



A.D. MDLXII

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

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

Direttore: Prof. Eusebio Tolu

INDIRIZZO IN NEUROSCIENZE

Responsabile: Prof.ssa M. Speranza Desole

**ANALISI DEI TREND EPIDEMIOLOGICI DI
INCIDENZA E PREVALENZA DELLA MIASTENIA
GRAVIS NELLA POPOLAZIONE SARDA**

RELATORE:

Dott. Gianfranco SAU

CO-RELATORE:

Prof.ssa Maura PUGLIATTI

TESI DI:

Dott.ssa MARIA GIOVANNA PILUZZA

ANNO ACCADEMICO 2011-2012

INDICE

	pagina
1 INTRODUZIONE	3
1.1. La Miastenia Gravis	3
1.1.1. Eziologia e patogenesi	3
1.1.2. Immunogenetica	6
1.1.3. Caratteristiche cliniche	7
1.1.4. Diagnosi	8
1.2. Epidemiologia della MG	10
1.2.1 Prevalenza	11
1.2.2 Incidenza	12
1.2.3 Gli studi epidemiologici sulla MG in Sardegna	14
2 OBIETTIVI	16
3 METODI	17
3.1 Area di studio	17
3.2 Definizione del caso	19
3.3 Fonti epidemiologiche	20
3.4 Analisi statistica	21
4 RISULTATI	23
4.1 Prevalenza cruda e standardizzata	23
4.2 Incidenza cruda	24
4.3 Dati clinici	25
5 DISCUSSIONE	26
6 CONCLUSIONI	30
7 BIBLIOGRAFIA	31
8 TABELLE	38
9 FIGURE	43

Abbreviazioni

MG: miastenia gravis

AChR: recettore per l'acetilcolina

MuSK: tirosina chinasi muscolo-specifica

DSN: double seronegative

SFEGM: elettromiografia a singola fibra

EPP: endplate potential

1 INTRODUZIONE

1.1 La miastenia gravis

La miastenia gravis (MG) acquisita è una malattia autoimmune che coinvolge la giunzione neuromuscolare, caratterizzata da una affaticabilità patologica fluttuante ed esauribilità funzionale della muscolatura striata scheletrica ai test clinici ed elettrofisiologici (Drachman, 1994).

Caratteristiche importanti sono il deficit di forza che incrementa con l'attività muscolare prolungata, il rapido recupero con il riposo, il miglioramento che segue la somministrazione di anticolinesterasici.

1.1.1 Eziologia e patogenesi

In base all'eziologia vengono riportate quattro classi di MG: autoimmune acquisita, neonatale transitoria, indotta da farmaci e le sindromi miasteniche congenite (Thanvi e Lo, 2004).

Sebbene biologicamente eterogenea, la patologia viene classificata come paraneoplastica, se associata a timoma, o non paraneoplastica (Meriggioli e Sanders, 2009) e per entrambe le forme è stata riconosciuta una patogenesi autoimmune.

In molti casi la MG acquisita è legata alla sintesi di autoanticorpi diretti contro il recettore per l'acetilcolina (AChR) il cui ruolo patogenetico è stato chiaramente dimostrato (Patrick e Lindstrom et al, 1973; Toyka et al, 1977; Lennon e Lambert,

1980).

Generalmente nel 85% dei pazienti con miastenia generalizzata si riscontrano anticorpi diretti contro l'AChR (Drachman, 1998).

Questi anticorpi causano un decremento funzionale del recettore dell'acetilcolina a livello della giunzione neuromuscolare, attraverso vari meccanismi: il blocco sterico recettoriale, l'incremento della degradazione dello stesso, l'internalizzazione del recettore ed il danno della membrana post-sinaptica mediato dal complemento (Vincent, 2008).

Sebbene il fattore scatenante lo squilibrio anticorpale rimanga sconosciuto, molte evidenze vedono una implicazione da parte del timo in questo processo (Vincent et al, 2001). Nell'80% dei pazienti con MG ad esordio precoce e positività agli anticorpi anti-AChR si riscontra iperplasia timica (Leite et al, 2007), caratterizzata dalla presenza di infiltrati linfocitari e centri germinali. La ghiandola iperplastica in questi casi contiene cellule T, cellule B e plasmacellule, come pure cellule mioidi che esprimono l'AChR (Schluep et al, 1987). In realtà la ghiandola contiene quindi tutti i componenti necessari per lo sviluppo di una risposta immune verso l'AChR e i timociti in coltura generano spontaneamente anticorpi anti-AChR (Scadding et al, 1981). Questi risultati supportano la teoria di una patogenesi intratimica e suggeriscono che il timo iperplastico è coinvolto nel trigger della risposta immunitaria.

Le MG associate a timoma sono ricche di cellule T autoreattive (Kadota et al, 2000). Si pensa che queste cellule T autoreattive

vengano selezionate ed esportate alla periferia, dove sono attivate per fornire aiuto per la produzione di cellule B attraverso un meccanismo non del tutto noto. La selezione negativa e la regolazione di cellule T potenzialmente autoreattive potrebbe essere compromessa nei timomi a causa di un deficit dell'espressione dell'*AIRE*, un gene autoimmune regolatore e della perdita selettiva di cellule T regolatrici (Strobel et al, 2004; Scarpino et al, 2007; Meriggioli e Sanders, 2009).

Approssimativamente il 15% dei pazienti con la forma generalizzata di MG non producono anticorpi anti-AChR rilevabili e sono definiti *sieronegativi*.

Tuttavia, il siero di pazienti negativi per gli anticorpi anti-AChR può contenere altri anticorpi, come quelli diretti contro la tirosina-chinasi muscolo-specifica (MuSK) (Hoch et al, 2001).

Il MuSK, situato sul versante post-sinaptico, è indispensabile per l'aggregazione dell'AChR nel corso dello sviluppo della giunzione neuromuscolare (Hoch et al, 2001; Shigemoto et al, 2008), ma il ruolo dell'anticorpo nell'indurre la malattia una volta raggiunta la maturità neuromuscolare delle giunzioni è ancora in parte da definire (Lang e Vincent, 2009).

Inoltre esiste un eterogeneo gruppo di pazienti, definiti appunto *double seronegative* (DSN), dalle caratteristiche clinico-laboratoristiche variabili e meno definite, in cui non sono presenti né gli anticorpi anti-AChR, né gli anticorpi anti-MuSK, e che migliorano con le terapie immunosoppressive e la timectomia (Mossman et al, 1986).

Nei DSN la biopsia muscolare mostra una perdita di AChR (Shiraishi et al, 2005) e l'istologia timica iperplasia e centri germinali (Leite et al, 2005; Lite et al, 2007). Recentemente sono stati identificati in questo gruppo anticorpi IgG a bassa affinità che legano preferenzialmente aggregati di AChR; si tratta soprattutto di IgG1 con capacità di attivare il complemento (Leite et al, 2008).

1.1.2 Immunogenetica

L'eterogeneità clinica e biologica della MG autoimmune sembra correlare con markers genetici, e specialmente con i geni del sistema HLA (Human Leukocyte Antigen) (Compston et al, 1980; Janer et al, 1999). Il risultato più consistente è l'associazione degli alleli HLA-DR3 e -B8 con la MG ad esordio precoce ed iperplasia timica (Compston et al, 1980; Janer et al, 1999; Giraud et al, 2001). La MG a esordio tardivo è meno fortemente associata con l'HLA-DR2 e -B7 (Giraud et al, 2008).

Recentemente un'associazione con DR14-DQ15 è stata riportata in pazienti con anticorpi anti-MuSK (Niks et al, 2006). Diversi geni non-HLA sono stati associati alla MG, ma il solo che potrebbe avere un ruolo patogenetico è il CHRNA1 che codifica per la subunità α dell'AChR (Giraud et al, 2008; Meriglioli e Sanders, 2009).

1.1.3 Caratteristiche cliniche

Tipicamente la caratteristica clinica della MG è la facile affaticabilità che coinvolge specifici gruppi di muscoli suscettibili, peggiora con l'esercizio e migliora col riposo. I pazienti possono presentare diversi gradi di ptosi palpebrale, diplopia, disartria, disfagia, dispnea, debolezza facciale, assiale o dei quattro arti.

La debolezza oculare è il sintomo d'esordio più comune, verificandosi nel 85% circa dei pazienti (Grob et al, 2008). La progressione della malattia verso una forma generalizzata avviene generalmente a due anni dall'esordio.

Il coinvolgimento bulbare è il sintomo iniziale in più del 15% dei pazienti (Grob, 1953), mentre quello respiratorio è una caratteristica rara di presentazione, ma richiede un intervento terapeutico immediato.

Il decorso della patologia è variabile. Molti pazienti sperimentano un peggioramento intermittente dei sintomi, esacerbato da infezioni, stress emotivo, interventi chirurgici o medicinali in particolare durante il primo anno. La progressione verso la massima severità tipicamente avviene entro due anni dall'esordio (Grob et al, 2008).

Le differenze nella presentazione clinica, l'età d'esordio, il profilo anticorpale, la presenza o l'assenza di anomalie timiche, hanno permesso di identificare diversi sottotipi di MG:

1) la forma oculare pura; 2) la MG a esordio precoce; 3) la MG a esordio tardivo; 4) la MG associata a timoma; 5) la MG con anticorpi anti-MuSK; 6) la MG generalizzata sieronegativa

(Vincent et al, 2001; Meriggioli e Sanders, 2009).

