una precoce separazione dal gruppo caucasico sono caratterizzati da un peculiare assetto genetico che differisce da quello di altri Caucasici, compresi gli Italiani del

continente. L'origine preistorica dei Sardi non è ben nota. Tuttavia studi genetici storici e antropologici indicano che i Sardi sono dal punto di vista etnico un gruppo distinto e omogeneo. La posizione geografica della Sardegna e la montuosità del suo territorio hanno fatto sì che fra la popolazione sarda per via dell'isolamento, dell'endogamia e dell'azione di particolari processi evolutivi quali la deriva genetica si siano venute a creare particolari caratteristiche antropologiche e geniche. Infatti nonostante nel susseguirsi dei secoli numerosi popoli, come i Fenici, i Cartaginesi, i Romani, i Vandali, i Bizantini, gli Arabi, i Liguri, i Toscani e i Piemontesi, abbiano tentato di invadere e conquistare il popolo Sardo si limitarono ad occupare le coste ma non riuscirono mai a conquistare le zone dell'interno. Studi comparativi sulla frequenza allelica dell'HLA (Human Leukocyte Antigen) hanno chiaramente dimostrato l'isolamento genetico dei Sardi rispetto alle altre popolazioni Europee e Italiane. (Piazza et al 1985; Olivetti et al 1986).

Dal punto di vista socio economico fino agli anni '50 l'attività preponderante in Sardegna era quella di tipo agro-pastorale. Il

decollo industriale della Sardegna si ebbe a partire dal 1951 quando una particolare commissione di studi, prevista negli accordi inerenti lo Statuto speciale (art. 13), fu incaricata di elaborare un piano di sviluppo economico nei vari settori produttivi dell'economia isolana. Nel periodo posteriore al 1945, l'evolversi dell'economia isolana si divide in tre momenti distinti: tra il 1945 ed il 1955, l'Isola si adattò progressivamente alle condizioni ed al modo di vivere del resto del Paese; nel corso della seconda fase, tra il 1956 ed il 1966, la situazione economica cambia molto rapidamente modificando considerevolmente il tessuto sociale; la terza fase (fino ai nostri giorni) si caratterizza, nonostante gli errori e i ritardi nell'attuazione del Piano di Rinascita, in un rimarchevole progresso economico e sociale con un incremento considerevole della popolazione. Progressivamente l'analfabetismo diminuisce e l'educazione scolastica migliora notevolmente. Le linee telefoniche, gli elettrodomestici, le automobili, si diffondono in maniera considerevole e i quotidiani hanno grande diffusione mentre aumentano le linee marittime e i trasporti aerei. Oltre al commercio, al pubblico impiego e alle

nuove tecnologie, l'attività trainante dell'economia è il turismo, sviluppatosi inizialmente lungo le coste settentrionali dell'Isola. Attualmente il terziario è il settore che occupa il maggior numero di addetti; gli occupati sono ripartiti nei tre settori nelle seguenti percentuali: 8,7% al primario, 23,5% al secondario e 67,8% al terziario.

Grazie al clima mite, ai paesaggi incontaminati, alla purezza delle acque marine, la Sardegna attira ogni anno un gran numero di vacanzieri.

I primi investimenti ed i primi piani di sviluppo risalgono al 1948 in concomitanza con la sconfitta definitiva della malaria e con l'acquisizione dello status di regione autonoma. Le prime promozioni e realizzazioni infrastrutturali furono attuate attraverso l'Ente Regionale ESIT (Ente Sardo Industrie Turistiche) ed il primo boom turistico si sviluppò a cavallo tra gli anni '50 e '60, soprattutto ad Alghero e nella sua Riviera del Corallo. Ma il boom turistico di maggiori dimensioni si realizzò a partire dai primi anni '60 allorché fu fondata dal principe ismailita Āgā Khān la Costa Smeralda con il luogo di elezione Porto

Cervo, nel comune di Arzachena. Negli ultimi decenni si è registrato un discreto flusso immigratorio di cittadini provenienti da altri Paesi europei ed extra europei. La popolazione straniera al 31.12.2009 ammontava a circa 33.000 presenze, il 2% della popolazione totale sarda (Rapporto ISTAT - La popolazione straniera residente in Italia al 31 dicembre 2009). Dopo la seconda guerra mondiale e fino agli anni '80 vi fu un importante flusso emigratorio dalla Sardegna alle zone industrializzate dell'Italia e dell'Europa. In seguito il flusso migratorio si ridusse molto (circa 1,6%) e rimase costante nel tempo.

1.4.2. Gli studi epidemiologici sulla SM in Sardegna

Il primo studio epidemiologico sulla SM in Sardegna fu pubblicato ormai 47 anni fa (Mapelli, 1963). Questo studio si basava su 100 casi osservati tra il 1941 e il 1961 presso l'Istituto di Clinica Neurologica di Sassari e copriva una popolazione di 600.000 abitanti ca. Il tasso di morbilità osservato, il rapporto tra il numero dei pazienti con SM e la popolazione generale, era 16,7 per 100.000 abitanti, con un range da 13,3 nelle aree costiere a

31,1 nelle aree montane sebbene non significativo. In seguito gli studi epidemiologici si estesero a tutta l'isola dove nel 1964 fu stimata una prevalenza di 16,5 per 100.000 abitanti con significative differenze nei tassi tra le tre vecchie province: 11,6 in provincia di Cagliari, 24,8 in provincia di Nuoro e 15,9 in provincia di Sassari. Questi tassi erano probabilmente grossolanamente sottostimati per il fatto che il tempo che intercorreva dall'esordio clinico alla diagnosi era molto lungo. Inoltre l'accertamento dei casi veniva fatto attraverso un'unica fonte ospedaliera e gli intervalli di confidenza inoltre non vennero riportati. Il primo studio di incidenza, condotto dal Prof. Rosati e Prof. Granieri (Università di Sassari e Università di Ferrara, rispettivamente), risale al 1971 e mostrò un tasso di 12,5 per 100.000 per anno, con un rapporto donne:uomini di 1,8 (Rosati et al, 1977).

L'età media di esordio era 27,3 anni, inferiore a quella trovata a quei tempi in altre popolazioni Europee e del centro e sud d'Italia. Sin dall'inizio c'è stato un interesse nel studiare la variazione nello spazio della SM in Sardegna con particolare riguardo alla

latitudine e al clima. I tassi più alti vennero rinvenuti tendenzialmente nelle aree dell'interno montuose e collinari rispetto alle coste (Rosati et al, 1978). Fu descritta una correlazione positiva tra SM e patologia cardiaca reumatica e nefrite post-streptococcica suggerendo che la SM seguiva a una infezione distribuita in modo simile a quella dello streptococco. Nel 1975 in Barbagia (su una popolazione di circa 50.000 abitanti fu riportata una prevalenza di 40,7 per 100.000 e un'età media di esordio di 28 anni (Granieri e Rosati, 1982). Questi tassi erano i più alti osservati in Italia o nel Sud dell'Europa al tempo, ed era la prima evidenza epidemiologica contro la teoria sulla caduta della frequenza nell'area Mediterranea (Kurtzke, 1980). Gli autori tesero ad escludere dei bias dovuti a cambiamenti nella struttura della popolazione tra il 1960 e il 1980 e ad una riduzione della popolazione a rischio dovuta all'emigrazione per fattori socio-economici. Studi successivi condotti nella stessa area mostrarono un incremento della prevalenza a 65,3 nel 1981 (Granieri et al 1983), a 143,9 nel 1993 (Casetta et al, 1998), a 152 nel 1994 (Granieri et al, 2000) e a 157 nel 1998 (Montomoli et al, 2002).

L'incidenza annuale media fu stabile intorno a 3 per 100.000 per l'intervallo di tempo dal 1961 al 1980 (Granieri et al, 1983) ma incrementò a 6,4 nel periodo 1990-95 nell'intera provincia. Gli autori spiegarono questo aumento nel tempo non solamente con un miglior accertamento dei casi e con un aumento della sopravvivenza ma suggerirono un ruolo della suscettibilità genetica e di fattori ambientali. Nel 1980 uno studio di incidenza sui trend secolari fu condotto a Macomer, nella Sardegna centrale (Rosati et al, 1986). Una approfondita ricerca su tutti i casi di SM che si verificarono presso questo comune a partire dal 1912 indicò che la SM era assente fino al 1952 e che 13 casi esordirono clinicamente negli anni 1952-81. Durante questo periodo l'incidenza annuale media era 4,8 per 100.000, con un picco nel periodo 1957-61. L'autore suggerì una epidemia di SM in questa popolazione 'naive' che iniziò dopo il 1945, ipoteticamente secondariamente ad un influsso da parte di popolazioni ad alto rischio dal continente dopo la seconda guerra mondiale. Al tempo evidenze simili furono riportate per le isole Faroe dove fu

ipotizzato che la SM iniziò dopo l'occupazione Britannica durante la seconda guerra mondiale (Kurtzke, 1979).

Successivamente fu oggetto di uno studio basato su popolazione (population-based) il distretto sanitario di Alghero, a Nord-Ovest della Sardegna (Rosati et al, 1987). La prevalenza nel 1980 fu di 59 per 100.000 e l'incidenza annuale media per il periodo 1971-80 fu 4,1 per 100.000, con un significativo incremento da 2,6 nel periodo 1971-75 a 5,4 nel periodo 1976-80. L'età media all'esordio era 25,7 anni. Lo studio confermò l'alto rischio di SM in Sardegna e il suo aumento nel tempo con particolare riguardo agli ultimi 10 anni in cui circa il 72% dei pazienti ebbe l'esordio clinico. Fu ipotizzato il ruolo di un agente infettivo. Inoltre nei primi anni '90 fu registrata nella città di Tempio un prevalenza di 100 per 100.000 abitanti (Rosati et al, 1991). Nella città di Sassari, nel Nord-Ovest della Sardegna, fu osservata una prevalenza di 69 per 100.000 nel 1985 e un incremento nella incidenza annuale media da 2,1 a 4,6 per 100.000 nel periodo 1965-75 e 1976-85 rispettivamente, portando ad ipotizzare un ruolo di alcuni fattori eziologici (Rosati et al, 1988). Più tardi fu

condotto uno studio su popolazione nell'area Nord-Ovest dell'Isola (270.000 abitanti) per ovviare ad eventuali bias dovuti a popolazioni di piccole dimensioni (Rosati et al, 1996). La stima di prevalenza osservata di 102,6 per 100.000 abitanti nel 1991 fu la più alta osservata nello stesso periodo in Italia. Un graduale significativo incremento nei tassi di incidenza annuale media fu osservato durante il periodo di studio (1962-91) raggiungendo i 5,7 per 100.000 abitanti nell'ultimo quinquennio considerato. Il tentativo di individuare sub-aree ad alto rischio non portò a nessuna evidenza. In questo articolo fu discussa la possibilità che ci fossero dei bias di accertamento dovuti ad un miglioramento degli strumenti diagnostici ed ad un maggior allerta sulla malattia. Tuttavia il confronto della frequenza nei sardi con quelli di altre aree con alti standard diagnostici e un più facile accesso a strutture sanitarie evidenziò, un almeno in parte, un reale aumento del rischio nei Sardi. Nello stesso periodo studi immunogenetici condotti in Sardegna indicavano una possibile associazione positiva con l'HLA-D4 e gli alleli DQB1*0201 e *0302 indicando una suscettibilità su base genetica dei Sardi alla SM ed

