A nonna Nicolina,

che ora è libera.

INDICE

RIASSUNTO……5

I. PREMESSA……..6

a. Motivazione personale…….6

b. Razionale……..8

II. SCLEROSI LATERALE AMIOTROFICA: STATO DELL'ARTE……..10

a. Introduzione…….....10

b. Epidemiologia e genetica molecolare…….....10

c. Non solo corteccia motoria…….....14

d. Fisiopatologia…….....15

e. Dying-back vs dying-forward hypotheses……..18

f. Fenotipi clinici e prognosi……19

g. Il percorso diagnostico-terapeutico-assistenziale.....21

III. RUOLO PATOGENETICO DEI FATTORI AMBIENTALI…….....31

a. Cianotossine……..31

b. Campi elettromagnetici……32

c. Attività sportiva…….33

d. Metalli…….....35

e. Pesticidi……..…36

IV. OBIETTIVO DELLO STUDIO……39

V. MATERIALI E METODI……...40

VI. RISULTATI…….....42

VII. DISCUSSIONE……55

a. Critica dei risultati……55

b. Punti di forza e limiti……..67

VIII. CONCLUSIONI…….....70

RINGRAZIAMENTI…….....71

REFERENZE……..…73

RIASSUNTO

Attraverso l'interrogazione dei flussi amministrativi e sanitari della Regione Marche nel periodo 2013-2019, è stato condotto uno studio osservazionale di tipo ecologico sull'epidemiologia della SLA. Nel periodo di riferimento si è rilevata un'incidenza di malattia nella Regione statisticamente superiore a quella delle altre Regioni italiane, nelle quali l'epidemiologia della SLA sia stata indagata. Non è stato osservato alcun andamento particolare nel periodo studiato, né in tutta la popolazione né nell'analisi condotta per generi separati. Le Marche sono una Regione caratterizzata da intensa attività industriale (+10% rispetto alla media italiana nel 2020), in cui il settore calzaturiero fa da padrone. Fondamentale per l'economia è anche il settore agricolo. Anche se in letteratura è noto il legame tra SLA e solventi industriali, manifattura del cuoio e specifiche linee di fitosanitari, il disegno ecologico di questo studio non offre risultati in termini di correlazione statistica, il cui territorio di indagine è dominato dall'epidemiologia analitica. I punti di forza di questo lavoro, a mio avviso, cadono sulla novità dell'analisi epidemiologica sul suolo marchigiano; non mi risulta noto, ad oggi, uno studio in letteratura che abbia indagato l'incidenza di SLA nella Regione Marche su un periodo così lungo. L'algoritmo di identificazione dei casi incidenti inoltre è risultato piuttosto accurato. Tra i limiti sottolineo il disegno ecologico di questo studio, che non offre la possibilità di ipotesi di correlazione, l'incoerenza sul piano temporale con gli altri studi epidemiologici svolti nel resto d'Italia in ambito SLA, e la mancanza di dati importanti circa i pazienti e la salute ambientale. Un importante fattore limitante è stata quindi l'impossibilità di accedere ad alcune informazioni. Ripetere gli studi epidemiologici sulla SLA nelle altre Regioni italiane, utilizzando la nostra metodologia, rinforzerebbe eventuali confronti biostatistici. Coordinandosi con i servizi di protezione ambientale come l'ARPA o l'ISPRA, e quelli di igiene e sanità pubblica, si può avere fiducia nell'illuminare quello che, al momento, in letteratura è ancora ombroso. Il legame tra ambiente e SLA è suggestivo quanto controverso, e giudicarlo spetta all'epidemiologia analitica. Arrivare alla scoperta di agenti eziologici precisi significa poter fare prevenzione: sarebbe la vittoria definitiva della medicina.

I. PREMESSA

"Let us keep looking, in spite of everything. Let us keep searching. It is indeed the best method for finding, and perhaps, thanks to our efforts, the verdict we will give this patient tomorrow will not be the same as we must give him today."

J-M. Charcot, "The Tuesday Lessons", 1887.

a. Motivazione personale

Il bene provato per una persona sa essere una motivazione potente. Quando il medico comunica una sentenza di morte, gli scenari che si aprono ai pazienti e ai familiari sono molteplici: la negazione, lo struggimento, la disgregazione; chi si incolpa e chi si affligge, chi si dà da fare, chi in modo ossessivo pretende risposte. Fa male vedere come la Sclerosi Laterale Amiotrofica (SLA) divori una persona, ne prosciughi il soffio vitale. È un lungo, estenuante combattimento che porta il guerriero a stancarsi. Forse vederla così fa meno male. Ci si stanca talmente tanto che si finisce a letto, con una fatica talmente grande da togliere il fiato. La SLA, nosologia a parte, è una malattia che colpisce l'intera famiglia. Il declino inesorabile delle funzionalità della Persona malata è un teatro drammatico a cui si è obbligati ad assistere: chi soffre di SLA perde inevitabilmente di autonomia e va accompagnato a morire, nel modo più dolce possibile. E ai più piccoli, come glielo spieghi? Anche quello è un passo da fare, molto duro.

Era da qualche giorno che nonna Nicolina non stava bene. Cadeva un Sabato di metà Dicembre, e lei era sempre più stanca, sconsolata, ma mai trascurata. Sapeva come sempre di talco, e sono piuttosto sicuro portasse la sua vestaglia di pile, morbidissima, blu di Persia. Non aveva mai davvero capito la sua malattia, e nella sua ingenuità sperava ancora di tornare a camminare. Me lo diceva tenendomi per mano, parlando al telefono che teneva goffamente appoggiato alla spalla, rotta da un pianto che non potevo fare altro che cercare di consolare, nella mia povera consapevolezza di un bambino appena 10enne. Più o meno qualcosa "sapevo" del suo destino, ma finché non si tocca con mano la prima morte importante, il lutto è un fenomeno remoto, virtuale, da film o romanzo.

Nonno G. (Nonno paterno) mi passò a prendere il Lunedì dopo, portandomi a pranzo da lui.

Il clima qualcosa tradiva: umido come in ogni paesino costiero, uggioso, plumbeo come del resto anche i colori del mio sesto senso, di solito un po' scricchiolante ma che quel giorno qualcosa mi bisbigliava. Del resto, ce la vedete una buona novella proclamata a gran voce sotto un melodrammatico nembostrato? Con lo stomaco pieno come ogni volta che si mangia dai nonni, un po' sonnolento e barcollante tornavo a casa con Papà.

La domanda si rese necessaria:

"Come sta Nonna?"

E Papà ci ha provato a guadagnare tempo, e posso solo immaginare quanto sia stato energivoro e logorante quel tragitto, interminabili quei metri, eterni quei secondi, che allontanavano di infinitesimi la domanda dalla risposta che andava data.

"Fede, Nonna non c'è più"

E in quel momento non potei reagire in un modo diverso da un sorriso isterico, inquietante, malinconico, di cui tutt'ora provo senso di colpa. Un sorriso animato da interrogativi, negazioni, incredulità, desiderio di vendetta verso La Malattia.

Quel giorno mi promisi che una soluzione andava trovata.

b. Razionale

A eccezione di alcune supposizioni, l'eziopatogenesi della SLA rimane, al 2022, ancora un mistero. Come verrà approfondito di seguito, allo stato dell'arte non si è in grado di spiegare chiaramente né la SLA sporadica né molte delle forme familiari di SLA.

L'intenzione dello studio, dopo aver studiato l'epidemiologia della SLA nelle Marche, è descriverne il contesto ambientale e sociale, lasciando ulteriori spunti sui quali indagare in maniera analitica.

L'osservazione che ha condotto a produrre questo studio nasce a partire da un documento redatto dall'Istituto Superiore di Sanità (ISS) (Uccelli et al., 2006), nel quale gli Autori hanno rilevato 16 *cluster* con aumentato rischio relativo (RR, p <0,05) di malattia. Va notato che 12 di questi sono costituiti da un unico Comune, quindi la loro interpretazione epidemiologica non è banale. Il cluster più vasto (RR=2,24; p=0,003), che si estende per 28 Comuni, ha come centroide Briga Novarese (NO). Questo sito si trova a sud del lago d'Orta e del lago Maggiore e si estende oltre il confine lombardo.

In campioni di fauna ittica analizzati nel 1996 nel lago Maggiore dal Laboratorio Cantonale di Lugano sono state rilevate concentrazioni allarmanti di Dicloro-Difenil-Tricloroetano (DDT), specie nei pesci più grassi più proni al bioaccumulo di sostanze lipofile. Nel 1997, a seguito di questa segnalazione, lo stabilimento chimico di Pieve Vergonte (ora Tessenderlo Italia Srl) vide la chiusura della linea produttiva del cloralio, intermedio per la sintesi del DDT. Secondo l'analisi condotta sui pesci ivi residenti, il 100% dei campioni di agone (*Alosa agone*) e lavarello (*Coregonus lavaretus*) sono risultati fuori il limite massimo, con un picco di 3,08 mg [DDT]/kg ("*Maggiore, Contaminanti nell'Ecosistema Lago «Commissione internazionale per la protezione delle acque italo-svizzere.» (2002).*, s.d.). Nei coregonidi (*C. lavaretus* e *oxyrinchus*), che negli ultimi decenni hanno costituito oltre l'85% del pescato commerciale nel Lago Maggiore, le concentrazioni medie di DDT totale sono risultate rispettivamente pari a 131 e 146 µg/kg, e risultate oltre il limite nel 100% e 96% dei campioni esaminati. Tuttavia, nonostante l'apparente ovvietà della relazione bioaccumulo-massa grassa, la correlazione statistica in relazione a età, peso o lunghezza dei soggetti analizzati non è risultata essere statisticamente significativa, in aperto contrasto con i dati riportati in letteratura. Ciononostante, gli stessi Autori asseriscono che le misure precauzionali di

intercalibrazione dei vari laboratori, coordinate dal Dipartimento di Biologia dell'Università degli Studi di Milano e dal Laboratorio Cantonese di Lugano, renderebbero le misurazioni sufficientemente affidabili.

Il DDT, che ha solo un valore ormai storico di insetticida, è un composto altamente idrofobo (solubilità in acqua 0,025 mg/L, in benzene 78g/L (*DDT, DDE, DDD | Toxicological Profile | ATSDR*, s.d.) (PubChem, s.d.-b)), come testimoniato dalla bassa concentrazione nelle acque libere (al di sotto dei limiti di detezione, dell'ordine dei ng/L), al punto che le acque lacustri risultano sicure nella balneazione (in virtù della scarsa assorbibilità cutanea del DDT e nei limiti di sporadiche ingestioni involontarie) e potabili, specie a valle delle stazioni di idropotabilizzazione che abbattono ulteriormente le concentrazioni ("*Maggiore, Contaminanti nell'Ecosistema Lago" «Commissione internazionale per la protezione delle acque italo-svizzere.» (2002).*, s.d.).

Quello del DDT, o in maniera più estensiva, dei cosiddetti "composti organoclorurati", è uno dei pochi esempi per i quali appare suggestiva la relazione tra SLA ed esposizione cronica; si accodano anche le relazioni individuate tra SLA e i veterani della guerra del Golfo (Coffman et al., 2005; Haley, 2003; Horner et al., 2003, 2008; Medicine, 2006), o alcune occupazioni, come i conciatori di pelli (Hawkes & Fox, 1981). Alla trattazione di questi aspetti sarà data maggior dignità a seguito. Riassumendo, è noto alla letteratura un rapporto tra la malattia e fattori ambientali, ma pochi hanno prodotto dati volti a spiegare l'ambiente geografico in sé come fattore di rischio.

Ciò che si vuole maggiormente stressare è la possibilità che la geografia agisca da catalizzatore tra *predisposizione* e *insulti esterni*, attraverso la biomagnificazione nella catena alimentare o attraverso l'accumulo di sostanze nel suolo, grazie a fattori mobilizzanti, come i bacini idrografici, le precipitazioni o i vènti. Insomma, di come l'ecologia dia il suo contributo.

II. SCLEROSI LATERALE AMIOTROFICA: STATO DELL'ARTE

a. *Introduzione*

La Sclerosi Laterale Amiotrofica (SLA, *ALS* nelle sigle anglofone) fu descritta per la prima volta da J. M. Charcot nel 1874 (Charcot, 1874), e nonostante la storia più che secolare, il percorso clinico di chi ne è affetto appare invariato da quel tempo. Il termine "SLA" è utilizzato in modo disambiguo, talora in modo estensivo in riferimento alle malattie del motoneurone (MMN, *MND* nelle sigle anglofone), oppure in modo più corretto titola una categoria nosologica a sé stante. I tre termini della sigla SLA descrivono in modo tautologico le caratteristiche principali della malattia: "amiotrofica" fa riferimento all'atrofia muscolare, che si accompagna a deficit stenici, crampi e fascicolazioni, segno di danno al secondo motoneurone (*lower motor neuron, LMN*); "sclerosi laterale" racconta la tipica tenacia e durezza alla palpazione delle colonne laterali del midollo spinale sul cadavere, caratteristica dovuta alla gliosi secondaria alla degenerazione del tratto corticospinale (*upper motor neuron, UMN*) (Rowland & Shneider, 2001). L'ICD-11 descrive la SLA come una patologia progressiva e fatale, in cui sono oggettivabili segni di degenerazione di LMN e UMN in uno o più distretti tra bulbare, cervicale, toracico e lombosacrale. Studi elettrofisiologici possono essere eseguiti, per escludere o confermare, i caratteristici segni di denervazione guidando la diagnosi. A supporto, come criterio di esclusione di diagnosi alternative, può essere di aiuto anche il neuroimaging (*ICD-11 for Mortality and Morbidity Statistics*, s.d.).

b. *Epidemiologia e genetica molecolare*

La sopravvivenza mediana dei malati di SLA è di circa 2,7 anni dall'esordio dei sintomi, di 1,6 anni dalla diagnosi, con una sopravvivenza a 5 anni di circa il 7%. Sesso femminile e età avanzata rendono la prognosi più severa (Del Aguila et al., 2003). L'incidenza media calcolata in Europa è di circa 2:100.000 (Chiò et al., 2013)·(Logroscino et al., 2010), con un range che va da 0.5/100.000/anno nella popolazione serba (Alcaz et al., 1996), a 3.6:100.000/anno nelle Isole Faroe (Joensen, 2012). Diversi studi epidemiologici condotti in Italia (Bandettini di Poggio et al., 2013;

Beghi et al., 2007; Chiò et al., 2017b; Drigo et al., 2013; Gianferrari et al., 2022; Logroscino et al., 2005; Pugliatti et al., 2013; Ragonese et al., 2012) mostrano una indiscussa variabilità interregionale in termini di incidenza annua. Un riassunto dei principali studi è illustrato in Tabella 1 alla pagina seguente.

Il picco di età all'esordio è di 58-63 anni per la forma sporadica (sALS), mentre anticipa a 47-52 anni la forma familiare (fALS) (Logroscino et al., 2010). Nel 90-95% dei casi, la SLA si manifesta in modo (apparentemente, *NdR*) sporadico, e la restante percentuale in modo familiare. A oggi, almeno 40 sono i geni associati alla SLA(Peters et al., 2015), di cui i principali sono SOD1, TARDBP, FUS, OPTN, VCP, UBQLN2, C9ORF72 e PFN1, i quali vengono attualmente evidenziati in circa il 60-70% delle fALS e nel 10% circa delle forme apparentemente sporadiche (Nguyen et al., 2018). Di questi, i principali attori riconosciuti sono le mutazioni missenso di SOD1 (Rosen et al., 1993), (Nguyen et al., 2018) e C9ORF72 (Majounie et al., 2012), quest'ultimo sotto forma di espansione di esanucleotidi (GGGGCC) (DeJesus-Hernandez et al., 2011). In quest'ultima forma, le espansioni nucleotidiche (da 700 a 1600 ripetizioni nella SLA, 2-23 nei controlli sani (DeJesus-Hernandez et al., 2011)) ricordano quanto avviene nella Huntington con la tripletta CAG (The Huntington's Disease Collaborative Research Group, 1993); l'espansione di triplette sembrerebbe responsabile del fenomeno dell'anticipazione tra una generazione e la successiva (Ranen et al., 1995), (Byrne et al., 2012), e secondo recenti evidenze questo si verificherebbe anche in pazienti con fALS nelle forme associate a C9ORF72 (Van Mossevelde et al., 2017). Lo stesso gene sembrerebbe implicato anche in parkinsonismi (in particolare con fenotipi rigido-bradicinetici) (O'Dowd et al., 2012), con alcune coorti di Parkinson (Lesage et al., 2013), e con fenocopie della malattia di Huntington (Hensman Moss et al., 2014).