In base al grado di severità le diverse forme di malattia sono state classificate da Osserman e Jerkins (Osserman e Genkins, 1971) (tabella 1). Recentemente, questa classificazione è stata modificata da un Comitato ad hoc della American Myasthenia Gravis Foundation (MGFA) (Jaretzki et al, 2000) (tabella 2).

1.1.4 Diagnosi

La diagnosi di MG viene formulata essenzialmente sulla base delle caratteristiche cliniche, supportate dai *bedside tests*, come il test al cloruro di edrofonio e l'*ice-test*, dai test elettrofisiologici, come la stimolazione ripetitiva e l'elettromiografia a singola fibra (SFEGM) e dai test immunologici.

Il cloruro di edrofonio è un inibitore dell'acetilcolinesterasi ad azione rapida che prolunga la durata d'azione dell'acetilcolina nella giunzione neuromuscolare, incrementando l'ampiezza e la durata dell'*endplate potential* (EPP). Si somministra per via intravenosa ed il test è positivo se si realizza un effettivo miglioramento dell'ipostenia. La sua sensibilità è del 71.5-95% nelle forme generalizzate (Pascuzzi, 2003).

L'*ice-test* viene effettuato attraverso un impacco di ghiaccio sulla regione orbitaria per 2-5 minuti e valutando il miglioramento della ptosi palpebrale (Golnik et al, 1999; Meriggioli e Sanders, 2005). La stimolazione ripetitiva, da effettuarsi su un nervo corrispondente ad un distretto muscolare sintomatico, produce

un decremento riproducibile di almeno il 10% dell'ampiezza del potenziale d'azione muscolare tra la I e la IV/V risposta; ha una sensibilità del 75% nelle miastenie generalizzate ed è più frequentemente positivo se eseguito su muscoli prossimali o facciali (Meriggioli e Sanders, 2005).

La SFEMG il cui studio è considerato patologico se oltre il 10% delle coppie di potenziali ha un *jitter* superiore al normale o segni di blocco, e/o il *jitter* medio eccede i limiti della norma, rivela anomalie nel 95-99% dei pazienti miastenici se vengono esaminati i muscoli appropriati (Sanders et al, 1979; Oh et al, 1992).

Il test immunologico più utilizzato è il dosaggio degli anticorpi anti-AChR su siero. La sensibilità del test è approssimativamente dell'85% per le forme generalizzate e del 50% per le forme oculari (Lindstrom et al, 1976; Vincent e Newsom-Davis, 1985), con una specificità, in presenza di sintomi rilevanti, vicino al 100% (Tzartos et al, 1982; Vincent e Wood, 1988;).

La ricerca degli anticorpi anti-MuSK è positiva in circa il 40% dei pazienti sieronegativi per l'anti-AChR (McConville et al, 2004) con grandi variazioni geografiche. La MG positiva per anticorpi anti-MuSK ha una bassa prevalenza nel nord-Europa rispetto all'area mediterranea (Guptill e Sanders, 2010).

Anticorpi del muscolo striato, che riconoscono proteine citoplasmatiche muscolari (recettori per la titina, miosina, actina, rianodina) vengono rilevati nel 75-85% dei pazienti con MG e timoma e anche in alcuni timomi in assenza di MG (Buckley et al,

2001; Romi et al, 2005).

1.2 L'epidemiologia della MG

La MG è una patologia relativamente rara che colpisce tutte le età, entrambi i sessi e tutte le razze. Sono state descritte forme familiari sia con anticorpi diretti contro il recettore dell'acetilcolina (Evoli et al, 1995; Lavrnjic et al, 2008) che con positività per gli anticorpi anti-MuSK (Corda et al, 2011).

In pazienti affetti da MG l'associazione con altre patologie autoimmuni è frequente e più alta che nella popolazione generale (Thorlacius et al, 1989).

Le donne presentano una incidenza di MG più elevata rispetto agli uomini, ma frequentemente è descritta una distribuzione bimodale del tasso di incidenza della MG, con il primo picco nella terza decade, che colpisce prevalentemente le donne, e il secondo picco nella sesta-settima decade, a preponderanza maschile. Questo suggerisce la possibile influenza di fattori ambientali o ormonali sull'esordio della patologia (Kurtzke, 1978; Thanvi e Lo, 2004).

Gli studi epidemiologici sulla MG mostrano un'ampia variabilità sia per l'incidenza che per la prevalenza. Questo può essere spiegato da studi eseguiti su piccole popolazioni, da un incompleto accertamento dei casi, dall'uso di registri multipli, dai diversi criteri diagnostici utilizzati tra gli studi, ma possono anche esistere reali differenze (D'Alessandro et al, 1991; Haldal et al,

2012).

1.2.1 Prevalenza

La prevalenza stimata della MG varia da 0,5 a 35 per 100.000 abitanti (Kurland e Alter, 1961; Carr et al, 2010; Sardu et al, 2012).

In Italia, sul finire degli anni 80, una prevalenza di 4,5 per 100.000 (Giagheddu et al, 1989) è stata riportata in Sardegna, di 6,2 per 100.000 nella città di Pavia (Citterio et al, 1987), di 1,5 nella città di Ferrara (Tola et al, 1989) e di 5,5 nella città di Bologna (D'Alessandro et al, 1991). Uno studio successivo effettuato nel nord-ovest della Sardegna ha mostrato una prevalenza di 11,1 per 100.000 nel 1994 (Aiello et al, 1997).

Studi più recenti indicano un incremento delle stime di prevalenza nella provincia di Trento da 8,2 per 100.000 nel 1990 (Ferrari e Lovaste, 1992) a 12,9 nel 2009 (Pallaver et al, 2009) e una prevalenza cruda di 24 per 100.000 nella provincia di Pavia (Montomoli et al, 2012). Ancora in Sardegna, nel 2009 viene riportata una prevalenza di 35 per 100.000 abitanti (Sardu et al, 2012).

Nei Paesi Europei gli studi condotti negli ultimi 50 anni hanno rilevato una prevalenza che varia da 1,5 a 17,9 per 100.000 con una prevalenza complessiva (*pooled*) di 7,8 per 100.000 (Carr et al, 2010).

Uno degli studi di popolazione più completi, condotto a livello

nazionale, su 4,7 milioni di abitanti, nel quale tutte le informazioni sono raccolte in un'unica fonte ed effettuato su un lungo periodo di tempo (1983-2007), è stato effettuato in Norvegia sulla MG sieropositiva (Heldal et al, 2009). La prevalenza stimata della MG positiva per anticorpi anti-AChR è stata di 12,6 per 100.000. Correggendo per la parte di MG sieronegativa corrispondente al 15%, è stato possibile stimare la prevalenza per entrambe le forme di MG di 14,5 per 100.000.

Negli Stati Uniti d'America (USA) ed in Canada è stato riportato un incremento del trend temporale della prevalenza della MG. In Virginia, USA, la prevalenza era di 14,2 per 100.000 (Phillips, 1994; Phillips e Torner, 1996; Phillips, 2003) e in British Columbia, Canada, è stata riportata una prevalenza stimata di 20,4 per 100.000 (Isbister et al, 2002; Phillips, 2003).

La prevalenza stimata in Europa e Nord America dal 1980 è riportata in tabella 3.

1.2.2 Incidenza

L'incidenza della MG è aumentata nelle ultime cinque decadi da 0,2-0,5 a 0,9-3,0 (McGrogan, 2010) per 100.000. Nel nord-ovest della Sardegna, nel 1994 l'incidenza della MG era di 0,8 per 100.000 (Aiello et al, 1997), di 0,8 per 100.000 in Reggio Emilia (Guidetti et al, 1998) e di 2,1 nella provincia di Ferrara (Tola et al, 1989)

I dati più recenti indicano un incremento dell'incidenza annuale

media da 0,7 per 100.000 (Ferrari e Lovaste, 1992) a 1,4 in provincia di Trento (Pallaver et al, 2011) ed un aumento dell'incidenza cruda di 2,4 nella provincia di Ferrara (Casetta et al, 2010).

In Europa il tasso di incidenza della MG è aumentato nel tempo grazie sia ad una maggiore consapevolezza della patologia sia ad un miglioramento delle metodiche diagnostiche. Una revisione recente della letteratura ha riportato tassi di incidenza variabili fra 0,3 e 3 per 100.000/anno, in Estonia e nel Regno Unito, rispettivamente, che sembrano rappresentare le stime più accurate (McGrogan et al, 2010). Nello studio norvegese condotto nel 2009, sin dal 1995, sono stati reclutati 420 pazienti affetti da MG sieropositiva e l'incidenza cruda totale per anno tra il 1995 ed il 2007 era di 0,7 per 100.000 (Heldal et al, 2009).

In British Columbia, Canada, in uno studio di popolazione basato sulla sieropositività agli anticorpi anti-AChR, è stato riscontrato un tasso di incidenza di 1,3 per 100.000 abitanti l'anno (Flachenecker, 2006; Pakzad et al, 2011). Nel 1984 il tasso di incidenza in Virginia era di 0,9 per 100.000/anno (Phillips et al, 1992; Phillips e Torner, 1996).