ad altre malattie immunomediate come il diabete mellito giovanile (IDDM) (Todd et al, 1987; Marrosu et al 1988; Francis et al, 1991; Marrosu et al, 1992; Muntoni et al, 1992; Marrosu et al, 1993) che nei Sardi mostrava un comportamento epidemiologico sorprendentemente simile alla SM. Il più ampio studio basato su popolazione fu condotto in Sardegna in provincia di Sassari (455.000 abitanti) (Pugliatti et al, 2001). Fu riportata una prevalenza di 144,4 nel 1997 e una incidenza di 6,9 nel 1993-97 con un significativo incremento da 2,0 nel periodo 1968-72, molto vicino ai dati registrati nello stesso periodo, con uno studio indipendente ma con la stessa metodologia, nella provincia di Nuoro. In questi studi descrittivi vennero utilizzati nel tempo differenti criteri diagnostici: i criteri di Mc Alpine (McAlpine et al, 1972) per SM definita e probabile in Caruso et al (Caruso et al 1968), i criteri di Schumacher (Schumacher et al, 1965), per SM definita in Rosati et al (Rosati et al, 1978) , i criteri di Schumacher per SM definita e probabile e criteri di Allison e Miller (Allison e Miller, 1954) in Granieri e Rosati (Granieri e Rosati, 1982), Granieri et al (Granieri et al, 1983), i criteri di Rose

(Rose et al, 1976) per SM definita e probabile in Rosati et al (Rosati et al 1987; 1988) e i criteri di Poser (Poser et al, 1983) in Rosati et al (Rosati et al, 1996), Casetta et al (Casetta et al, 1998), Granieri et al (Granieri et al, 2000) and Pugliatti et al (Pugliatti et al, 2001). Per gli studi di prevalenza i criteri di Poser furono utilizzati dall'anno di prevalenza 1991. Per gli studi di incidenza nei diversi studi ci fu una sovrapposizione di diversi criteri negli stessi intervalli di tempo. In Rosati et al (1996) furono usati i criteri di Poser per l'intervallo di incidenza 1962-91, mentre i pazienti che furono inclusi negli studi precedenti e diagnosticati prima del 1983 furono classificati secondo i criteri di Rose. La variazione geografica della prevalenza della SM in provincia di Nuoro fu investigato tramite un approccio Bayesiano da Montomoli et al (Montomoli et al, 2002). I tassi di prevalenza variavano da 143 a 262 per 100.000 abitanti con dei cluster significativi in quattro comuni (Nuoro, Oliena, Fonni e Desulo). Visto l'alto numero di famiglie multiplex e il peculiare assetto genetico di questa popolazione gli autori interpretarono questi risultati come correlati ad una alta suscettibilità su base genetica.

Lo stesso approccio fu utilizzato per studiare la variazione della prevalenza nella vecchia provincia di Sassari mostrando dei cluster nelle aree nord-occidentali della provincia. In particolare le aree ad alto rischio furono localizzate nelle aree linguistiche del Sassarese nella parte occidentale e comune del Logudorese (Pugliatti et al, 2002). Questa zona confina con il comune di Macomer dove fu in precedenza ipotizzata una epidemia (Rosati et al, 1986), mentre l'area Catalana, distante geneticamente e linguisticamente mostrava un più basso rischio. L'ultimo studio di incidenza pubblicato nel 2005 sulla vecchia provincia di Sassari mostrava un incremento di incidenza annuale da 1,1 per 100.000 abitanti nel periodo 1965-69 a 5,8 nel 1995-99, senza differenze fra i sessi e fra sub-aree della provincia (Pugliatti et al, 2005). In provincia di Sassari inoltre fu studiata la presenza di cluster temporo-spaziali per identificare il periodo di suscettibilità a fattori esogeni (Pugliatti et al, 2006). Furono individuati dei cluster temporo-spaziali nella prima infanzia (1-3 anni). Il cluster era più marcato tra i casi più recenti, tra le donne e le forme con decorso a ricadute e remissioni.

2. OBIETTIVI

Gli studi epidemiologici della SM in Sardegna si basano su una sorveglianza di oltre 40 anni. La sorveglianza epidemiologica è fondamentale, in particolare nelle malattie croniche e multifattoriali come la SM, per la raccolta, l'analisi e l'interpretazione continua e sistematica di dati essenziali per la valutazione del *burden* socio-sanitario, la pianificazione, la realizzazione e la valutazione degli interventi di salute pubblica.

Gli studi della variazione geografica e temporale dei tassi di incidenza e l'individuazione di gruppi a rischio di alcune malattie croniche sono spesso utili per formulare delle ipotesi eziologiche. Queste ipotesi sono rivolte alla ricerca di fattori ambientali e genetici che possono essere all'origine della variazione geografica e temporale o che agiscono in modo selettivo su particolari gruppi di persone. Quindi, quanto meglio si è in grado di descrivere la distribuzione di una malattia nello spazio, nel tempo e per sottogruppi, tanto meglio si è in grado di capirne l'eziologia.

Inoltre, un'accurata sorveglianza è necessaria, non solo per la comprensione dell'eziologia e la prevenzione della malattia, ma anche per la programmazione delle risorse socio-sanitarie da destinare ad essa. Questo è tanto più importante se si considera che la SM è al primo posto tra le cause non traumatiche di disabilità nel giovane adulto con tutto ciò che comporta in termini di costi diretti e indiretti.

Le sue peculiari caratteristiche genetiche e di isolamento geografico rendono la Sardegna un laboratorio particolarmente interessante ed unico per gli studi epidemiologici e genetici sulla SM.

Gli ultimi dati pubblicati in letteratura sull'incidenza e la prevalenza della SM nella Sardegna settentrionale risalgono al periodo 1965-99.

Nell'ambito delle strategie di sorveglianza clinico-epidemiologica, scopo di questo studio è stato l'aggiornamento dei dati e degli indici epidemiologici della SM nella popolazione della Sardegna settentrionale per il periodo 1965-2008.

3. METODI

3.1. Area di studio

L'area di studio è costituita dalle attuali province di Sassari e Olbia-Tempio. In seguito alla Legge Regionale n. 9 del 2001 e successive integrazioni, è stata effettuata una nuova ripartizione del territorio della Regione Autonoma della Sardegna, che ha portato il numero delle province da quattro a otto. Le modifiche hanno assunto piena operatività dal maggio 2005, in occasione delle elezioni per rinnovare tutti i Consigli provinciali.

La vecchia Provincia di Sassari ha subito perciò le seguenti modifiche: ha perso 24 comuni, che hanno aderito alla nuova Provincia di Olbia-Tempio ed ha perso, complessivamente, una popolazione di 131.000 abitanti e una superficie di 3.242 km². La Provincia di Olbia-Tempio è una nuova provincia, costituita da 24 comuni provenienti dalla Provincia di Sassari e 2 comuni provenienti dalla Provincia di Nuoro.

La Provincia di Sassari si affaccia a Nord e ad Ovest sul Mar di Sardegna, confina a Sud con le Province di Oristano e di Nuoro e

ad Est con la Provincia di Olbia-Tempio. La provincia conta 66 comuni, 334.656 abitanti (il 20,1% della popolazione sarda) e si estende per 4.281 km² (il 17,8% del territorio sardo). La Provincia di Olbia-Tempio si affaccia a Nord sul Mar di Sardegna, uno stretto canale che la separa dalla Corsica, e ad Est sul Mar Tirreno, e confina ad Ovest con la Provincia di Sassari e a Sud con la Provincia di Nuoro. Conta complessivamente 26 comuni con una popolazione di 151.346 (il 9,4% della popolazione sarda) e si estende per 3.397 km² (il 14,1% del territorio sardo). Dal punto di vista dell'assistenza sanitaria la Azienda Sanitaria Locale (ASL) 1 di Sassari è divisa in tre distretti: Sassari, Alghero e Ozieri. La ASL 2 di Olbia-Tempio è suddivisa nei due distretti di Olbia e Tempio. Il punto di riferimento per la diagnosi e l'assistenza dei pazienti con SM in tutta l'area di studio è il Centro Regionale per la Diagnosi e la Cura della Sclerosi Multipla ("Centro SM") presso l'Unità Operativa di Clinica Neurologica dell'Azienda Ospedaliero-Universitaria di Sassari, presso il quale vengono anche dispensati i farmaci immunomodulanti per la SM. Parte dei pazienti inoltre viene

diagnosticata e seguita presso la Divisione di Neurologia di Ozieri (ASL 1). La ASL 2 non ha un reparto di Neurologia ma un servizio ambulatoriale privo dell'autorizzazione alla dispensazione dei farmaci immunomodulanti.

3.2. Il registro dei casi di SM e criteri diagnostici

Nel 1989 fu istituito, presso l'Istituto di Clinica Neurologica dell'Università degli Studi di Sassari, il Centro SM (Decreto Giunta Regione Autonoma della Sardegna, n. 22/21 del 16 maggio 1989), che divenne il centro di riferimento per accertamenti in merito a diagnosi sospette di SM nella popolazione sarda settentrionale. Nel 1996, inoltre, il Centro SM di Sassari fu identificato quale Centro Regionale Autorizzato alla Prescrizione e Dispensazione dell'Interferone beta in pazienti con SM (D.M. 05 febbraio 1996, Suppl. Ord. G. U. n. 41 del 19 febbraio 1996), e successivamente delle altre terapie immunomodulanti specifiche per SM.

Per propositi di ricerca e gestionali nel 1995 fu istituito presso l'Ist. di Clinica Neurologica di Sassari un Registro dei Casi di SM. L'accertamento dei casi di SM da allora è stato attuato periodicamente, attraverso l'utilizzo, nel tempo, dei diversi criteri diagnostici per la diagnosi di "SM definitiva". Prima del 1983 vennero utilizzati i criteri di Schumacher (Schumacher et al, 1965). Nel 1983 questi criteri furono modificati da Poser e colleghi che introdussero l'uso di test paraclinici (Poser et al, 1983). Questi criteri diagnostici furono utilizzati per circa 20 anni fino a che non furono rivisti nel 2001 da un panel internazionale che dette maggiore rilevanza al ruolo della RM nella diagnosi di SM (Criteri di Mc Donald) (Mc Donald et al, 2001). Nel 2005 questi criteri furono ulteriormente rivisti da Polman e coll. (Polman et al, 2005) (cfr. *Diagnosi*).

Questi ultimi criteri sono stati utilizzati, dunque, per la classificazione diagnostica relativa all'aggiornamento dei casi dal 2005.

