

LA MALATTIA DEL MOTONEURONE: UNO STUDIO EPIDEMIOLOGICO GEOGRAFICO NELLA REGIONE MARCHE

BALDINI M*, DI BIAGIO K*, BARTOLACCI S*, SIMEONI TV*, MARIOTTINI M*
ADDABBO G, GIANNI F****

*Osservatorio Epidemiologico Ambientale – ARPA Marche

**Servizio Medicina Legale – ASUR Marche, Area Vasta 2



Ottobre 2012

SOMMARIO

ABSTRACT	3
1. INTRODUZIONE	5
1.1 Note epidemiologiche	5
1.2. Ipotesi eziologiche	5
1.2.1 Cause genetiche	6
1.2.2 Cause ambientali	6
1.2.3 Stili di vita	7
2. MATERIALI E METODI	8
2.1 Dati di popolazione	8
2.2 Dati sanitari	8
2.3 Analisi statistica	8
2.3.1 Indicatori epidemiologici utilizzati	9
2.4 Strumenti informatici	10
3. RISULTATI	11
3.1 Studio a livello comunale	11
3.2 Studio a livello di unità censuaria	14
4. DISCUSSIONE E CONCLUSIONI	15
BIBLIOGRAFIA	18

COSA SI SAPEVA GIÀ	COSA SI AGGIUNGE DI NUOVO
■ La sclerosi laterale amiotrofica, la forma più frequente di malattia del motoneurone, è una rara patologia neurodegenerativa rapidamente ingravescente la cui causa è ancora in gran parte sconosciuta. ■ Le attuali evidenze scientifiche suggeriscono un'eziologia multifattoriale in cui fattori genetici ed ambientali contribuirebbero a promuovere la degenerazione del motoneurone.	■ L'individuazione di cluster spaziali di malattia pone indicazioni per formulare ipotesi di associazione causale e per effettuare ulteriori indagini epidemiologiche. ■ L'analisi di dati estratti da valutazioni medico-legali offre indicazioni, limitatamente a specifiche patologie, per il possibile utilizzo di nuovi flussi informativi nelle indagini epidemiologiche geografiche.

ABSTRACT

Obiettivi

Il presente studio si propone, nell'ambito delle normali attività di sorveglianza epidemiologica previste dalla legge regionale n. 60/97 e dalla DGR n. 1500/09 – rispettivamente istitutive dell'ARPAM e dell'Osservatorio Epidemiologico Ambientale delle Marche - di:

- descrivere su base comunale la distribuzione dei ricoveri ospedalieri per la malattia del motoneurone nella regione Marche;
- rilevare su base geografica, a livello comunale e sub-comunale, l'eventuale presenza di cluster di malattia del motoneurone.

Dati e metodi

Sono stati calcolati, su base comunale, i tassi standardizzati (Tstd), i rapporti standardizzati di incidenza (SIR) e gli stimatori bayesiani (BIR) dei primi ricoveri ospedalieri per malattia del motoneurone (ICD-IX 335.2) nel periodo 2006-2010. Analogamente su base comunale e relativamente ai primi ricoveri ospedalieri, è stata verificata anche la presenza di cluster spaziali di patologia.

E' stato inoltre effettuato un secondo studio, su base di unità censuaria, utilizzando l'archivio informatizzato del Servizio di Medicina Legale (SML) della ex Zona Territoriale 7 dell'ASUR Marche. Da tale database sono stati selezionati, nel periodo 1 gennaio 2006 – 30 giugno 2012, i soggetti sottoposti a visita per l'accertamento dello stato di invalidità civile per i quali è stata confermata la diagnosi di malattia del motoneurone. Alla georeferenziazione dell'indirizzo di residenza di tali soggetti, ha fatto seguito la ricerca di cluster spaziali a livello sub-comunale dei casi di malattia.

Risultati

Nella regione Marche, nel periodo 2006-2010, sono stati rilevati 368 primi ricoveri ospedalieri con diagnosi di malattia del motoneurone. Il tasso grezzo medio periodale è stato di 4,78 casi per 100.000 abitanti. E' stato rilevato un cluster di malattia con un valore di rischio relativo (RR) statisticamente significativo nella zona sud-est della regione ($p\text{-value}=0,001$). Lo studio spaziale effettuato sui 65 casi di malattia rilevati dal SML nei residenti nelle unità censuarie dei comuni della ex Zona Territoriale 7 non ha fatto rilevare la presenza di cluster spaziali statisticamente significativi.

Conclusioni

I risultati del presente studio hanno confermato la presenza, già rilevata in precedenti osservazioni, di aree di interesse in termini di rischio per la popolazione. In tali aree sarebbe utile effettuare ulteriori e più approfondite indagini epidemiologiche, al fine di identificare possibili fattori eziologici relativi alla patologia del motoneurone.

KEYWORDS :

malattia del motoneurone, sclerosi laterale amiotrofica, studio spaziale, cluster

1. INTRODUZIONE

La malattia del motoneurone rappresenta quell'insieme di patologie caratterizzate dalla degenerazione dei neuroni motori nella corteccia motoria primaria, nei tratti cortico-spinali, nel tronco cerebrale e nel midollo spinale. I motoneuroni sono cellule del sistema nervoso centrale responsabili della trasmissione degli impulsi motori dall'encefalo ai muscoli per la genesi dei movimenti volontari. I disturbi presentati dai pazienti variano a seconda del gruppo di muscoli interessati dalla degenerazione motoneuronale.

Tra le malattie del motoneurone, che costituiscono un gruppo eterogeneo di patologie, quella più frequente, tanto da rappresentarne l'85% dei casi, è la Sclerosi Laterale Amiotrofica (SLA)¹. Dal punto di vista anatomico-patologico, essa presenta la degenerazione del primo e secondo neurone motore, con un decorso clinico rapidamente progressivo e caratterizzato da amiotrofia, fascicolazioni, paresi e spasticità con conseguente incapacità ad avviare e controllare i muscoli deputati al linguaggio, alla deglutizione, al movimento del tronco e degli arti ed alla respirazione^{2,3}.

Tipicamente, solo una parte dei pazienti presenta anche un interessamento extramotorio come parestesie e/o decadimento cognitivo di tipo frontale, o ancora una demenza frontotemporale.

La stima della prevalenza delle disfunzioni neuropsicologiche varia dal 20% al 50%⁴.

1.1 NOTE EPIDEMIOLOGICHE

L'incidenza annuale della SLA è di 1-3 casi ogni 100.000 abitanti, con una prevalenza di 3-5 casi per 100.000 abitanti⁵. In passato si riteneva che i maschi fossero più colpiti dalla malattia, ma, secondo dati epidemiologici più recenti, il rapporto tra i generi si aggirerebbe intorno all'unità^{3,6}.

La comparsa della sintomatologia avviene nell'ambito di un range molto ampio di età anche se un picco di insorgenza della malattia si colloca tra i 65 e i 74 anni. L'esordio giovanile avviene prima dei 45 anni di età e rappresenta circa il 10% del totale^{7,8}.

La prognosi della SLA è infausta; la morte nella maggior parte dei casi sopravviene per insufficienza respiratoria. Il decorso medio della malattia è di circa 3 anni: 2-3 anni nelle forme ad esordio bulbare e 3-5 anni per quelle ad iniziale interessamento dei motoneuroni periferici³. Una piccola parte dei pazienti, soprattutto nelle fasce di età più avanzate, può sopravvivere anche 12-15 anni dall'esordio dei sintomi⁹.

1.2. IPOTESI EZIOLOGICHE

Nell'ambito della Sclerosi Laterale Amiotrofica (SLA) si distinguono una forma sporadica ed una forma familiare. La maggioranza dei casi di SLA è sporadica ad origine sconosciuta; solo il 5-10% dei casi è classificabile come familiare per la presenza di mutazioni genetiche ereditarie¹⁰.