Le mutazioni patogeniche di SOD1 sono state ritenute per anni le uniche responsabili delle forme familiari, ma in alcune famiglie le sole mutazioni di SOD1 non fornivano sufficienti spiegazioni alle modalità con le quali la segregazione della malattia si distribuiva, visto il fatto che alcuni soggetti *carrier* delle mutazioni non presentavano malattia, o al contrario i malati (di parenti malati *carrier* di SOD1 mutata, NdR) non presentavano una SOD1 mutata (Felbecker et al., 2010).

Autori, data	Registro o Regione o Provincia o Database	Popolazione n° abitanti	Periodo	Incidenza (cruda/ standardizzata) /100,000 anni persona	CI 95% (cruda/ standardizzata)	Casi incidenti	Età media all'esordio (*p*-value) [SD]	M:F (periodo)
Pugliatti et al., 2013	Sardegna	**ND**	1995-2009	**2.5** (cruda)	**0.1-4.9**	195	61.7 [11.7]	2.07
Chiò et al., 2017	Piemonte and Valle d'Aosta Register for ALS	4,476931	1995-2014	**3.3** (cruda) **2.78** (stand.)	**2.85-3.23** (cruda) **2.57-2.96** (stand.)	2702	65.7 [11.1]	1.27 (1995-2004) 1.17 (2005-2014)
Logroscino et al., 2005	Puglia	4,086,613	1998-1999	**1.6** (cruda) **1.7** (stand. popol. It. 2001)	**1.3-1.9** (cruda) **1.4-2.0** (stand.)	130	64.6	1.6
Beghi et al., 2007	Lombardia (7 province)	4,947,554	1998-2002	**2.09** (stand.)	**1.17-3.18**	517	63.6	1.3
Drigo et al., 2013	Friuli-Venezia-Giulia	1,206,496	2002-2009	**2.72** (cruda) **2.46** (stand. popol. It. 2005) **2.38** (stand. popol. It. 2001)	**2.39-3.05** (cruda) **2.22-2.70** (stand. 2005) **2.13-2.63** (stand. 2001)	262	**ND**	1.08
Ragonese et al., 2013	Sicilia	3,465,740	2005-2006	**1.40** (cruda)	**1.33-1.47**	97	58.3 [14.6]	1.4
Bandettini et al., 2013	Liguria	1,615,064	2009-2010	**3.22** (cruda) **2.51** (stand.)	**2.66-3.90** (cruda) **1.8-13.21** (stand.)	104	69.8	1.34
Gianferrari et al., 2022	Emilia-Romagna	**ND**	2009-2019	**3.30** (cruda) **3.13** (stand. popol. It. 2011)	**3.14-3.47**	1613	67.01 (0.009) [11.44]	1.21

Tabella 11. Riassunto dei principali studi epidemiologici condotti per distretto amministrativo in Italia, in ordine cronologico di periodo. SD = deviazione standard; M:F = rapporto maschi : femmine; NA = [dato] non disponibile; stand. = standardizzato; popol. = popolazione; It. = italiana.

A differenza dell'anticipazione transgenerazionale che si verifica per C9ORF72, e benché sia stata individuata anche per SOD1 (Cudkowicz et al., 1997, Andersen et al., 1997, Kim et al., 2007, Giguet-Valard et al., 2021), questa non ha mai trovato consenso da studi di popolazione, probabilmente a causa di bias di accertamento da parte degli studi meno potenti (*Analysis of amyotrophic lateral sclerosis as a multistep process: a population-based modelling study - The Lancet Neurology*, s.d.).

Questi percorsi hanno aperto la strada al *modello oligogenico* della SLA, suggerendo che, in diversi casi, è una batteria di geni ad essere coinvolta affinché si verifichi l'evento-malattia (van Blitterswijk et al., 2012). Alcuni Autori hanno portato l'attenzione sui parenti di casi di apparente SLA sporadica, mostrando che tra questi vi è un aumento di incidenza di Parkinson e demenze rispetto ai controlli (Fallis & Hardiman, 2009), suggerendo una possibile suscettibilità genetica condivisa a diversi fenotipi di neurodegenerazione. Al-Chalabi e altri (2014), sulla base degli studi di Armitage e Doll (Armitage & Doll, 1954), hanno proposto un processo multistep in modo analogo a quanto avviene per il carcinoma del colon-retto (CRC) (*Analysis of amyotrophic lateral sclerosis as a multistep process: a population-based modelling study - The Lancet Neurology*, s.d.). I risultati ottenuti utilizzando 5 registri di popolazione per la SLA (Italia [Piemonte], Scozia, Inghilterra, Paesi Bassi, e Irlanda), il logaritmo dell'età di esordio e dell'incidenza regrediscono in modo lineare. Il coefficiente di regressione calcolato, e combinato tra i registri, è di 4.8 (95% CI 4.5–5.0). Secondo lo studio della cancerogenesi *multistep* (Armitage & Doll, 1954), il coefficiente di regressione (b) e il numero di steps necessari (n) sarebbero legati dalla relazione:

$$b=n-1$$

suggerendo che, a calcoli corretti, anche per la SLA sarebbero necessari 6 *steps* (*Analysis of amyotrophic lateral sclerosis as a multistep process: a population-based modelling study - The Lancet Neurology*, s.d.), in modo analogo a quanto avviene per il CRC (Armitage & Doll, 1954).

Questi però, al contrario del modello oncologico, non necessariamente fanno capo a specifiche mutazioni, ma si possono identificare anche con insulti ambientali (potenzialmente verificatisi anche in giovane età) difficili da identificare e isolare.

Ad aver ispirato gli Autori è il fatto che la SLA condivida delle caratteristiche con alcune neoplasie, come un esordio più comune nell'età tardo-adulta, una progressione rapida, un particolare citotipo coinvolto e un'ereditarietà complessa(*Analysis of amyotrophic lateral sclerosis as a multistep process: a population-based modelling study - The Lancet Neurology*, s.d.). Personalmente, ritengo interessante la possibilità di verificare empiricamente se l'espansione del danno nella corteccia avvenga in modo gompertziano (come succede per le neoplasie (Laird, 1964) (Winsor, 1932)), a supporto del fatto che alcune cellule raggiungano gli steps necessari prima di altre.

c. Non solo corteccia motoria

Nonostante quanto evidenziato da Charcot, la morte di UMN e LMN non è e difficilmente potrebbe essere concomitante. Charcot descrisse la SLA come un fenomeno selettivo dei motoneuroni, ma come si comprenderà, la sua espressione fenotipica è variabile. Una lezione ci viene offerta dalla demenza frontotemporale (FTD).

"FTD" è un *umbrella term* che accoglie un insieme eterogeneo di disordini con fenotipi clinici distinti associati a entità neuropatologiche multiple. In breve, il concetto di FTD è esteso a disordini clinici che includono anomalie comportamentali, del linguaggio, delle funzioni esecutive a cui spesso si associano sintomi motorî (Olney et al., 2017). Fu descritta per la prima volta da Pick nel 1892 (Pick, 1892). Inclusioni di TDP-43 iperfosforilata, ubiquitinata e C-term-clivata sono l'*hallmark* istopatologico delle FTD (Neumann et al., 2006), e si rilevano anche in oltre il 90% dei pazienti con SLA(Ling et al., 2013). Si stima che almeno il 15% dei pazienti con FTD rispetti anche i criteri per SLA (Ringholz et al., 2005), e analogamente pazienti con SLA sperimentano segni e sintomi di FTD («C9orf72 expansions are the most common genetic cause of Huntington disease phenocopies», 2014).

L'associazione tra SLA e FTD fu postulata nel 1932 (*Von Braunmühl: Picksche Krankheit und amyotrophische... - Google Scholar*, s.d.) e diversi autori hanno proposto l'idea di un continuum nosologico tra le due malattie, benché l'ipotesi rimanga controversa (Ling et al., 2013). È innegabile però che SLA e FTD dimostrino un chiaro overlap clinico, radiologico, patologico e genetico, come dimostra anche la presenza di mutazioni di C9ORF72 in pazienti con FTD (Ling et al., 2013), (DeJesus-Hernandez et al., 2011). Un fenotipo clinico di declino cognitivo in corso di SLA è caratterizzato da turbe della personalità, irritabilità, povero insight, pensieri ossessivi e deficit pervasivi delle funzioni esecutive frontali (Bak & Hodges, 2001), compatibilmente con quanto avviene in gran parte delle FTD (Olney et al., 2017).

Comunque, nonostante la clinica tipicamente associata a paralisi progressiva della muscolatura scheletrica, le anomalie istopatologiche corticali della SLA si diffondono anche al di fuori della corteccia motoria (Desai & Swash, 1999) (Ikemoto et al., 2000) (Chen et al., 2018).

d. Fisiopatologia

Si sarà compreso che dire fisiopatologia "dell*a*" SLA è probabilmente un concetto riduttivo, se non antiquato. Secondo alcuni Autori, la SLA è uno spettro nosologico a limitata espressione fenotipica(Strong, 2001), come testimonierebbero l'eterogeneità qualitativa dei prodotti dei geni coinvolti (di cui sopra). In uno studio condotto su modelli murini, il siero ricavato da alcuni (ma non tutti i) pazienti con SLA inibirebbe lo *sprouting* assonale di neuroni trattati con tossina botulinica. Il modello considerato era il *Gluteus maximus* di topo, confrontato con quello di controlli sani o con neuropatia diabetica(Gurney et al., 2010). Nello stesso studio, l'*immunoblotting* dei sieri indagati ha rivelato la presenza di immunoglobuline G (IgG) dirette contro una proteina di 56 kDa secreta dagli stessi neuroni in rigenerazione. Gli stessi Autori si riservano dal vedere questi autoanticorpi come patogeneticamente responsabili o come epifenomeno di malattia(Gurney et al., 2010). Studi condotti su elettromiografia (EMG) a singola fibra o su biopsia muscolare mostrano che la denervazione dei motoneuroni nella SLA è seguita da tentativi di reinnervazione, ma meno di quanto

accada nella poliomielite o nell'atrofia muscolare spinale familiare (SMA) (Butler et al., 1977; Gurney et al., 2010).

Ancora, McCormick e colleghi hanno sviluppato nel 2008 una metodica per il dosaggio quantitativo di trascrittasi inversa (RT) nei sieri di pazienti con SLA, per vagliare l'ipotesi del coinvolgimento di alcuni candidati retrovirus endogeni riattivati (*human endogenous retroviruses*, HERVs), misurando aumentati livelli di attività di RT nel 50% dei pazienti, rispetto al 7% dei controlli. L'attività della RT era paragonabile a quella dei pazienti con HIV (McCormick et al., 2008). Nel 2015, proseguendo su questa strada, Li e colleghi hanno individuato nei neuroni corticali e spinali particelle virali di HERV-K in alcuni *subsets* di pazienti con SLA sporadica (Li et al., 2015; Wood, 2015). Il retrovirus, quando fatto esprimere su modelli animali, provocherebbe un depauperamento corticale selettivo per le aree motorie, diminuita attività sinaptica dei motoneuroni piramidali, anomalie dendritiche, nucleolari e danni genomici. L'espressione del retrovirus sarebbe modulata proprio da TARDP43 (Li et al., 2015).

Un'efficace visione panoramica dei fenomeni fisiopatologici più studiati li dividerebbe in 3 categorie:

1. Alterazioni dell'omeostasi proteica;
2. Alterazioni dell'omeostasi e del traffico degli acidi nucleici;
3. Alterazioni delle dinamiche citoscheletriche.

Questi meccanismi non sono mutualmente esclusivi. Ad esempio, gli aggregati proteici *prion-like* (1) potrebbero inglobare o danneggiare il *folding* di altre proteine, come quelle coinvolte nel legame degli RNA (2), perturbandone traffico e omeostasi, come avviene per SOD1 e TDP-43 (Brown & Al-Chalabi, 2017). A valle di queste lesioni incoative, seguirebbero varie forme di anomalie cellulari, come depositi intranucleari e citoplasmatici di aggregati proteici e di RNA, alterazioni del catabolismo proteico (e accumulo, *NdR*), *ER stress*, disfunzione mitocondriale, traffico nucleocitoplasmatico difettivo, alterazioni dell'eccitabilità nucleare e reclutamento disfunzionale di cellule gliali (Brown & Al-Chalabi, 2017). La difficoltà nel trattare la SLA giacerà anche nel dover arginare l'eterogeneità di questa catastrofe biochimica. Si tratterà in modo più dettagliato ciascuna delle 3.

1. **Alterazioni dell'omeostasi proteica.** Questa via è quella più indagata, anche per via della vetustà delle evidenze di inclusioni proteiche all'interno dei neuroni sofferenti, quali i corpi di Bunina (Bunina, 1962) e le *skein-like inclusions* (Leigh et al., 1988; Lowe et al., 1988). Nonostante Rosen e collaboratori furono i primi a descrivere alcune mutazioni missenso di SOD1 come patogenetiche in alcune forme di fALS (Rosen et al., 1993), il modello fisiopatologico da loro proposto si dirigeva verso lo stress ossidativo più che sullo stress provocato dagli aggregati proteici.

Successivamente ci si è orientati anche verso l'ipotesi che le mutazioni, provocando alterazioni delle interazioni intramolecolari, modifichino le strutture terziarie delle proteine, con formazione di aggregati complessi da smaltire e successivo accumulo citotossico. Alcuni Autori hanno suggerito una modalità patogenetica "prionoide" (*Misfolded CuZnSOD and amyotrophic lateral sclerosis | PNAS*, s.d.)delle proteine malripiegate (in TDP43 (Nonaka et al., 2013) e in SOD1 (Sibilla & Bertolotti, 2017)) anche se, almeno per SOD1, questo non trova giustificazione su modelli murini, dai quali si desume sia più plausibile un ruolo tossico dell'ipereccitabilità corticale (Scekic-Zahirovic et al., 2021).

2. **Alterazioni dell'omeostasi e del traffico degli acidi nucleici.** Questa prospettiva è quella in più rapida crescita. La prima proteina qui coinvolta ad essere stata descritta è la TDP-43 (Neumann et al., 2006). TDP43 è una proteina che agisce da repressore trascrizionale (PubChem, s.d.-d) coinvolta anche nel sistema del riparo del DNA (*non-homologous end-joining, NHEJ*) nei motoneuroni(Mitra et al., 2019). Aggregati di TDP43 iperfosforilata e mislocalizzata nel citoplasma sono individuate sia nella SLA sporadica che familiare (Brown & Al-Chalabi, 2017). Recentemente si è visto che la localizzazione aberrante di TDP43 stimolerebbe la fuoriuscita di DNA mitocondriale (mDNA) attraverso il canale mPTP, stimolando la via di STING (*Stimulator of Interferon Genes*) (Yu et al., 2020). Questa induce naturalmente la produzione di interferone I in risposta a patogeni intracellulari, quali batteri, virus, e parassiti(Barber, 2011). Secondo alcuni Autori, questa via rappresenterebbe un potenziale target terapeutico attraverso il blocco di una delle tappe (l'ingresso di TDP43 nel mitocondrio, la fuoriuscita del mDNA, la via di STING) (Van Damme &

Robberecht, 2021). Inoltre, C9ORF72 sopprime l'infiammazione mediata da STING (McCauley et al., 2020).

Parallelamente, le espansioni esanucleotidiche di C9ORF72 potrebbero portare a trascrizioni non desiderabili dei segmenti espansi centinaia di volte, con formazione di grovigli di RNA che inglobano altre proteine nucleari. Alcuni di questi agglomerati esibiscono un comportamento nucleofugo dove possono essere tradotti in modo non canonico, formando dipeptidi ripetuti tossici per le cellule (Brown & Al-Chalabi, 2017).

3. Alterazioni delle dinamiche citoscheletriche. Tre sono i principali geni i cui tradotti sono importanti nell'equilibrio citoscheletrico: la dinactina 1 (DCTN1) (Puls et al., 2003), la tubulina 4A (TUBA4A) (Pensato et al., 2015), la profilina 1 (PFN1) (Wu et al., 2012). Questi sono coinvolti nell'integrità citoscheletrica, nel mantenimento della forma filamentosa dell'actina (quindi della "dimensione lunghezza" dei nervi) e il trasporto assonale retrogrado (Brown & Al-Chalabi, 2017).

e. Dying-back vs dying-forward hypotheses

Ma quindi, *dove inizia* la SLA? Riuscire a rispondere a tale quesito darebbe un grande contributo alla comprensione della sua fisiopatologia. Al momento si contrappongono due ipotesi topografiche:

1. *Dying-forward hypothesis.* Questa propone che la SLA sia primariamente un disordine dei motoneuroni (MN) corticali ("perikaryonopatia prossimale"*, NdR*). Questi, connettendosi monosinapticamente al LMN, medierebbe fenomeni di eccitotossicità da glutammato a livello dei MN delle corna anteriori promuovendone la degenerazione. A sostegno di questa ipotesi:
    a. Vari risultati di studi di stimolazione transcranica cerebrale (TBS) documentano una ipereccitabilità corticale precoce nella sALS, e precedente l'esordio clinico nella fALS;
    b. Alcune osservazioni cliniche:

i. I LMN che non connettono monosinapticamente con i MN corticodiscendenti (nucleo di Onuf, nuclei oculomotorî) sono tipicamente risparmiati;
ii. L'assenza di modelli animali di sALS si fa ascrivere alla paucità di connessioni UMN-LMN;
iii. SLA che coinvolgono il secondo MN sono eccezionali, mentre molto più frequente è la sclerosi laterale primaria (PLS, non oggetto di questa trattazione).