Il tipo di metodologia usata per l'accertamento dei casi di SM negli anni e nel territorio di studio è stata descritta da Kurtzke

come “*spider method*” (Kurtzke, 1997). Questo modello si basa su una strategia di sorveglianza passiva, in cui i pazienti con SM vengono “catturati” da una rete di operatori sanitari del territorio, e da questi ultimi, notificati al centro di riferimento, sede del Registro di Casi. Questa metodologia di accertamento garantisce ad oggi una buona copertura del Registro su tutta l’area di studio.

3.3. Aggiornamento dei casi di SM

In virtù degli Obiettivi del presente lavoro, dal 2005 l’identificazione dei casi di SM nell’area di studio è stata portata avanti, oltre che con la suddetta metodologia “*spider*”, anche con l’utilizzo di altre fonti epidemiologiche di dati.

Di seguito, le fonti “classiche” utilizzate per l’identificazione dei casi di SM:

Gli archivi della Clinica Neurologica di Sassari:

- a. i registri dei ricoveri ospedalieri
- b. i registri ambulatoriali del Centro SM

- c. elenchi dei pazienti in terapia con i farmaci immunomodulanti

Gli archivi della Divisione di Neurologia di Ozieri

- a. i registri dei ricoveri ospedalieri
- b. i registri ambulatoriali

Gli archivi del Servizio di Neurologia di Olbia

- a. i registri ambulatoriali

Nuove fonti utilizzate per l'accertamento dei casi sono quelle derivanti dal Settore dei Servizi Informativi delle ASL 1 e 2, precisamente:

- a. dati sulle Schede di Dimissione Ospedaliera (SDO) con diagnosi primaria e secondaria di SM (codice 340). Nel caso questi pazienti non fossero presenti in altre fonti, e per i quali quindi non fossero disponibili altre notizie cliniche, è stato assunto che la data di ricovero fosse la data d'esordio clinico della malattia.
- b. dati sulle Esenzioni Ticket per patologia (codice 046).

L'esenzione per SM è permanente pertanto i pazienti con

esenzione ticket dovrebbero essere virtualmente i casi prevalenti.

c. la data di decesso, qualora fosse avvenuto, dei pazienti presenti nel registro SM.

Poichè tale Settore è stato costituito per entrambe le ASL 1 e 2 nell'anno 2000, tale fonte epidemiologica è stata informativa per il periodo di studio 2000-09.

3.4. Analisi Statistica

Come “caso incidente” sono stati considerati tutti i pazienti residenti nell'area di studio al momento della comparsa di segni e/o sintomi neurologici attribuibili ad esordio clinico di SM e nel periodo di incidenza (1965-2008).

I tassi di incidenza totale, specifici per sesso e fasce di età sono stati riportati per il periodo di incidenza 2000-04, assumendo una possibile perdita di casi accertati per l'ultimo quinquennio di studio.

Il tasso di incidenza cruda media totale, per sesso e rispettivi intervalli di confidenza al 95% (IC95%) è stato anche calcolato per il periodo di incidenza (1965-2008), diviso in quinquenni, utilizzando, rispettivamente, i censimenti del 1961, 1971, 1981, 1991, 2001 e la proiezione ISTAT 2008 come denominatore. I tassi di incidenza totale e per sesso sono stati standardizzati con metodo diretto per la popolazione Italiana (proiezione ISTAT 2008).

Come “caso prevalente” sono stati definiti tutti i soggetti con segni e/o sintomi attribuibili a diagnosi di SM residenti nell’area di studio al giorno di prevalenza 31.12.2008.

Le stime di prevalenza cruda totale, per sesso e per fasce di età sono state calcolate al giorno 31.12.2008 utilizzando come denominatore la popolazione nelle province di Sassari e Olbia-Tempio secondo la proiezione ISTAT 2008. La stima standardizzata totale e per sesso è stata calcolata con metodo diretto per la popolazione Italiana (proiezione ISTAT 2008).

Per lo studio del trend temporale del rapporto F:M, sono state utilizzate due strategie di analisi. Con la prima, è stata calcolata la

proporzione di soggetti nati nell'area di studio, che hanno sviluppato SM (numeratore), per coorti quinquennali di nascita 1945-79 secondo i censimenti dal 1951 al 1981 (denominatore). Con la seconda, è stato invece calcolato il rapporto F:M per coorti quinquennali di esordio clinico (periodo di incidenza 1965-2008). Il rischio differenziale tra i sessi è stato ottenuto calcolando la differenza tra l'incidenza nella popolazione femminile e l'incidenza nella popolazione maschile per il periodo di incidenza in quinquenni.

Il test del chi quadrato è stato utilizzato per testare l'associazione tra variabili categoriche. L'analisi della varianza univariata (ANOVA) è stata utilizzata per l'analisi della variazione di variabili dipendenti continue (es. età di esordio, età al decesso) rispetto a variabili indipendenti (es. anno di incidenza) e controllando per covariate (sesso). Le medie marginali stimate sono state presentate.

La significatività statistica è stata stabilita per $p < 0,05$ (test a due code).

4. RISULTATI

4.1. Incidenza cruda e standardizzata

Nel periodo di incidenza 1965-2008, 1280 casi (363 uomini e 917 donne) hanno manifestato segni o sintomi attribuibili ad esordio clinico di SM.

Per il periodo 2000-04, è stato registrato un tasso medio totale di incidenza di 10,5 (IC95% 8,3-12,8) per 100.000/anno, 14,7 nelle donne (IC95% 12,7-16,7) e 6,2 negli uomini (IC95% 5,1-7,3) (Tabella 2). L'età a maggior rischio di sviluppare SM è compresa tra i 20 e 29 anni con un'incidenza totale di 28 casi per 100.000/anno, 43,5 casi nelle donne e 12,8 negli uomini (Tabella 2). Lo studio del trend temporale dell'incidenza cruda media totale ha mostrato un aumento da 1,8 (IC95% 0,8-2,2) per 100.000/anno nel periodo 1965-69 a 10,5 (IC95% 8,3-12,8) nel periodo 2000-04, e a 7,6 (IC95% 5,4-9,7) nel periodo 2005-08, declino, quest'ultimo, correlabile a bias di accertamento (vedi *Metodi*) (Tabella 3). Il trend temporale di incidenza cruda totale e per sesso dal 1965 al 2008 è rappresentato nella Figura 1, mentre

gli stessi tassi standardizzati per la popolazione Italiana sono riportati nella Figura 2.

4.2. Età all'esordio

L'età media all'esordio per l'intervallo di incidenza considerato è di 29,9 anni ($\pm 9,5$), 30,3 anni ($\pm 9,2$) nella popolazione maschile e 29,2 anni ($\pm 9,5$) in quella femminile, senza differenza significativa.

L'ANOVA effettuata considerando l'età di esordio dei casi incidenti nell'area di studio nel periodo 1965-2008 come variabile dipendente, i quinquenni di esordio come variabile fissa (indipendente) ed il sesso come covariata, ha mostrato un trend incrementale lineare ($R^2 = 0,067$) altamente significativo ($p < 0,0001$), senza differenza per sesso.

Il trend è mostrato nel grafico delle medie marginali attese (Figura 3): l'età media d'esordio è aumentata in modo significativo da 25,6 anni nel periodo 1965-69 a 32,3 anni nel periodo 2005-08, senza significative differenze tra i sessi.

4.3. Studio della distribuzione di SM nel tempo e per sesso

4.3.1. Analisi per coorte di esordio

Il rapporto F/M analizzato per anno di esordio mostra un trend incrementale ma non lineare da 1,5 nel periodo 1965-69 a 3,2 nel periodo 2005-08, con un picco di 3 nel periodo 1985-89 (analisi dell'associazione lineare-lineare, $p=0,313$) (Figura 4).

4.3.2. Analisi per coorti di nascita

Nell'ipotesi che l'aumento dell'incidenza nella nostra popolazione potesse essere attribuibile a variazioni avvenute nel tempo di fattori ambientali, al momento non noti, e che questi possano aver agito in modo differenziale nei due sessi, è stata effettuata, per entrambi i sessi, l'analisi delle variazioni temporali nelle proporzioni di soggetti che rispetto alla propria coorte di nascita hanno sviluppato SM.

Nell'ipotesi di una differenza di distribuzione per sesso alla nascita, in soggetti che in seguito svilupperanno la SM nell'area di studio, possibile espressione questa di una differenziale distribuzione di fattori di rischio specifici per sesso ed operanti dalle prime fasi di vita, è stata inoltre condotta un'analisi per

nesso della proporzione di questi soggetti sulla popolazione generale della rispettiva coorte per nascita.

Per i nati nell'area di studio nel periodo 1945-79 la proporzione di soggetti di sesso maschile che andava a sviluppare SM era stabile, variando da 0,21% negli anni 1945-49 a 0,23% negli anni 1975-79, con un lieve incremento per il periodo 1955-59 (0,34%). Per i soggetti di sesso femminile, invece, tali valori variavano da 0,62% (1945-49) a 0,74% (1975-79), con un netto aumento a partire dalla coorte di nascita 1955-59, con un importante picco, vicino all'1% di tutte le nascite della popolazione femminile nel periodo 1960-64 (Figura 5).

L'analisi del trend temporale del rapporto F/M per coorti di nascita dello stesso periodo mostra un incremento da 2,4 per il periodo di nascita 1945-54 a 2,8 per il periodo 1955-64, stabilizzandosi poi nel decennio successivo (Figura 6).

4.3.3. Analisi del rischio differenziale

Quale espressione dell'eccesso di rischio di sviluppare SM nella popolazione femminile rispetto a quella maschile è stato calcolato il rischio differenziale tra i due sessi ed analizzato il suo trend

temporale. Tale valore è apparso in costante e lineare aumento, da 0,8 nel periodo 1965-69 a 9,1 nel 2005-08 ($R^2 = 0,9275$) (Figura 7).

4.4. Prevalenza cruda e standardizzata

Al giorno di prevalenza 31.12.2008, 1265 soggetti affetti da SM, 345 uomini e 920 donne, risultavano residenti nell'area di studio. Di questi il 3,5% proveniva esclusivamente dalle fonti dei Sistemi Informativi. L'età media alla prevalenza era di 46,6 anni ($\pm 12,8$) senza significative differenze tra i sessi. La stima cruda della prevalenza totale era di 260,3 per 100.000 (IC95% 256,3-264,3), 372,2 (IC95% 368,8-375,6) nelle donne e 144,5 (IC95% 142,3-146,6) negli uomini, con un rapporto F/M di 2,6. L'età con prevalenza più alta era quella compresa tra i 45 e i 55 anni (551,4 per 100.000) (Tabella 4).

La stima di prevalenza totale standardizzata per la popolazione Italiana era di 247,6 per 100.000 (IC95% 207,9-287,3), 353,2 nelle donne (IC95% 319,4-387,0) e 137,8 (IC95% 159,7-115,9) negli uomini.