Nonostante i notevoli passi avanti compiuti dalla ricerca scientifica, i fattori che innescano la malattia e gli eventi che ne conseguono sono tuttora poco chiari. Numerosi studi

epidemiologici, anche se con risultati non conclusivi, hanno fornito indicazioni per la formulazione di diverse ipotesi eziologiche, soprattutto di tipo tossicologico-ambientale, puntando l'attenzione su determinate forme di esposizione.

Allo stato attuale delle conoscenze, si ipotizza dunque una genesi multifattoriale della malattia in cui sarebbero coinvolti fattori genetici, ambientali e stili di vita.

1.2.1 Cause genetiche

Solo in una frazione delle forme di SLA che si trasmette per via ereditaria è stata identificata la mutazione genetica che sarebbe responsabile dell'origine della malattia. Nel 20% dei casi familiari, il difetto genetico consisterebbe in mutazioni a carico di un gene, mappato sul cromosoma 21, che codifica per l'enzima antiossidante Cu/Zn superossido dismutasi (SOD1)^{3,11}. In circa il 2-5% dei casi della forma familiare, inoltre, sono state individuate mutazioni del gene TARDBP, che codifica per una proteina indicata come TAR DNA-binding protein 43. La funzione nel sistema nervoso di tale proteina, implicata nella trascrizione del codice genetico, è ancora poco nota e parimenti non è chiaro il suo ruolo nel processo di neurodegenerazione^{12,13,14}.

E' recentissima la scoperta di una mutazione a carico del gene PFN1 che codifica per la profilina, una proteina che svolge un'importante funzione nella costituzione dei microfilamenti di actina del citoscheletro¹⁵.

1.2.2 Cause ambientali

Per quanto concerne la SLA classificata come sporadica, allo stato attuale delle conoscenze, sono stati individuati solo possibili fattori di rischio che potrebbero avere un ruolo più o meno rilevante nella genesi della patologia.

In una piccola parte dei soggetti con SLA sporadica sono state individuate mutazioni SOD1 il cui ruolo, non ancora chiarito, lascerebbe aperte alcune ipotesi circa la presenza di possibili meccanismi patogenetici comuni nelle forme sporadiche e familiari¹⁶.

In alcune aree del Pacifico Occidentale, specie nel periodo successivo alla seconda guerra mondiale, veniva fatta registrare un'alta prevalenza di una variante della malattia, denominata Complesso SLA-Parkinson-Demenza (SLA/PDC).³ Gli studi dell'etnobotanico Paul Cox e del suo gruppo di ricerca, suggeriscono che le popolazioni locali abbiano contratto la malattia cibandosi dei pipistrelli. L'ipotesi è che i pipistrelli, mangiando i semi delle cycadi, piante simili alle palme, abbiano accumulato un aminoacido neurotossico, la β -N-metilamino-L-alanina (BMAA), prodotto da cianobatteri simbionti delle loro radici^{17,18,19}. Il riscontro autoptico di BMAA nel tessuto cerebrale di pazienti affetti da SLA e da demenza di Alzheimer sembrerebbe suffragare l'ipotesi di un'interazione genetica/ambientale con avvio del processo di neurodegenerazione da parte del BMAA nei soggetti più vulnerabili²⁰.

Numerosi dati epidemiologici, ricordati anche in importanti studi e rassegne nazionali ed internazionali^{21,22,23}, indicano un aumento del rischio di contrarre malattie neurodegenerative, e tra queste la SLA, per esposizioni lavorative²⁴ e residenziali²⁵ a campi elettromagnetici. Sono stati segnalati anche casi di SLA associati ad esposizioni occupazionali in lavoratori dell'industria metallurgica; nello specifico vi sono evidenze scientifiche, basate per lo più sulle concentrazioni di biomarcatori tissutali, a favore di un'associazione di SLA con modificazione dei livelli biologici, in particolare, di piombo^{26,27,28} e di mercurio^{29,30}.

I dati a favore di un'associazione causale, tuttavia, sono inconsistenti, non conclusivi e talvolta incoerenti^{31,32}; i risultati di uno studio del 2008, sembrano addirittura indicare nei pazienti affetti da SLA esposti a piombo un maggiore periodo di sopravvivenza rispetto ai non esposti³³.

Anche altri metalli sono stati studiati per un loro potenziale coinvolgimento circa l'insorgenza della malattia; nell'ambito dell'esposizione ai metalli, le emergenti evidenze epidemiologiche e tossicologiche e la plausibilità biologica suggeriscono un'associazione più consistente tra lo spettro dei disturbi della SLA ed il selenio^{34,35}.

1.2.3 Stili di vita

Tra gli ulteriori possibili fattori di rischio di insorgenza della malattia sono state anche indicate certe abitudini e stili di vita (fumo^{36,37}, alimentazione³⁸) e specifiche attività/occupazioni lavorative. A tal proposito, diversi studi epidemiologici hanno indagato il rischio di ammalare di SLA in lavoratori che utilizzano solventi³⁹, nei militari reduci della guerra nel Golfo^{40,41,42} e negli agricoltori specie per il loro utilizzo di pesticidi^{43,44,45,46}.

Un cenno a parte è da riservare all'attenzione dei ricercatori per lo studio di un'associazione tra la SLA e lo sport professionistico. I decessi di alcuni calciatori militanti nei campionati professionistici italiani sono stati oggetto di indagini giudiziarie e scientifiche⁴⁷ concentrate, oltre che sul presunto uso illecito di sostanze dopanti, soprattutto sui traumi ripetuti a cui sono soggetti gli atleti⁴⁸.

L'apparente maggiore occorrenza della SLA nei calciatori piuttosto che in altri sportivi, quali i ciclisti o i giocatori di basket, sembrerebbe comunque indicare la mancanza di una relazione con l'attività fisica in senso lato⁴⁹.

2. MATERIALI E METODI

Si tratta di due studi spaziali descrittivi (disease mapping, disease clustering), condotti uno su base comunale ed uno su base di unità censuaria.

2.1 DATI DI POPOLAZIONE

I dati demografici relativi ai residenti nella regione, utilizzati quale popolazione di riferimento, sono stati ricavati dalle statistiche nazionali e suddivisi per comune, anno di studio e classi di età. I dati di popolazione riferiti alle unità censuarie dei comuni della ex Zona Territoriale 7 sono stati estrapolati dal censimento del 2001 (fonte: ISTAT).

2.2 DATI SANITARI

Lo studio condotto a livello comunale ha indagato gli esiti sanitari di morbosità sulla base dei primi ricoveri ospedalieri, sia in regime ordinario sia di day hospital, nel periodo di osservazione 2006-2010 (fonte: Agenzia Regionale Sanitaria delle Marche; archivio regionale delle schede di dimissione ospedaliera - SDO). La selezione è stata effettuata sulla diagnosi principale di ricovero mediante la ricerca del codice nosologico 335.2 relativo alla malattia del motoneurone secondo la classificazione internazionale delle malattie, nona revisione (International Classification Disease Ninth edition, ICD-IX).

L'archivio informatizzato del Servizio di Medicina Legale della ex Zona Territoriale 7 dell'ASUR Marche è stato invece utilizzato per le analisi condotte su base censuaria e mediante estrazione dei soggetti sottoposti a visita per l'accertamento dello stato di invalidità civile nel periodo gennaio 2006/giugno 2012, per i quali la competente commissione medico-legale (CML) abbia effettivamente accertato la diagnosi di malattia del motoneurone.

Gli indirizzi ed i numeri civici di tali soggetti sono stati georeferenziati mediante software per la ricerca automatica delle coordinate geografiche in modo che ogni caso di malattia, rappresentato dalla residenza del soggetto, potesse essere collocato sul territorio.

Tutti i dati sono stati trattati in forma anonima nel rispetto della normativa sulla tutela dei dati personali e sensibili.