2. *Dying-back hypothesis.* Questa propone che la SLA sia primariamente un disordine dei LMNs ("assonopatia distale"*, NdR*) o, addirittura, che il danno inizi a livello delle miofibrille o delle giunzioni neuromuscolari (*neuromuscular junctions,* NMJ). A sostegno di questa ipotesi:
    a. Delle osservazioni che la denervazione a livello della NMJ preceda la neurodegenerazione;
    b. La denervazione sinaptica (nelle fALS, *NdR*) sarebbe mediata dall'accumulo di SOD1 mutante nelle cellule di Schwann.
3. Altri Autori sostengono controcorrente che LMN e UMN degenerino indipendentemente (Kiernan et al., 2011).

f. Fenotipi clinici e prognosi

La consapevolezza della variabilità di presentazione clinica della SLA è cruciale ai fini della comprensione e dello sviluppo di contromisure alla progressione di malattia. L'identificazione dei diversi fenotipi ha implicazioni notevoli per il paziente, nei confronti della prognosi, della sopravvivenza e, non ultimo, nell'arruolamento ai trials clinici. Le principali presentazioni della SLA includono:

1. Esordio agli arti (70%), con combinazione di segni UMN-LMN;
2. Esordio bulbare (25%), con anomalie di fonazione e articolazione della parola, e disfagia e coinvolgimento appendicolare più tardivo;
3. Coinvolgimento UMN puro (PLS) (Gordon et al., 2006);
4. Coinvolgimento LMN puro (atrofia muscolare progressiva, *PMA*).

La firma clinica della SLA è la copresenza di segni UMN e LMN a carico del tronco encefalico e di diversi territori di innervazione motoria del midollo spinale (v. CAP II, par. *e. Il percorso diagnostico-terapeutico-assistenziale*). Nel 5% dei casi, l'esordio è drammatico e rivolto primariamente al tronco e al diaframma, con deficit restrittivo precoce della funzione respiratoria (Vucic et al., 2007). Sono stati descritti sintomi respiratori come sola presentazione di SLA (Fowler et al., 1957; Fromm et al., 1977; Parhad et al., 1978; Tateno et al., 2014). Alcune modalità di esordio atipico sono il calo ponderale (indicatore di prognosi povera), crampi e fascicolazioni in assenza di deficit stenici, labilità affettiva e disfunzioni cognitive frontali (Ferguson & Elman, 2007).

In termini semeiologici, i segni di compromissione degli UMNs midollari si palesano come ipertono spastico, ipoastenia e iperreflessia osteotendinea, mentre quelli bulbari come disartria spastica (articolazione della parola lenta, faticosa e distorta), rinolalìa e iperreflessia del riflesso faringeo e masseterino. I segni di compromissione degli LMNs midollari invece si manifestano come fascicolazioni, amiotrofia, ipostenia e ipoareflessia osteotendinea, mentre quelli bulbari come atrofia (con debolezza e fascicolazioni) della lingua, accompagnati da disartria flaccida e tardivamente disfagia. Possono anche accostarsi raucedine, rinolalìa e tosse flebile. Questi ultimi sintomi e segni si riassumono nell'aprassia verbale progressiva (Duffy et al., 2007).

La SLA rimane invariabilmente una malattia progressiva: il 50% dei pazienti va incontro al decesso entro 30 mesi dall'esordio e un 20% sopravvive tra i 5 e i 10 anni. L'età avanzata, un coinvolgimento respiratorio precoce, l'esordio bulbare sono *markers* di prognosi pessima. Per contro, la giovane età, l'esordio agli arti e ritardo diagnostico (i sintomi inizialmente blandi, poco debilitanti e la progressione lenta preoccupano poco il paziente, *NdR*) sono predittori indipendenti di sopravvivenza più lunga(Talbot, 2009).

g. Percorso Diagnostico-Terapeutico Assistenziale

I Percorsi Diagnostico-Terapeutici Assistenziali (PDTA) sono strumenti basati sulle evidenze mediche (EBM) atti a omogeneizzare, ordinare e migliorare la qualità del percorso clinico in cui i pazienti affetti da una malattia vengono incanalati a seguito di una diagnosi, riducendo variabilità superflue tra diversi Centri. Gli obiettivi generali del PDTA sono:

- Migliorare la qualità assistenziale, secondo l'EBM;
- Garantire un solido percorso ben strutturato tra le varie figure professionali lungo le varie fasi di malattia;
- Ridurre i tempi di latenza tra diagnosi e *management*;
- Garantire la comunicazione e l'informazione del malato.
- Ottimizzare le risorse e la qualità dei servizi offerti, attraverso il monitoraggio di indicatori di processo e esito previo allestimento di appositi sistemi di raccolta e analisi dei dati.

Questi possono essere realizzati attraverso:

- La presa in carico del paziente da parte di figure professionali adeguate a rispondere a ciascun tipo di esigenza;
- Una rete di scambi informativi tra i professionisti;
- La pianificazione dei protocolli operativi, intra ed extraospedalieri, a garanzia della continuità dell'assistenza;
- Il monitoraggio della qualità degli interventi attraverso specifici indicatori;
- Verifiche regionali annuali del processo di presa in carico e degli indicatori di qualità, per modificare quei processi non ancora adeguati.

La SLA presenta una notevole complessità clinica, dato che compromette diverse funzioni necessarie alla sopravvivenza, quali motilità (quindi autonomia), deglutizione (quindi alimentazione), fonazione (quindi comunicazione), respirazione e, in diversi casi, la sfera cognitiva.

Presa in carico. Questa fase del PDTA è condivisa e garantita dalla interazione e collaborazione di diverse figure, quali il Medico di Medicina Generale (MMG, filo rosso tra territorio e ospedale), gli specialisti ambulatoriali, le Unità Operative (UO)

di Neurologia e altre UO di ricovero (Terapia Intensiva, Medicina Interna, Pneumologia, Gastroenterologia), oltre che un'assistenza territoriale capillare (come l'Assistenza Domiciliare Integrata) e le cure palliative. La fase di *presa in carico* si articola in una fase pre-diagnostica (1), ospedaliera (2) e territoriale (3). Nella *fase pre-diagnostica* (1) è il MMG a rendersi responsabile del riconoscimento precoce di una clinica compatibile con malattia del motoneurone (*Motor Neuron Disease,* MND). Il paziente verrà inviato allo specialista ambulatoriale Neurologo, il quale, in caso di sospetto diagnostico, invierà l'assistito presso le UO di Neurologia di strutture di ricovero o in appositi centri dedicati a MND, ai fini di conferma diagnostica. Nella *fase ospedaliera* (2), idealmente il paziente viene assistito da un team multidisciplinare esperto, con il risultato di accorciare la durata di ricovero e far fronte alle esigenze multidimensionali del malato, come ampiamente discusso in letteratura. Il team viene sempre coordinato da un Neurologo e dal *case manager*, il quale è assicuratore e garante di tutte le aree di intervento, ed è il punto di riferimento della famiglia. Tra gli importanti obiettivi del team, dopo la definizione della diagnosi, vi è quello della sua comunicazione all'assistito. La comunicazione di una diagnosi così dura andrebbe effettuata in modo chiaro, conciso, senza tecnicismi o eufemismi, con un registro linguistico mai superiore a quello del paziente e in un *setting* dignitoso. Non è necessario comunicare ogni informazione se il paziente, al momento, non è pronto ad accoglierle tutte; queste possono essere diluite negli incontri successivi, nell'attesa che egli sia più ricettivo. È altresì importante sottolineare l'assenza di cure efficaci. I conflitti che si genereranno nel paziente (paziente-diagnosi, paziente-medico, paziente-familiari, paziente-paziente) vanno accolti, così come alcune delle risposte "fisiologiche" di *coping*, che sono attese in buona parte dei casi. Queste possono essere la richiesta di una seconda opinione, l'introduzione disperata e compassionevole in protocolli di ricerca, terapie alternative. Vista la prognosi, non è necessario esprimere contrarietà. In questa tempesta che travolgerà il paziente, questo andrà anche rassicurato: a questo andrà ricordato che non sarà mai solo e non verrà abbandonato al suo destino. Verrà dispiegato ogni tentativo possibile di mantenere la sua autonomia, e le decisioni prese verranno rispettate. Può essere offerta la possibilità di partecipare a protocolli sperimentali, a scopo compassionevole. Inoltre va spiegato che tutti i sintomi della SLA possono essere gestiti o quantomeno mitigati.

In questa fase (2) inoltre, il team predisporrà una cartella clinica personalizzata, pianificherà il *follow up* clinico-assistenziale, predisporrà dei trattamenti farmacologici, verrà elaborato il piano di dimissione e successiva presa in carico territoriale.

Diagnosi. Diversi sono i criteri diagnostici disponibili. I più recenti sono i criteri di Gold Coast (2019) (Hannaford et al., 2021), ma l'Associazione Italiana per la Sclerosi Laterale Amiotrofica (AISLA) raccomanda ancora l'utilizzo dei criteri di El Escorial Rivisitati (2000) (Gisella, 2021; Brooks et al., 2000). In Tabella 1 (liberamente ispirata da Vucic et al., 2021) viene illustrata una panoramica di confronto tra i vari criteri diagnostici di SLA. I criteri di Gold Coast sono di più immediato impiego, abolendo queste categorie grigie (ancora presenti nei criteri precedenti), possiedono maggior sensibilità (ma minor specificità) e consentono la diagnosi precoce anche delle forme più atipiche, come quelle LMN-limitate, più frequenti in Cina (Shen et al., 2021). Nel caso delle forme a esordio più precoce, al paziente può essere offerto il *coundeling* genetico (Gisella, 2021). La diagnosi, anche con i nuovi criteri di Gold Coast, rimane fondamentalmente clinica; tuttavia è bene correlare la clinica suggestiva al reperto strumentale dell'elettromiografia (EMG).

I segni clinici che indirizzano verso la diagnosi di SLA sono divisi, come spiegato in precedenza, in segni di disfunzione del LMN e del UMN.

Una disfunzione all'UMN implica <u>almeno uno</u> tra i seguenti:

- Iperreflessia osteotendinea, anche in muscoli francamente atrofici e clinicamente ipostenici;
- Presenza di segni o riflessi patologici, quali il segno di Babinski, il segno di Hoffman, il riflesso del grugno, riflesso adduttorio crociato;
- Aumento del tono velocità-dipendente (spasticità);
- Movimenti volontari rallentati, impacciati e poco coordinati, non attribuibili a caratteristiche parkinsoniane o a debolezza ascrivibile a disfunzione del LMN.

Una disfunzione del LMN in un dato gruppo muscolare invece implica <u>contemporaneamente</u>:

- Diminuito trofismo e debolezza muscolare clinicamente oggettivabile;

- Anomalie EMG che devono includere contemporaneamente:
    - Evidenza di cambiamenti neurogeni cronici, definiti da potenziali dell'unità motoria slargati, di aumentata durata e/o di diminuita ampiezza (con polifasia); l'evidenza di attività instabili dell'unità motoria offre un supporto alla diagnosi ma la sua presenza non è mandatoria;
    - Evidenza di denervazione estemporanea, come i potenziali di fibrillazione, di fascicolazione o complessi positivi appuntiti (Turner, 2022).

Criteri Diciture	**El Escorial Rivisitati (Brooks et al., 2000)**	**Awaji (de Carvalho et al., 2008)**	**Gold Coast (Hannaford et al., 2021)**
Presenza di SLA	Differenti categorie diagnostiche (v. sotto)	Differenti categorie diagnostiche (v. sotto)	(Perdita progressiva della funzione motoria documentato dall'anamnesi o da valutazioni cliniche ripetute, precedute da funzione motoria normale) **AND** (Presenza di disfunzione UMN e LMN in almeno una regione[§] corporea **OR** di disfunzione LMN in almeno due regioni) **AND** Altre diagnosi escluse
SLA definita	Segni UMN e LMN in 3 regioni spinali **OR** In regione bulbare e 2 regioni spinali	Segni UMN e LMN in 3 regioni spinali **OR** In regione bulbare e 2 regioni spinali	Termine abolito
SLA probabile	Segni UMN e LMN in almeno 2 regioni con alcuni segni UMN necessariamente rostrali ai segni LMN	Segni UMN e LMN in almeno 2 regioni con alcuni segni UMN necessariamente rostrali ai segni LMN	Termine abolito
SLA clinicamente probabile con supporto strumentale	Segni UMN e LMN in una regione **OR** (segni UMN isolati presenti in una regione **AND** segni LMN in almeno due regioni definiti all'EMG	Categoria abolita	Termine abolito
SLA possibile	Segni UMN e LMN in una regione **OR** segni UMN in almeno due regioni **OR** (segni LMN rostrali a segni UMN **AND** la diagnosi di *SLA clinicamente probabile con supporto strumentale* non può essere provata	(Segni UMN e LMN in una regione **OR** segni UMN in almeno 2 regioni **OR** segni LMN rostrali a segni UMN) **AND** Neuroimaging, clinica e laboratorio escludono diagnosi alternative	Termine abolito

Tabella 2 Confronto tra i vari criteri diagnostici di SLA. Abbrev. EMG = elettromiografia. § = le regioni corporee sono distinte in bulbare, cervicale, toracica e lombosacrale.(Turner, 2022) [Il coinvolgimento di entrambi gli arti superiori, ad esempio, conta come singola regione NdR]. Si è preferito l'utilizzo degli operatori booleani anziché delle congiunzioni copulative o avversative per motivi di chiarezza espositiva.

Follow up clinico e assistenziale. Questo prevede l'organizzazione di tutte le procedure assistenziali, con periodiche rivalutazioni dei disordini neuromotorî attraverso la somministrazione di scale cliniche (come la *ALS-Functional Rating Scale - Revised*, ALSFRS-R). Questa serve a quantificare il grado di disabilità, esplorando le principali funzioni (funzione bulbare, forza, respirazione, destrezza motoria) attraverso l'analisi di 12 *items.* Il punteggio va da 0 (massimo grado di disabilità) a 48 (tutte le funzioni conservate). Effettuando almeno tre monitoraggi in 6 mesi, un declino di punteggio superiore a 2 punti si associa a una progressione rapida di malattia, così come un punteggio iniziale minore di 30. L'esame obiettivo neurologico (EON) periodico inoltre dovrebbe quantificare anche la forza muscolare segmentaria (scala *Medical Research Council*, MRC). I controlli periodici possono essere ambulatoriali, in *day service* o in *day hospital*. Nel corso del *follow up* verranno eseguiti:

- Visita neurologica. Qui vengono somministrati test e scale di valutazione della compromissione dell'autonomia funzionale, motoria, bulbare e spasticità. Alcune di questi, oltre la ALSFRS-S, sono la DOSS (*Dysphagia Outcome and Severity Scale*) per la valutazione prognostica della disfagia, o il *Trunk Control Test* (TCT). In base alla progressione verranno discussi presidî di supporto via via più invasivi, come la ventilazione non invasiva o invasiva, il sondino nasogastrico (SNG) o la gastrostomia endoscopica percutanea (PEG). Quest'ultima (se il paziente lo desidera) può essere disposta anche in condizioni di calo ponderale senza disfagia, poiché è associata a un prolungamento della sopravvivenza (Andersen PM, Borasio GD, Dengler R, et al, 2007);
- Monitoraggio respiratorio, comprendente la spirometria e, eventualmente, emogasanalisi arteriosa, ossimetria notturna e polisonnografia;
- Monitoraggio nutrizionale, con test di screening specifici per il rischio di malnutrizione;
- Visita fisiatrica;
- Valutazione neuropsicologica;
- Colloquio psicologico per paziente e familiari (se gradito);
- Altri esami sartoriali, che vanno incontro ad esigenze specifiche.