La prevalenza nell'area di studio aumentava da 45,0 (IC95% 43,3-46,6) per 100.000 nel 1971 a 260,3 (IC95% 256,3-264,3) per 100.000 nel 2008 (Figura 8).

4.5. Sopravvivenza

L'età media al decesso per il periodo 1965-2008 nei pazienti residenti nell'area di studio era 56,4 anni ($\pm 12,8$), 58,1 anni ($\pm 12,5$) negli uomini e 55,1 ($\pm 13,1$).

L'ANOVA effettuata considerando l'età al decesso come variabile dipendente, il periodo del decesso come variabile indipendente e il sesso come covariata, mostrava un significativo aumento dell'età al decesso da a 48,5 ($\pm 13,8$) anni nel periodo 1965-74, a 62,3 ($\pm 11,1$) anni nel 2005-08 ($p=0,003$) (Figura 9), senza significativa differenza tra i sessi.

L'analisi di sopravvivenza rappresentata dalla curva di Kaplan Meier mostrava una significativa differenza nella distribuzione della sopravvivenza nei diversi periodi di decesso (Log Rank: χ^2 9,704, $p=0,046$) (Figura 10).

5. DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

Scopo della presente ricerca è stato l'aggiornamento degli indici epidemiologici della SM nella Sardegna settentrionale per il periodo 1965-2008 al fine di descrivere e monitorare il comportamento epidemiologico della malattia in questa popolazione nel tempo, con particolare riferimento alla sua incidenza, alla prevalenza ed ai gruppi a rischio per sesso ed età.

Obiettivo ultimo dello studio non è unicamente quello di monitorare lo stato di salute della popolazione generale e fornire indici utili per una corretta programmazione delle risorse socio-sanitarie con riferimento alla SM, ma quello di comprendere l'eziologia della malattia e la formulazione di nuove ipotesi da testare con studi analitici.

I dati ottenuti con il presente lavoro mostrano un costante incremento dell'incidenza annuale media da 1,8 per 100.000 (IC95% 0,8-2,2) nel periodo 1965-69 a 10,5 per 100.000 (IC95% 8,3-12,8) nel periodo 2000-04. Tali tassi, messi a confronto con quelli ottenuti dalla letteratura internazionale (Tabella 1),

risultano essere tra i più alti al mondo. Il costante incremento del rischio per SM osservato nella nostra popolazione e per tempi relativamente brevi, suggerisce un corrispondente cambiamento nella distribuzione del fattore/i di rischio ambientali implicati nella eziologia della malattia, più che quello di fattori genetici. Assistiamo nell'arco di circa quattro decenni ad un aumento del rischio di sviluppare SM nella popolazione maschile di 4,8 casi per 100.000/anno, mentre nella popolazione femminile di ben 12,5 casi per 100.000/anno. Pertanto nell'ipotesi che l'aumento dell'incidenza nella nostra popolazione potesse essere attribuibile a variazioni temporali della concentrazione di fattori ambientali, al momento non noti, e che questi possano aver agito in modo differenziale nei due sessi, è stata effettuata, per entrambi i sessi, l'analisi delle variazioni temporali nella proporzione dei nati che hanno sviluppato SM nelle diverse coorti per nascita. Infatti le coorti per nascita sono costituite da soggetti che vivendo nella stessa epoca condividono l'esposizione, sin dall'infanzia e probabilmente già nella vita intrauterina, a fattori ambientali, stili di vita, e l'impatto sull'individuo dell'evoluzione scientifica e

tecnologica. Per questo sottostudio, in particolare, sono state considerate le coorti di nascita comprese tra il 1945 ed il 1979, per le quali erano a disposizione i dati corrispondenti di censimento. Le coorti di nascita successive al 1979 non sono state incluse nell'analisi perchè composte da individui giovani ancora a rischio per sviluppo di malattia o non ancora diagnosticati. Ciò che si osserva è che, nelle coorti per nascita, la proporzione di soggetti di sesso maschile che sviluppa SM resta piuttosto costante nel periodo di studio (0,2-0,3%), mentre quella di sesso femminile, già più alta per le prime coorti (0,6%), raggiunge, a partire dal 1955, quasi l'1%. Questa evidenza potrebbe indicare che mentre negli uomini nel tempo (a prescindere dall'età di esordio della malattia) il rischio di ammalarsi di SM è rimasto costante, nelle donne, nelle quali tale rischio era comunque già più alto, è invece ulteriormente aumentato nel tempo a partire da un dato periodo (1955). Ciò conforta l'ipotesi che in quel periodo ci sia stato un possibile cambiamento nella distribuzione di fattori di rischio ambientali specifici per sesso.

Nell'ambito degli studi epidemiologici sulla SM, generalmente si studia la variazione temporale del rapporto donne/uomini sia per la formulazione di ipotesi eziologiche sia come indice interno all'indagine, espressione di un reale aumento di incidenza, a patto che non ci siano bias di accertamento differenziale nel tempo tra uomini e donne.

Nella nostra popolazione l'analisi dell'andamento temporale di questo rapporto per anno di esordio mostra un chiaro aumento, sebbene con andamento fluttuante, da 1,5 nel periodo 1965-69 a 3,2 nel periodo 2004-08. Come mostrato nella Figura 4, è visibile un incremento di questo rapporto anche per il periodo 1985-89 (F/M=3,0). Questo periodo sembra corrispondere al periodo in cui i nati nella coorte a maggiore rischio (1955-64) presentano l'età a maggior incidenza di malattia (25-30 anni). Queste evidenze suggeriscono che all'aumento generale dell'incidenza di SM nella nostra popolazione, contribuisce l'aumento di incidenza specifico nelle donne. Lo studio dello stesso rapporto per coorti di nascita, inoltre, mostra un incremento netto da 2,4 per i nati nel periodo

1945-54, a circa 2,8 e si mantiene poi costante per le coorti successive. Anche questo dato indirizza nel pensare che le donne, che già di base presentavano un rischio più alto degli uomini, siano state (maggiormente) esposte, o siano più suscettibili rispetto agli uomini, a fattori di rischio la cui distribuzione è variata nel tempo.

La differenza tra lo studio del rapporto F/M per anno di esordio e per coorte di nascita è che mentre l'andamento temporale del rapporto F/M per anno di esordio dipende dall'anno di esordio clinico della malattia che talvolta è difficile da stabilire ed è sicuramente diverso dall'esordio biologico, il rapporto F/M per coorte di nascita non risentendo di questo aspetto è un dato più robusto in quanto, sebbene un bias differenziale di accertamento tra uomini e donne per coorti di nascita non si possa escludere, è altamente improbabile.

Se si considerano, quindi, le donne come individui esposti a fattori non noti di rischio per SM, e gli uomini come individui 'non esposti' a tali fattori, l'analisi del trend temporale del rischio

differenziale (differenza tra l'incidenza nelle donne e l'incidenza negli uomini) rappresenta allora una misura dell'”eccesso” di questo rischio nelle donne nel tempo. Questo sottostudio ha mostrato un aumento lineare del rischio differenziale da 0,8 nel periodo 1965-69 a 9,1 nel periodo 2005-08.

Il dato sul rapporto donne/uomini che incrementa nel tempo è un dato in linea con quanto riscontrato in altre popolazioni (Koch-Henriksen et al, 2010; Orton et al, 2006; Sadovnick, 2009). Questo sembrerebbe aumentare nel tempo nelle popolazioni in cui vengono eseguite indagini epidemiologiche ripetute nel tempo. Nel “Canadian Study” il rapporto F/M per anno di nascita varia da 1,9 nei nati nel 1936-40 a 3,2 nei nati nel 1976-80. Rispetto agli studi presenti in letteratura su questo argomento, il rapporto F/M per coorte di nascita nella nostra popolazione è stato calcolato ottenendo prima la proporzione di casi di SM rispetto alla rispettiva coorte di nascita (denominatori ottenuti dai censimenti dal 1961 al 1981) e analizzando poi il rapporto tra i due sessi. In questo modo abbiamo eliminato eventuali bias

dovuti a cambiamenti nel tempo nella distribuzione della popolazione generale per sesso.

L'età media all'esordio clinico ha mostrato un trend incrementale da 25,6 anni nel periodo 1965-69 a 32,3 anni nel periodo 2004-08, senza significativa differenza fra i sessi, puntando quindi ad un aumento nel tempo delle forme ad esordio clinico tardivo ("late onset") di malattia. Dal momento che, anche nella popolazione sarda, il periodo di suscettibilità (cioè del possibile sviluppo del "tratto SM") alla malattia potrebbe essere riferito ai primi anni di vita (Gale and Martyn, 1995; Poser, 2004; Pugliatti et al, 2006), l'incremento dell'età media di esordio potrebbe essere espressione dell'aumento di forme di SM ad andamento più benigno nelle quali, nonostante l'esordio biologico possa avvenire prima, i segni clinici compaiono più tardivamente.

Si potrebbe anche pensare che, sebbene il periodo di suscettibilità possa essere nella prima infanzia, il fattore/i di rischio ambientale necessiti di un effetto cumulativo nel tempo per indurre la malattia.

Riguardo alla prevalenza di SM nella popolazione studiata, la stima totale nel 2008 era di 260,3 per 100.000 (IC95% 256,3-264,3), 372,2 (IC95% 368,8-375,6) nelle donne e 144,5 (IC95% 142,3-146,6) negli uomini, con una stima totale standardizzata per la popolazione Italiana di 247,6 per 100.000. Questi dati di prevalenza per la SM sono i più alti al mondo. Nel tempo, si è assistito ad un aumento temporale della prevalenza di SM nella popolazione sarda studiata da 45 nel 1971 a 260,3 nel 2008.

I nostri dati di prevalenza ed incidenza sono in linea con i dati della letteratura per quanto riguarda un universale aumento dell'incidenza e della prevalenza nel mondo (Koch-Henriksen et al, 2010). Fanno eccezione alcune popolazioni in alcune delle quali è stata addirittura rilevata una riduzione dell'incidenza nel tempo (Cook et al, 1985; Wender et al, 1987; Svenningsson et al, 1990). L'aumento della prevalenza, in particolare nelle popolazioni che sono state sottoposte ad indagini ripetute nel tempo, può essere legata a diverse ragioni (Koch-Henriksen et al, 2010). Nelle indagini più vecchie, possono non essere stati

accertati i vecchi casi, diagnosticati anni o decenni prima del tempo di studio. Man mano che nuovi casi si accumulano nel tempo e l'effetto della perdita dei vecchi casi viene sempre più diluito, le stime di prevalenza, apparentemente più elevate che rispetto a studi basati su un unico accertamento, tendono comunque ad essere più rappresentative del dato reale. Dal momento che i nostri dati derivano da un'indagine epidemiologica basata su una sorveglianza continua e pluridecennale nella popolazione in studio (aggiornamento prospettico), e non "trasversale" rispetto al momento dello studio, anche il nostro dato rispecchia con buona probabilità l'effettivo carico di SM nella popolazione sarda. Inoltre, le prime indagini epidemiologiche sulla SM condotte in Sardegna possono aver stimolato l'attenzione sulla malattia nella regione portando ad un più rapido e/o frequente accesso al sistema sanitario, da parte dei pazienti con sospetta malattia. Anche l'introduzione della Risonanza Magnetica nei protocolli diagnostici, e la revisione dei criteri di McDonald verso diagnosi più precoci (McDonald et al, 2001) può aver contribuito ad un aumento delle stime di

prevalenza. Infine, l'aumento di prevalenza nel tempo nei pazienti con SM è necessariamente anche dovuto, così come osservato anche nella nostra popolazione, ad un aumento della loro sopravvivenza.