E' noto che la patologia colpisca prevalentemente le donne tra la terza e la quarta decade di vita, ma si presenti con un picco bimodale negli uomini nella terza e sesta decade, con un'apparente predominanza maschile nei gruppi d'età più avanzata (Aragonès et al, 2003; Somnier, 2005; Meyer e Levy, 2010).

I dati derivati da uno studio in Virginia, USA, suggeriscono che la patologia sia più comune nella razza nera che in quella bianca (Phillips et al, 1992).

I tassi di incidenza in Europa e Nord-America dal 1980 sono riportati in tabella 4.

1.2.3 Gli studi epidemiologici sulla MG in Sardegna

Uno dei primi studi epidemiologici nell'isola venne condotto da Giagheddu nel periodo 1958-1986. Lo studio, che incluse l'intera popolazione sarda, riportò una prevalenza di 4,5 per 100.000 abitanti ed un tasso di incidenza di 0,25 per 100.000, risultati verosimilmente sottostimati per l'uso di fonti epidemiologiche non sufficienti nell'accertamento dei casi.

Pertanto, nel 1994, Aiello e coll. condussero un nuovo studio epidemiologico in un'area ben definita dell'isola, cioè la Sardegna nord-occidentale, con una popolazione di circa 270.000 abitanti. Vennero utilizzate numerose fonti per l'identificazione retrospettiva dei casi e la diagnosi di MG venne supportata da test neurofisiologici e farmacologici, ma solo sul 13% dei pazienti fu eseguita la ricerca anticorpale anti-AChR. Lo studio mostrò una incidenza di 0,8 e una prevalenza di 11,1 con età media alla prevalenza di 44 anni e rapporto femmine-maschi di 1,3. L'età media all'esordio era di 42 anni, 39 per le donne e 48 per gli uomini, con il picco massimo di incidenza tra i 20 e 29 anni per le donne e tra i 40 e 49 anni per gli uomini.

Questo studio mostrò un rischio di MG più alto rispetto a quanto rilevato in studi precedenti, ma con differenze non significative rispetto ad altre aree europee.

L'ultimo dato epidemiologico sulla MG risale al 2009 e stima una prevalenza di 35 per 100.000 abitanti nel sud dell'isola senza differenza tra i sessi. Il gruppo di Sardù ha condotto, in realtà, uno studio, basato su popolazione, di 12 patologie autoimmuni estrapolando i dati dal sistema sanitario informativo. L'area di studio era rappresentata dalle province di Cagliari e Carbonia-Iglesias con una popolazione di 700.000 abitanti. I dati sono stati estratti nel giugno del 2009, riguardano almeno un decennio, sono basati sul codice ICD-9-CM della diagnosi (358.00), ma non vengono esplicitati i criteri diagnostici per l'accertamento dei casi.

2 OBIETTIVI

Studi epidemiologici di popolazione sono stati condotti in oltre 50 anni soprattutto negli USA ed in Europa (Phillips et al, 1992). In questo periodo è stata registrata una netta tendenza in aumento della prevalenza della patologia. Negli ultimi anni, si è anche verificato un interesse nel determinare una stima ragionevolmente precisa del numero di pazienti MG negli USA. Studi recenti indicano che l'età, la distribuzione etnica e la severità della malattia sono cambiati (Phillips, 2003). La MG può esordire a qualsiasi età, ma è spesso descritta una distribuzione bimodale di incidenza (Kurtzke, 1978; Thanvi e Lo, 2004). Esiste inoltre qualche indicazione per una maggiore incidenza e prevalenza tra gli afro-americani nella popolazione della Virginia (Phillips et al, 1992). Secondo quanto riportato in una grande serie clinica di pazienti affetti da MG, il numero di MG con forma oculare (Classe I della Classificazione MGFA) sembra essere incrementato negli ultimi anni (Phillips et al, 2003). Nella sua revisione, Phillips ha commentato un apparente aumento di incidenza e prevalenza nel tempo, ma senza analoghi cambiamenti nel tasso di mortalità, e ha proposto che queste tendenze siano dovute ad un miglioramento nella diagnosi e ad un cambiamento nella storia naturale della malattia, legati a trattamenti più avanzati.

Al contrario sono pochi gli studi condotti nella popolazione Italiana, e in Sardegna in particolare. Gli ultimi studi epidemiologici sulla MG sono stati pubblicati nel 1997 (Aiello et

al, 1997), quando si registravano valori di incidenza pari a 0,8 per 100.000/anno abitanti e una prevalenza di 11,1 per 100.000 abitanti nel 1994.

Scopo del presente studio è stato quello di aggiornare i dati di incidenza e prevalenza della MG nella popolazione delle province di Sassari e Olbia-Tempio per il periodo 1996-2010 ed eseguire un confronto con gli indici epidemiologici di miastenia rilevati in passato nella stessa area di studio.

Obiettivo ultimo di questa ricerca è pertanto la quantificazione della popolazione affetta da MG nel territorio sardo nel tentativo di fornire il quadro attuale del *'burden-of-disease'* e del comportamento clinico-epidemiologico della MG, quale possibile indicatore dell'azione di fattori di rischio per la malattia.

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 e 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 a 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, 336.632 abitanti, cioè il 20,1% della popolazione sarda (demolstat 2010) 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 a Est sul Mar Tirreno, confinando a Ovest con la provincia di Sassari e a Sud con quella di Nuoro. Conta complessivamente 26 comuni con una popolazione di 156.121, il 9,4% della popolazione sarda) (demolstat 2010), e si estende per 3.397 km², il 14,1% del territorio sardo. Dal punto di vista dell'assistenza sanitaria l'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 MG in tutta l'area di studio è l'Unità Operativa di Neurologia dell'Azienda Ospedaliero-Universitaria di Sassari. Parte dei pazienti inoltre viene diagnosticata e seguita presso la U.O. di Neurologia di Ozieri (ASL 1). La ASL 2 non ha un reparto di Neurologia ma un servizio ambulatoriale.

Dal 2000 il Distretto Sanitario di Sassari usufruisce di un sistema informatico dove le informazioni sulla salute dei cittadini vengono raccolte su *dataset* elettronici che includono schede di dimissione ospedaliera e codici di esenzione per patologia.

3.2 Definizione del caso

Anche per il presente lavoro, la diagnosi di MG si è basata essenzialmente su criteri clinici (debolezza muscolare e fatica in uno o più gruppi muscolari; debolezza muscolare aggravata dall'esercizio e alleviata dal riposo, una risposta significativa alla somministrazione di farmaci anticolinesterasici) supportati dai test elettrofisiologici e dalla ricerca degli anticorpi sierici specifici anti-AChR ed anti-MuSK.

I casi sono stati anche definiti attraverso il codice di dimissione ospedaliera ICD-9-CM 358 e attraverso il codice di esenzione per patologia 034. Tutti i dati clinici e strumentali sono stati esaminati e validati da collaboratori neurologi per confermare la diagnosi di MG. Le classificazioni di Osserman and Gerkins e la MGFA sono state utilizzate per definire la gravità dei casi di MG.

Il caso prevalente è stato qualsiasi soggetto con diagnosi di MG in accordo con criteri clinici ed elettrofisiologici, residente nella provincia di Sassari nel giorno di prevalenza 31 dicembre 2010.

Il *caso incidente* era rappresentato da qualsiasi soggetto con diagnosi di MG in accordo con i summenzionati criteri residente nella provincia di Sassari o Olbia-Tempio durante il periodo

1996-2010.

I dati relativi alla storia clinica dei pazienti con diagnosi di MG sono stati raccolti nel rispetto del D.L. del 30 giugno 2003, n. 196 “*Codice in materia di protezione dei dati personali*”, di cui al Capo III Art. 110 “*Trattamento per scopi statistici o scientifici - Ricerca medica, biomedica ed epidemiologica*”.

3.3 Fonti epidemiologiche

Numerose fonti epidemiologiche sono state utilizzate per l'accertamento diagnostico:

1. gli archivi (cartelle cliniche, registri) della U.O. di Neurologia della Azienda Ospedaliera Universitaria di Sassari
2. gli archivi della Divisione di Neurologia di Ozieri
3. archivi di laboratorio relativi al dosaggio degli anticorpi anti-AChR e -MuSk
4. archivi di laboratorio relativi ai referti dei test elettrofisiologici
5. flussi informativi relativi alle schede di dimissione ospedaliera per MG (SDO) ICD-9-CM (codice 358) ed esenzione ticket per MG (codice 034).

Al fine di raccogliere i dati in modo sistematico, è stata messa a punto una Scheda di Rilevazione Dati demografici, clinici ed epidemiologici. Data l'esigenza di dover utilizzare fonti multiple per la raccolta epidemiologica e di dover validare alcune

diagnosi, e per evitare l'inserimento di duplicati nella elaborazione statistica, è stato necessario raccogliere nella prima fase compilativa anche i dati identificativi del paziente, che sono stati successivamente codificati secondo un codice alfa-numerico. La decodificazione di tale *dataset* è stata eseguita dal Responsabile Scientifico dello studio che ne conserva il documento chiave. Il *dataset* elettronico sul quale è stata effettuata l'analisi statistica conta pertanto solamente il codice alfa-numerico, sesso ed età del paziente.