Trattamento. Come evidenziato, al paziente deve essere chiaro che la SLA non può essere curata né trattata, ma i suoi sintomi sì. Ad oggi, l'unico farmaco approvato sia dalla *Food and Drug Administration* (FDA) che dalla *European Medical Agency* (EMA) è il riluzolo (Rilutek®). Questo agisce come bloccante dei canali del Na^+ voltaggio-dipendenti e blocca in modo non competitivo i recettori glutammatergici del N-Metil-D-Aspartato (NMDA), deprimendo gli effetti eccitotossici del medesimo neurotrasmettitore. Possiede effetti neuroprotettivi, anticonvulsivanti e sedativi; è generalmente ben tollerato, anche se possono essere lamentati effetti gastrointestinali (nausea e diarrea) e occasionale epatotossicità. Nonostante l'effetto sulla sopravvivenza sia blando (circa +60 giorni rispetto ai controlli con placebo), la ormai vecchia novità rappresentata da questo farmaco è rappresentata dall'impatto, blando ma pur sempre impatto, sulla progressione di una malattia che fino a prima era vista come inarrestabile e irrefrenabile. L'endpoint primario del riluzolo è il posticipare il ricorso all'ausilio alla ventilazione. La posologia raccomandata è di 50mg ogni 12h (Brunton et al., 2018; Doble, 1996; Gisella, 2021; Lacomblez et al., 1996)[96]. Dosaggi differenti non si sono dimostrati superiori nell'endpoint primario (*European Medical Agency*, s.d.). È controindicato negli stadi avanzati di malattia (capacità vitale respiratoria <60%), nei pazienti dementi o psichiatrici complessi, in corso di malattia renale cronica (creatinina > 2,2 mg/dL), al di fuori della fascia di età 18-75 anni, insufficienza epatica e gravidanza-allattamento (Gisella, 2021). Il trattamento va sospeso se l'alanina-transaminasi (ALT) sierica aumenta >5 volte, visto l'aumentato rischio di epatotossicità.

Di seguito sarà illustrata una rapida rassegna dei trattamenti sintomatici:

- **Faticabilità e ipostenia**. Sono di aiuto la fisiochinesiterapia, gli ausili alla deambulazione e le ortesi;
- **Calo ponderale e malnutrizione**. Il calo ponderale, anche senza disfagia, può essere combattuto sin dall'inizio con presidi che forzino l'alimentazione enterale, come il SNG o la PEG. Il supporto nutrizionale precoce migliora la sopravvivenza (Kiernan et al., 2011);

- **Fascicolazioni e crampi**. Utili sedativi delle correnti ioniche, come la chinina solfato, i sali di magnesio e gli antiepilettici (carbamazepina, fenitoina, levetiracetam);
- **Spasticità**. Di aiuto ancora la fisioterapia e la mobilizzazione. Utili i miorilassanti *sensu strictu* quali il baclofen, la tizanidina e il dantrolene. Altri farmaci impiegati sono gli antiepilettici gabapentinoidi, le benzodiazepine, la memantina e la tossina botulinica;
- **Disabilità comunicativa**. Utile una valutazione logopedica con eventuale logoterapia; nei casi più avanzati si può ricorrere all'ausilio di comunicatori analogici, come le tavole ETRAN ("*Eye TRANsfer*"), o elettronici tramite *eye-tracking;*
- **Insufficienza respiratoria restrittiva e tosse inefficace.** La progressiva paralisi del diaframma si accompagna a un quadro respiratorio di tipo restrittivo (Kleopa et al., 1999; Vitacca et al., 1997). Col peggioramento della malattia, la progressiva ipostenia dei muscoli respiratori provoca una diminuzione della *performance* della tosse, oltre che della ventilazione. L'ipoventilazione, la debolezza dei muscoli respiratori, e la perdita di efficacia della tosse comportano frequentemente atelettasia polmonare e aumentata incidenza di infezioni, prima causa di morbidità e mortalità in gran parte dei NMD (Gozal, 2000; Seddon & Khan, 2003), e questo rende ragione all'importanza alla gestione della respirazione e della tosse.

  Per quanto riguarda quest'ultima, oltre all'efficacia del "mantice" respiratorio, è fondamentale anche la competenza glottica, poiché è ciò che permette di aumentare la pressione endotoracica (Bach, 2004; McCool, 2006; Yanagihara et al., 1966); ciò è utile anche nelle manovre di reclutamento polmonare come l'*air stacking* (diverse inspirazioni in sequenza, senza espirazioni, con o senza aiuto di pallone autoespandibile) (Bach, 2004). Forza muscolare e competenza glottica garantiscono, nei sani, un picco di flusso (*Peak of Cough Flow*, *PCF*) sopra i 360-400 L/min (Gregg & Nunn, 1973; Leiner et al., 1963). Questo rende ragione dell'importanza della sua gestione. La tosse può essere gestita manualmente dal *caregiver* o adiuvata da appositi *devices*, come il *CoughAssist* (Koninklijke Philips N.V, 2017), un piccolo macchinario insufflatore-desufflatore che sostituisce l'atto fisiologico e aiuta l'espettorazione. Il colpo di tosse è inefficace quando il PCF <270 L/min(Toussaint et al., 2009), anche se valori compresi tra 250 e 270 L/min sono sufficienti alla prevenzione delle polmoniti nei pazienti con NMD (Dohna-Schwake et al., 2006; S. W. Kang & Bach, 2000). Per

l'espettorazione invece sono necessari almeno 160-200 L/min (Chatwin et al., 2003; Dohna-Schwake et al., 2006). La tosse manualmente assistita e la macchina di insufflazione-desufflazione permettono di migliorare il PCF e gli *outcomes* relativi (Bach, 2004; Chatwin et al., 2003). A seguito dei colpi di tosse, può seguire un'aspirazione delle secrezioni.

Sono raccomandate, a scopo di profilassi per le polmoniti comunitarie, le vaccinazioni antipneumococcica e antinfluenzale (Gisella, 2021).

Il supporto alla ventilazione non invasiva (*Non Invasive Ventilation,* NIV) può essere discusso quando il paziente sia ortopnoico (1), abbia una pressione di inspirazione nasale <40 cmH2O (*Sniff Nasal Inspiratory Pressure*, SNP) (2), desaturazioni notturne significative (SpO2 <88% per almeno 5min) (3), abbia una capacità vitale forzata (CVF) <50%. Se la NIV non riesce a mantenere una pO2>90%, una pCO2<50 mmHg, o rende difficile la gestione delle secrezioni, va considerata la tracheostomia (Gisella, 2021);

- **Deflessione del tono affettivo.** La depressione e le oscillazioni dell'umore sono molto frequenti (0-44%, a seconda delle casistiche (Kurt et al., 2007)) nelle persone affette da SLA. La causa non è soltanto ascrivibile al senso di ineluttabilità e prigionìa, ma anche alla componente cognitiva della malattia. L'utilizzo degli inibitori selettivi del reutpake della serotonina (*Selective Serotonin Reuptake Inhibitors*, SSRIs), di aiuto anche per il possibile *overlap* ansioso, e di antidepressivi triciclici (*Tricyclic Antidepressants,* TCAs) è consigliabile laddove ce ne sia la necessità. Alcuni effetti collaterali inoltre, specie quelli dei TCA sono "desiderabili": gli effetti anticolinergici di questa categoria di farmaci, di solito debilitanti e lamentati dai pazienti psichiatrici in trattamento, possono collaborare a correggere la scialorrea (Kurt et al., 2007; Rudnicki et al., 2015) e l'insonnia notturna(Kurt et al., 2007). La scialorrea arriva a colpire un 50% dei pazienti (Sufit, R. L., Miller, R. G., Mitsuroto, H., Parry, G. J., Ringel, S. P., & Lessard, D., 1999).

Una frontiera moderna di superamento del quadro *locked-in*, inteso come condizione di quadriplegia anartrica (di varia causa, con la SLA tra queste) con coscienza preservata (Smith & Delargy, 2005) è la *brain-computer interface* (BCI). Capacità cognitive conservate e abolizione di quelle motorie costituiscono le caratteristiche prototipiche del paziente che potrebbe giovare della BCI. L'interfaccia

uomo-computer è e sarà uno strumento di avanguardia che, tramite diverse soluzioni, permette di accoppiare l'attività cerebrale a un comando elettronico. Viene attuata una traduzione delle variazioni dei potenziali corticali in linguaggio informatico, dopodiché in una funzione sostitutiva, come può essere la comunicazione o, un domani, il movimento (McFarland, 2020; Shih et al., 2012).

Ad oggi (Ottobre 2022), sulla banca dati di *clinicaltrials.gov* del National Institute of Health (NIH) risultano attivi 152 *trials* (sotto le voci "*active*", "*active non recruiting*", "*enrolling by invitation*") per "ALS", "*Lou Gerigh disease"* e "*MND"* (*Home - ClinicalTrials.Gov*, s.d.). Questi *trials* bersagliano diversi presunti punti deboli della catena fisiopatologica, dai geni specifici, all'infiammazione, allo stress ossidativo, ai supposti retrovirus. Di recente, sembra promettente il trial di Fase 3 promosso da Biogen sul Tofersen, un oligonucleotide antisenso di SOD1(Biogen, 2022, s.d.).

III. RUOLO PATOGENETICO DEI FATTORI AMBIENTALI

Diversi studi hanno proposto il ruolo dell'ambiente come incipiente o precipitante nell'eziopatogenesi della SLA, con risultati controversi. Tra i fattori interrogati spiccano alcune specie metalliche, le cianotossine, i campi elettromagnetici, i pesticidi e l'attività sportiva. L'analisi specifica di ciascuno esula dallo scopo di questa trattazione, per cui solo alcune saranno esaminate con più attenzione.

a. Cianotossine

La β-N-Metilamino-L-Alanina (BMAA) è un aminoacido non-proteinogeno derivato dalla L-alanina (PubChem, s.d.-a). È prodotta da alcuni generi di cianobatteri(Cox et al., 2005) e si è postulato possa essere la causa di alcune forme endemiche di SLA(Murch, Cox, & Banack, 2004; Cox et al., 2003; Murch, Cox, Banack, et al., 2004) (*ALS-Parkinson-Dementia complex of Guam*), nell'isola di Guam. Gli indigeni autoctoni (i *Chamorro*) farebbero uso di farine prodotte dal midollo del tronco di una pianta (*Cycas micronesica*) o dall'endosperma dei semi (Duncan et al., 1990) ("*Cycas micronesica - Useful Tropical Plants"*, s.d.). La presenza di BMAA nelle Cycadaceae è stata riconosciuta nel 1967 (Vega & Bell, 1967). I cianobatteri liberi producono circa 0,3 μg/g di BMAA, ma la produzione aumenta da 10 a 100 volte quando vivono da simbionti nelle radici coralloidi delle cicadi. I semi, seconda tappa del processo di biomagnificazione, sono tra i cibi prediletti da alcuni pipistrelli locali (volpi volanti, *Pteropus mariannus mariannus*), nei quali la BMAA raggiunge concentrazioni esorbitanti di oltre 3,500 μg/g (Banack & Cox, 2003; Cox et al., 2005). La biomagnificazione avviene con ordini di grandezza analoghi a quanto avviene con DDT e policlorobifenili (PCBs) (Cox et al., 2003). Le volpi volanti vengono abbondantemente consumate (cervello, visceri, pelliccia e ali), al punto di renderle specie in pericolo(Assessments), 2019), in corso di alcune festività(Cox et al., 2003; Banack & Cox, 2003). La patogenicità della BMAA giace nel fatto che questa venga incorporata alle proteine come sostituto competitivo della L-serina, provocando *misfolding* e morte cellulare (Dunlop et al., 2013). Il *protein misfolding* è evidenziato

dalla presenza di reperti istopatologici tipici di alcune malattie, come i corpi di Bunina nella SLA, le inclusioni a corpi di Lewy (Parkinson, demenza a corpi di Lewy), e i tangles neurofibrillari nell'Alzheimer (Bancher et al., 1989). Oltre a esserne un *hallmark*, potrebbero anche essere uno dei motori di malattia (Dunlop et al., 2013).

Essendo i motoneuroni particolari cellule post-mitotiche, potrebbero essere particolarmente suscettibili all'accumulo di proteine malripiegate, poiché normalmente questi danni verrebbero diluiti nella progenie (Dunlop et al., 2013).

La traduzione da mRNA e polipeptide è un fenomeno ad alta fedeltà, al punto che si verificherebbe un errore ogni 10^3-10^4 codoni (Jakubowski & Goldman, 1992) Loftfield & Vanderjagt, 1972). Modelli murini (*sticky mice* (Roy & Ibba, 2006)) con alterazioni dell'attività proofreading (dell'aminoacilazione, *NdR*) della aminoacil-tRNA-sintetasi condurrebbero a neurodegenerazione precoce(Lee et al., 2006). Il misfolding provoca una lesione biochimica al livello del reticolo endoplasmatico (*endoplasmic reticulum stress*, ERS) a cui le cellule rispondono con la *unfolded protein response* (UPR), una delle vie patogenetiche proposte per la SLA(Hetz, 2012; Rao & Bredesen, 2004; Matus et al., 2011). La biomagnificazione della BMAA è un fenomeno misurato anche nelle ostriche, nei mitili, nei pesci e nello zooplancton (Jonasson et al., 2010).

Le ipotesi a sostegno della BMAA (Dunlop et al., 2013; Trojsi et al., 2013; Chiu et al., 2011) sono state messe in discussione (Chernoff et al., 2017), secondo alcuni Autori in modo opinabile (RA et al., 2021). La BMAA rimane un possibile, ma non provato, fattore di rischio per la malattia di Guam. Anche se alcune evidenze *in vivo* validano le proprietà neurotossiche della BMAA, le evidenze epidemiologiche non sono sufficienti e sono necessari ulteriori approfondimenti per provare il ruolo della BMAA sporadica (Bozzoni et al., 2016).

b. Campi elettromagnetici

Diversi Autori hanno suggerito un rapporto tra malattie neurodegenerative ed esposizione occupazionale o residenziale a campi elettromagnetici (*electromagnetic fields, EMF*), specialmente a campi elettromagnetici a frequenza estremamente bassa (*extremely low-frequency EMFs, ELF-EMFs*). Questi ultimi hanno una frequenza con

un range compreso tra 3Hz e 3kHz. Gli elettricisti, i macchinisti, o gli operatori di manutenzione delle telecomunicazioni sono categorie professionali costantemente esposte (Zhou et al., 2012). In una metanalisi di 17 studi, Zhou e colleghi hanno sottolineato un lieve aumento del RR, ma non al punto da escludere il riflesso di bias (Zhou et al., 2012). Un'altra analisi ha smentito questa relazione attraverso uno studio caso-controllo di popolazione con 1139 pazienti con SLA e 2864 controlli (Seelen et al., 2014). Un'altra recente metanalisi ha analizzato 750 studi dal 1980 al 2013, negando un'associazione statisticamente significativa tra esposizione occupazionale e SLA, probabilmente anche a causa della diversa metodologia con la quale gli studi sono stati condotti (Capozzella et al., 2014).

c. Attività sportiva

L'attività fisica, e il calcio in particolare, è stata indiziata di rappresentare un possibile fattore di rischio da un magistrato italiano, Raffaele Guariniello, il quale ha avviato un'inchiesta a tal proposito. L'intenzione era studiare le principali cause di morte tra i calciatori, su spinta di un allenatore, preoccupato del dilagante utilizzo di sostanze d'abuso e farmaci illeciti. Un vasto studio retrospettivo di Belli e Vanacore (2005), condotto su 24,000 calciatori di Serie A, B e C nel periodo 1960-1996, ha dimostrato un aumento di incidenza in questa categoria di sportivi (Belli & Vanacore, 2005). Con 8 casi di SLA all'interno della coorte, gli Autori hanno evidenziato un rapporto standardizzato proporzionato di mortalità (*Standardized Proportionate Mortality Ratio,* SPMR) di 11.58 (Belli & Vanacore, 2005). Un altro studio, coordinato da Chiò e altri (2005), ha esaminato i giocatori di Serie A e B dal 1970 al 2001, confermando l'ipotesi di correlazione (SMR 6.5; 95% CI 2.1-15.1) rilevando 5 casi su 0.77 attesi (Chiò et al., 2005). Il medesimo Autore ha esteso il follow-up dal 2001 al 2006, con ulteriori 3 casi di SLA (SMR 6.45; CI 95% 2.7-12.7, $p<0.00001$). Inoltre, un confronto tra le incidenze in questa coorte e in quelle di cestisti e ciclisti (in quest'ultime non aumentate in modo significativo), rinforza l'ipotesi di legame con il calcio (Chiò et al., 2009). Diversi studi hanno proposto l'attività fisica, di per sé, come fattore di rischio indipendente di SLA. Ad esempio, alcuni hanno sostenuto che l'allenamento intensivo dei soldati in preparazione potesse essere responsabile

dell'aumento di incidenza di SLA tra i veterani della Guerra del Golfo (Huisman et al., 2013; Weisskopf et al., 2005); ma questa ipotesi vacilla di fronte al fatto che questo aumento si sia verificato solo tra le forze schierate (Horner et al., 2003, 2008). In uno studio caso-controllo europeo, condotto su 652 casi di SLA e 1166 controlli, l'attività fisica ludica, amatoriale o organizzata si è dimostrata protettiva nei confronti della malattia, ma non quella professionale (intrapresa dai soggetti per almeno un anno e intesa come principale occupazione giornaliera) (Pupillo et al., 2014). Il legame con il calcio professionale è robusto in letteratura(Belli & Vanacore, 2005; Chiò et al., 2009; Chiò et al., 2005; Pupillo et al., 2014, 2020), e l'aumento dell'incidenza grava principalmente sui centrocampisti, mentre sembra risparmiare i portieri (Chiò et al., 2009). L'esordio di malattia, tra i calciatori professionisti, è molto più precoce, vista l'età media intorno ai 45 anni (Pupillo et al., 2020). I centrocampisti, in confronto agli altri ruoli, non solo coprono più distanza totale corsa ogni partita, ma anche quella coperta a maggior intensità (Bradley et al., 2009). Ciononostante, rispetto ai ciclisti, possiedono un minor VO_{2MAX} (Hug et al., 2006; Mujika & Padilla, 2001), quindi non è l'intensità dell'esercizio a essere l'unico potenziale responsabile. Dal punto di vista "traumatologico" invece, la frequenza di questi tra cestisti e calciatori sarebbe sovrapponibile, fatta eccezione per i colpi di testa nei secondi (McGuine, 2006). Uno sport che accosta traumi cranici iterativi e SLA è senz'altro il *football* americano: secondo un recente studio, l'incidenza di SLA tra i giocatori della *National Football League* (NFL) è circa 3.59 volte superiore a quella della popolazione (95% CI 2.58-4.93) (Daneshvar et al., 2021). I frequenti traumatismi inoltre sono responsabili di un'entità clinico-patologica da poco riconosciuta, l'encefalopatia traumatica cronica (*Chronic Traumatic Encephalopathy,* CTE) (Omalu et al., 2005), i cui *hallmark* istopatologici vengono rinvenuti nel 99% degli ex-giocatori NFL sottoposti ad autopsia(Mez et al., 2017). Anomalo però che nel rugby, che accomuna senz'altro il tappeto erboso, l'intensità di esercizio, e i traumatismi, non sia univoco e palese l'aumento di incidenza di SLA(Beghi et al., 2010; Blecher et al., 2019; Kiernan, 2009).