Conclusioni

La prevalenza di SM nei Sardi mostra un rilevante incremento temporale che non è solo espressione di maggior accuratezza nella diagnosi, nell'accertamento dei casi o di un allungamento della sopravvivenza (che è stato comunque rilevato), ma di un effettivo aumento di incidenza in particolare nelle donne. Nonostante la suscettibilità genetica dei Sardi sembri importante nello sviluppo della SM e di altre malattie immunomediate, queste importanti variazioni di frequenza, avvenute in un periodo di tempo relativamente breve in una popolazione geneticamente stabile, favoriscono l'ipotesi di un ruolo svolto da corrispondenti cambiamenti nella distribuzione temporale di fattori ambientali e/o di cambiamenti nello stile di vita, in particolare nelle donne, che meritano ulteriori indagini di tipo analitico

6. BIBLIOGRAFIA

- Allison R, Millar J. Prevalence and familial incidence of disseminated sclerosis. *Ulster Med J* 1954; 23:1-92.
- Ascherio A, Munger KL. Environmental risk factors for multiple sclerosis. Part II: noninfectious factors. *Ann Neurol* 2007; 61:504-13.
- Atlas multiple sclerosis resources in the world 2008. WHO Library Cataloguing-in-Publication Data.
- Caruso G, Uras A, Coni A. [Multiple sclerosis in Sardinia: its prevalence and distribution in relation to altimetric variations of the land]. *Acta Neurol (Napoli)* 1968; 23:382-92. Italian.
- Carton H, Vlietinck R, Debruyne J, et al. Risks of multiple sclerosis in relatives of patients in Flanders, Belgium. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1997; 62: 329-33.
- Casetta I, Granieri E, Marchi D, et al. An epidemiological study of multiple sclerosis in central Sardinia, Italy. *Acta Neurol Scand* 1998; 98:391-394.

- Chang JH, Cha HR, Lee DS, Seo KY, Kweon MN. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 inhibits the differentiation and migration of T(H)17 cells to protect against experimental autoimmune encephalomyelitis. PLoS One. 2010; 5:e12925.
- Compston A, Coles A. Multiple Sclerosis. Lancet 2008; 372: 1502-17.
- Compston A, Lassmann H, McDonald I. The story of multiple sclerosis. In : Compston A, Confavreux C, Lassmann H, et al, eds. Mc Alpine's multiple sclerosis (4th edn). London: Elsevier, 2005: 3-68.
- Compston DA, Batchelor JR, McDonald WI. B-lymphocyte alloantigens associated with multiple sclerosis. Lancet 1976; 308: 1261-65.
- Compston DAS. McAlpine's multiple sclerosis. 4th edn. London: Elsevier, 2005: 1-946.
- Cook SD, Cromarty JI, Tapp W, Poscanzer D, Walker JD, Dowling PC. Declining of multiple sclerosis incidence of multiple sclerosis in the Orkney Islands. Neurology 1985; 35:545-51.

- Dean G, Kurtzke JF. On the risk of multiple sclerosis according to age at immigration to South Africa. *Br Med J* 1971; 3: 725-29.
- Dean G, Yeo TW, Goris A, et al. HLA-DRB1 and multiple sclerosis in Malta. *Neurology* 2008; 70: 101-05.
- DeLuca GC, Ramagopalan SV, Herrera BM, et al. An extremes of outcome strategy provides evidence that multiple sclerosis severity is determined by alleles at the HLA-DRB1 locus. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007;104:20896-901.
- Detels R, Visscher BR, Malmgren RM, Coulson AH, Lucia MV, Dudley JP. Evidence for lower susceptibility to multiple sclerosis in Japanese-Americans. *Am J Epidemiol* 1977; 105: 303-10.
- Ebers GC, Sadovnick AD, Risch NJ. A genetic basis for familial aggregation in multiple sclerosis. Canadian Collaborative Study Group. *Nature* 1995; 377: 150-51.
- Ebers GC, Yee IM, Sadovnick AD, Duquette P. Conjugal multiple sclerosis: population-based prevalence and

recurrence risks in off spring. Canadian Collaborative Study Group. *Ann Neurol* 2000; 48: 927-31.

- Elian M, Nightingale S, Dean G. Multiple sclerosis among United Kingdom-born children of immigrants from the Indian subcontinent, Africa and the West Indies. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1990; 53: 906-11.
- Francis DA, Thompson AJ, Brookes P. Multiple sclerosis and HLA: is susceptibility gene really HLA-DR or DQ? *Hum Immunol* 1991; 32:119-24.
- Gale CR, Martyn CN. Migrant studies in multiple sclerosis. *Prog Neurobiol* 1995; 47:425–48.
- Giovannoni G, Cutter GR. Infectious causes of multiple sclerosis. *Lancet Neurol* 2006; 5:887-894.
- Goldacre MJ, Seagreave V, Yeates D, Acheson ED. Skin cancer in people with multiple sclerosis: a record linkage study. *J Epidemiol Community Health* 2004; 58:142-4.
- Granieri E, Casetta I, Govoni V, et al. The increasing incidence and prevalence of MS in a sardinian province. *Neurology* 2000; 55:842-48.

- Granieri E, Rosati G. Italy: a medium- or high-risk area for multiplesclerosis? An epidemiologic study in Barbagia, Sardinia, southern Italy. *Neurology* 1982; 32:466-72.
- Granieri E, Rosati G, Tola R, et al. The frequency of multiple sclerosis in Mediterranean Europe. An incidence and prevalence study in Barbagia, Sardinia, insular Italy. *Acta Neurol Scand* 1983; 68:84-9.
- Gregory SG, Schmidt S, Seth P, et al. Interleukin 7 receptor alpha chain (IL7R) shows allelic and functional association with multiple sclerosis. *Nat Genet* 2007; 39: 1083-91.
- Hammond SR, English DR, McLeod JG. The age-range of risk of developing multiple sclerosis: evidence from a migrant population in Australia. *Brain* 2000; 123: 968-74.
- Kahana E, Alter M, Zilber N, The Israeli MS Study Group. Environmental factors determine multiple sclerosis risk in migrant to Israel. *Mult Scler* 2008; 14: S69-70.
- Kidd D, Barkhof F, McConnell R, Algra PR, Allen IV, Revesz T. Cortical lesions in multiple sclerosis. *Brain* 1999; 122:17-26.

- Koch-Henriksen N, Sorensen PS. The changing demographic pattern of multiple sclerosis epidemiology. *Lancet Neurol* 2010; 9: 520-32.
- Kurtzke JF. Geographic distribution of multiple sclerosis: an update with special reference to Europe and the Mediterranean region. *Acta Neurol Scand* 1980; 62:65-80.
- Kurtzke JF. A reassessment of the distribution of multiple sclerosis. Part one. *Acta Neurol Scand* 1975; 51: 110–36.
- Kurtzke JF. Epidemiologic evidence for multiple sclerosis as an infection. *Clin Microbiol Rev* 1993; 6: 382–427.
- Kurtzke JF, Hyllested K. Multiple sclerosis in the Faroe Islands. 1. Clinical and epidemiological features. *Ann Neurol* 1979; 5: 6–21.
- Lang HL, Jacobsen H, Ikemizu S, et al. A functional and structural basis for TCR cross-reactivity in multiple sclerosis. *Nat Immunol* 2002; 3: 940-43.
- Levin LI, Munger KL, Rubertone MV, et al. Multiple sclerosis and Epstein-Barr virus. *JAMA* 2003; 289: 1533-36.

- Mapelli G.[On some geomedical aspects of multiple sclerosis in northcentralSardinia] Riv Patol Nerv Ment 1963;84:253-275. Italian.
- Marrosu MG, Muntoni F, Murru MR, et al. Sardinian multiple sclerosis is associated with HLA-DR4: a serologic and molecular analysis. Neurology 1988; 38:1749-1753.
- Marrosu MG, Muntoni F, Murru MR, et al. HLA-DQB1 genotype inSardinian multiple sclerosis: evidence for a key role of DQB1*0201 and*0302 alleles. Neurology 1992; 42:883-886.
- Marrosu MG, Muntoni F, Murru MR, et al. Role of predisposing and protective HLA-DQa and HLA-DQB alleles in Sardinian multiple sclerosis. Arch Neurol 1993; 50:256-260.
- Marrosu MG, Muntoni F, Murru MR, et al. HLA-DQB1 genotype in Sardinian multiple sclerosis: evidence for a key role of DQB1 *0201 and *0302 alleles. Neurology 1992; 42: 883-86.

- Martyn CN, Cruddas M, Compston DA. Symptomatic Epstein-Barr virus infection and multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1993; 56: 167-68.
- Mc Donald WI, Sears TA. Effect of demyelination on conduction in the central nervous system. *Brain* 1970; 93:583-598.
- McAlpine D, Lumsden C, Acheson E (eds) *Multiple Sclerosis: A Reappraisal*. Baltimore, MD: Williams and Wilkins 1972:225–226.125.
- McDonald WI, Compston A, Edan G, et al. Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines from the International Panel on the Diagnosis of Multiple Sclerosis. *Ann Neurol* 2001; 50:121-127.
- Milo R, Kahana E. Multiple sclerosis: Geoepidemiology, genetics and the environment. *Autoimmunity review* 2010: A387-A394.
- Montomoli C, Allemani C, Solinas G, et al. An ecologic study of geographical variation in multiple sclerosis risk in

- central Sardinia, Italy. *Neuroepidemiology* 2002; 21:187-193.
- Mumford CJ, Wood NW, KellarWood H, Thorpe JW, Miller DH, Compston DAS. The British Isles survey of multiple sclerosis in twins. *Neurology* 1994; 44: 11-15.
 - Muntoni S, Songini M, Sardinian Collaborative Group for Epidemiology of IDDM. High incidence of insulin-dependent diabetes mellitus in Sardinia. *Diabetes Care* 1992; 15:1317-1322.
 - Olerup O, Hillert J. HLA class II-associated genetic susceptibility in multiple sclerosis: a critical evaluation. *Tissue Antigens* 1991; 38: 1-15.
 - Olivetti E, Rendine S, Cappello N, et al. The HLA system in Italy. *Hum Hered* 1986; 36: 357-372.
 - Orton SM, Herrera BM, Yee IM, et al for the Canadian Collaborative Study Group. Sex ratio of multiple sclerosis in Canada: a longitudinal study. *Lancet Neurol* 2006; 5: 932-36.