L'accertamento dei casi è stato eseguito per il periodo 1996-2010. La documentazione elettronica dei sistemi informativi sanitari è stata utilizzata a partire dall'anno 2000.

Il protocollo di studio è stato approvato dal Comitato di Bioetica della ASL 1 di Sassari (Prot. N. 993/CE, 19.01.2012).

3.4 Analisi Statistica

I dati provenienti da diverse fonti epidemiologiche sono stati inseriti in un singolo *dataset* e de-duplicati in base al sesso, cognome, nome, luogo e data di nascita, luogo di residenza e codice sociale se disponibili. Per gli stessi pazienti, informazioni cliniche disponibili da diverse fonti sono state confrontate e unite.

Il tasso di incidenza cruda media totale, per sesso e rispettivi intervalli di confidenza al 95% (IC95%) è stato calcolato per il periodo di incidenza 1996-2010, diviso in quinquenni, utilizzando il censimento del 2001 e la proiezione ISTAT 2010 come

denominatore. I tassi di incidenza totale e per sesso sono stati standardizzati con metodo diretto per la popolazione Italiana (proiezione ISTAT 2010).

Le stime di prevalenza cruda totale, per sesso e per fasce di età e relativi IC95% sono state calcolate al giorno 31 Dicembre 2010 utilizzando come denominatore la popolazione nelle province di Sassari e Olbia-Tempio secondo la proiezione ISTAT 2010. La stima standardizzata totale e per sesso è stata calcolata con metodo diretto per la popolazione Italiana (ISTAT 2010).

L'analisi descrittiva comprende il calcolo di medie, deviazioni standard e *t-test* per campioni indipendenti per variabili continue. Conte e percentuali sono state utilizzate per descrivere le variabili categoriali (sesso, classificazione per eziologia, attività, semiologia). Il test del chi-quadro è stato utilizzato per analizzare le differenze nella distribuzione di prevalenza per sesso e fasce di età. La significatività statistica è stata stabilita per $p < 0,05$, test a due code. SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*, versione 19.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) è stato utilizzato per l'analisi statistica.

4 RISULTATI

Durante il periodo di studio 1996-2010 sono stati identificati 323 pazienti con diagnosi definitiva di MG residenti nelle province di Sassari e Olbia-Tempio, 165 uomini e 158 donne con rapporto uomini:donne di 1,04. L'età media alla diagnosi era di 53 anni, 50 anni per le donne e 55 per gli uomini.

In 5 pazienti si è riscontrata un'anamnesi familiare positiva per MG, e pari al 1,5% del campione.

Il 20,2% del campione in oggetto presentava un'associazione con altre patologie autoimmuni, delle quali il distiroidismo rappresentava il 77,3% con preponderanza femminile.

Un paziente con sindrome miastenica è stato escluso, mentre non sono stati rilevati casi di Sindrome di Lambert-Eaton. Durante il periodo di studio (1996-2010) si sono verificati 4 decessi a carico dei pazienti registrati.

4.1 Prevalenza cruda e standardizzata

Al giorno di prevalenza 31 Dicembre 2010, 320 soggetti residenti nell'area di studio portavano una diagnosi di MG. L'età media (DS) alla prevalenza era di $58 \pm 3,9$ anni, 60 per gli uomini e 56 per le donne, senza differenze statisticamente significative tra i sessi ($p=0,059$) (figura 1).

La stima cruda della prevalenza totale era di 64,9 per 100.000

(IC95%:61,0-68,9): 62,6 (IC95%: 60,1-65,1) per le donne e 67,4 (IC95%: 64,2-70,5) per gli uomini con rapporto donne:uomini di 0,93.

La stima di prevalenza totale standardizzata per la popolazione Italiana secondo la proiezione 2010 dell'ISTAT è stata di 66,2 per 100.000, 63,2 nelle donne e 68,8 negli uomini (tabella 5).

Quattro pazienti, di sesso femminile, sono deceduti nel periodo in studio. L'insufficienza respiratoria è stata la causa di morte di due pazienti, la terza è deceduta per infarto miocardico acuto, mentre non è nota la causa del decesso per la quarta paziente.

4.2 Incidenza cruda e standardizzata

Nel periodo di incidenza 1996-2010 324 casi (161 donne e 163 uomini) ricevevano una diagnosi di MG. Il tasso annuale medio di incidenza cruda totale era di 4,60 (IC95%: 1,77-7,43) per 100.000: 4,48 per le donne (IC95%: 2,58-6,39) e 4,72 (IC95%: 2,48-6,95) per gli uomini (tabella 6).

Analizzando l'incidenza media annuale per il quinquennio 2001-05 in base al sesso ed alle fasce d'età, si evidenziano tre picchi di incidenza per le donne: nella terza, quinta e settima decade. Gli uomini mostrano, invece, la classica distribuzione bimodale in terza e settima decade (figura 2).

Lo studio del trend temporale dell'incidenza cruda media totale ha mostrato un costante aumento nei quinquenni considerati, da 2,56 (IC95%: 1,47-3,65) per 100.000/anno nel periodo 1996-

2000 a 4,77 (IC95%: 3,06-6,48) nel periodo 2001-2005, e a 5,44 (IC95%: 3,33-7,55) nel periodo 2006-2010 (figura 2, Tabella 7).

4.3 Dati clinici

In base alle differenze nella presentazione clinica, età d'esordio, profilo anticorpale, presenza o assenza di anomalie timiche, i nostri pazienti sono stati suddivisi in 6 sottogruppi: 1) miastenia oculare pura; 2) MG generalizzata ad esordio precoce; 3) MG generalizzata a esordio tardivo; 4) MG associata a timoma 5) MG con anticorpi anti-MuSK; 6) MG generalizzata sieronegativa.

Come illustrato in tabella 8, il 63% del campione in esame ha presentato all'esordio una forma oculare, 136 pazienti hanno presentato una MG a esordio precoce, mentre 183 pazienti una MG ad esordio tardivo. La massima positività agli anticorpi anti-AChR è stata riscontrata nelle forme generalizzate ed in quelle associate a timoma, mentre solo il 3,6% dei pazienti sottoposti a ricerca degli anticorpi anti-MuSK è risultato positivo. La proporzione di DSN è risultata essere molto alta, raggiungendo il 33% dei casi prevalenti. Nel 7,4% dei pazienti è stata riscontrata la presenza di timoma.

5 DISCUSSIONE

Lo scopo del presente studio è stato quello di aggiornare le stime di incidenza e prevalenza della MG nelle province di Sassari ed Olbia-Tempio, comparando i risultati ottenuti con l'unico studio condotto tra il 1982 e il 1994 nella stessa area, al fine di descrivere il comportamento epidemiologico della patologia nel tempo in questa popolazione.

Obiettivi ultimi sono stati inoltre sia quello di fornire indici utili alla programmazione delle risorse socio-sanitarie che quello di comprendere l'eziologia della malattia e formulare nuove ipotesi.

Nello studio precedente (Aiello et al, 1997) 30 pazienti (17 donne e 13 uomini) affetti da MG vennero identificati al giorno di prevalenza 31 Dicembre 1994. L'età media alla prevalenza fu di 44 anni in confronto ai 58 anni osservati nel nostro studio. Soprattutto l'età media alla prevalenza aumentava nelle donne da 39,8 anni nel 1994 a 56 nel 2010, e negli uomini da 50 a 60 anni. Un'altra differenza tra i due studi riguarda la proporzione di casi incidenti con età superiore ai 50 anni, del 33% nello studio di Aiello e coll., e del 57% nel presente studio, a preponderanza maschile. E' tuttavia necessario tenere conto che nel precedente studio il caso incidente era stato definito sulla base dell'esordio clinico di malattia e non sulla base della diagnosi come nel nostro lavoro. La stessa differenza metodologica può spiegare anche il diverso rapporto donne:uomini osservato tra i due studi (1,3 nel 1994 e 0,9 nel 2010).

Al 31 Dicembre 1994 la prevalenza cruda era di 11,1 per 100.000 abitanti. La presente stima, 64,9 per 100.000 abitanti, è la più alta riportata al 2010 e indica un evidente incremento della prevalenza nelle province di Sassari ed Olbia-Tempio, in linea con l'aumento della prevalenza nel tempo segnalato in altri studi. Un rilevante incremento si è osservato anche per quanto riguarda il tasso medio annuo di incidenza: 4,6 casi per 100.000 abitanti rispetto a 0,8 casi per 100.000 (0,9 per le donne e 0,6 per gli uomini) riportati in precedenza nella stessa area di studio.

L'analisi di distribuzione per sesso e per età mostra sia per gli uomini che per le donne un primo picco di incidenza tra i 20 e i 29 anni sovrapponibile a quanto segnalato in passato, mentre un nuovo picco di distribuzione è presente per le donne in quinta decade e per gli uomini il picco massimo si riscontra in settima decade. Questo dato potrebbe far presupporre una diversa esposizione a fattori ormonali o ambientali che agiscono in differenti periodi della vita.

I dati ottenuti con questo studio mostrano un costante incremento dell'incidenza nei quinquenni in presi in esame e se messi a confronto con la letteratura internazionale, risultano tra i più alti nel mondo occidentale (tabella 4). Anche il costante incremento del rischio in tempi brevi, sia per gli uomini che per le donne, suggerisce un cambiamento nella distribuzione dei fattori di rischio ambientali nella nostra popolazione.