2.3 ANALISI STATISTICA

Per ogni comune/sezione censuaria sono stati calcolati i tassi grezzi di incidenza e i tassi standardizzati per genere, classi di età quinquennali e indice di deprivazione (ID)⁵⁰, riferiti a 100.000 abitanti.

Sono stati calcolati i rapporti standardizzati di incidenza (SIR) a livello comunale e di sezione censuaria, con i relativi intervalli di confidenza al 95% di probabilità, standardizzati per genere, classi di età quinquennali e ID, nell'ipotesi che i casi osservati siano distribuiti secondo una variabile casuale di Poisson. Un valore percentuale di SIR superiore (inferiore) a 100 indica un eccesso (difetto) di incidenza osservata nel comune/sezione di riferimento superiore

(inferiore) a quella media regionale, al netto dell'effetto dovuto alla composizione dell'età, genere e indice di deprivazione.

Al fine di controllare l'instabilità delle stime dei SIR, imputabile alla bassa numerosità degli eventi e/o della popolazione, sono state calcolate le stime bayesiane del rischio (BIR) secondo il modello gerarchico di Besag, York, Mollié⁵¹ e i relativi intervalli di credibilità al 95% di probabilità. Per avere una visione complessiva del fenomeno a livello spaziale, le stime dei SIR e dei BIR sono state rappresentate graficamente su mappe di variazione del rischio (choropleth).

E' stata applicata la metodologia del cluster detection basata sulla statistica spaziale Scan di Kulldorff al fine di localizzare aggregazioni di comuni/sezioni che presentano eccessi di incidenza statisticamente significativi^{52,53}. Il metodo scansiona aree geografiche caratterizzate da alti tassi di incidenza/mortalità con finestre di ricerca di forma circolare ed ellittica nell'ipotesi che il numero dei casi osservati in ogni comune/sezioni sia distribuito secondo un processo puntuale di Poisson non omogeneo e che i casi e la popolazione di riferimento di ogni sezione siano attribuiti alle coordinate geografiche del centroide della sezione stessa. Ogni cluster è costituito dall'insieme delle sezioni i cui centroidi ricadono entro i limiti geografici delimitati dal cerchio o dall'ellissi determinata, mentre la dimensione del cluster include al massimo il 50% della popolazione a rischio.

Sono stati rappresentati su mappe del rischio i cluster statisticamente significativi ovvero con un valore-p associato alla statistica scan inferiore a 0,05.

2.3.1 Indicatori epidemiologici utilizzati

Tassi Standardizzati (TS)

Il confronto fra tassi grezzi può portare ad una interpretazione fuorviante a causa delle differenze tra le strutture per età, genere e/o altre variabili di confondimento delle popolazioni in esame. Nel confronto di due regioni, ad esempio, una mediamente più anziana e l'altra mediamente più giovane, i tassi di mortalità possono differire sia per le caratteristiche intrinseche della regione e sia per un effetto dovuto alla struttura per età. Per poter operare dei confronti accurati si utilizzano, pertanto, i tassi standardizzati (di mortalità o di morbosità) che esprimono il fenomeno della mortalità/morbosità al netto dell'effetto della composizione per età, genere e di altre variabili confondenti⁵⁴.

Rapporti Standardizzati di Incidenza (SIR)

L'indicatore epidemiologico SIR è una misura sintetica che stima il rischio relativo di incidenza di una patologia in un'area in studio. Il SIR è dato dal rapporto percentuale tra il numero di eventi osservati e il numero di eventi attesi nel comune ed esprime l'eccesso (SIR maggiore di 100) o il difetto (SIR minore di 100) di morbosità esistente tra il comune e la popolazione presa come riferimento, cioè quella regionale nel suo complesso, al netto delle variabili di confondimento considerate. Essendo uno stimatore basato su un rapporto, il SIR assume dei valori estremamente alti in presenza di eventi attesi molto bassi (vicino allo zero), anche con eventi osservati pari a uno o di poco superiori; di conseguenza, in presenza di un numero esiguo di eventi e/o di una popolazione a rischio piccola, la mappa dei SIR può fornire una rappresentazione del rischio di incidenza nell'area in studio lontana dalla situazione reale.

Per superare i problemi di instabilità di questo stimatore sono stati proposti, tra gli altri, metodi di stima bayesiani⁵⁵.

Stimatori Bayesiani (BIR)

Le stime bayesiane del rischio relativo di incidenza di una patologia (BIR) sono determinate con metodi iterativi tenendo in considerazione contemporaneamente sia la frequenza degli eventi nelle aree limitrofe il singolo comune e sia la frequenza degli eventi nell'intera regione; in questo modo i BIR mostrano una minore variabilità poiché i valori estremi di SIR tendono a scomparire rendendo la mappa più correttamente interpretabile⁵⁵.

2.4 STRUMENTI INFORMATICI

I dati su base comunale, relativi agli indicatori epidemiologici utilizzati, sono stati prodotti con il sistema integrato di programmi sviluppati ad hoc a cura dell'ARPA Piemonte per l'analisi di dati sanitari in epidemiologia geografica ambientale, denominato PATED (Procedura per l'analisi territoriale di epidemiologia descrittiva - ver. 4.2). Esso utilizza una serie di procedure in SAS e Access, il software WinBUGS per il calcolo dei BIR, SatScan per l'analisi spaziale dei primi ricoveri ospedalieri e la rilevazione di cluster.

SatScan (ver. 9.1.1) è stato utilizzato per l'identificazione di cluster spaziali a livello subcomunale e MapInfo (ver. 11.0.4) per la georeferenziazione delle residenze e la rappresentazione cartografica dei cluster individuati.

Alcune mappe tematiche sono state estratte dagli Atlanti di Epidemiologia Ambientale (ediz. 9, ver. 0, anno 2012) realizzati dal Servizio di Epidemiologia Ambientale del Dipartimento Provinciale ARPAM di Ancona.

3. RISULTATI

3.1 STUDIO A LIVELLO COMUNALE

Per i comuni in cui sono stati registrati eccessi statisticamente significativi degli indicatori epidemiologici utilizzati, sono riportati, in tabella 1, per i due generi, il numero di casi osservati ed attesi, il Tasso Standardizzato e il valore calcolato del SIR con il relativo intervallo di confidenza al 95%, il corrispondente valore del BIR, con relativo intervallo di credibilità al 95%.

Nel periodo oggetto di studio sono stati identificati 368 residenti nella regione Marche che hanno avuto un primo ricovero con diagnosi di dimissione riconducibile al codice ICD-IX 335.2, corrispondente al gruppo di patologie del motoneurone. Il tasso grezzo dei primi ricoveri ospedalieri per 100.000 abitanti è risultato pari a 4,78 (IC 95% 4,29-5,27). Nei comuni di Castignano, Monte San Pietrangeli, Montecosaro, Porto San Giorgio, Porto Sant'Elpidio e Serra Sant'Abbondio, nei due generi, è stato rilevato un eccesso statisticamente significativo di ricoveri ospedalieri per la patologia del motoneurone in confronto ai dati regionali. Gli eccessi evidenziati dai SIR sono stati confermati nella significatività statistica dai corrispondenti valori dei BIR solo nei comuni di Porto San Giorgio e Porto Sant'Elpidio (tabella 1). Nelle valutazioni epidemiologiche questo fatto rafforza l'ipotesi dell'effettiva presenza dell'eccesso.

Tabella 1. Primi ricoveri ospedalieri per malattia del motoneurone (ICD IX 335.2), nei due generi, nel periodo 2006-2010.