- Piazza A, Mayr WR, Contu L, et al. Genetic and population structure of four Sardinian villages. *Ann Hum Genet* 1985; 49:47-63.
- Pirko I, Lucchinetti CF, Sriram S, Bakshi R. Gray matter involvement in multiple sclerosis. *Neurology* 2007; 68:634-42.
- Polman CH, Reingold SC, Edan G, et al. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2005 revisions to the “McDonald Criteria”. *Ann Neurol* 2005; 58: 840–46.
- Poser CM. Multiple sclerosis trait: the premorbid stage of multiple sclerosis. A hypothesis. *Acta Neurol Scand* 2004; 109:239-43
- Poser CM, Paty DW, Scheinberg L, et al. New diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines for research protocols. *Ann Neurol* 1983; 13:227-231.
- Pugliatti M, Riise T, Sotgiu MA et al. Increasing Incidence of Multiple Sclerosis in the Province of Sassari, Northern Sardinia. *Neuroepidemiology* 2005; 25:129–134.

- Pugliatti M, Riise T, Sotgiu MA, et al. Evidence of Early Childhood as the Susceptibility Period in Multiple Sclerosis: Space-Time Cluster Analysis in a Sardinian Population. *American Journal of Epidemiology* 2006: 1-8.
- Pugliatti M, Solinas G, Sotgiu S, Castiglia P, and Rosati G. Multiple sclerosis distribution in northern Sardinia Spatial cluster analysis of prevalence. *Neurology* 2002; 58: 277-282.
- Pugliatti M, Sotgiu S, Solinas G, et al. Multiple sclerosis epidemiology in Sardinia: evidence for a true increasing risk. *Acta Neurol Scand* 2001; 103:20-26.
- Ramagopalan SV, Morris AP, Dymment DA, et al. The inheritance of resistance alleles in multiple sclerosis. *PLoS Genet* 2007; 3: 1607-13.
- Robertson NP, Clayton D, Fraser M, Deans J, Compston DA. Clinical concordance in sibling pairs with multiple sclerosis. *Neurology* 1996; 47: 347-52.

- Robertson NP, O’Riordan JI, Chataway J, et al. Off spring recurrence rates and clinical characteristics of conjugal multiple sclerosis. *Lancet* 1997; 349: 1587-90.
- Rosati G et al. Prevalence and incidence study of multiple sclerosis in the district of Tempio, Sardinia, 1960-1986. *It J Neurol Sci* 1991; 12(suppl 5):28.
- Rosati G, Aiello I, Granieri E, et al. Incidence of multiple sclerosis in Macomer, Sardinia, 1912-1981: onset of the disease after 1950. *Neurology* 1986; 36:14-19.
- Rosati G, Aiello I, Mannu L, et al. Incidence of multiple sclerosis in the town of Sassari, Sardinia, 1965 to 1985: evidence for increasing occurrence of the disease. *Neurology* 1988; 38:384-388.
- Rosati G, Aiello I, Pirastru MI, et al. Epidemiology of multiple sclerosis in north-western Sardinia: further evidence for higher frequency in Sardinians compared to other Italians. *Neuroepidemiology* 1996; 15:10-19.

- Rosati G, Aiello I, Pirastru MI, et al. Sardinia, a high risk area for multiplesclerosis: a prevalence and incidence study in the district of Alghero. *Ann Neurol* 1987; 21:190-194.
- Rosati G, Granieri E, Pinna L, et al. The geographical distribution of multiple sclerosis, rheumatoid arthritis, rheumatic heart disease and poststreptococcal nephritis in Sardinia: climatic and socioeconomic factors. *J Neurol* 1978; 219:27-35.
- Rosati G, Pinna L, Granieri E, et al. The distribution of multiple sclerosis in Sardinia. *Riv Patol Nerv Ment* 1977; 98:46-64.
- Rose A, Ellison G, Myers L, Tourtellotte W. New diagnostic criteria for the clinical diagnosis of multiple sclerosis. *Neurology* 1976; 26:20-22.
- Sadovnick AD. European Charcot Foundation Lecture: The natural history of multiple sclerosis and gender. *Journal of the Neurological Sciences* 2009; 286: 1-5

- Sadovnick AD, Baird PA. The familial nature of multiple sclerosis: age-corrected empiric recurrence risks for children and siblings of patients. *Neurology* 1988; 38: 990-91.
- Sanna S, Pitzalis M, Zoledziewska M et al. Variants within the immunoregulatory CBLB gene are associated with multiple sclerosis. *Nat Genet* 2010; 42:495-7.
- Sawcer S, Jones HB, Feakes R, et al. A genome screen in multiple sclerosis reveals susceptibility loci on chromosome 6p21 and 17q22. *Nat Genet* 1996; 13: 464-68.
- Schumacher GA, Beebe G, Kliber RF et al. Problems of experimental trials of therapy in multiple sclerosis: report by panel on the evaluation of experimental trials of therapy in multiple sclerosis. *Ann NY Acad Med* 1965; 122: 552-568.
- Serafini B, Rosicarelli B, Franciotta D, Magliozzi R, Reynolds R, Cinque P, Andreoni L, Trivedi P, Salvetti M, Faggioni A, Aloisi F. Dysregulated Epstein-Barr virus infection in the multiple sclerosis brain. *J Exp Med* 2007; 204:2899-912.

- Sotgiu S, Pugliatti M, Fois ML, et al. Genes, environment, and susceptibility to multiple sclerosis. *Neurobiol Dis* 2004;17:131-143.
- Svenningsson A, Runmarker B, Lycke J, Andersen O. Incidence of MS during two fifteen-years periods in the Gothenburg region of Sweden. *Acta Neurol Scand* 1990; 82:161-68.
- The Games Collaborative Group. Linkage disequilibrium screening for multiple sclerosis implicates JAG1 and POU2AF1 as susceptibility genes in Europeans. *J Neuroimmunol* 2006; 179: 108-16. Todd JA, Bell JI, McDevitt HO. HLA-DQB gene contributes to susceptibility and resistance to insulin-dependent diabetes mellitus. *Nature* 1987;329: 599-604.
- Todd JA, Bell JI, McDevitt HO. HLA-DQB gene contributes to susceptibility and resistance to insulin-dependent diabetes mellitus. *Nature* 1987; 329: 599-604.

- VanAmerongen BM, Dijkstra CD, Lips P, Polman CH. Multiple sclerosis and vitamin D: an update. Eur J Clin Nutr. 2004;58:1095-109.
- Wender M, Kowal P, Pruchnik-Grabowska D, et al. Multiple sclerosis: its prevalence and incidence in the population of western Poland. Neurol Neurochir Pol 1987; 21: 33-39
- Willer CJ, Dymment DA, Risch NJ, Sadovnick AD, Ebers GC. Twin concordance and sibling recurrence rates in multiple sclerosis. Proc Natl Acad Sci USA 2003; 100: 12877-882.
- Willer CJ, Dymment DA, Sadovnick AD et al. Timing of birth and risk of multiple sclerosis: population based study. Br Med 2005;330:120-4.
- Willer CJ, Dymment DA, Sadovnick AD, et al. Timing of birth and risk of multiple sclerosis: population based study. Br Med J 2005; 330:120-4.

- Yeo TW, De Jager PL, Gregory SG, et al. A second major histocompatibility complex susceptibility locus for multiple sclerosis. *Ann Neurol* 2007; 61: 228-36.
- Zoledziewska M, Costa G, Pitzalis M et al. Variation within the CLEC16A gene shows consistent disease association with both multiple sclerosis and type 1 diabetes in Sardinia. *Genes Immun* 2009;10:15-7.

7. TABELLE

Tabella 1. Prevalenza ed incidenza della SM nel Mondo

<i>STATO</i>	<i>PREVALENZA (per 100.000)</i>	<i>INCIDENZA (per 100.000/anno)</i>
<i>Europa</i>		
Austria	98	
Repubbliche Baltiche, Bielorussia, Ucraina	25–55	
Belgio	74	
Bulgaria	45	
Croazia	28–122	5.9
Cipro	39	
Repubblica Ceca	89	
Danimarca	112	4.6
Inghilterra, Galles	74–140	4.7
Finlandia	54–110	1.8–5.2
Francia	25–58	
Germania	54–150	
Grecia	10–39	1.8
Ungheria	32–79	0.8–7
Islanda	120	4.1
Irlanda	190	
Italia	33–81	1.1–4.2
Macedonia	16	
Malta	4	
Paesi Bassi	76	5.9
Norvegia	21–132	3.2–8.7
Isole Orkney	287	
Polonia	43–62	
Portogallo	47	
Romania	26	
Russia-Europea	24–55	
Scozia	145–200	7.2
Serbia	42	
Slovenia	83	2.9
Spagna	32–75	2.1–4.6
Svezia	96–154	4.2–4.8
Svizzera	110	
<i>Nord America</i>		
Canada	55–248	
USA	22–177	2.7–7.5
<i>Centrale e Sud America</i>		
Messico	5	
Venezuela	2	

Brasile	4	
Perù	4	
Uruguay	30	
Argentina	18	
Asia		
Cina	1	
India	1-26	
Giappone	2-9	
Malesia	2	
Siberia	12-41	
Unione Sovietica	1-19	
Taiwan	2	
Medio Oriente		
Iran	44	3.6
Israele	Ebrei — 19-68 Arabi — 14	0.7
Giordania	7	
Kuwait	6-31	2.6
Arabia Saudita	8	
Africa		
Libia	6-9	
Marocco	17	
Sud Africa	3	
Tunisia	10	
Australasia		
Australia	11-74	2.4
Nuova Zelanda	24-77	2.7-6.4

Tabella 2. Incidenza media cruda (per 100.000/anno) per sesso e fasce di età nel periodo 2000-04.