Le spiegazioni possibili alla base di stime così elevate da noi riscontrate possono essere molteplici. In generale si può

affermare che i nostri dati siano attribuibili ad una maggiore consapevolezza della malattia da parte della popolazione generale e degli operatori sanitari, ad un miglioramento delle strategie terapeutiche, e quindi della prognosi, a un aumento generale della sopravvivenza e ai profondi mutamenti nella distribuzione della popolazione nella piramide dell'età. Sono migliorate inoltre le capacità diagnostiche nella nostra area di studio, tra cui la possibilità attuale di effettuare dosaggi anticorpali.

Altre possibili spiegazioni potrebbero essere rappresentate da una migliore affidabilità nell'accertamento dei casi o dall'utilizzo di fonti multiple su una popolazione non eccessivamente ampia.

Sebbene accuratamente selezionati in base a criteri clinici, test elettrofisiologici, risposta farmacologia e adeguato follow-up, una percentuale di DSN ben superiore a quella attesa è stata descritta. Il dato potrebbe essere ascrivibile ad una sovrastima nella diagnosi, verosimilmente dettata dal fatto che il gruppo suddetto ha ancora caratteristiche variabili e meno definite (Pallaver et al, 2011), ma potrebbe anche rappresentare una peculiarità della popolazione sarda che presenta particolari caratteristiche antropologiche e genetiche. Studi comparativi sulla frequenza allelica del sistema HLA hanno chiaramente dimostrato l'isolamento genetico dei Sardi rispetto ad altre popolazioni Europee e Italiane (Piazza et al, 1985; Olivetti et al, 1986). Rispetto alle altre popolazioni caucasiche il 25% degli aplotipi sono HLA-DR3 positivi (Marrosu et al, 1995), alleli

associati a MG (Kuks et al, 1992) che potrebbero spiegarne l'aumentata frequenza nel nostro territorio.

Un'altra peculiarità potrebbe essere rappresentata dalla bassa positività riscontrata per gli anticorpi anti-MuSK in contrasto con quanto rilevato nell'area mediterranea. E' noto che nel 10-15% dei pazienti con MG generalizzata sieronegativa, approssimativamente il 40-60% di questi sia positivo per anticorpi rivolti contro il MuSK con percentuali molto variabili tra le diverse regioni geografiche. Le più alte percentuali si riscontrano più vicino all'equatore e le più basse verso i poli e si presume che fattori genetici o ambientali, o entrambi, giochino un ruolo in queste differenze (Guptill e Sanders, 2010).

Sebbene la metodica per la ricerca degli anticorpi anti-MuSK sia disponibile nel nostro laboratorio solo dal 2005, rappresentando questa sottostima un possibile bias di accertamento, secondo quanto emerge dal nostro studio, è tuttavia possibile che la popolazione sarda sia un'eccezione a questo gradiente latitudinale.

6 CONCLUSIONI

E' noto che le malattie autoimmuni sono il risultato di una complessa interazione tra fattori genetici e ambientali, ma è sconosciuto il meccanismo che conduce alla perdita della tolleranza immunitaria.

Le stime di prevalenza della MG secondo la nostra ricerca, sono avvalorate da un effettivo aumento di incidenza nei due sessi, mostrano nella popolazione sarda un importante incremento temporale della malattia tanto da indicare la Sardegna un'area ad alto rischio.

Data la predisposizione genetica dei sardi a sviluppare malattie immuno-mediate e il possibile coinvolgimento dell'esposizione a fattori di rischio ambientale nella genesi della MG, dai risultati della nostra ricerca nasce l'esigenza di disegnare ulteriori studi epidemiologici di tipo analitico e genetico ad una popolazione più estesa.

BIBLIOGRAFIA

- Aiello I, Pastorino M, Sotgiu S, Pirastru MI, Sau GF, Sanna G, Rosati G. *Epidemiology of Myasthenia Gravis in Northwestern Sardinia*. Neuroepidemiology 1997;16:199-206.
- Aragonès JM, Bolívar I, Bonfill X, Bufill E, Mummany A, Alonso F, Illa I. *Myasthenia gravis: a higher than expected incidence in the elderly*. Neurology 2003;60:1024–6.
- Buckley C, Newsom-Davis J, Willcox N, Vincent A. *Do titin and cytokine antibodies in MG patients predict thymoma recurrence?* Neurology 2001;57:1579-82.
- Carr AS, Cardwell CR, O McCarron P, McConville J. *A systematic review of population based epidemiological studies in Myasthenia Gravis*. BMC Neurology 2010;10:46-54.
- Casetta I, Fallica E, Govoni V, Azzini C, Tola M, Granieri E. *Incidence of myasthenia gravis in the province of Ferrara. A community-based study*. Neuroepidemiology 2004;23:281-4.
- Casetta I, Groppo E, De Gennaro R, Cesnik E, Piccolo L, Volpato S, Granieri E. *Myasthenia gravis: a changing pattern of incidence*. J Neurol. 2010;257:2015-9.
- Christensen PB, Jensen TS, Tsiropoulos I, Sørensen T, Kjaer M, Højer-Pedersen E, Rasmussen MJ, Lehfeldt E, de Fine Olivarius B. *Incidence and prevalence of myasthenia gravis in western Denmark: 1975 to 1989*. Neurology 1993;43:1779-83.
- Christensen PB, Jensen TS, Tsiropoulos i, Sørensen T, Kjær M, Højer-Pedersen E, Rasmussen MJK, Lehfeldt E. *Mortality and survival in myasthenia gravis: a Danish population based study*. J Neurol Neurosurg Psychiatry 1998;64:78–83.
- Citterio A, Lombardi M, Verlesi S, Cosi V. *La prevalenza della miastenia gravis in provincia di Pavia*. Atti V Convegno Nazionale di Neuroepidemiologia. Pavia, 14-15/9/1987:157-9.
- Compston DA, Vincent A, Newsom-Davis J, Batchelor JR. *Clinical, pathological, HLA antigen and immunological evidence for disease heterogeneity in myasthenia gravis*. Brain 1980;103:579-601.
- Corda D, Deiana GA, Mulargia M, Pirastru MI, Serra M, Piluzza MG, Carcassi C, Sechi G. *Familial autoimmune MuSK positive myasthenia gravis*. J Neurol 2011. 258:1559-60.
- D'Alessandro R, Granieri E, Benassi G, Tola MR, Casmiro M, Mazzanti B, Gamberini G, Caniatti L. *Comparative study on the prevalence of Myasthenia Gravis in the province of Bologna and Ferrara, Italy*. Acta

Neurol Scand 1991;83:83-8.

Drachman D. Myasthenia gravis. In: Rose N, Mackay I, eds. *The autoimmune disease*. 3rd ed. San Diego: Academic Press, 1998:637-62.

Drachman DB. *Myasthenia gravis*. N Engl J Med 1994;330:1797-810.

Drachmann DB, De Silva S, Ramsay D, Petronk A. *Humoral pathogenesis of myasthenia gravis*. Ann NY Acad Sci 1987;505:90-105.

Evoli A, Batocchi AP, Zelano G, Uncini A, Palmisani MT, Tonali P. *Familial autoimmune myasthenia gravis: report of four families*. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 1995;58:729-31.

Ferrari G, Lovaste MG. *Epidemiology of Myasthenia gravis in the province of Trento (Northern Italy)*. Neuroepidemiology 1992;11:135-42.

Flachenecker P. *Epidemiology of neuroimmunological diseases*. J Neurol 2006;253(suppl 5):V2-8.

Giagheddu M, Puggioni G, Sanna G, Tamburini G, Marrosu F, Rachele MG, Murgia B, Rosati G. *Epidemiological study of myasthenia gravis in Sardinia, Italy (1958-1986)*. Acta Neurol Scand 1989;79:326-33.

Giraud M, Beaurain G, Yamamoto AM, Eymard B, Tranchant C, Gajdos P, Garchon HJ. *Linkage of HLA to myasthenia gravis and genetic heterogeneity depending on anti-titin antibodies*. Neurology 2001;57:1555-60.

Giraud M, Vandiedonck C, Garchon HJ. *Genetic factors in autoimmune myasthenia gravis*. Ann N Y Acad Sci. 2008;1132:180-92.

Golnik KC, Pena R, Lee AG, Eggenberger ER. *An ice test for the diagnosis of myasthenia gravis*. Ophthalmology 1999;106:1282-6.

Grob D, Brunner N, Namba T, Pagala M. *Lifetime course of myasthenia gravis*. Muscle Nerve 2008;37:141-9.

GROB D. *Course and management of myasthenia gravis*. J Am Med Assoc 1953;153:529-32.

Guidetti D, Sabadini R, Bondavalli M, Cavalletti S, Lodesani M, Mantegazza R & F, Cosi V. *Epidemiological study of myasthenia gravis in the province of Reggio Emilia, Italy*. Eur J Epidemiol 1998;14:381-7.

Guptill JT, Sanders DB. *Update on muscle-specific tyrosine kinase antibody positive myasthenia gravis*. Curr Opin Neurol 2010;23:530-5.