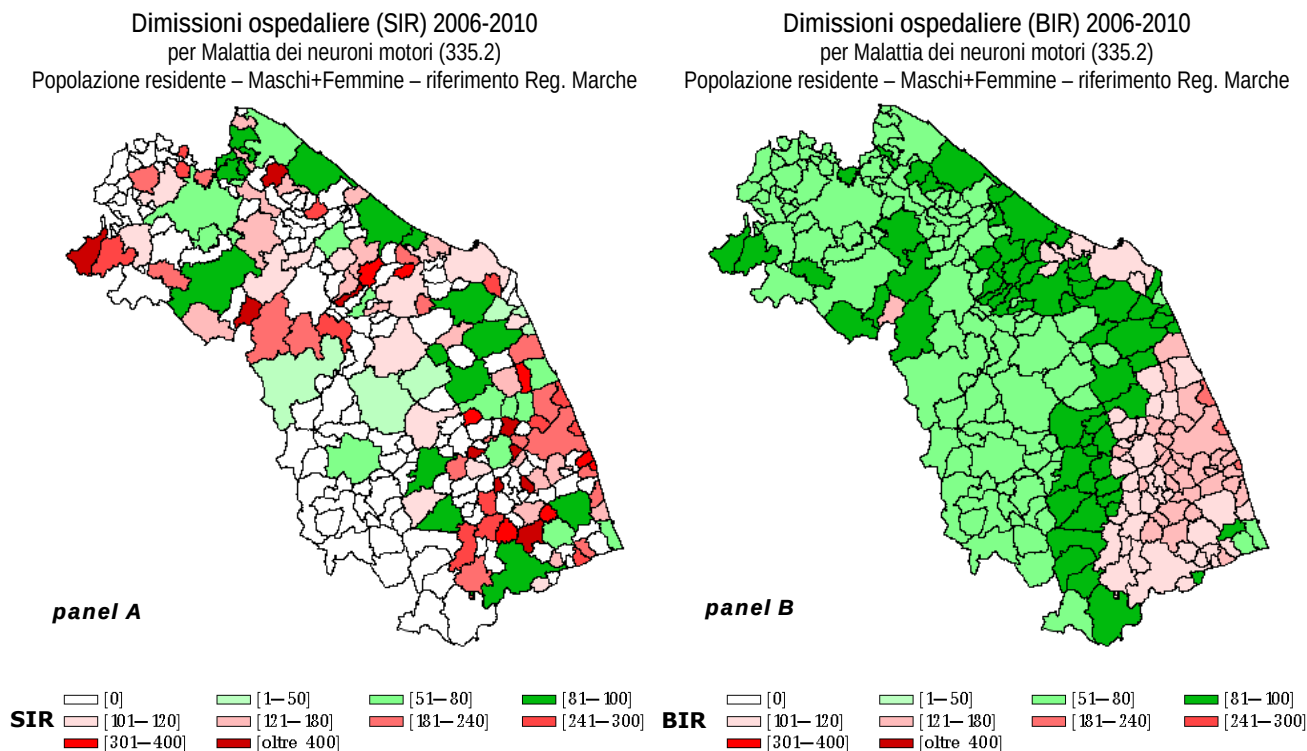
Comune	Osservati	Attesi	TStd *100000 (IC 95%)	SIR *100 (IC 95%)	BIR *100 (IC 95%)
Castignano	6	0,70	37,40 (13,60-89,49)	854 (314-1860)	171 (96-370)
Monte San Pietrangeli	<5	<1	25,50 (5,25-82,27)	865 (178-2529)	80 (31-198)
Montecosaro	5	1,34	22,92 (8,22-62,42)	373 (121-869)	154 (88-288)
Porto San Giorgio	11	4,33	12,76 (6,36-23,92)	254 (127-455)	230 (124-399)
Porto Sant'Elpidio	15	5,77	14,02 (7,81-24,06)	260 (146-429)	208 (126-337)
Serra Sant'Abbondio	<5	<1	41,83 (8,42-216,74)	989 (204-2891)	129 (57-354)

Note: In rosso gli eccessi di SIR e BIR statisticamente significativi (IC 95%).

A tutela della privacy e al fine di impedire l'individuazione dei soggetti dimessi con diagnosi di malattia del motoneurone, nei comuni in cui è stato rilevato un numero di osservati inferiore a 5 si è ritenuto di non indicare il numero preciso delle osservazioni e degli attesi.

Sulla base dei risultati delle analisi descrittive a livello comunale sono state realizzate delle mappe tematiche (figura 1) che rappresentano la distribuzione geografica degli eccessi e dei difetti di dimissioni ospedaliere, nei due generi, registrati nei comuni della regione rappresentati dai SIR (panel A) e dai BIR corrispondenti (panel B) nel periodo 2006-2010.

Figura 1. Primi ricoveri ospedalieri nei due generi – SIR (panel A) e BIR (panel B). Anni 2006-2010.



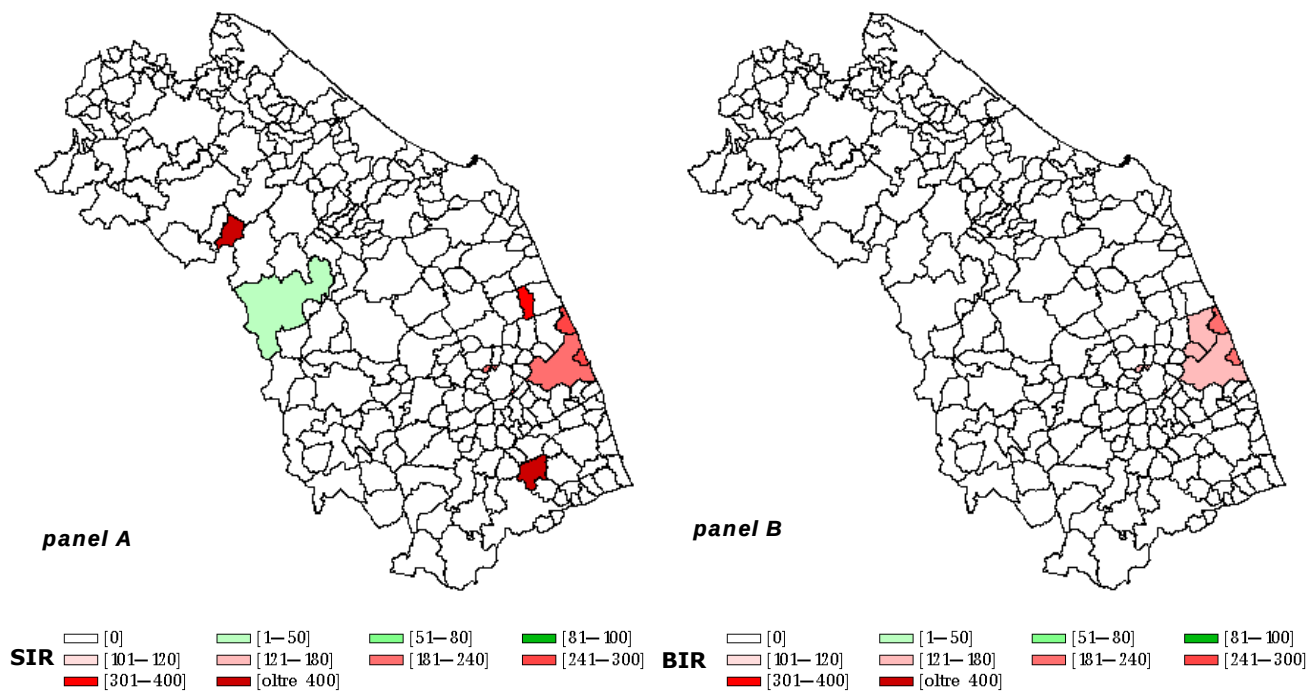
Fonte: Atlanti di Epidemiologia Ambientale 9 ed. v. 0. 2012
ARPAM – Dip. Ancona – Serv. Epid. Ambientale

Le mappe tematiche che seguono (figura 2) rappresentano solo gli eccessi e i difetti statisticamente significativi dei primi ricoveri ospedalieri, nei due generi, nel periodo 2006-2010, per gli indicatori SIR (panel A) e BIR corrispondenti (panel B).