I possibili indagati rimangono i pesticidi impiegati per il vigore del manto erboso, l'abuso di farmaci (leciti o meno), gli integratori e l'attività fisica (Bozzoni et al., 2016).

d. Metalli

Il ruolo dell'esposizione a metalli pesanti quali piombo, selenio, mercurio, cadmio e ferro come fattore di rischio di SLA è da tempo inquisito, con sentenze contraddittorie. Il meccanismo secondo cui i metalli contribuirebbero alla neurodegenerazione è stato vastamente esplorato, ma solo parzialmente caratterizzato (Trojsi et al., 2013). Una revisione sistematica di 50 studi sull'argomento ha individuato solo 3 studi nei quali l'associazione è stata suggerita; uno di questi riportava un rischio stimato visibilmente aumentato per i soggetti esposti a selenio (Sutedja et al., 2009; Vinceti et al., 2000). Questa associazione è stata proposta più volte (Kilness & Hochberg, 1977; Vinceti et al., 2000). Per alluminio, cadmio, cromo, piombo, mercurio e manganese non si sono rilevate associazioni significative (Sutedja et al., 2009). In alcuni pazienti con SLA, si sono individuati polimorfismi di alcuni enzimi, quali l'acido delta-aminolevulinico deidratasi (ALAD), il recettore della vitamina D (*Vitamin D Receptor,* VDR) (Kamel et al., 2003), delle metallotioneine e della glutatione sintetasi. Questi potrebbero essere coinvolti nella risposta individuale agli xenobiotici, come metalli e pesticidi (*Genetic susceptibility to environmental toxicants in ALS - PubMed*, s.d.).

Evidenze *in vivo*, ma non epidemiologiche, delle proprietà neurotossiche in ambito MND esistono per mercurio, cadmio e ferro (Bozzoni et al., 2016; Trojsi et al., 2013). Un autore ha proposto il ruolo del metilmercurio, la forma "alimentare" prona alla biomagnificazione del metallo, anziché la forma organica (Andrew et al., 2018, 2020). Ritengo però che la misurazione a livello ungueale, che può raccontare un'esposizione degli ultimi 6 mesi, sia poco rappresentativa di quella "*lifetime*" e pertanto poco conclusiva, benché lo studio rilevi livelli di metilmercurio significativamente più alti nei casi rispetto ai controlli. Inoltre, anche se la neurotossicità del metilmercurio è nota (come insegna il disastro della baia di Minamata (Chang, 1977; Eto, 1997; Harada, 1995)), il corteo di sintomi che si accompagna all'esposizione acuta o subacuta è più vasto di una mera sintomatologia neuromuscolare, comprendendo anche disturbi visivi, sensoriali e atassia. Casi di SLA seguenti a un'esposizione acuta a mercurio sono aneddotici e isolati (Mangelsdorf et al., 2017; Schwarz et al., 1996).

e. Pesticidi

Nel linguaggio comune, il termine "pesticida" accosta i prodotti fitosanitari e i biocidi, questi ultimi non destinati all'uso diretto su piante, come i rodenticidi. In questo elaborato i termini pesticidi e fitosanitari saranno utilizzati interscambiabilmente. I fitosanitari sono pesticidi che vengono utilizzati per la salute delle colture e impedire malattie e infestazioni. Comprendono erbicidi, fungicidi, insetticidi, acaricidi, fitoregolatori e repellenti (*Pesticidi | EFSA*, s.d.).

In una metanalisi della letteratura, che ha preso in esame un totale di 41 casi di SLA e 84,698 controlli in ambito di esposizione professionale, i fitosanitari associati a SLA sono risultati essere i composti organoclorurati, i piretroidi, gli erbicidi e i fumiganti (Kamel et al., 2012).

L'effetto neurotossico dei pesticidi è noto da tempo: il Tabun (fosfo-dimetil-amido-cianidato), il primo gas nervino di sintesi, data al 1936 sotto la creatività di Schrader, un chimico che lavorava a insetticidi più efficaci (*Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology, Index to Volumes 1 - 26, 5th Edition | Wiley*, s.d.). Il risultato è stato un gas organofosforico, capace di inibire la acetilcolinesterasi, in grado di portare alla morte entro 1-2 minuti gli esposti (PubChem, s.d.-c).

Con più precisione, risale al 1987 la prima descrizione aneddotica di SLA a seguito di una esposizione acuta a pesticidi. Un 59enne precedentemente sano distribuì sulla sua dispensa circa 2 recipienti di "Nippon", un insetticida per formiche costituito da una miscela di 9g di clordano (un pesticida organoclorurato), 454mg di permetrina e il freon, una miscela di alogenuri alchilici impiegati come propellente. Al di fuori di una perdita di coscienza di mezz'ora, il soggetto si riprese completamente. Dopo 2 settimane dall'evento, iniziò ad accusare disartrìa. Nelle settimane seguenti, il paziente divenne tetraparetico, con fascicolazioni alla lingua oggettivabili e *wasting* generale. Ad aggiungersi ai reperti obiettivi, diffuse fascicolazioni, iperreflessia e segno di Babinski positivo. Il sensorio era conservato, sia clinicamente che secondo gli studi di elettroconduzione. L'EMG rilevava potenziali di fibrillazione diffusi e polifasìe delle unità motorie. Il paziente morì a 18 mesi dall'evento, e l'esame necroscopico era coerente con la diagnosi clinica di SLA (Pall et al., 1987).

Gli organoclorurati sono composti caratterizzati da spiccata lipofilia. Vi appartengono, per citarne alcuni, il clordano, il dieldrin, l'eptaclor, il toxafene. Il

capostipite di questi è il DDT. Benché sintetizzato intorno al 1870, la sua attività insetticida fu riconosciuta solo da Paul Hermann Müller nel 1939. La scoperta, che gli valse il Premio Nobel per la Fisiologia o la Medicina solo 9 anni dopo, permise di combattere epidemie infettive che vedevano negli insetti il proprio vettore; ne sono esempi il tifo in corso del Secondo conflitto mondiale, o la malaria in Sardegna e in Maremma.

Gli organoclorurati vengono sommariamente divisi in composti DDT-affini e gli aliciclici clorurati. I composti DDT-affini interagiscono principalmente a livello del sistema nervoso periferico. Questi bersagliano i canali del Na^+ voltaggio-dipendenti (NaV), creando dei post-potenziali instabili con ipereccitabilità assonale attraverso un'incompleta chiusura del canale, al contrario di quanto avverebbe fisiologicamente dopo la depolarizzazione. DDT e affini legano una regione del NaV, in particolare della subunità α, codificata dal locus *para* (da "*paralytic*"), che si individua anche nei NaV dei mammiferi (Davies et al., 2007; Vais et al., 2001; *Voltage-gated sodium channels as primary targets of diverse lipid-soluble neurotoxins - PubMed*, s.d.; Zlotkin, 1999). Gli altri composti prediligono l'inibizione competitiva dei recettori ionotropici dell'acido gamma-aminobutirrico (GABA), in particolare dei $GABA_AR$. Ne risulta un impedimento all'influsso di Cl^-, con seguente ipereccitabilità indiretta. Un'esposizione di 2-8h si correla a depressione centrale, tremori e crisi epilettiche secondarie[183,184.]

Anche i piretroidi godono di spiccata lipofilia. Come gli organoclocurati, agiscono a livello dei NaV, nel medesimo sito di legame. A differenza di questi però, il bersaglio è anche centrale oltre che periferico (Coats, 1990; Davies et al., 2007; Vais et al., 2001).

Questi composti sono caratterizzati da una lunga persistenza nell'ambiente, e da bioaccumulo nella catena alimentare; l'acme della biomagnificazione viene raggiunto dai predatori in cima agli ecosistemi di riferimento, come sottolineato nella vicenda descritta nel paragrafo *b. Razionale* (CAP I) per il DDT.

Per citarne un altro, l'atrazina (un diserbante) e i suoi metaboliti sono misurabili in dosi consistenti per decadi dall'ultimo utilizzo (Jablonowski et al., 2008, 2009, 2011).

Concludendo, diversi studi metanalitici, revisioni sistematiche, studi caso-controllo e studi prospettici supportano il legame tra SLA ed esposizione a pesticidi (Bonvicini et al., 2010; Bozzoni et al., 2016; Kamel et al., 2012; H. Kang et al., 2014; Malek et al., 2012, 2012; Pamphlett, 2012; Su et al., 2016; Sutedja et al., 2009; Weisskopf et al., 2005).

IV. OBIETTIVI DELLO STUDIO

Attraverso uno studio osservazionale longitudinale basato sull'utilizzo delle fonti secondarie, l'obiettivo primario di questa indagine è :

1. Valutare l'incidenza della SLA nella popolazione residente nella Regione Marche nel periodo 2013-2019, utilizzando i flussi amministrativi sanitari regionali (Anagrafe regionale, Schede di Dimissione Ospedaliera [SDO], ed esenzioni);
   Costituiscono obiettivi secondari:
2. Validare l'algoritmo di identificazione dei casi incidenti di SLA nel periodo 2013-2019 studiandone l'accuratezza attraverso un confronto dei casi individuati dai flussi amministrativi con quelli forniti dal database clinico della Struttura Organizzativa Dipartimentale (SOD) clinica di Neuroriabilitazione dell'Azienda Ospedaliera Universitaria (AOU) "Ospedali Riuniti di AN";
3. Confrontare i risultati ottenuti nei vari distretti amministrativi (Province e Comuni della Regione Marche) rispetto al quadro regionale e, laddove disponibili, con dati interregionali.

V. MATERIALI E METODI

Nel presente studio sono stati considerati tutti i soggetti residenti ed assistiti nella Regione Marche di età adulta (≥ 18 anni) nel periodo 2013-2019. Al fine dell'identificazione dei casi incidenti di Sclerosi Laterale Amiotrofica nelle Regione Marche sono state utilizzate come fonti dei dati i seguenti database amministrativi sanitari regionali: anagrafe regionale dei residenti ed assistiti, SDO ed esenzioni. I database sono stati collegati tra loro attraverso una procedura di *record-linkage* di tipo deterministico, utilizzando il codice identificativo unico del soggetto. Le fonti dei dati sono state interrogate nel rispetto della normativa vigente sul trattamento dei dati personali (Dlgs n.196/2003).

L'algoritmo di identificazione dei nuovi casi di SLA nel periodo 2013-2019 includeva tutti i pazienti ricoverati per la prima volta con codice diagnosi ICD-9-CM 335.20*,* o che avevano una prima esenzione per SLA con codice RF0100 dopo il 2013. Sono stati esclusi tutti coloro che non risultavano residenti da almeno 2 anni nella regione Marche e/o che avevano un ricovero o esenzione per SLA nel periodo 2011-2013.

Al fine di valutare l'accuratezza dell'algoritmo di identificazione dei nuovi casi di SLA, è stato effettuato un confronto tra i casi confermati dal registro clinico della SOD Clinica di Neuroriabilitazione ed i casi individuati attraverso l'algoritmo. I casi presenti nel registro, opportunamente anonimizzati, sono stati collegati con i casi rilevati dall'algoritmo attraverso il codice fiscale dell'assistito. È stata quindi è stata stimata la sensibilità (proporzione dei veri positivi e relativo intervallo di confidenza al 95%) dell'algoritmo.

Lo stato di salute dei soggetti è stato valutato attraverso l'indice di comorbosità *Multisource Comorbidity Score* (MCS) (Corrao et al., 2017). Tale indice individua le condizioni croniche dei soggetti utilizzando come fonti di dati le SDO e la Farmaceutica Territoriale e Diretta nei due anni precedenti la data di diagnosi di SLA ed assegnando un punteggio sintetico; a punteggi elevati corrisponde un peggior stato di salute ed è stato categorizzato in 3 classi (0-4; 5-14; ≥15).

Il tasso medio di incidenza nel periodo 2013-2019 ed il tasso di incidenza annuale per 100,000 anni persona sono stati stimati effettuando il rapporto tra la somma dei casi identificati da ciascuna fonte e la popolazione maggiorenne residente al 1° Gennaio di ogni anno nella Regione Marche nel periodo 2013-2019 riportata dall'Istituto Nazionale di Statistica (ISTAT). I tassi di incidenza sono stati analizzati per sesso, Comune e provincia di residenza. È stata valutata anche l'incidenza comunale ed è stata riportata graficamente all'interno di una mappa coropletica.

Ai fini della delineazione delle variabili di interesse è stata condotta un'analisi di tipo descrittivo. Le variabili qualitative sono state sintetizzate attraverso le frequenze assolute e percentuali mentre le variabili di tipo quantitativo attraverso la mediana e 1° e 3° quartile.

Il modello di regressione di Poisson è stato utilizzato per valutare l'andamento temporale del tasso di incidenza annuale totale nonché dei tassi di incidenza annuali stratificati per sesso e per provincia di residenza.

VI. RISULTATI

Sono stati individuati un totale di 389 casi di SLA nella regione Marche nel periodo 2013-2019 dai flussi amministrativi. Di questi, il 90% sono stati identificati dalle SDO, e la restante percentuale dalle esenzioni. Due pazienti sono stati esclusi (v. Tabb. 3, 4). Il 53% dei pazienti è di sesso maschile, con un'età mediana alla diagnosi di 69.9 anni. L'incidenza di SLA nella regione Marche nel periodo di interesse è risultata essere in media di 4.3/100,000 (95% IC 3.9-4.7) persone-anno, con valori variabili da 4.2/100,000 (95% IC 3.2-5.5) nel 2013 a 3.8/100,000 (95% IC 2.8-5) nel 2019. L'andamento osservato dei tassi di incidenza risulta sostanzialmente costante (p_{trend} = 0.124). Il tasso di incidenza di SLA nella Regione nei maschi (4.8/100,000 [95% IC 4.2-5.5]) è risultato significativamente più elevato (p=0.027) rispetto a quello delle femmine (3.8/100,000 [95% IC 3.3-4.4]), senza variazioni significative nel tempo sia per i maschi (p_{trend} = 0.598) che per le femmine (p_{trend} = 0.090). I tassi di incidenza per ciascuna provincia non risultano significativamente diversi dal tasso di incidenza regionale (Ancona [AN] p = 0.854, Ascoli Piceno [AP] p = 0.664, Fermo [FM] p = 0.283, Macerata [MC] p = 0.643, Pesaro-Urbino [PU] p = 0.403). La validazione dell'algoritmo di identificazione dei casi incidenti mediante le fonti secondarie riferite al periodo 2013-2019, ha mostrato valori di sensibilità SE del 95.9% (95% IC 90.2-98.5). Nelle Tabelle 3-10 sono riportate le sintesi dei vari risultati ottenuti. Nelle Figure 1, 2 sono illustrate le heatmaps dei casi incidenti e dell'incidenza per Comune nella Regione Marche nel periodo 2013-2019.