Heldal AT, Eide GE, Gilhus NE, Romi F. *Geographical distribution of a seropositive myasthenia gravis population*. Muscle Nerve 2012;45:815-9.

Heldal AT, Owe JF, Gilhus NE, Romi F. *Seropositive Myasthenia gravis: a nationwide epidemiologic study*. Neurology 2009;73:150-1.

Hoch WJ, McConville J, Helms S, Newsom-Davis J, Melms A, Vincent A. *Autoantibodies to the receptor tyrosine kinase MuSK in patients with myasthenia gravis without acetylcholine receptor antibodies*. *Nat Med* 2001;7:365-8.

Isbister CM, Mackenzie PJ, Anderson D, Wade NK, Oger J. *Co-occurrence of multiple sclerosis and myasthenia gravis in British Columbia: a population-based study*. *Neurology* 2002;58(Suppl 3):A185-A186 [Abstract].

ISTAT. Istituto Nazionale di Statistica. *Popolazione residente per sesso e classe di età. Provincia di Sassari. 2007*. Available at: <http://demo.istat.it/pop2007/index.html>. Accessed April 13, 2010.

Janer M, Cowland A, Picard J, Campbell D, Pontarotti P, Newsom-Davis J, Bunce M, Welsh K, Demaine A, Wilson AG, Willcox N. *A susceptibility region for myasthenia gravis extending into the HLA-class I sector telomeric to HLA-C*. *Hum Immunol* 1999;60:909-17.

Jaretzki A 3rd, Barohn RJ, Ernstoff RM, Kaminski HJ, Keeseey JC, Penn AS, Sanders DB. *Myasthenia gravis: recommendations for clinical research standards. Task force of the medical scientific advisory board of the myasthenia gravis foundation of America*. *Neurology* 2000;55:16-23.

Kadota Y, Okumura M, Miyoshi S, Kitagawa-Sakakida S, Inoue M, Shiono H, Maeda Y, Kinoshita T, Shirakura R, Matsuda H. *Altered T cell development in human thymoma is related to impairment of MHC class II transactivator expression induced by interferon-gamma (IFN-gamma)*. *Clin Exp Immunol* 2000;121:59-68.

Kuks JB, Lems SP, Oosterhuis HJ. *Hla type is not indicative for the effect of thymectomy in myasthenia gravis*. *J Neuroimmunol* 1992; 36:217-24.

Kurland LT, Alter M. *Current status of the epidemiology and genetics of myasthenia gravis*. In: Viets HR, ed. *Myasthenia Gravis*. Springfield Illinois: C Thomas Publisher 1961:307-36.

Kurtzke JF. *Epidemiology of myasthenia gravis*. *Adv Neurol* 1978;19:545-66.

Kyriallis K, Hristova A, Middleton L. *What is the real epidemiology of myasthenia gravis?* *Neurology* 1995;(suppl 4):A351.

Lang B, Vincent A. *Autoimmune disorders of the neuromuscular junction*. *Curr Opin Pharmacol* 2009. 9:336-40.

Lavrnić D, Jarebinski M, Rakocević-Stojanović V, Stević Z, Lavrnić S, Pavlović S, Trikić R, Tripković I, Nesković V, Apostolski S. *Epidemiological and clinical characteristics of myasthenia gravis in Belgrade, Yugoslavia (1983-1992)*. *Acta Neurol Scand* 1999;100:168-74.

Lavrnica D, Nikolic A, De Baets M, Verschuur J, Verduyn W, Losen M,

Stojanovic V, Stevic Z, Hajdukovic Lj, Apostolski S. *Familial autoimmune myasthenia gravis with different antibody specificity*. Neurology 2008;70:2011-3.

Leite MI, Jacob S, Viegas S, Cossins J, Clover L, Morgan BP, Beeson D, Willcox N, Vincent A. *IgG1 antibodies to acetylcholine receptors in 'seronegative' myasthenia gravis*. Brain 2008;131:1940-52.

Leite MI, Jones M, Ströbel P, Marx A, Gold R, Niks E, Verschuuren JJ, Berrih-Aknin S, Scaravilli F, Canelhas A, Morgan BP, Vincent A, Willcox N. *Myasthenia gravis thymus: complement vulnerability of epithelial and myoid cells, complement attack on them, and correlations with autoantibody status*. Am J Pathol 2007;171:893-905.

Leite MI, Ströbel P, Jones M, Micklem K, Moritz R, Gold R, Niks EH, Berrih-Aknin S, Scaravilli F, Canelhas A, Marx A, Newsom-Davis J, Willcox N, Vincent A. *Fewer thymic changes in MuSK antibody-positive than in MuSK antibody-negative MG*. Ann Neurol 2005;57:444-8.

Lennon VA, Lambert EH. *Myasthenia gravis induced by monoclonal antibodies to acetylcholine receptors*. Nature 1980;285:238-40.

Lindstrom JM, Seybold ME, Lennon VA, Whittingham S, Duane DD. *Antibody to acetylcholine receptor in myasthenia gravis. Prevalence, clinical correlates, and diagnostic value*. Neurology 1976;26:1054-9.

MacDonald BK, Sander WAS, Shorvom SD. *The incidence and lifetime prevalence of neurological disorders in a prospective community-based study in the UK*. Brain 2000;123:665-76.

Marrosu MG, Murru MR, Costa G, Vaccargiu S. *Polimorfismi del tumor necrosis factor alfa nella sclerosi multipla: studio di associazione con HLA di classe II in una popolazione sarda*. 6th National Congress of Neuroimmunology, National Society, Bergamo (Italy), 2-4/11/1995, abstract 76.

McConville J, Farrugia ME, Beeson D, Kishore U, Metcalfe R, Newsom-Davis J, Vincent A. *Detection and characterization of MuSK antibodies in seronegative myasthenia gravis*. Ann Neurol 2004;55:580-4.

McGrogan A, Sneddon S, De Vries C. *The incidence of Myasthenia Gravis: A systematic Literature review*. Neuroepidemiology 2010;34:171-83.

Meriggioli MN, Sanders DB. *Advances in the diagnosis of neuromuscular junction disorders*. Am J Phys Med Rehabil 2005;84:627-38.

Meriggioli MN, Sanders DB. *Autoimmune myasthenia gravis: emerging clinical and biological heterogeneity*. Lancet Neurol. 2009;8:475-90.

Meyer A, Levy Y. *Geoepidemiology of myasthenia gravis*. Autoimmun Rev 2010;9:A383-6.

Montomoli C, Citterio A, Piccolo G, Cioccale R, Ferretti VV, Fratti C, Bergamaschi R, Cosi VE. *Epidemiology and geographical variation of myasthenia gravis in the province of Pavia, Italy*. Neuroepidemiology 2012;38:100-5.

Mossman S, Vincent A, Newsom-Davis J. *Myasthenia gravis without acetylcholine-receptor antibody: a distinct disease entity*. Lancet 1986;1:116-9.

Niks EH, Kuks JB, Roep BO, Haasnoot GW, Verduijn W, Ballieux BE, De Baets MH, Vincent A, Verschuuren JJ. *Strong association of MuSK antibody-positive myasthenia gravis and HLA-DR14-DQ5*. Neurology 2006;66:1772-4.

Niks EH, Kuks JBM, Verschuuren JJGM. *Epidemiology of myasthenia gravis with anti-muscle specific kinase antibodies in the Netherlands*. J Neurol Neurosurg Psychiatry 2007;78:417-8.

Oh SJ, Kim DE, Kuruoglu R, Bradley RJ, Dwyer D. *Diagnostic sensitivity of the laboratory tests in myasthenia gravis*. Muscle Nerve 1992;15:720-4.

Olivetti E, Rendine S, Cappello N, Curtoni ES, Piazza A. *The HLA system in Italy*. Hum Hered. 1986;36:357-72.

Oopik M, Kaasik A E, Jakobsen J. *A population based epidemiological study on myasthenia gravis in Estonia*. J Neurol Neurosurg Psychiatry 2003;74:1638-43.

Ossermann KE, Genkins G. *Studies in myasthenia gravis: review of a 20-year experience in over 1200 patients*. Mount Sinai J Med 1971;38:497-537.

Pakzad Z, Aziz T, Oger J. *Increasing incidence of myasthenia gravis among elderly in British Columbia, Canada*. Neurology 2011;76:1526-8.

Pallaver F, Riviera AP, Piffer S, Ricciardi R, Roni R, Orrico D, Bonifati DM. *Change in Myasthenia Gravis Epidemiology in Trento, Italy, after Twenty Years*. Neuroepidemiology 2011;36:282-7.

Pascuzzi RM. *The edrophonium test*. Semin Neurol 2003;23:83-8.

Patrick J, Lindstrom J. *Autoimmune response to acetylcholine receptor*. Science 1973;180:871-2.

Phillips LH II. *The Epidemiology of Myasthenia Gravis*. Ann NY Acad Sci 2003;998:407-12.

Phillips LH, Torner JC, Anderson MS, Cox GM. *The Epidemiology of Myasthenia Gravis in Central and Western Virginia*. Neurology 1992;42:1888-93.

Phillips LH, Torner JC. *Epidemiologic evidence for a changing natural history of Myasthenia Gravis*. Neurology 1996;47:1233-8.

Phillips LH. *The Epidemiology of Myasthenia Gravis*. *Neurol Clin North Am* 1994;12:263-71.