Figura 2. Primi ricoveri ospedalieri nei due generi – Eccessi e difetti statisticamente significativi di SIR (panel A) e BIR (panel B). Anni 2006-2010.

Dimissioni osp. (SIR eccessi e difetti con $p < 0,05$) 2006-2010
per Malattia dei neuroni motori (335.2)
Popolazione residente – Maschi+Femmine – riferimento Reg. Marche

Dimissioni osp. (BIR eccessi e difetti con $p < 0,05$) 2006-2010
per Malattia dei neuroni motori (335.2)
Popolazione residente – Maschi+Femmine – riferimento Reg. Marche



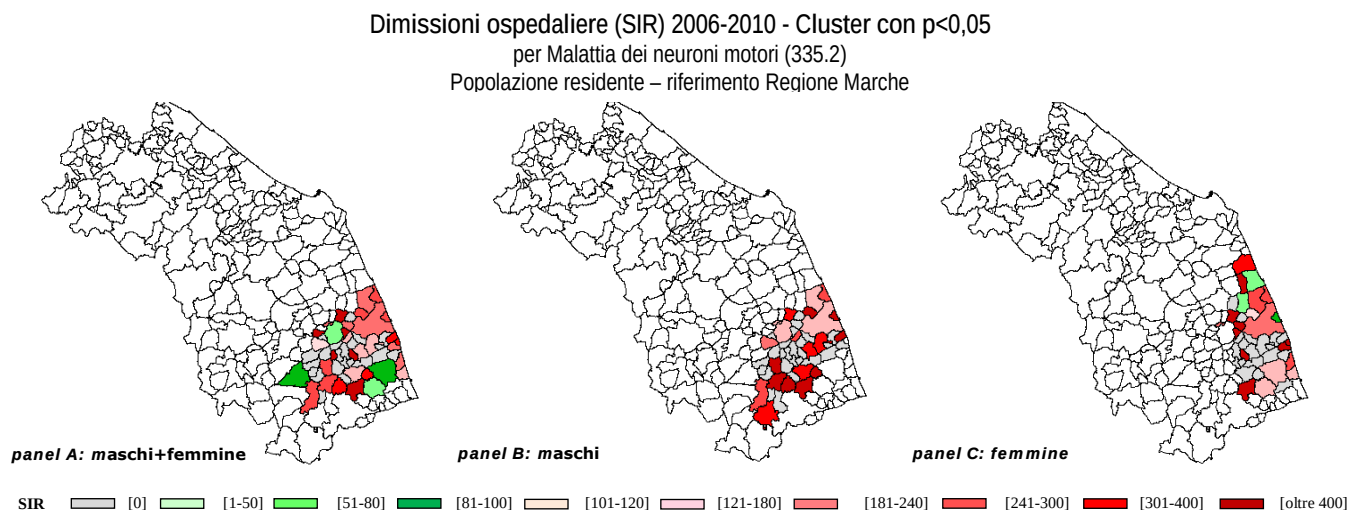
Fonte: Atlanti di Epidemiologia Ambientale 9 ed. v. 0. 2012
ARPAM – Dip. Ancona – Serv. Epid. Ambientale

La ricerca dei cluster spaziali su base comunale ha condotto all'individuazione di un aggregato di casi nella zona sud-est della regione.

Complessivamente, nei due generi, sono 100 i soggetti residenti nei 53 comuni che costituiscono il cluster ellittico individuato (17 Km di semiasse minore e 34 Km di semiasse maggiore) che, nel periodo 2006-2010, hanno avuto un primo ricovero, con diagnosi di malattia del motoneurone in prima causa di dimissione. Il cluster ha fatto rilevare un SIR di 191 (IC 95%: 155-232) statisticamente significativo (p -value=0,001).

Nella figura seguente (figura 3) sono stati rappresentati graficamente i cluster spaziali statisticamente significativi per i primi ricoveri ospedalieri per causa ICD IX 335.2 nei due generi e, rispettivamente, nei maschi e nelle femmine, nel periodo 2006-2010.

Figura 3. Primi ricoveri ospedalieri - Cluster spaziali statisticamente significativi: maschi + femmine (panel A), maschi (panel B) e femmine (panel C). Anni 2006-2010.



Fonte: Atlanti di Epidemiologia Ambientale 9 ed. v. 0. 2012
ARPAM – Dip. Ancona – Serv. Epid. Ambientale

3.2 STUDIO A LIVELLO DI UNITÀ CENSUARIA

Lo studio compiuto a livello di unità censuaria per l'area della ex Zona Territoriale 7, relativo alle diagnosi di malattia del motoneurone confermate in sede di visita medico-legale per il riconoscimento dell'invalidità civile, ha visto l'arruolamento di 65 casi di malattia. Dal numero degli osservati iniziali (68 casi) sono stati esclusi due soggetti perché non ancora valutati dalla CML sebbene nel certificato del medico curante, allegato alla pratica di invalidità civile, venisse indicata in diagnosi la malattia del motoneurone. Un terzo soggetto è stato escluso dall'analisi in quanto residente al di fuori dell'area in studio ma sottoposto per delega a visita medico-legale nella ex-Zona Territoriale 7.

La ricerca di cluster spaziali su base censuaria, sia circolari che ellittici, non ha prodotto risultati significativi dal punto di vista statistico ($p\text{-value} > 0,05$).

Delle 1.344 sezioni censuarie in cui risultano suddivisi i territori comunali dell'area in studio, soltanto due sezioni hanno fatto registrare la presenza di due casi di malattia del motoneurone ciascuna; i rimanenti 61 casi risultano ripartiti ciascuno in una singola sezione censuaria.

Data la bassa numerosità e la disomogenea distribuzione sul territorio dei casi osservati, si è ritenuto di non inserire la rappresentazione cartografica e tabellare degli indicatori epidemiologici rilevati, in quanto scarsamente informativi.

4. DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

Lo studio effettuato, puramente descrittivo, non ha il fine di verificare associazioni causali, ma intende evidenziare, attraverso i risultati ottenuti, situazioni di particolare interesse meritevoli di approfondimento.

L'analisi dei SIR e degli stimatori Bayesiani, negli anni 2006-2010, evidenziano eccessi di dimissioni ospedaliere, distribuiti irregolarmente sul territorio regionale, per patologie del neurone motore. Solo per i comuni di Porto San Giorgio e Porto Sant'Elpidio gli eccessi rilevati dai SIR sono stati confermati dai corrispondenti BIR nella significatività statistica. Ulteriore conferma a quanto evidenziato dagli indicatori SIR e BIR deriva dalla ricerca nella regione di cluster spaziali. Tale indagine ha fatto rilevare un aggregato geografico di casi in un'area a sud-est delle Marche (SIR 191 - IC 95% 155-232).

Nel periodo di indagine, il tasso grezzo medio annuo di morbosità (primi ricoveri ospedalieri) per le malattie del neurone motore è stato nella regione Marche pari a 4,78 per 100.000 abitanti, valore superiore a quello riportato dalla letteratura scientifica come tasso grezzo d'incidenza della malattia. Uno studio epidemiologico svolto nelle regioni Piemonte e Valle d'Aosta ha fatto registrare un tasso grezzo di incidenza annuale di 2,90/100.000 (IC 95%: 2,72-3,09)⁵⁶ mentre un altro studio effettuato in Puglia ha rilevato un tasso grezzo di incidenza annuale di 1,6/100.000 (IC 95%: 1,3-1,9)⁵⁷. Risultati in linea con quelli appena indicati sono descritti in studi internazionali³.

A possibile spiegazione di tale diversità è il fatto che, a differenza degli studi citati - che hanno utilizzato informazioni tratte dai registri regionali di patologia - la presente indagine ha estratto i casi di malattia dalle SDO. Sebbene infatti nella pratica comune i dati sanitari ricavati dalle SDO siano correntemente utilizzati negli studi epidemiologici come proxy di incidenza di malattia, vi è la possibilità di arruolare, come casi incidenti, soggetti già ospedalizzati per il gruppo di patologie indagate anche in anni precedenti rispetto al periodo in studio.