		Fonti secondarie (Regione Marche)		
		Presente	Assente	**Totale**
Registro Clinico (AN)	Presente	**117**	17	**134**
	Assente	272	-	
	Totale	**389**		

Non presenti in anagrafica	10	
Diagnosi prima del 2013	1	**Criteri di esclusione**
Residenti meno di 2 anni	1	
SLA non documentata	5	
	122	**SE 95.9 (90.2 – 98.5)**

Tabelle 3, 4. Validazione dell'algoritmo di identificazione dei casi incidenti nel periodo 2013-2019 con le fonti secondarie. SE = sensibilità.

		Casi (%)
Casi Totali		*389*
*Identificati dal flusso delle **SDO***		*350 (90)*
*Identificati dal flusso delle **ESENZIONI***		*41 (10)*
Età (anni), mediana (IQR)		*69.6 (60.5 - 77.3)*
Genere (M)		*208 (53.5)*
MCS		
	0-4	*224 (57.6)*
	5-14	*127 (32.6)*
	≥15	*38 (9.8)*

Tabella 5. Distribuzione dei nuovi casi di SLA identificati dai flussi amministrativi nella Regione Marche nel periodo 2013-2019. MCS = *Multisource Comorbidity Score.*

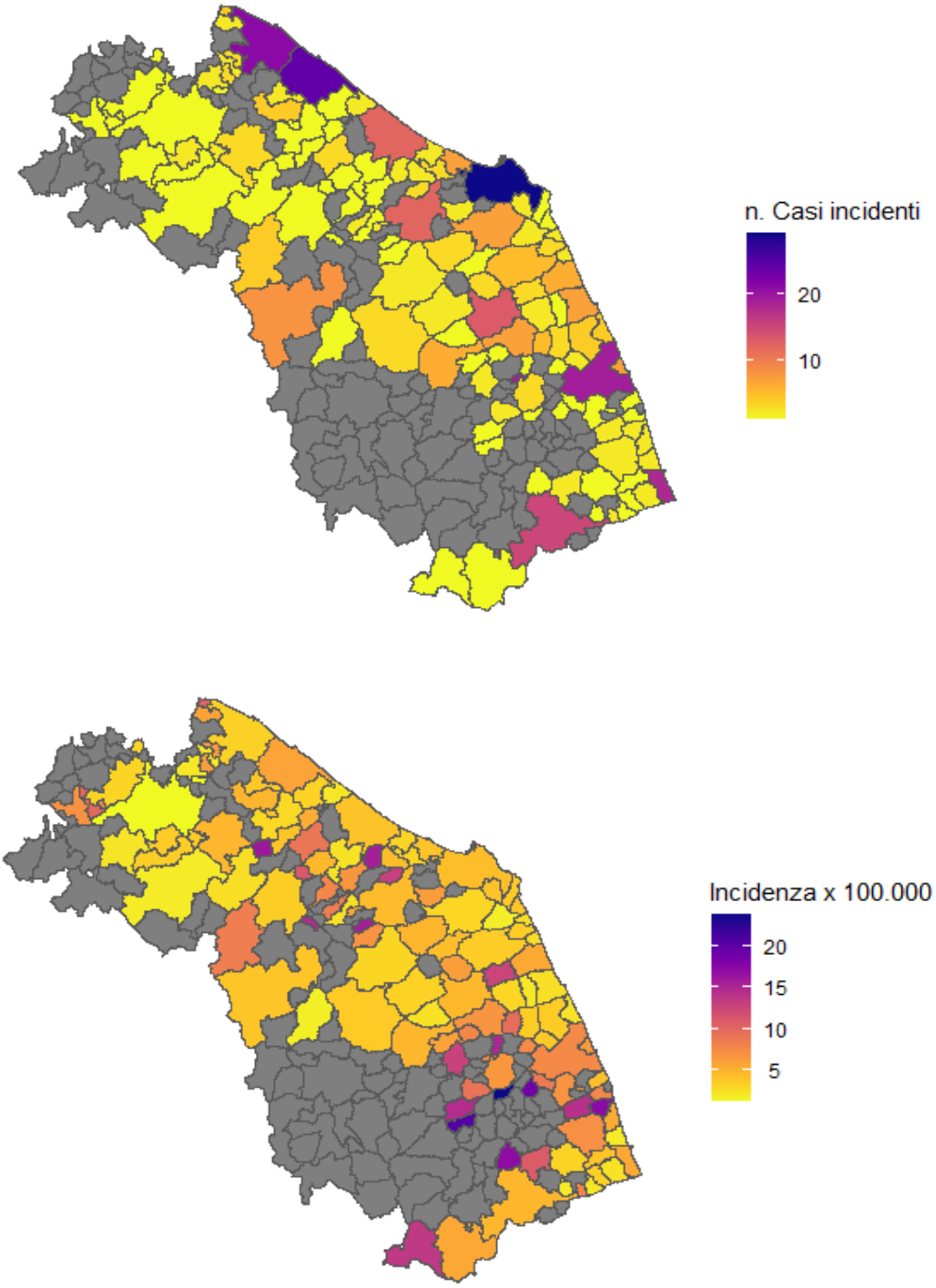

Figure 1, 2. Heatmaps dei casi incidenti di SLA (a sinistra) e dell'incidenza (a destra) per ciascun Comune della Regione Marche nel periodo 2013.2019.

Periodo	**2013**	**2014**	**2015**	**2016**	**2017**	**2018**	**2019**	**2013-2019**	p_{trend}
Totale casi incidenti	55	74	48	57	62	44	49	389	
Prima diagnosi SDO	47	68	42	50	54	38	49	348	
Prima esenzione	8	6	6	7	8	6	0	41	
Popolazione residente ≥18 anni	1,302,957	1,302,378	1,300,277	1,295,262	1,292,379	1,289,677	1,287,883	9,070,813	
Tasso di incidenza annuale (95% IC)	**4.2 (3.2-5.5)**	**5.7 (4.5-7.2)**	**3.7 (2.7-4.9)**	**4.4 (3.4-5.7)**	**4.8 (3.7-6.2)**	**3.4 (2.5-4.6)**	**3.8 (2.8-5)**	**4.3 (3.9-4.7)**	**0.124**

Tabella 6. Distribuzione dei casi incidenti e dei tassi di incidenza di SLA per anno nella Regione Marche nel periodo 2013-2019.

	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2013-2019	p_{trend}
Totale casi incidenti Maschi	30	39	25	27	31	22	34	208	
Popolazione maschi	622,169	621,975	621,174	619,214	618,829	619,140	619,353	4,341,854	
Tasso di incidenza annuale (95% IC)	**4.8 (3.3-6.9)**	**6.3 (4.5-8.6)**	**4 (2.6-5.9)**	**4.4 (2.9-6.3)**	**5 (3.4-7.1)**	**3.6 (2.2-5.4)**	**5.5 (3.8-7.7)**	**4.8 (4.2-5.5)**	**0.598**
Totale casi incidenti Femmine	25	35	23	30	31	22	15	181	
Popolazione femmine	680,788	680,403	679,103	676,048	673,550	670,537	668,530	4,728,959	
Tasso di incidenza annuale (95% IC)	**3.7 (2.4-5.4)**	**5.1 (3.6-7.2)**	**3.4 (2.1-5.1)**	**4.4 (3-6.3)**	**4.6 (3.1-6.5)**	**3.3 (2.1-5)**	**2.2 (1.3-3.7)**	**3.8 (3.3-4.4)**	**0.090**

Tabella 7. Distribuzione dei casi incidenti di SLA per anno per sesso nella Regione Marche nel periodo 2013-2019.

	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2013-2019	p-value trend
AN									
Totale Casi Incidenti	20	19	16	18	18	11	20	122	
Tasso di incidenza annuale [95% IC]	**5 (3-7.7)**	**4.7 (2.9-7.4)**	**4 (2.3-6.5)**	**4.5 (2.7-7.1)**	**4.5 (2.7-7.2)**	**2.8 (1.4-5)**	**5 (3.1-7.8)**	**4.4 (3.6-5.2)**	**0.577**
AP									
Totale Casi Incidenti	10	13	7	4	9	7	7	57	
Tasso di incidenza annuale [95% IC]	**5.6 (2.7-10.3)**	**7.2 (3.9-12.4)**	**3.9 (1.6-8.1)**	**2.2 (0.6-5.7)**	**5 (2.3-9.6)**	**3.9 (1.6-8.1)**	**3.9 (1.6-8.1)**	**4.6 (3.5-5.9)**	**0.220**
FERMO									
Totale Casi Incidenti	6	9	6	9	13	6	3	52	
Tasso di incidenza annuale [95% IC]	**4 (1.5-8.8)**	**6.1 (2.8-11.5)**	**4 (1.5-8.8)**	**6.1 (2.8-11.6)**	**8.8 (4.7-15.1)**	**4.1 (1.5-8.9)**	**2.0 (0.4-6)**	**5.0 (3.8-6.6)**	**0.596**
MC									
Totale Casi Incidenti	12	17	11	8	10	9	9	76	
Tasso di incidenza annuale [95% IC]	**4.4 (2.3-7.8)**	**6.3 (3.7-10.1)**	**4.1 (2-7.3)**	**3 (1.3-5.9)**	**3.7 (1.8-6.9)**	**3.4 (1.5-6.4)**	**3.4 (1.6-6.4)**	**4.1 (3.2-5.1)**	**0.154**
PESARO-URBINO									
Totale Casi Incidenti	7	16	8	18	12	11	10	82	
Tasso di incidenza annuale [95% IC]	**2.3 (0.9-4.7)**	**5.3 (3-8.6)**	**2.6 (1.1-5.2)**	**6 (3.5-9.4)**	**4 (2.1-7)**	**3.6 (1.8-6.5)**	**3.3 (1.6-6.1)**	**3.9 (3.1-4.8)**	**0.849**

Tabella 8. Distribuzione dei casi incidenti e dei tassi di SLA per anno per Provincia di residenza nella Regione Marche nel periodo 2013-2019.

		Periodo	Persone-anno	Totale casi incidenti	Tasso di incidenza (IC 95%)	RTI (IC 95%)	*p*-value
	Marche	2013-2019	9070813	389	4.3 (3.9-4.7)	-	-
Autore, anno	**Regioni a confronto**						
(Pugliatti et al., 2013)	*Sardegna*	1995-2009	7800000	195	2.5 (0.1-4.9)	1.7 (1.4-2.0)	<0.001
(Chiò et al., 2017a)	*Piemonte e Valle d'Aosta*	1995-2014	89538620	2702	3.0 (2.9-3.2)	1.4 (1.3-1.6)	<0.001
(Logroscino et al., 2005)	*Puglia*	1998-1999	8173226	130	1.6 (1.3-1.9)	2.7 (2.2-3.3)	<0.001
(Beghi et al., 2007)	*Lombardia*	1998-2002	24737770	517	2.1 (1.2-3.2)	2.1 (1.8-2.3)	<0.001
(Drigo et al., 2013)	*Friuli Venezia Giulia*	2002-2009	9651968	262	2.7 (2.4-3.1)	1.6 (1.4-1.9)	<0.001
(Ragonese et al., 2012)	*Sicilia*	2005-2006	6931480	97	1.4 (1.3-1.5)	3.1 (2.5-3.8)	<0.001
(Bandettini di Poggio et al., 2013)	*Liguria*	2009-2010	3230128	104	3.2 (2.7-3.9)	1.3 (1.1-1.7)	<0.001
(Gianferrari et al., 2022)	*Emilia Romagna*	2009-2019	48878788	1613	3.3 (3.1- 3.5)	1.3 (1.2- 1.5)	<0.001

Tabella 9. Confronto tra i tassi di incidenza di SLA in diverse regioni italiane con il tasso di incidenza di SLA nella Regione Marche nel periodo 2013-2019. Il p-value è relativo al confronto tra i tassi di incidenza nelle varie Regioni italiane rispetto alla Regione Marche. RTI = rapporto tra i tassi di incidenza, con al numeratore il tasso di incidenza crudo della Regione Marche

Comune	Altitudine	n° casi incidenti	Persone-anno	Incidenza /10000 Persone-anno	IC 95%	Provincia
MONTECOPIOLO	915		7462			PU
CARPEGNA	748		11284			PU
PEGLIO	650		4613			PU
PIETRARUBBIA	572		4214			PU
URBINO	551	1	96621	1.03	0.03-5.77	PU
SERRA SANT'ABBONDIO	536		6608			PU
MONTE GRIMANO TERME	536		7511			PU
MONTE CERIGNONE	528		4466			PU
FRONTINO	519		2016			PU
APECCHIO	493		12292			PU
BORGO PACE	469		3766			PU
SASSOFELTRIO	466		9443			PU
MERCATELLO SUL METAURO	429		9198			PU
TAVOLETO	426		5957			PU
FRATTE ROSA	419	1	6174	16.20	0.41-90.24	PU
FRONTONE	412		8645			PU
CANTIANO	360		14322			PU
SANT'ANGELO IN VADO	359		27643			PU
MONTECALVO IN FOGLIA	345		19166			PU
BELFORTE ALL'ISAURO	344		5173			PU
PIOBBICO	339		12831			PU
PETRIANO	327		19362			PU
SASSOCORVARO AUDITORE	326	1	34216	2.92	0.07-16.28	PU
MC FELTRIA	321		13622			PU
MOMBAROCCIO	321		14392			PU
PIANDIMELETO	319	1	14567	6.86	0.17-38.25	PU
LUNANO	297	1	10129	9.87	0.25-55.01	PU
VALLEFOGLIA	280	2	104132	1.92	0.23-6.94	PU
MONDAVIO	280	1	25963	3.85	0.1-21.46	PU
CAGLI	276	1	57344	1.74	0.04-9.72	PU
MERCATINO CONCA	275		6972			PU
URBANIA	273	1	48545	2.06	0.05-11.48	PU
PERGOLA	265	1	41615	2.40	0.06-13.39	PU
TERRE ROVERESCHE	264	1	36393	2.75	0.07-15.31	PU
MONTEFELCINO	260		17493			PU
SANT'IPPOLITO	246		10346			PU
CARTOCETO	235	2	55356	3.61	0.44-13.05	PU
ISOLA DEL PIANO	210		3871			PU
SAN LORENZO IN CAMPO	209		22477			PU
ACQUALAGNA	204	1	30058	3.33	0.08-18.54	PU
FERMIGNANO	200	2	58324	3.43	0.42-12.39	PU
TAVULLIA	170		55671			PU

COLLI AL METAURO	160	4	85162	4.70	1.28-12.03	PU
SAN COSTANZO	150	1	32165	3.11	0.08-17.32	PU
MONDOLFO	144	2	100261	1.99	0.24-7.21	PU
GRADARA	142	2	34454	5.80	0.7-20.97	PU
FOSSOMBRONE	118	3	64323	4.66	0.96-13.63	PU
MONTE PORZIO	105	1	19488	5.13	0.13-28.59	PU
MONTELABBATE	65	3	48909	6.13	1.26-17.93	PU
FANO	12	24	420735	5.70	3.65-8.49	PU
GABICCE MARE	11	4	39557	10.11	2.76-25.89	PU
PESARO	11	21	673666	3.12	1.93-4.77	PU
ARCEVIA	535	1	30415	3.29	0.08-18.32	AN
CUPRAMONTANA	505		31206			AN
STAFFOLO	442	1	14896	6.71	0.17-37.4	AN
MAIOLATI SPONTINI	405	1	43400	2.30	0.06-12.84	AN
SASSOFERRATO	386	4	48489	8.25	2.25-21.12	AN
POGGIO SAN MARCELLO	385		4508			AN
MONTECAROTTO	380	1	13062	7.66	0.19-42.66	AN
ROSORA	380		13195			AN
MERGO	368	1	6881	14.53	0.37-80.97	AN
MONTE ROBERTO	348		21490			AN
FABRIANO	325	8	209174	3.82	1.65-7.54	AN
GENGA	322		11823			AN
OFFAGNA	306		14427			AN
CASTELPLANIO	305	2	24206	8.26	1-29.85	AN
SERRA SAN QUIRICO	300		18396			AN
FILOTTRANO	270	3	63679	4.71	0.97-13.77	AN
OSIMO	265	7	243047	2.88	1.16-5.93	AN
CERRETO D'ESI	264		24430			AN
CASTELBELLINO	261	2	34776	5.75	0.7-20.77	AN
BELVEDERE OSTRENSE	251	1	15092	6.63	0.17-36.92	AN
OSTRA VETERE	250	1	22106	4.52	0.11-25.2	AN
SANTA MARIA NUOVA	249		28714			AN
SAN MARCELLO	233		13909			AN
CAMERANO	231	2	50813	3.94	0.48-14.22	AN
SAN PAOLO DI JESI	224	1	6405	15.61	0.39-86.99	AN
BARBARA	219	1	9065	11.03	0.28-61.46	AN
SERRA DE' CONTI	216		25683			AN
CASTELLEONE DI SUASA	206		11011			AN
AGUGLIANO	203		33390			AN
CORINALDO	203	3	34062	8.81	1.82-25.74	AN
MORRO D'ALBA	199	2	12817	15.60	1.89-56.37	AN
CASTELFIDARDO	199	2	128219	1.56	0.19-5.63	AN
MONSANO	191	3	23226	12.92	2.66-37.75	AN
TRECASTELLI	143		52297			AN