Piazza A, Mayr WR, Contu L, Amoroso A, Borelli I, Curtoni ES, Marcello C, Moroni A, Olivetti E, Richiardi P, et al . *Genetic and population structure off our Sardinian villages*. *Ann Hum Genet* 1985;49:47-63.

Poulas K, Tsibri E, Kokla A, Papanastasiou D, Tsouloufis T, Marinou M, Tsantili P, Papapetropoulos T, Tzartos SJ. *Epidemiology of seropositive myasthenia gravis in Greece*. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2001;71:352-6.

Robertson NP, Deans J, Compston DAS. *Myasthenia gravis: a population based epidemiological study in Cambridgeshire, England*. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1998;65:492-6.

Romi F, Skeie GO, Gilhus NE, Aarli JA. *Striational antibodies in myasthenia gravis: reactivity and possible clinical significance*. *Arch Neurol* 2005;62:442-6.

Sanders DB, Howard JF Jr, Johns TR. *Single-fiber electromyography in myasthenia gravis*. *Neurology* 1979;29:68-76.

Sardu C, Cocco E, Mereu A, Massa R, Cuccu A, Marrosu MG, Contu P. *Population Based Study of 12 Autoimmune Diseases in Sardinia, Italy: Prevalence and Comorbidity*. *PLoS One* 2012; 7:e32487.

Scadding GK, Vincent A, Newsom-Davis J, Henry K. *Acetylcholine receptor antibody synthesis by thymic lymphocytes: correlation with thymic histology*. *Neurology* 1981;31:935-43.

Scarpino S, Di Napoli A, Stoppacciaro A, Antonelli M, Pillozzi E, Chiarle R, Palestro G, Marino M, Facciolo F, Rendina EA, Webster KE, Kinkel SA, Scott HS, Ruco L. *Expression of autoimmune regulator gene (AIRE) and T regulatory cells in human thymomas*. *Clin Exp Immunol* 2007;149:504-12.

Schluep M, Willcox N, Vincent A, Dhoot GK, Newsom-Davis J. *Acetylcholine receptors in human thymic myoid cells in situ: an immunohistological study*. *Ann Neurol* 1987;22:212-22.

Shigemoto K, Kubo S, Jie C, Hato N, Abe Y, Ueda N, Kobayashi N, Kameda K, Mominoki K, Miyazawa A, Ishigami A, Matsuda S, Maruyama N. *Myasthenia gravis experimentally induced with muscle-specific kinase*. *Ann N Y Acad Sci* 2008;1132:93-8.

Shiraishi H, Motomura M, Yoshimura T, Fukudome T, Fukuda T, Nakao Y, Tsujihata M, Vincent A, Eguchi K. *Acetylcholine receptors loss and postsynaptic damage in MuSK antibody-positive myasthenia gravis*. *Ann Neurol* 2005;57:289-93.

Simpson JA. *Myasthenia gravis: a new hypothesis*. *Scot Med J* 1960;5:419-36.

Somnier FE. *Increasing incidence of late-onset anti-AChR antibody-seropositive myasthenia gravis*. Neurology 2005;65:928–30.

Sorensen TT, Holm EB. *Myasthenia gravis in the County of Viborg, Denmark*. Eur Neurol 1989;29:177-9.

Storm-Mathiasen A. *Epidemiology of myasthenia gravis in Norway*. Acta Neurol Scand 1984;70:274-84.

Ströbel P, Rosenwald A, Beyersdorf N, Kerkau T, Elert O, Murumägi A, Sillanpää N, Peterson P, Hummel V, Rieckmann P, Burek C, Schalke B, Nix W, Kiefer R, Müller-Hermelink HK, Marx A. *Selective loss of regulatory T cells in thymomas*. Ann Neurol 2004;56:901-4.

Thanvi BR, Lo TC. *Update of myasthenia gravis*. Postgrad Med J 2004;80:690-700.

Thorlacius S, Aarli A, Riise T, Matre R, Johnsen HJ. *Associated disorders in myasthenia gravis: autoimmune diseases and their relation to thymectomy*. Acta Neurol Scand 1989;79:326-33.

Tola MR, Granieri E, Paolino E, Caniatti L, Quattrale R, Mazzanti B, D'Alessandro R. *Epidemiological study of myasthenia gravis in the province of Ferrara, Italy*. J Neurol 1989;236:388-90.

Toyka KV, Drachman DB, Griffin DE, Pestronk A, Winkelstein JA, Fishbeck KH, Kao I. *Myasthenia gravis. Study of humoral immune mechanisms by passive transfer to mice*. N Engl J Med 1977;296:125-31.

Tzartos SJ, Seybold ME, Lindstrom JM. *Specificities of antibodies to acetylcholine receptors in sera from myasthenia gravis patients measured by monoclonal antibodies*. Proc Natl Acad Sci U S A 1982;79:188-92.

Vincent A, Palace J, Hilton-Jones D. *Myasthenia gravis*. Lancet 2001;30;357:2122-8.

Vincent A, Wood H. *Antibody specificity in myasthenia gravis*. Monogr Allergy 1988; 25:33-40.

Vincent A. *Autoimmune disorders of the neuromuscular junction*. Neurol India 2008; 56:305-13.

Vincent A, Newsom-Davis J. *Acetylcholine receptor antibody as a diagnostic test for myasthenia gravis: results in 153 validated cases and 2967 diagnostic assays*. J Neurol Neurosurg Psychiatry 1985;48:1246-52.

Wirtz PW, Nijhuis MG, Sotodeh M, Willems LN, Brahim JJ, Putter H, Wintzen AR, Verschuuren JJ. Dutch Myasthenia Study Group. *The epidemiology of myasthenia gravis, Lambert-Eaton myasthenic syndrome and their associated tumours in the northern part of the province of South Holland*. J Neurol 2003;250:698–701.

TABELLE

Tabella 1. Classificazione di Osseman e Genkins (Osseman e Genkins, 1971)

Classe I	Miastenia oculare
Classe IIA	Miastenia generalizzata con lenta progressione, responsiva alle terapie
Classe IIB	Miastenia generalizzata moderatamente severa: coinvolgimento bulbare ma non crisi, risposta ai farmaci non soddisfacente
Classe IV	Miastenia acuta fulminante a rapida progressione di sintomi severi con crisi respiratorie e scarsa risposta alle terapie
Classe V	Miastenia tardiva grave come la III ma con progressione dalle classi I e II in due anni

Tabella 2. Classificazione della MGFA (Jaretzki et al, 2000)

Classe I	MG oculare
Classe II	Miastenia generalizzata di grado lieve: IIA: con interessamento prevalente della muscolatura degli arti IIB: con interessamento degli arti e prevalente compromissione della muscolatura bulbare-respiratoria
Classe III	Miastenia generalizzata di grado moderato: IIIA: con interessamento prevalente della muscolatura degli arti IIIB: con interessamento degli arti e prevalente compromissione della muscolatura bulbare-respiratoria
Classe IV	Miastenia generalizzata grave: IVA: con interessamento prevalente della muscolatura degli arti IVB: con interessamento degli arti e prevalente compromissione della muscolatura bulbare
Classe V	Definita dalla necessità di intubazione, con o senza ventilazione assistita, ad eccezione di quando utilizzata durante il periodo di routine post-operatorio

Tabella 3. Prevalenza della MG (per 100.000) in Europa e nell'America Settentrionale dal 1980

Area	Anno	Definizione di caso	Prevalenza	Bibliografia
Norvegia	1980	Non specificato	9,0	Storm-Mathisen et al, 1984
Sardegna, Italia	1981	CC, CE	3,1	Giagheddu et al, 1989
Virginia, USA	1984	CC, CE, Lab	14,2	Phillips et al, 1992
Norvegia Occidentale	1984	Non specificato	9,6	Thorlacius et al, 1989
Sardegna, Italia	1986	CC, CE	4,5	Giagheddu et al, 1989
Viborg, Danimarca	1987	Non specificato	12,5	Sorensen e Holm, 1989
Danimarca	1987	CC	7,7	Somnier et al, 1991
Bologna, Italia	1987	CC, CE	7,2	D'Alessandro et al, 1991
Ferrara, Italia	1987	CC, CE, Lab	10,5	Tola et al, 1989
Danimarca Occidentale	1990	ICD-8 codice 733.0	7,8	Christensen et al, 1993
Trento, Italia	1990	CC, CE, Lab	8,2	Ferrari e Lovase, 1992
Sardegna Nord-Occidentale, Italia	1994	CC, CE, Lab	11,1	Aiello et al, 1997
Cipro	1994	Non specificato	7,5	Kyriallis et al, 1995
British Columbia, Canada	Non noto	Non specificato	20,4	Isbister et al, 2002
Trento, Italia	2009	CC, CE, Lab	12,9	Pallaver et al, 2011
Pavia, Italia	2008	CC, CE, Lab	24,0	Montomoli et al, 2012
Cagliari, Italia	2009	Non specificato	35,0	Sardu et al, 2012

CC = criteri clinici; CE = criteri elettrofisiologici; Lab = criteri laboratoristici