La possibilità di sovrastimare l'incidenza della malattia a seguito dell'utilizzo delle SDO viene anche indicata da uno studio effettuato per testare la validità di tale fonte dati nella valutazione dell'occorrenza della SLA⁵⁸.

Nella presente indagine, inoltre, una ulteriore possibile sovrastima dei casi di malattia è verosimilmente dovuta alla selezione delle diagnosi di dimissione ospedaliera con codice ICD IX 335.2. A quest'ultimo, infatti, corrisponde il gruppo di patologie afferenti alla malattia del motoneurone che, pur essendo maggiormente rappresentata dalla SLA (85%), non coincide con tale patologia.

Come sopra accennato, lo studio ha portato alla rilevazione di un cluster spaziale di primi ricoveri ospedalieri per malattia del motoneurone statisticamente significativo, in un'area a sud-est della regione. Ciò conferma quanto era già stato rilevato, su dati meno aggiornati, in un precedente lavoro prodotto dal Servizio di Epidemiologia Ambientale (una sintesi dello studio è consultabile negli atti del convegno: *"Epidemiologia per la sorveglianza: dal disegno alla comunicazione"* organizzato dall'ISS nel 2006⁵⁹).

In merito a tale aggregato spaziale di casi di malattia è di particolare interesse il risultato di uno studio⁶⁰ in cui gli autori avevano individuato numerosi casi di SLA in tre famiglie dell'area, solo parzialmente imparentate tra loro, studiate per 6 generazioni. L'ipotesi eziologica formulata a conclusione dell'indagine è stata in favore di un'associazione con

mutazioni del gene SOD1 riconosciuta quale fattore ereditario autosomico dominante ad alta penetrazione responsabile della genesi della malattia.

Occorre sottolineare però che molti dei pazienti individuati dallo studio, specie delle ultime due generazioni, oltre a presentare anomalie genetiche avevano avuto esperienze lavorative nella manifattura calzaturiera. L'esposizione a potenziali contaminanti neurotossici in ambito occupazionale rafforzerebbe l'ipotesi della genesi multifattoriale della malattia per la quale in soggetti con maggiore suscettibilità genetica, fattori di rischio ambientali, professionali ed alcuni stili di vita concorrerebbero in vario modo alla determinazione della malattia o alla probabile anticipazione della comparsa della sintomatologia. L'individuazione dei fattori etiologici di tipo familiare e "ambientale" potrà essere meglio stimata solo disponendo di dati completi estratti dal registro regionale delle Malattie Rare quando questo sarà popolato da una sufficiente e completa quantità di dati sulla patologia.

Nello studio descrittivo sopra indicato⁵⁹, inoltre, era stato individuato un cluster di mortalità per patologie del neurone motore in comuni che in parte possono essere ricompresi nell'area della Vallesina. Poiché si ritiene che i tassi di mortalità rappresentino un valido indicatore epidemiologico per monitorare la diffusione della SLA nella popolazione, è auspicabile che nel breve periodo si possa effettuare una nuova analisi dei dati di mortalità al fine di rilevare eventuali eccessi di questo esito sanitario in alcune aree del territorio regionale. Attualmente, infatti, nella regione Marche non è presente un registro delle cause di morte e i flussi informativi disponibili di mortalità ISTAT sono aggiornati all'anno 2003.

Come sopra indicato, le SDO sono correntemente utilizzate negli studi epidemiologici osservazionali. Occorre ricordare, però, che queste sono state concepite per fini amministrativi e che, pertanto, il flusso informativo che deriva dalle dimissioni ospedaliere ha finalità principalmente di tipo gestionale. Inoltre, sebbene l'affidabilità delle diagnosi per ogni ricovero sia aumentata nel tempo, in relazione alla crescente esigenza di una sempre più precisa valutazione dei costi, le SDO presentano ancora incertezze metodologiche di raccolta e di gestione dei dati.

Ciò premesso, e per un maggior approfondimento di quanto rilevato a livello comunale con l'utilizzo delle SDO, nel presente studio si è deciso di utilizzare, quale fonte dati per la selezione dei casi di malattia del motoneurone, l'archivio informatizzato delle CML che accertano la presenza di stati morbosi per il riconoscimento dell'invalidità civile. Consci del fatto che forse non tutti coloro a cui è stata diagnosticata la malattia del motoneurone richiedono di sottoporsi ad accertamento medico-legale per il riconoscimento dell'invalidità civile, ed altrettanto che ciò avviene, comunque, ad una certa distanza di tempo dalla diagnosi, la conta dei casi estratti dalle due fonti informative utilizzate, relativamente agli anni 2006-2010, per i residenti nei comuni della ex Zona Territoriale 7, ha restituito un numero di 53 dimissioni ospedaliere e 52 accertamenti medico-legali. Per motivi legati al rispetto della privacy, non è stato possibile confrontare la reale coincidenza dei nominativi dei soggetti con diagnosi di malattia del motoneurone nelle SDO e nel database della CML invalidi civili. Per quanto argomentato, tuttavia, è facile prevedere che non vi sarebbe stata una perfetta sovrapposizione dei nominativi inseriti nei due archivi e che, qualora presenti, le visite medico-legali avrebbero fatto registrare uno slittamento almeno di alcuni mesi rispetto alla diagnosi di malattia posta in regime di ricovero ospedaliero.

I motivi per i quali si è deciso di utilizzare gli archivi di coloro che chiedono di sottoporsi a visita medico-legale per il riconoscimento dell'invalidità civile, per l'effettuazione dello studio a livello di unità censuaria, possono essere così sintetizzati:

- la rapida ingravescenza della malattia conduce in breve alla perdita dell'autonomia individuale e quindi alla necessaria richiesta di un sostegno economico alle istituzioni;
- la valutazione medico-legale, per Decreto della regione Marche n. 19/504, si realizza entro un periodo massimo di 30 giorni dalla richiesta dell'accertamento;
- la maggiore attendibilità della diagnosi dovuta al riconoscimento della patologia sulla base della documentazione clinica e dei referti diagnostici sottoposti alla CML (nelle SDO i record individuali non consentono di conoscere la natura della documentazione clinica retrostante ogni diagnosi);
- la conoscenza dei dati residenziali dei soggetti coinvolti e quindi la possibilità di effettuare la georeferenziazione necessaria allo svolgimento delle indagini epidemiologiche spaziali a livello subcomunale, al fine di individuare aree nelle quali l'incidenza del fenomeno sanitario indagato assume valori significativamente superiori a quelli che si registrano in altre parti del territorio.

Tra i limiti che si registrano nell'utilizzo del flusso informativo delle CML è che la sola conoscenza della data dell'accertamento medico-legale non rende possibile effettuare una ricerca dei cluster temporali dei casi, per la quale invece occorrerebbe certezza della data di diagnosi della malattia. La ricerca dei cluster, infatti, è uno strumento che, oltre a fornire informazioni sulla comparsa di aggregati di patologie non attribuibili al caso in aree territorialmente contigue, è particolarmente utile per la costruzione di sistemi epidemiologici di sorveglianza permanente.

In conclusione, malgrado l'incidenza generale della malattia del motoneurone e della SLA in particolare sia relativamente bassa, la patologia in questione rappresenta un rilevante problema di tipo terapeutico-assistenziale, in quanto, allo stato attuale, vi sono solo ipotesi eziopatogenetiche ed inefficaci trattamenti terapeutici.

Gli studi di epidemiologia geografica come il presente hanno come obiettivo quello di segnalare eventuali anomalie che si manifestano in determinate aree geografiche, ma non consentono di verificare ipotesi eziologiche poiché, non disponendo di sufficienti dati individuali, non sono in grado di valutare l'effettiva esposizione della popolazione ai vari rischi di natura ambientale e/o professionale.