POLVERIGI	140	2	32270	6.20	0.75-22.39	AN
MONTE SAN VITO	135	2	47761	4.19	0.51-15.13	AN
LORETO	127	3	90363	3.32	0.68-9.7	AN
SIROLO	125	1	28448	3.52	0.09-19.59	AN
CAMERATA PICENA	125		17619			AN
OSTRA	118	1	45339	2.21	0.06-12.29	AN
JESI	97	12	275114	4.36	2.25-7.62	AN
MONTEMARCIANO	92	2	68474	2.92	0.35-10.55	AN
NUMANA	56	1	26383	3.79	0.1-21.12	AN
CHIARAVALLE	22	3	101899	2.94	0.61-8.6	AN
ANCONA	16	29	693756	4.18	2.8-6	AN
FALCONARA MARITTIMA	5	7	180145	3.89	1.56-8.01	AN
SENIGALLIA	5	12	309281	3.88	2-6.78	AN
BOLOGNOLA	1070		1078			MC
CASTELSANTANGELO SUL NERA	780		1694			MC
USSITA	744		2681			MC
FIASTRA	730		4508			MC
SAN GINESIO	690		22386			MC
CAMERINO	661		44653			MC
GUALDO	652		5089			MC
MONTE CAVALLO	648		735			MC
SERRAVALLE DI CHIENTI	647		7357			MC
CINGOLI	631	2	68523	2.92	0.35-10.54	MC
PENNA SAN GIOVANNI	630	1	6867	14.56	0.37-81.14	MC
VISSO	607		6986			MC
MONTE SAN MARTINO	603	1	4858	20.58	0.52-114.69	MC
SARNANO	539		21609			MC
APIRO	516		14693			MC
POGGIO SAN VICINO	509		1582			MC
SEFRO	502		2919			MC
SERRAPETRONA	490		6356			MC
GAGLIOLE	484		3703			MC
FIUMINATA	479		8981			MC
SANT'ANGELO IN PONTANO	473		9142			MC
PIEVE TORINA	470		9219			MC
MUCCIA	454		5936			MC
ESANATOGLIA	446		13475			MC
PIORACO	443		7007			MC
VALFORNACE	441		6314			MC
LORO PICENO	436	2	15680	12.76	1.54-46.08	MC
CESSAPALOMBO	434		3080			MC
RIPE SAN GINESIO	430		5754			MC
COLMURANO	414		8456			MC
MATELICA	354	1	65807	1.52	0.04-8.47	MC

BELFORTE DEL CHIENTI	347		12614			MC
TREIA	342	2	64393	3.11	0.38-11.22	MC
POLLENZA	341	1	45087	2.22	0.06-12.36	MC
CAMPOROTONDO DI FIASTRONE	335		3584			MC
MACERATA	315	13	285334	4.56	2.43-7.79	MC
CALDAROLA	314		11767			MC
MOGLIANO	313		31101			MC
URBISAGLIA	310	1	17241	5.80	0.15-32.32	MC
CASTELRAIMONDO	307		30758			MC
RECANATI	293	5	146825	3.41	1.11-7.95	MC
MONTELUPONE	272	3	23947	12.53	2.58-36.61	MC
PETRIOLO	271	1	13083	7.64	0.19-42.59	MC
CORRIDONIA	255	7	105140	6.66	2.68-13.72	MC
MONTECOSARO	252	1	51562	1.94	0.05-10.81	MC
MORROVALLE	245	2	69419	2.88	0.35-10.41	MC
MONTEFANO	242	1	23485	4.26	0.11-23.72	MC
POTENZA PICENA	237	6	110376	5.44	1.99-11.83	MC
SAN SEVERINO MARCHE	236	3	84833	3.54	0.73-10.33	MC
MONTE SAN GIUSTO	236	5	52360	9.55	3.1-22.28	MC
TOLENTINO	228	6	129752	4.62	1.7-10.06	MC
MONTECASSIANO	215	3	48811	6.15	1.27-17.96	MC
APPIGNANO	199		28455			MC
PORTO RECANATI	6	2	80969	2.47	0.3-8.92	MC
CIVITANOVA MARCHE	3	7	293923	2.38	0.96-4.91	MC
MONTEMONACO	988		3878			AP
MONTEGALLO	870		3234			AP
ARQUATA DEL TRONTO	777	1	7378	13.55	0.34-75.52	AP
FORCE	689		8372			AP
MONTEDINOVE	561		3346			AP
PALMIANO	550		1148			AP
MONTALTO DELLE MARCHE	513		13727			AP
RIPATRANSONE	494	2	28623	6.99	0.85-25.24	AP
CASTIGNANO	475	2	18564	10.77	1.3-38.92	AP
COMUNANZA	448		20881			AP
VENAROTTA	421		13636			AP
MONTEFIORE DELL'ASO	412	2	14077	14.21	1.72-51.32	AP
COSSIGNANO	400		6146			AP
ROTELLA	395	1	5852	17.09	0.43-95.21	AP
ACQUASANTA TERME	392	1	18158	5.51	0.14-30.68	AP
CARASSAI	365		6895			AP
ACQUAVIVA PICENA	359	1	25865	3.87	0.1-21.54	AP
FOLIGNANO	319		63028			AP
MALTIGNANO	307		16275			AP
ROCCAFLUVIONE	299		13671			AP

OFFIDA	293	1	33523	2.98	0.08-16.62	AP
CASTORANO	279		15834			AP
MONTEPRANDONE	273	2	89677	2.23	0.27-8.06	AP
MASSIGNANO	254	2	11550	17.32	2.1-62.55	AP
CASTEL DI LAMA	201	1	59241	1.69	0.04-9.41	AP
APPIGNANO DEL TRONTO	194		11956			AP
SPINETOLI	177	1	50932	1.96	0.05-10.94	AP
COLLI DEL TRONTO	168	2	25802	7.75	0.94-28	AP
MONSAMPOLO DEL TRONTO	158	1	31493	3.18	0.08-17.69	AP
ASCOLI PICENO	154	15	327320	4.58	2.56-7.56	AP
SAN BENEDETTO DEL TRONTO	4	18	332395	5.42	3.21-8.56	AP
GROTTAMMARE	4	2	111888	1.79	0.22-6.46	AP
CUPRA MARITTIMA	4	2	37660	5.31	0.64-19.18	AP
SMERILLO	806		2317			FM
MONTEFALCONE APPENNINO	757		2660			FM
SANTA VITTORIA IN MATENANO	626		8792			FM
MONTEFORTINO	612		7658			FM
MONTELPARO	588		5012			FM
AMANDOLA	500		23569			FM
MONTE RINALDO	475		2296			FM
MONTERUBBIANO	463	1	14756	6.78	0.17-37.76	FM
FALERONE	433	2	22316	8.96	1.09-32.37	FM
MONTE VIDON CORRADO	429		4746			FM
MONTELEONE DI FM	427		2555			FM
MONTEGIORGIO	411	3	45745	6.56	1.35-19.17	FM
MORESCO	405		3829			FM
MONTE VIDON COMBATTE	393		2779			FM
MONTAPPONE	370		11389			FM
PETRITOLI	358		15533			FM
MASSA FERMANA	340		6251			FM
MONTE GIBERTO	322	1	5299	18.87	0.48-105.15	FM
FERMO	319	19	254702	7.46	4.49-11.65	FM
RAPAGNANO	316		13559			FM
BELMONTE PICENO	312	1	4200	23.81	0.6-132.66	FM
ORTEZZANO	301		5096			FM
MAGLIANO DI TENNA	293		10017			FM
MONSAMPIETRO MORICO	289		4396			FM
MONTEGRANARO	279	3	88438	3.39	0.7-9.91	FM
MONTOTTONE	277		6244			FM
LAPEDONA	263		8162			FM
SANT'ELPIDIO A MARE	251	4	118279	3.38	0.92-8.66	FM
PONZANO DI FM	248	1	11564	8.65	0.22-48.18	FM
MONTE URANO	247	2	56077	3.57	0.43-12.88	FM

MONTE SAN PIETRANGELI	241		16296			FM
FRANCAVILLA D'ETE	234	1	6720	14.88	0.38-82.91	FM
GROTTAZZOLINA	227		22582			FM
ALTIDONA	224	1	24563	4.07	0.1-22.68	FM
TORRE SAN PATRIZIO	224	1	13566	7.37	0.19-41.07	FM
SERVIGLIANO	215		15687			FM
CAMPOFILONE	202	1	13286	7.53	0.19-41.94	FM
PORTO SAN GIORGIO	4	7	111566	6.27	2.52-12.93	FM
PORTO SANT'ELPIDIO	4	4	179550	2.23	0.61-5.7	FM
PEDASO	4		19684			FM

Tabella 10. Distribuzione dei casi incidenti e dei tassi di SLA per anno per Comune di residenza nella Regione Marche nel periodo 2013-2019, in ordine decrescente di altitudine del centro abitato per ciascuna Provincia di appartenenza

VII. DISCUSSIONE

a. Critica dei risultati

Questo lavoro di tesi affronta un tema originale. A mia conoscenza, infatti, non sono disponibili dati raccolti in maniera sistematica in un periodo di così lunga data in merito all'epidemiologia della SLA nella Regione Marche.

L'algoritmo utilizzato ha rivelato elevati valori di sensibilità risultando pertanto altamente affidabile nell'identificare i casi incidenti.

I risultati della sua applicazione hanno mostrato come l'incidenza della SLA nella Regione Marche, in media, sia significativamente più elevata di quella descritta in letteratura e riferita ad altre regioni d'Italia, come esemplifica la Tabella 9. In essa sono confrontati i tassi di incidenza osservati in epoche diverse, in un arco temporale variabile, in 8 Regioni d'Italia. L'indagine riferita alla Regione Marche prende in considerazione le diagnosi formulate in un periodo più recente, rispetto alle osservazioni condotte in altre Regioni e oggetto di pubblicazione. Questa discrepanza temporale potrebbe bastare a giustificare la diversa incidenza rilevata, sulla base di almeno due possibili fattori: a) un progressivo aumento di sensibilità degli approcci diagnostici, che consento un'individuazione sempre più precoce della malattia; b) l'andamento demografico, che comporta un progressivo invecchiamento della popolazione e un incremento della fascia di soggetti più esposti allo sviluppo di patologia neurodegenerativa.

Si può discutere che nell'arco degli ultimi 20 anni si siano resi disponibili significativi miglioramenti delle strategie diagnostiche, in quanto i criteri di El Escorial (1998, modificati nel 2000) vengono tutt'ora utilizzati. D'altro lato, l'invecchiamento della popolazione è un dato di fatto: secondo i numeri della *World Bank Data*, dal 1995 al 2013 l'Italia ha subìto un aumento dell'aspettativa di vita da 78 a 83 anni, nel periodo 1993-2019 (*Life expectancy at birth, total (years) - Italy | Data*, s.d.).

A parziale smentita di quanto sopra, nel nostro studio si osserva come, nel periodo 2013-2019, l'incidenza osservata si sia è mantenuta pressoché costante nel tempo (p trend = 0.124), anche quando l'analisi è stata separata per genere.

Da considerare però, il fatto che il periodo di 6 anni possa essere troppo breve per catturare un trend. Il rapporto M:F (1.15) dei casi incidenti nelle Marche nel periodo di riferimento è inferiore a quello calcolato in altri studi italiani, con l'eccezione di quello di Drigo e colleghi (2013) per il Friuli-Venezia-Giulia nel periodo 2002-2009 (M:F = 1.08).

Tra i fattori coinvolti in una possibile modulazione dell'incidenza della SLA devono essere considerati i fattori ambientali. Ad esempio, l'esposizione professionale potrebbe essere uno dei determinanti tra i fattori ambientali della malattia; in letteratura è noto il legame tra esposizione a solventi, pesticidi organoclorurati e lavorazione del pellame. Secondo i dati della Regione, l'occupazione nei settori industriali *sensu strictu* è superiore del 10% rispetto al valore medio della Penisola (("*Le Marche in cifre, 2022", Regione Marche*, s.d.), rispettivamente il 20,4% verso il 30,1% nel 2020.

Nelle Marche, i settori industriali più sviluppati sono l'industria calzaturiera e di concia delle pelli (attività particolarmente floride nei bacini idrografici del fiume Chienti e Tenna e Ete Vivo), l'industria meccanica (principalmente nel bacino del fiume Esino) e quella del settore alimentare (Esino e Tronto). Le Marche sono note anche per la produzione di carta (nel fabrianese) e mobili (bacino del fiume Foglia). La mappa coropletica per l'incidenza (v. Fig. 2) nel periodo 2013-2019 mostra aree apparentemente calde nelle zone della Vallesina, del Misa, lungo il corso del Tenna-Ete Vivo e del Chienti. Si sottolinea che questo dato potrebbe essere fuorviato dal fatto che Comuni con pochi abitanti possano mostrare picchi di incidenza immotivati (ex. Belmonte Piceno, con circa 630 abitanti e incidenza grezza di 23/100'000 casi/persone-anno) (v. Tab. 10), anche in presenza di un solo caso sporadico.

Un documento redatto nel 2008 dalla Regione Marche ha riportato la stima (al 2001) degli addetti delle categorie economiche idroesigenti (Regione Marche, Giunta Regionale – Servizio Ambiente e Paesaggio. *Sezione A "Stato di fatto"*,

2008, p.292). Le aree idrografiche che ospitavano il maggior numero di addetti sono risultate nell'ordine quella del Chienti (35,594 lavoratori stimati, di cui oltre 21,000 coinvolti nel processo di lavorazione del pellame e lavorazione finale dei prodotti di cuoio), dell'Esino (35,007 lavoratori stimati, di cui oltre 10,500 coinvolti nella fabbricazione di macchinari vari), il Foglia (24,105 lavoratori stimati, di cui oltre 8,000 coinvolti nella fabbricazione di mobili e altre industrie manifatturiere), il Musone (22,616 lavoratori stimati), il Tenna-Ete Vivo (20.642 lavoratori stimati, di cui oltre 14,000 coinvolti nel processo di lavorazione del pellame e lavorazione finale dei prodotti di cuoio). Con una prospettiva diversa, l'80% (su un tot. 43,276) degli addetti alla lavorazione del pellame nelle Marche si distribuisce sui bacini del Chienti e dell'Ete Vivo; l'Esino ospita invece gran parte dei lavoratori del settore alimentare e della fabbricazione di apparecchi meccanici, rispettivamente circa il 20% e il 43% sul totale dei lavoratori marchigiani per le suddette categorie. Ciononostante, anche se è relativamente probabile che la residenza e la sede di impiego lavorativo non siano troppo distanti, le *heatmaps* fanno riferimento alla zona di residenza, quando l'esposizione lavorativa potrebbe essersi verificata altrove.

Per quanto riguarda l'inquinamento agricolo, rilevamenti eseguiti dall'ARPA nelle acque sotterranee marchigiane nel periodo 2018-2020 hanno sortito i risultati illustrati in Tabella 11, alla pagina successiva (Dati forniti dal rapporto "*Stato chimico delle acque sotterranee della regione nel periodo 2018-2020"*, redatto dall'Agenzia Regionale per la Protezione Ambientale della Regione Marche, ARPAM).