Tabella 4. Incidenza media annuale della MG (per 100.000) nel mondo

Area	Intervallo di incidenza	Definizione di caso	Incidenza media	Bibliografia
Norvegia	1951-1981	Non specificato	0,4	Storm-Mathisen et al, 1984
Sardegna, Italia	1958-1986	CC, CE	0,2	Giagheddu et al, 1989
Virginia, USA	1970-1984	CC, CE, Lab	0,9	Phillips et al, 1992
Estonia	1970-1996	CC	0,4	Oopik et al, 2003
Viborg, Danimarca	1987	Non specificato	1,4	Sorensen e Holm, 1989
Danimarca Occidentale	1975-1989	ICD-8 codice 733.0	0,5	Christensen et al, 1993
Reggio Emilia, Italia	1980-1994	CC, CE, Lab	0,7	Guidetti et al, 1998
Trento, Italia	1981-1990	CC, CE, Lab	0,7	Ferrari e Lovaste, 1992
Danimarca	1987	CC	0,4	Somnier et al, 1991
Sardegna Nord-Occidentale, Italia	1981-1994	CC, CE, Lab	0,8	Aiello et al, 1997
Grecia	1983-1997	CC, CE, Lab	0,7	Poulas et al, 2001
British Columbia, Canada	1984-2008	Non specificato	1,3	Pakzad et al, 2011
Ferrara, Italia	1985-2000	CC, CE	2,1	Casetta et al, 2004
Belgrado, ex Rep. della Jugoslavia	1990-1997	CC, CE, Lab	0,7	Lavrnic et al, 1999
Paesi Bassi	1990-1999	CC, CE, Lab	0,6	Wirtz et al, 2003
Cambridgeshire, Regno Unito	1992-1997	CC, CE, Lab	1,1	Robertson et al, 1998
Cipro	1994	Non specificato	1,5	Kyriallis et al, 1995
London area, Regno Unito	1995-1996	Non specificato	3	McDonald et al, 2000
Ferrara, Italia	1985-2007	CC, CE, Lab	2,4	Casetta et al, 2010
Trento, Italia	2005-2009	CC, CE, Lab	1,4	Pallaver et al, 2011

CC = criteri clinici; CE = criteri elettrofisiologici; Lab = criteri laboratoristici

Tabella 5. Prevalenza cruda (per 100.000) di MG nella Sardegna Settentrionale per sesso e fasce d'età (31 Dicembre 2010)

Età (anni)	Uomini	Donne	Totale
0-9	0,0	0,0	0,0
10-19	4,3	4,6	4,4
20-29	27,4	32,2	29,7
30-39	35,3	56,4	45,8
40-49	46,9	54	50,5
50-59	93,1	103,6	98,4
60-69	97,6	78	87,5
70+	233,7	119,3	167
Totale 95%IC	67,4 (64,2-70,5)	62,6 (60,1-65,1)	64,9 (61,0-68,9)
Stima standardizzata per la popolazione italiana (ISTAT 2010)	68,8	63,2	66,2

Tabella 6. Incidenza media annua (per 100.000) di MG nella Sardegna Settentrionale

Età (anni)	Uomini	Donne	Totale
0-9	0,00	0,00	0,00
10-19	0,81	0,58	0,70
20-29	3,10	4,73	3,90
30-39	3,28	4,35	3,81
40-49	3,72	5,35	4,54
50-59	7,02	4,75	5,87
60-69	8,68	7,16	7,88
70+	11,90	6,40	8,68
Totale 95%IC	4,72 (2,48-6,95)	4,48 (2,58-6,39)	4,60 (1,77-7,43)

Tabella 7. Analisi del trend temporale dell'incidenza annuale media (per 100.000) nel periodo 1996-2010

Età (anni)	Uomini	Donne	Totale
1996-2000	2,61	2,51	2,56
2001-2005	4,55	4,98	4,77
2006-2010	6,12	4,78	5,44
1996-2010	4,72	4,48	4,60

Tabella 8. Caratteristiche cliniche e di laboratorio della casistica di pazienti affetti da MG, province di Sassari e Olbia-Tempio

	MG oculare	MG ad esordio precoce	MG ad esordio tardivo	MG generalizzata sieronegativa	MG con timoma	MuSK positività
Numero (%)*	175 (63,0%)	136 (43,0%)	183 (57,0%)	27 (33,0%)	19 (7,4%)	9 (3,6%)
Età media all'esordio (anni)	54	35	66	50	43	48
D:U**	0,6	1,3	0,7	0,6	1,1	8,0
Numero casi Anti-AChR positivi (%)***	71 (41,0%)	57 (60,0%)	100 (73,5%)	-	13 (76,5%)	0

* % sull'intera casistica; ** rapporto donne:uomini; ***per sottogruppo

FIGURE

Figura 1. Et  media dei pazienti con MG nell'area di studio e al giorno di prevalenza 31 Dicembre 2010.

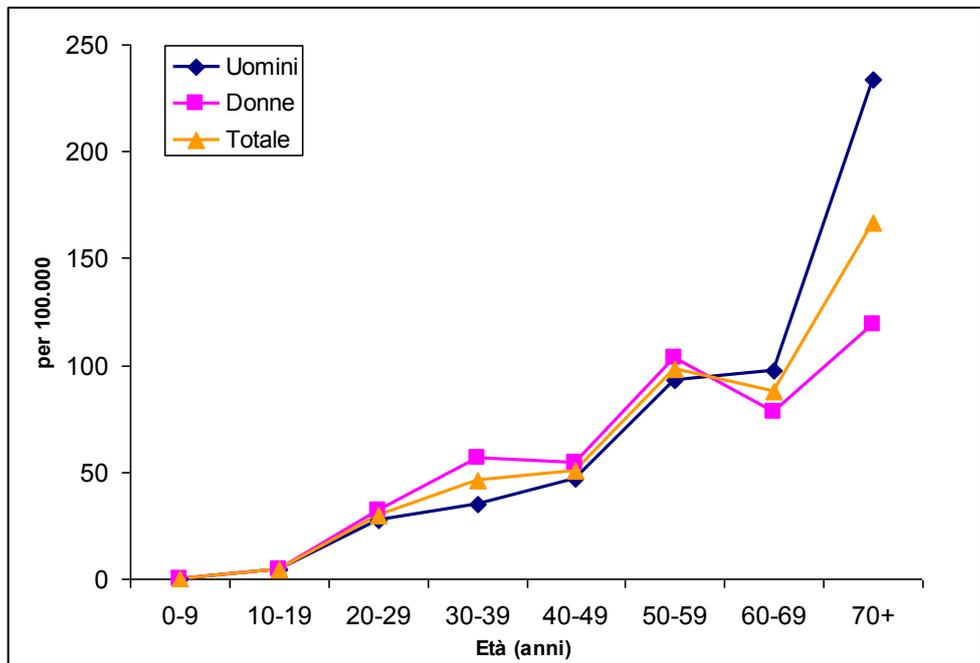


Figura 2. Trend temporale dell'incidenza annuale media (per 100.000) nell'area di studio e nel periodo 1996-2010

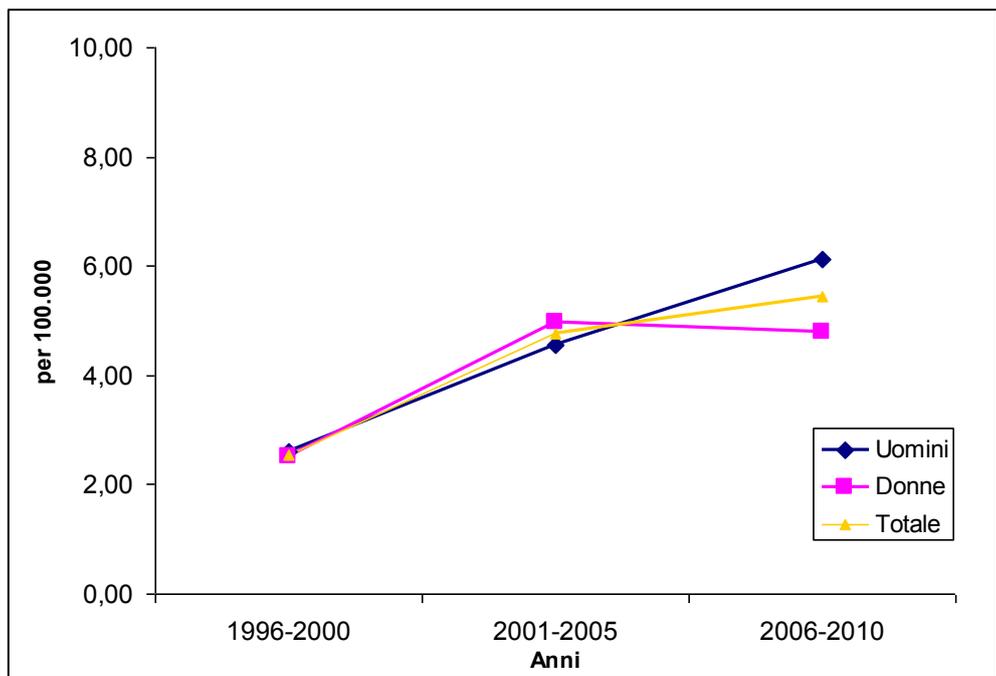


Figura 3. Trend dell'incidenza annuale media (per 100,000) per sesso ed età nel quinquennio 2001-2005