Età (anni)	N. di casi			Incidenza cruda		
	M	F	T	M	F	T
<10	0	0	0	0	0	0
10-14	1	0	1	1,6	0,0	0,8
15-19	6	13	19	8,8	20,2	14,4
20-24	12	26	38	15,2	34,4	24,6
25-29	12	40	52	12,8	43,5	28,0
30-34	10	19	29	10,9	20,6	15,8
35-39	10	23	33	10,7	24,1	17,5
40-44	8	24	32	9,5	28,1	18,9
45-49	3	19	22	3,8	24,4	14,1
50-54	4	5	9	5,3	6,6	5,9
55-59	2	1	3	3,0	1,5	2,2
60-64	1	0	1	1,6	0,0	0,8
65-69	0	0	0	0,0	0,0	0,0
70+	0	0	0	0,0	0,0	0,0
Tot	69	170	239	6,2	14,7	10,5
				(5,1-7,3)	(12,7-16,7)	(8,3-12,8)

Tabella 3. Incidenza cruda totale e per sesso (per 100.000/anno) nel periodo di studio 1965-2008 (IC95%)

Anni	M	F	T
1965-69	1,4	2,2	1,8
	(0,8-2,1)	(1,4-3)	(0,8-2,2)
1970-74	2,2	3,9	3,1
	(1,3-3,2)	(2,6-5,1)	(1,5-4,6)
1975-79	2,6	6,6	4,6
	(1,4-3,9)	(5,0-8,1)	(2,8-6,5)
1980-84	3,1	8,0	5,6
	(2,0-4,2)	(6,4-9,6)	(3,7-7,5)
1985-89	3,6	10,9	7,3
	(1,5-5,8)	(7,5-14,2)	(3,3-11,3)
1990-94	4,5	11,6	8,1
	(2,3-6,8)	(8-15,2)	(3,9-12,3)
1995-99	6,4	13,4	10,0
	(5,2-7,6)	(11,4-15,4)	(7,7-12,2)
2000-04	6,2	14,7	10,5
	(5,1-7,3)	(12,7-16,7)	8,3-12,8
2005-08	3,6	11,4	7,6
	(2,5-4,6)	(9,8-13,1)	(5,9-9,7)

Tabella 4. Prevalenza cruda (per 100.000) per sesso e fasce di età al giorno di prevalenza 31.12.2008, e prevalenza standardizzata per la popolazione Italiana

Età (anni)	N. casi			Prev. cruda		
	M	F	T	M	F	T
<10	0	0	0	0,0	0,0	0,0
10-14	0	1	1	0,0	9,6	4,6
15-19	2	1	3	15,7	8,3	12,1
20-24	10	31	41	71,8	235,2	151,3
25-29	20	55	75	123,3	348,5	234,3
30-34	39	99	138	193,6	511,2	349,3
35-39	41	119	160	200,9	594,6	395,8
40-44	53	136	189	259,1	654,7	458,4
45-49	40	153	193	215,8	823,8	520,1
50-54	61	124	185	361,3	743,9	551,4
55-59	38	77	115	243,5	479,4	363,1
60-64	22	51	73	156,5	349,6	254,9
65-69	8	33	41	63,9	236,1	154,7
70+	11	40	51	43,8	111,9	83,8
Tot	345	920	1265	144,5	372,2	260,3
<i>IC95%</i>				(142,3- 146,6)	(368,8- 375,6)	(256,3- 264,3)
Standardizzata per pop. Italiana				137,8	353,2	247,6
<i>IC95%</i>				(159,7- 115,9)	(319,4- 387,0)	(207,9- 287,3)

8.FIGURE

Figura 1. Trend temporale di incidenza cruda media totale e per sesso (per 100.000/anno) dal 1965 al 2008

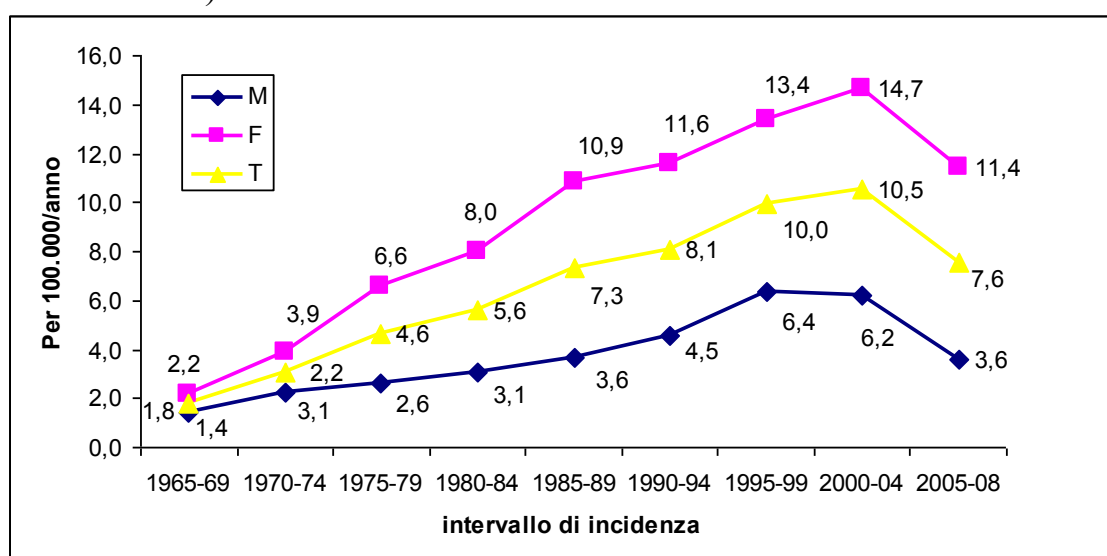


Figura 2. Trend temporale di incidenza media (per 100.000/anno) per il periodo 1965-2008, standardizzata alla popolazione Italiana

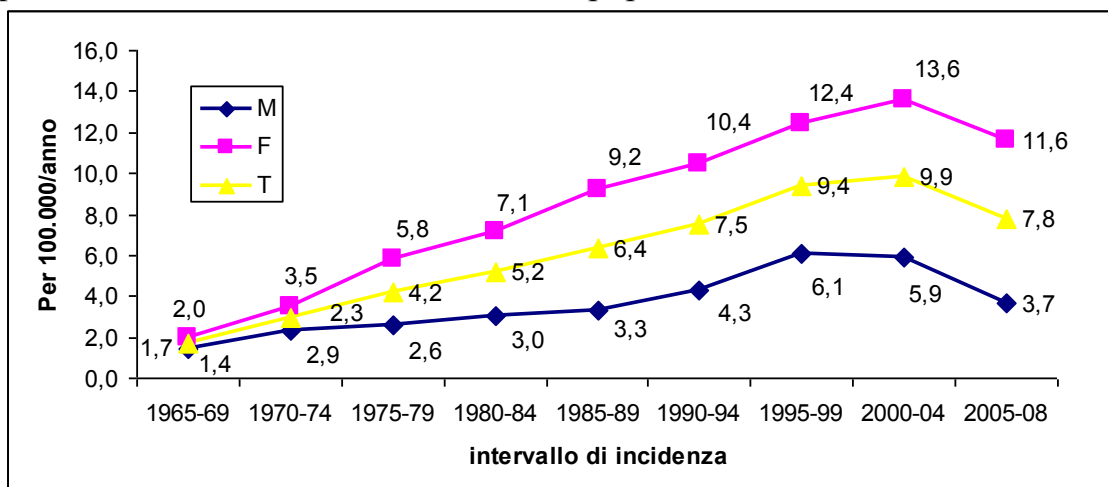


Figura 3. Trend temporale dell'età media d'esordio. (R^2 0,067, $p > 0,0001$)

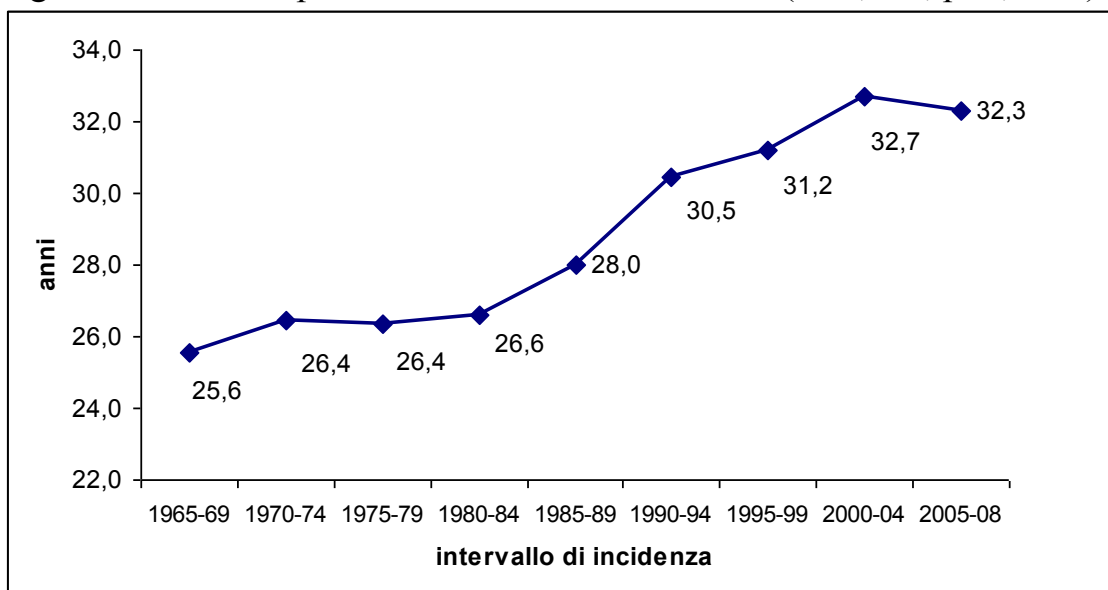


Figura 4. Trend temporale del rapporto F:M per coorte di esordio clinico.

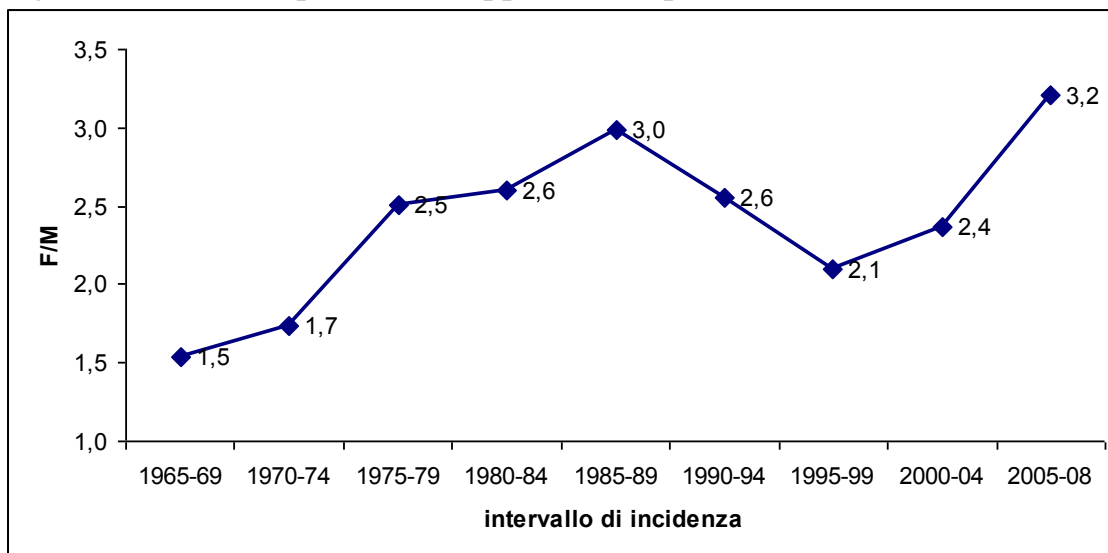


Figura 5. Proporzione di soggetti che hanno sviluppato SM nati nell'area di studio, nel periodo 1945-79, per coorti quinquennali di nascita e per sesso