I risultati dello studio suggeriscono che fattori ambientali/occupazionali potrebbero avere un ruolo importante nell'eziologia della malattia. L'evidenza di un cluster di morbosità in un'area della regione in cui la popolazione è notoriamente dedita alla produzione e alla lavorazione calzaturiera o l'eventuale futura riconferma di un cluster di mortalità nella vallata dell'Esino, area a prevalente vocazione agricola, possono fornire indicazioni per la formulazione di ipotesi di associazione causale di natura occupazionale e possono favorire la conduzione di ulteriori e più specifiche indagini epidemiologiche.

Si ritiene utile, pertanto, la programmazione di indagini più approfondite che, anche attraverso l'utilizzo di dati provenienti da nuovi flussi informativi, quali gli accertamenti medico-legali per il riconoscimento dell'invalidità civile di altre Aree Vaste, o meglio estratti dal registro delle malattie rare che, da pochi anni (DGR 1514/09), raccoglie informazioni anche sulla SLA, valutino le esposizioni ambientali ed occupazionali, pregresse ed attuali, e stimino il rischio di sviluppo della patologia nelle popolazioni. Tutto ciò contribuirà all'acquisizione di maggiori informazioni sull'eziopatogenesi della malattia e all'avvio di un sistema di sorveglianza ambientale-sanitaria che coinvolga sia operatori dei servizi sanitari locali che dei servizi ambientali.

BIBLIOGRAFIA

- ¹ Uccelli R, Binazzi A, Altavista P, et al. Geographic distribution of amyotrophic lateral sclerosis through motor neuron disease mortality data. Eur J Epidemiol. 2007;22(11):781-90. [Abstract](#)
- ² Johnson FO, Atchison W. The role of environmental mercury, lead and pesticide exposure in development of amyotrophic lateral sclerosis. Neurotoxicology. 2009 September; 30(5): 761–765. [Full text](#)
- ³ Wijesekera LC, Leigh PN. Amyotrophic lateral sclerosis. Orphanet J Rare Dis. 2009 Feb 3;4:3. [Full text](#)
- ⁴ Andrews J. Amyotrophic lateral sclerosis: clinical management and research update. Curr. Neur. Neurosci. Rep. 2009;9(1):59-68. [Abstract](#)
- ⁵ Bastos AF, Orsini M, Machado D, et al. Amyotrophic lateral sclerosis: one or multiple causes? Neurol Int. 2011 Jun;3(1):e4. Epub 2011 Apr 29. [Full text](#)
- ⁶ Wolfson C, Kilborn S, Oskoui M, Genge A. Incidence and prevalence of amyotrophic lateral sclerosis in Canada: a systematic review of the literature. Neuroepidemiology 2009;33:79–88. [Full text](#)
- ⁷ Turner MR, Barnwell J, Al-Chalabi A, Eisen A. Young-onset amyotrophic lateral sclerosis: historical and other observations. Brain. 2012 Jun 1. [Full text](#)
- ⁸ Huisman MH, de Jong SW, van Doormaal PT, et al. Population based epidemiology of amyotrophic lateral sclerosis using capture–recapture methodology. J Neurol Neurosurg Psychiatry 2011;82:1165-1170. [Full text](#)
- ⁹ Altavista P, Belli S, Binazzi A, Comba P, et al. Incremento della mortalità per malattia del motoneurone in Italia negli anni 1980-1999. Epidemiol Prev 2006; 30(2): 108-113. [Full text](#)
- ¹⁰ Chiò A, Traynor BJ, Lombardo F, et al. Prevalence of SOD1 mutations in the Italian ALS population. Neurology. 2008 Feb 12;70(7):533-7. [Abstract](#)
- ¹¹ Rosen DR, Siddique T, Patterson D, et al. Mutations in Cu/Zn superoxide dismutase gene are associated with familial amyotrophic lateral sclerosis. Nature, 1993. 362(6415): p.59-62. [Abstract](#)
- ¹² Rothstein JD. Current hypotheses for the underlying biology of amyotrophic lateral sclerosis. Ann Neurol. 2009 Jan;65 Suppl 1:S3-9. [Full text](#)
- ¹³ Gitcho MA, Baloh RH, Chakraborty S, et al. TDP-43 A315T mutation in familial motor neuron disease. Ann Neurol. 2008 Apr;63(4):535-8. [Full text](#)
- ¹⁴ Sreedharan J, Blair IP, Tripathi VB, et al. TDP-43 mutations in familial and sporadic amyotrophic lateral sclerosis. Science. 2008 Mar 21;319(5870):1668-72. [Abstract](#)
- ¹⁵ Wu CH, Fallini C, Ticozzi N, et al. Mutations in the profilin 1 gene cause familial amyotrophic lateral sclerosis. Nature. 2012 Jul 15. [Abstract](#)
- ¹⁶ Chattopadhyay M, Valentine JS. Aggregation of copper-zinc superoxide dismutase in familial and sporadic ALS. Antioxid Redox Signal. 2009 Jul;11(7):1603-14. [Full text](#)
- ¹⁷ Cox PA, Sacks OW. Cycad neurotoxins, consumption of flying foxes, and ALS-PDC disease in Guam. Neurology 2002; 58: 956–9. [Abstract](#)
- ¹⁸ Cox PA, Banack SA, Murch SJ, et al. Diverse taxa of cyanobacteria produce β -N-methylamino-L-alanine, a neurotoxic amino acid. Proc Natl Acad Sci U S A. 2005 April 5; 102(14): 5074–5078. [Full text](#)

- ¹⁹ Murch SJ, Cox PA, Banack SA, Steele JC, Sacks OW. Occurrence of beta-methylamino-L-alanine (BMAA) in ALS/PDC patients from Guam. *Acta Neurol Scand.* 2004 Oct;110(4):267-9. [Abstract](#)
- ²⁰ Pablo J, Banack SA, Cox PA, et al. Cyanobacterial neurotoxin BMAA in ALS and Alzheimer's disease. *Acta Neurol Scand.* 2009 Oct;120(4):216-25. [Abstract](#)
- ²¹ Istituto Superiore di Sanità (I.S.S.), 1998. Lagorio S, Comba P, Iavarone L, Zapponi A. "Tumori e malattie neurodegenerative in relazione all'esposizione a campi elettrici e magnetici a 50/60 Hz: rassegna degli studi epidemiologici"; Rapporti ISTISAN 98/31, Roma.
- ²² National Institute of Environmental Health Sciences/National Institute of Health (NI.E.H.S./N.I.H), 1999. Assessment of health effects from exposure to power-line frequency electric and magnetic fields. N.I.H publication N° 99-4493; Research Triangle Park, N.C., U.S.A. [Full text](#)
- ²³ International Agency for Research on Cancer (IARC). IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Non-ionizing radiation, part 1: static and extremely low-frequency (ELF) electric and magnetic fields. IARC, Lyon, 2002. Vol. 80. [Full text](#)
- ²⁴ Li CY, Sung FC. Association between occupational exposure to power frequency electromagnetic fields and amyotrophic lateral sclerosis: a review. *Am J Ind Med.* 2003 Feb;43(2):212-20. [Abstract](#)
- ²⁵ Bonvicini F, Vinceti M, Fabbi S, et al. Residential Exposure to Electromagnetic Fields and Risk of Amyotrophic Lateral Sclerosis in Reggio Emilia, Italy. *Epidemiology*: November 2009 - Volume 20 - Issue 6 - p S196. [Abstract](#)
- ²⁶ Kamel F, Umbach DM, Munsat TL, et al. Lead exposure and amyotrophic lateral sclerosis. *Epidemiology.* 2002;13(3):311-319. [Abstract](#)
- ²⁷ Turabelidze G, Zhu BP, Schootman M, et al. An epidemiologic investigation of amyotrophic lateral sclerosis in Jefferson County, Missouri, 1998-2002. *Neurotoxicology.* 2008 Jan;29(1):81-6. [Abstract](#)
- ²⁸ Armon C, Kurland LT, Daube JR, O'Brien PC. Epidemiologic correlates of sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Neurology.* 1991;41(7):1077-1084. [Abstract](#)
- ²⁹ Adams CR, Ziegler DK, Lin JT. Mercury intoxication simulating amyotrophic lateral sclerosis. *JAMA.* 1983 Aug 5;250(5):642-3. [Abstract](#)
- ³⁰ Praline J, Guennoc AM, Limousin N, et al. ALS and mercury intoxication: a relationship? *Clin Neurol Neurosurg.* 2007 Dec;109(10):880-3. [Abstract](#)
- ³¹ Guidetti D, Bondavalli M, Sabadini R, et al. Epidemiological survey of amyotrophic lateral sclerosis in the province of Reggio Emilia, Italy: influence of environmental exposure to lead. *Neuroepidemiology.* 1996;15(6):301-12. [Abstract](#)
- ³² Gresham LS, Molgaard CA, Golbeck AL, Smith R. Amyotrophic lateral sclerosis and occupational heavy metal exposure: a case-control study. *Neuroepidemiology.* 1986;5(1):29-38. [Abstract](#)
- ³³ Kamel F, Umbach DM, Stallone L, et al. Association of lead exposure with survival in amyotrophic lateral sclerosis. *Environ Health Perspect.* 2008 Jul;116(7):943-7. [Full text](#)
- ³⁴ Vinceti M, Bottecchi I, Fan A, et al. Are environmental exposures to selenium, heavy metals, and pesticides risk factors for amyotrophic lateral sclerosis? *Rev Environ Health.* 2012;27(1):19-41. [Abstract](#)
- ³⁵ Vinceti M, Bonvicini F, Bergomi M, Malagoli C. Possible involvement of overexposure to environmental selenium in the etiology of amyotrophic lateral sclerosis: a short review. *Ann Ist Super Sanita.* 2010;46(3):279-83. [Full text](#)
- ³⁶ Alonso A, Logroscino G, Jick SS, Hernán MA. Association of smoking with amyotrophic lateral sclerosis risk and survival in men and women: a prospective study. *BMC Neurol.* 2010 Jan 14;10:6. [Full text](#)