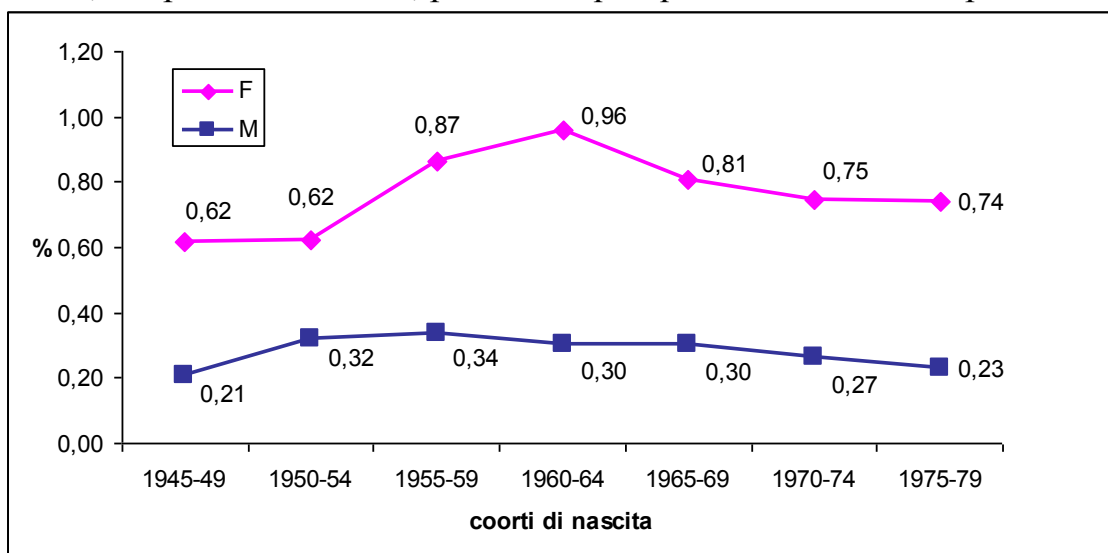


Figura 6. Trend temporale del rapporto F:M per coorte di nascita

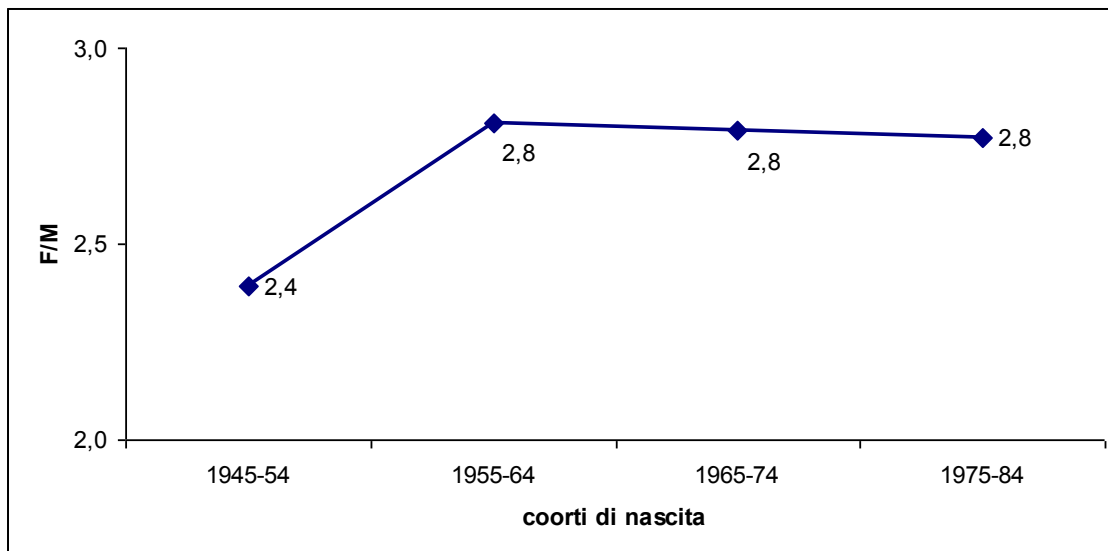


Figura 7. Trend temporale del rischio differenziale F-M per anno di esordio

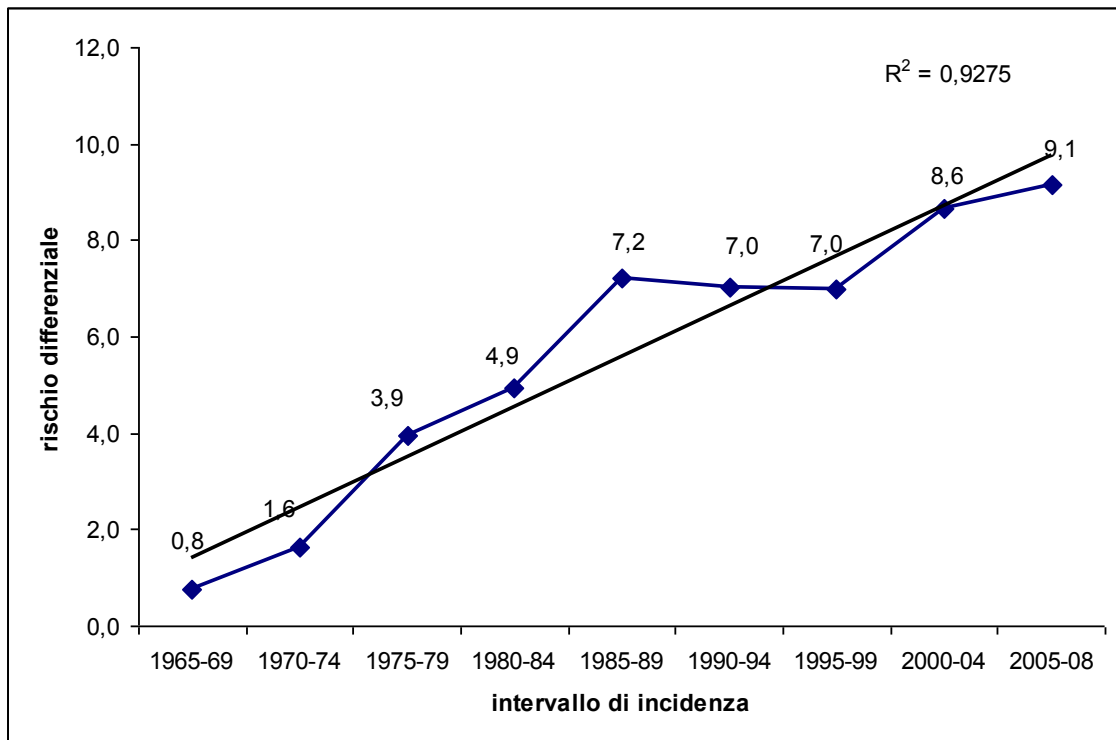


Figura 8. Trend temporale della prevalenza per sesso per il periodo 1971-2008

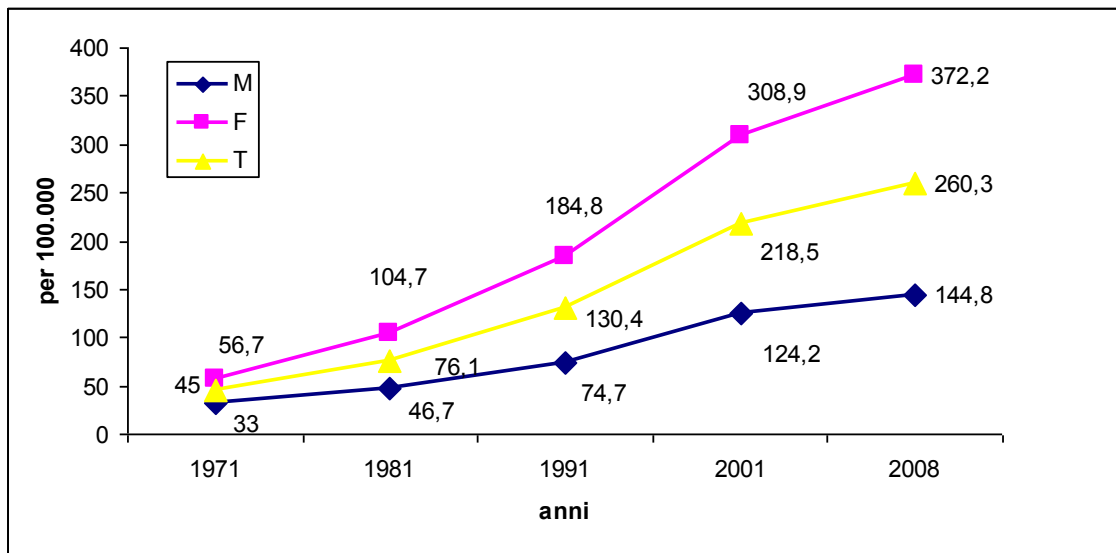


Figura 9. Trend temporale della età media di morte per il periodo 1965-2008

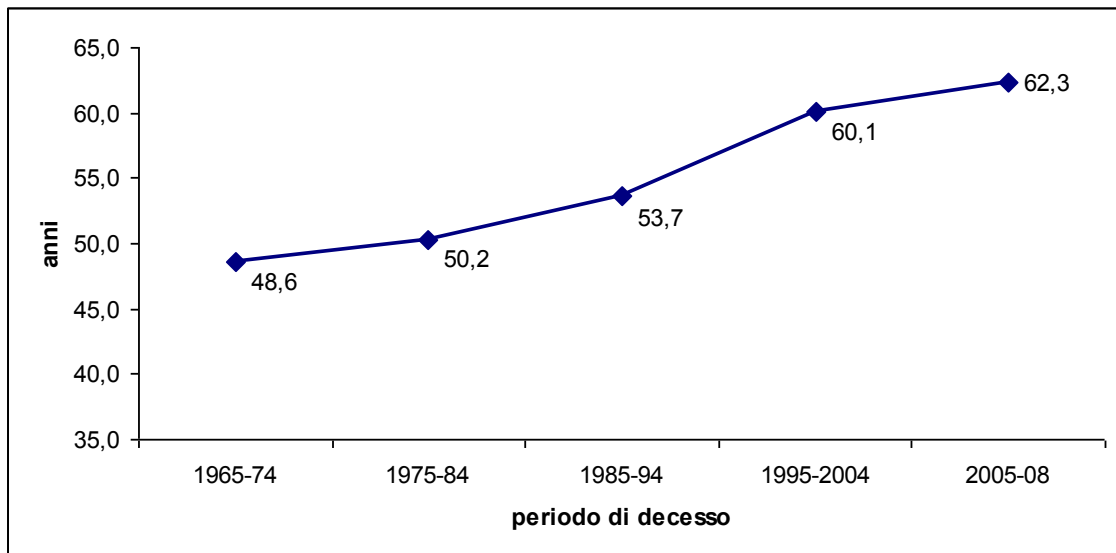


Figura 10. Analisi di sopravvivenza