- ³⁷ Wang H, O'Reilly ÉJ, Weisskopf MG, et al. Smoking and risk of amyotrophic lateral sclerosis: a pooled analysis of 5 prospective cohorts. *Arch Neurol*. 2011 Feb;68(2):207-13. [Full text](#)
- ³⁸ Morozova N, Weisskopf MG, McCullough ML, et al. Diet and amyotrophic lateral sclerosis. *Epidemiology*. 2008 Mar;19(2):324-37. [Abstract](#)
- ³⁹ Chancellor AM, Slattery JM, Fraser H, Warlow CP. Risk factors for motor neuron disease: a case-control study based on patients from the Scottish Motor Neuron Disease Register. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1993;56(11):1200–1206. [Full text](#)
- ⁴⁰ Weisskopf MG, O'Reilly EJ, McCullough ML, et al. Prospective study of military service and mortality from ALS. *Neurology*. 2005 Jan 11;64(1):32-7. [Abstract](#)
- ⁴¹ Haley RW. Excess incidence of ALS in young Gulf War veterans. *Neurology*. 2003 Sep 23;61(6):750-6. [Abstract](#)
- ⁴² Horner RD, Kamins KG, Feussner JR, et al. Occurrence of amyotrophic lateral sclerosis among Gulf War veterans. *Neurology*. 2003 Sep 23;61(6):742-9. [Abstract](#)
- ⁴³ McGuire V, Longstreth WT Jr, Nelson LM, et al. Occupational exposures and amyotrophic lateral sclerosis. A population-based case-control study. *Am J Epidemiol*. 1997 Jun 15;145(12):1076-88. [Full text](#)
- ⁴⁴ Malek AM, Barchowsky A, Bowser R, Youk A, Talbott EO. Pesticide exposure as a risk factor for amyotrophic lateral sclerosis: A meta-analysis of epidemiological studies: Pesticide exposure as a risk factor for ALS. *Environ Res*. 2012 Jul 19. [Abstract](#)
- ⁴⁵ Kamel F, Umbach DM, Bedlack RS, et al. Pesticide exposure and amyotrophic lateral sclerosis. *Neurotoxicology*. 2012 Jun;33(3):457-62. [Abstract](#)
- ⁴⁶ Bonvicini F, Marcello N, Mandrioli J, et al. Exposure to pesticides and risk of amyotrophic lateral sclerosis: a population-based case-control study. *Ann. Ist. Super. Sanità* vol.46 no.3 Roma 2010. [Full text](#)
- ⁴⁷ Chiò A, Benzi G, Dossena M, et al. Severely increased risk of amyotrophic lateral sclerosis among Italian professional football players. *Brain* 128: 472-476, 2005. [Full text](#)
- ⁴⁸ Chen H, Richard M, Sandler DP, et al. Head injury and amyotrophic lateral sclerosis. *Am J Epidemiol*. 2007 Oct 1;166(7):810-6. [Full text](#)
- ⁴⁹ Chio A, Calvo A, Dossena M, et al. ALS in Italian professional soccer players: the risk is still present and could be soccer-specific. *Amyotroph Lateral Scler*. 2009 Aug;10(4):205-9. [Abstract](#)
- ⁵⁰ Caranci N, Biggeri A, Grisotto L, et al. (2010). L'indice di deprivazione italiano a livello di sezione di censimento: definizione, descrizione e associazione con la mortalità. *Epidemiol Prev*, 34 (4), 167-176. [Abstract](#)
- ⁵¹ Besag J, York J, Mollié A. (1991). Bayesian image restoration with applications in spatial statistics. *Ann Inst Math Stat* 43:1-20.
- ⁵² Kulldorff, M. (1997;). A spatial scan statistic. *Communications in Statistics: Theory and Methods* , 26, 1481–1496.
- ⁵³ Kulldorff, M., Huang L., Pickle L., and Duczmal L. (2006). An elliptic spatial scan statistic. *Statistics in Medicine* , 25, 3929–3943.
- ⁵⁴ Pagano M., Gauvreau K. (1993). *Principle of biostatistics*, Duxbury.
- ⁵⁵ Lawson A.B. (2001). *Statistical Methods in spatial epidemiology*, John Wiley&Sons.

- ⁵⁶ Chiò A, Mora G, Calvo A, et al. Epidemiology of ALS in Italy: a 10-year prospective population-based study. *Neurology*. 2009 Feb 24;72(8):725-31. [Full text](#)
- ⁵⁷ Logroscino G, Beghi E, Zoccolella S, et al. Incidence of amyotrophic lateral sclerosis in southern Italy: a population based study. *Neurol Neurosurg Psychiatry* 2005;76:1094-1098. [Full text](#)
- ⁵⁸ Beghi E, Logroscino G, Micheli A, et al. Validity of hospital discharge diagnoses for the assessment of the prevalence and incidence of amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotroph Lateral Scler Other Motor Neuron Disord*. 2001 Jun;2(2):99-104. [Abstract](#)
- ⁵⁹ Guizzardi M, Baldini M, Mariottini M. Analisi spaziale dei cluster di Sclerosi Laterale Amiotrofica. Regione Marche, 1995-2003 – Atti del Convegno: “Epidemiologia per la sorveglianza: dal disegno alla comunicazione”. ISS. Roma 15-16 maggio 2006. ISTISAN Congressi 06/C2:34.
- ⁶⁰ Ceroni M, Malaspina A, Poloni TE, et al. Clustering of ALS patients in central Italy due to the occurrence of the L84F SOD1 gene mutation. *Neurology*. 53(5):1064-71, 1999. [Abstract](#)