RETE DI MONITORAGGIO		STATO CHIMICO PER SINGOLA STAZIONE			VALORI IN µ/l			CARATTERISTICHE
CIS	**Stazione**	**GRUPPO**	**Parametro**	**2018 Valori medi**	**2019 Valori medi**	**2020 Valori medi**	**Soglia**	**UTILIZZO**
AV_ASO	070220_AP	Pesticidi	cis-Clordano	0,47	ILD	ILD	0,1	Monitoraggio
AV_ASO	070220_AP	Pesticidi	trans-Clordano	0,14	ILD	nd	0,1	Monitoraggio
AV_ASP	070004_AN	Elementi in traccia	Nichel (Ni)	1,8	130,5	2,1	20	Potabile
AV_ASP	120121_AN	Elementi in traccia	Nichel (Ni)	4,5	23,4	20,4	20	nd
AV_ASP	120070_AN	Composti e ioni inorganici	Cloruri (Cl-)	183	332,4	266,4	250	Monitoraggio
AV_ASP	120070_AN	Altre sostanze	Azoto nitrico (NO3-)	52	150	116,9	50	Monitoraggio
AV_ASP	120086_AN	Altre sostanze	Azoto nitrico (NO3-)	154	148,4	140,5	50	Monitoraggio
AV_CES	070381_PS	Altre sostanze	Azoto nitrico (NO3-)	52	42,6	19,3	50	Potabile
AV_CES	070126_AN	Composti perfluorurati	Acido perfluoroottansolfonico (PFOS)	nd	0,72	nd	0,03	Potabile
AV_CHI	120067_MC	Composti e ioni inorganici	Azoto nitroso (NO2-)	22,5	752	25	500	Altri usi
AV_CHI	120366_MC	Altre sostanze	Azoto nitrico (NO3-)	99,8	87,9	93,5	50	Altri usi

AV_CHI	120075_MC	Altre sostanze	Azoto nitrico (NO3-)	71,5	82,1	82,8	50	Altri usi
AV_CHI	120067_MC	Altre sostanze	Azoto nitrico (NO3-)	24,7	25,7	55,1	50	Altri usi
AV_CHI	070232_MC	Altre sostanze	Azoto nitrico (NO3-)	67,8	72,7	68,7	50	Potabile
AV_CHI	070013_MC	Altre sostanze	Azoto nitrico (NO3-)	80,9	87,1	70	50	Potabile
AV_CHI	070018_MC	Altre sostanze	Azoto nitrico (NO3-)	68,8	70,3	50,1	50	Potabile
AV_ESI	120059_AN	Elementi in traccia	Cromo totale	590,5	604,4	482,1	50	Monitoraggio
AV_ESI	120059_AN	Elementi in traccia	Cromo VI (Cr6+)	575	555	429	6	Monitoraggio
AV_ESI	120074_AN	Composti e ioni inorganici	Azoto nitroso (NO2-)	690	115	25	500	Monitoraggio
AV_ESI	070193_MC	Composti e ioni inorganici	Solfati (SO4-)	4,4	4,7	471,6	250	Potabile
AV_ESI	070052_AN	Pesticidi	trans-Clordano	0,683	ILD	nd	0,1	Potabile
AV_ESI	120067_AN	Pesticidi	trans-Clordano	0,782	ILD	nd	0,1	Monitoraggio
AV_ESI	070077_AN	Pesticidi	trans-Clordano	0,743	ILD	nd	0,1	Potabile
AV_ESI	120088_AN	Altre sostanze	Azoto nitrico (NO3-)	52	48,1	53,5	50	Industriale
AV_ESI	070077_AN	Altre sostanze	Azoto nitrico (NO3-)	55	63,3	51,6	50	Potabile
AV_ESI	120067_AN	Altre sostanze	Azoto nitrico (NO3-)	112,5	124,1	108,6	50	Monitoraggio
AV_ESI	120068_AN	Altre sostanze	Azoto nitrico (NO3-)	126	133	121,6	50	Monitoraggio

AV_ESI	120074_AN	Altre sostanze	Azoto nitrico (NO3-)	190	130,2	105,5	50	Monitoraggio
AV_ESI	120083_AN	Altre sostanze	Azoto nitrico (NO3-)	63	59,5	45,1	50	Monitoraggio
AV_ESI	070262_AN	Composti perfluorurati	Acido perfluoroottansolfonico (PFOS)	nd	0,54	nd	0,03	Potabile
AV_ESI	120083_AN	Composti perfluorurati	Acido perfluoroottansolfonico (PFOS)	nd	0,99	nd	0,03	Monitoraggio
AV_ESI	070261_AN	Composti perfluorurati	Acido perfluoroottansolfonico (PFOS)	nd	0,45	nd	0,03	Potabile
AV_ESI	120088_AN	Composti perfluorurati	Acido perfluoroottansolfonico (PFOS)	nd	0,5	nd	0.03	Industriale
AV_ETV	070653_AP	Elementi in traccia	Boro (B)	356,4	1275	196,8	1000	nd
AV_ETV	070636_AP	Pesticidi	Atrazina	1,54	nd	ILD	0.1	nd
AV_ETV	070636_AP	Pesticidi	Metolachlor	nd	nd	0,187	0.1	nd
AV_ETV	070653_AP	Altre sostanze	Azoto nitrico (NO3-)	86,5	ILD	66,4	50	nd
AV_FOG	070270_PS	Composti e ioni inorganici	Solfati (SO4-)	281	220,3	258,6	250	Potabile
AV_FOG	070130_PS	Composti perfluorurati	Acido perfluorobutansolfonico (PFBS)	nd	3,73	nd	3	Potabile
AV_MEN	070105_AP	Altre sostanze	Azoto nitrico (NO3-)	65,8	20	17,5	50	Monitoraggio

AV_MET	070118_PS	Policlici aromatici	Benzo(a)pirene	ILD	0,306	0,063	0.01	Potabile
AV_MET	070118_PS	Policlici aromatici	BENZO(b)fluoranthene	ILD	0,315	ILD	0.1	Potabile
AV_MET	070118_PS	Policlici aromatici	Benzo(K)fluoranthene	ILD	0,159	0,012	0.05	Potabile
AV_MET	070118_PS	Policlici aromatici	Benzo(g,h,i)perilene	ILD	0,218	ILD	0.01	Potabile
AV_MET	070118_PS	Policlici aromatici	Dibenzo (a,h) antracene	ILD	0,064	ILD	0.01	Potabile
AV_MET	070118_PS	Policlici aromatici	Indeno (1,2,3-cd) pirene	ILD	0,161	nd	0.1	Potabile
AV_MET	070435_PS	Altre sostanze	Azoto nitrico (NO3-)	81	46,7	34,8	50	Potabile
AV_MET	070063_PS	Altre sostanze	Azoto nitrico (NO3-)	95	87,4	78,9	50	Potabile
AV_MET	070118_PS	Altre sostanze	Azoto nitrico (NO3-)	72,5	46,4	2,9	50	Potabile
AV_MIS	120116_AN	Composti e ioni inorganici	Cloruri (Cl-)	120	146,8	309,8	250	Altri usi
AV_MIS	120065_AN	Pesticidi	Azoxystrobin	ILD	ILD	0,109	0.1	Monitoraggio
AV_MIS	120116_AN	Pesticidi	cis-Clordano	ILD	ILD	1,449	0.1	Altri usi
AV_MIS	070246_AN	Pesticidi	Metolachlor	ILD	ILD	0,228	0.1	Potabile
AV_MIS	070147_AN	Pesticidi	Metolachlor	0,042	ILD	0,276	0.1	Potabile
AV_MIS	070136_AN	Pesticidi	Metolachlor	ILD	ILD	0,165	0.1	Potabile
AV_MIS	120065_AN	Pesticidi	Metolachlor	ILD	ILD	0,114	0.1	Monitoraggio
AV_MIS	120065_AN	Altre sostanze	Azoto nitrico (NO3-)	88	87,1	92,1	50	Monitoraggio
AV_MIS	070246_AN	Altre sostanze	Azoto nitrico (NO3-)	70,5	40,6	11,5	50	Potabile

AV_MUS	070012_AN	Composti e ioni inorganici	Cloruri (Cl-)	306	45,9	47,7	250	Potabile
AV_MUS	120120_AN	Altre sostanze	Azoto nitrico (NO3-)	91,5	19,3	97,7	50	Altri usi
AV_MUS	120115_AN	Altre sostanze	Azoto nitrico (NO3-)	58	67,4	68,8	50	Altri usi
AV_MUS	070012_AN	Altre sostanze	Azoto nitrico (NO3-)	71,5	23,5	13,3	50	Potabile
AV_MUS	070029_AN	Altre sostanze	Azoto nitrico (NO3-)	59	59,2	44,9	50	Potabile
AV_MUS	120061_AN	Composti perfluorurati	Acido perfluoropentanoico (PFPeA)	nd	4,5	nd	3	Monitoraggio
AV_POT	120360_MC	Composti e ioni inorganici	Cloruri (Cl-)	405,5	438,8	497,3	250	Altri usi
AV_POT	120746_MC	Altre sostanze	Azoto nitrico (NO3-)	42,8	38,6	58,9	50	Altri usi
AV_POT	120362_MC	Altre sostanze	Azoto nitrico (NO3-)	86,7	92,4	97,9	50	Altri usi
AV_POT	120352_MC	Altre sostanze	Azoto nitrico (NO3-)	55,5	60,9	90,7	50	Altri usi
AV_POT	070086_MC	Altre sostanze	Azoto nitrico (NO3-)	37,1	57,2	34	50	Potabile
AV_POT	120364_MC	Altre sostanze	Azoto nitrico (NO3-)	62,6	59,8	62,3	50	Altri usi
AV_POT	120360_MC	Altre sostanze	Azoto nitrico (NO3-)	55,4	48,1	46,2	50	Altri usi
AV_TEN	070247_AP	Altre sostanze	Azoto nitrico (NO3-)	76,8	64,5	43,4	50	Monitoraggio

AV_TRO	070158_AP	Composti e ioni inorganici	Azoto nitroso (NO2-)	5	545	860	500	Monitoraggio
AV_TRO	070158_AP	Composti e ioni inorganici	Solfati (SO4-)	1011,5	683,1	1020,2	250	Monitoraggio
AV_TRO	070158_AP	Composti e ioni inorganici	Cloruri (Cl-)	379,3	228	323,2	250	Monitoraggio
AV_TRO	070184_AP	Composti e ioni inorganici	Cloruri (Cl-)	118,8	391,8	150,7	250	Potabile
AV_TRO	070158_AP	Altre sostanze	Conducibilità e.s.	3095	2440	nd	2500	Monitoraggio
AV_TRO	070188_AP	Altre sostanze	Azoto nitrico (NO3-)	184,1	201,9	194,5	50	Potabile
AV_TRO	070212_AP	Altre sostanze	Azoto nitrico (NO3-)	56,6	116,9	87,3	50	Potabile
AV_TRO	070158_AP	Altre sostanze	Azoto nitrico (NO3-)	104,5	170,9	157,2	50	Monitoraggio
CA_DOM	070244_AN	Elementi in traccia	Nichel (Ni)	nd	54,1	nd	20	Altri usi
CA_DOM	060162_AN	Policlici aromatici	Benzo(a)pirene	nd	0,016	nd	0.01	nd
CA_DOM	060162_AN	Policlici aromatici	Benzo(g,h,i)perilene	nd	0,025	nd	0.01	nd
CA_DOM	060162_AN	Policlici aromatici	Dibenzo (a,h) antracene	nd	0,01	nd	0.01	nd
CA_DOM	060167_AN	Pesticidi	cis-Clordano	1,022	ILD	ILD	0.1	Potabile
CA_DOM	060167_AN	Pesticidi	trans-Clordano	1,282	ILD	nd	0.1	Potabile

CA_DOM	060137_AN	Altre sostanze	Azoto nitrico (NO3-)	54,5	3,3	3,2	50	Potabile
CA_DOM	060054_AN	Altre sostanze	Azoto nitrico (NO3-)	52	59,9	72,2	50	Potabile
LOC_BM	060263_PS	Elementi in traccia	Selenio (Se)	25	19,7	19,2	10	Potabile
LOC_CM	070323_PS	Pesticidi	Atrazina	0,143	ILD	nd	0.1	Potabile
LOC_LA	070192_AP	Composti e ioni inorganici	Azoto nitroso (NO2-)	5	nd	612	500	Potabile
LOC_MA	070340_PS	Clorobenzeni	Esaclorobenzene	nd	0,02	nd	0.01	Potabile

Tabella 11. Stazioni e sostanze non conformi agli standard di qualità ambientale e ai valori soglia nel periodo 2018-2010. Dati forniti da ARPA Marche.CIS = Corpo Idrico Superficiale. In rosso, i valori sopra soglia; in verde, le sostanze la cui esposizione cronica è, con maggior univocità in letteratura, associata a SLA; in arancione, l'utilizzo cui sono destinate le acque sondate, in cui le sostanze di interesse sono risultate sopra soglia. .

I dati relativi all'inquinamento delle falde sotterranee sono un mero aspetto "descrittivo"; obiettivo di questa trattazione non è la rivelazione di una associazione specifica, quanto descrivere un fenomeno inserito all'interno di un'ambiente con alcune caratteristiche, I siti inquinati principalmente con composti organoclorurati (di impiego agricolo) sono nella maggior parte dei casi diretti appartenenti idrografici o tributari indiretti dell'Esino e del Misa, mentre si registrano contaminazioni anche nell'Aso e nell'Ete Vivo. Tra le zone sondate, alcune di queste con valori oltre i limiti sono destinate a uso potabile. Un limite di questa analisi, sebbene molto approfondita, è la non concordanza temporale con il campione preso di riferimento nell'analisi epidemiologica (2018-2020 verso 2013-2019). Essendo gli organoclorurati fortemente apolari, il loro monitoraggio nelle acque non rende probabilmente giustizia al processo di biomagnificazione cui queste sostanze sono sottoposte. In un ciclo di analisi sui mìtili svolte per il Piano Tutela Acque della regione Marche nei primi anni 2000, si è segnalata la presenza di isomeri del DDT e di uno dei suoi metaboliti (DDE) in pressoché tutte le stazioni di monitoraggio (Tavollo, Foglia, Metauro, Cesano, Esino, Ancona, Conero, Musone, Potenza, Chienti, Tenna, Aso, Tesino, Tronto); rilevata anche la presenza di γ- e β-esacloroesano e esaclorobenzene (fiume Cesano, 2004) e di γ - esacloroesano nelle stazioni Chienti ed Esino; di esaclorobenzene nei campioni di Tavollo, Foglia, Esino, Aso e Conero nell'anno 2005. Per quanto riguarda i metalli pesanti, la loro presenza non è stata riconducibile a concentrazioni superiori agli standard di qualità (Regione Marche, Giunta Regionale – Servizio Ambiente e Paesaggio. *Sezione A "Stato di fatto"*, 2008, p.499). Questi parametri mostravano un *trend* in miglioramento negli anni successivi; tuttavia giudicare la salute ecologica dell'ambiente attraverso campioni marini rischia di essere una prospettiva ecologica impoverita.

Le aree maggiormente sfruttate ai fini agricoli sono quelle appartenenti ai bacini dell'Esino (68,000 Ha), del Chienti (77,000 Ha) e del Metauro (59,000 Ha), e sono principalmente investite a semina di cereali e foraggio, e vitigni. Le sponde dell'Esino sono spettatrici anche di oltre 2,4 milioni di capi di allevamento (il 30% della popolazione allevata Regionale), principalmente avicoli; in termini di estensione di allevamenti, seguono Tenna e Ete Vivo.

Non è da escludere un concerto ecologico tra i due settori primari: i cereali e i vitigni sono piantagioni fragili che vengono abbondantemente protette dai prodotti fitosanitari, i quali potrebbero entrare nella catena alimentare anche attraverso il foraggio di animali (i quali però non sono a esclusivo consumo locale).

Si rammenta che, nelle vesti di uno studio ecologico, lo scopo di questa analisi ha un valore che si limita a quello descrittivo. Con i dati a disposizione risulta impossibile sostenere ipotesi di causa. La diffusione degli inquinanti è oggetto di modellistiche molto articolate, poiché risentono delle condizioni meteo (le precipitazioni medie annue seguono un gradiente decrescente dall'Appennino all'Adriatico marchigiano), dell'orografia del territorio (quindi, oltre che dei corsi d'acqua, anche dei vènti), di flora e fauna. Ad esempio, inquinanti volatili impiegati nelle coltivazioni possono essere trasportati dal vento, contaminare il foraggio di animali (soggetti a bioaccumulo), o rimanere intrappolati negli abiti stesi all'esterno ad asciugare ed entrare in casa. O ancora, pesci detritofagi possono biomagnificare ecotossine, a loro volta divenire prede di uccelli, le cui deiezioni o carcasse diventare un *reservoir* dispersibile altrove. È senz'altro un errore investire di colpa un apparente eclatante agente di inquinamento e saltare a conclusioni affrettate.

La maggiore incidenza di SLA nella Regione Marche rispetto alle altre Regioni è, tuttavia, un fattore che merita attenzioni sia dal punto di vista scientifico che di salute pubblica. Risulterebbe senz'altro utile un riscontro epidemiologico in parallelo, idealmente in tutte le Regioni d'Italia, utilizzando l'algoritmo impiegato in questo studio. È compito dell'epidemiologia analitica indagare più approfonditamente i rapporti di causalità; è innegabile però che in alcune aree l'incidenza sia più alta che in altre. Questo potrebbe essere favorito dal comportamento singamico di alcune micro-popolazioni geograficamente isolate dalle altre, con trasmissione di polimorfismi predisponenti (anche non noti) agli eredi, o l'esistenza di un progenitore comune. Vista la possibile esistenza di un "modello oligogenico" di SLA, questa ipotesi non è da escludere, in quanto porterebbe all'elusione della testistica genetica oggi disponibile (SOD1, C9ORF72, etc.) facendo risultare come sporadici dei casi a trasmissione familiare (con parentele lontane). Ad esempio, se diversi polimorfismi di diversi geni agissero in modo patogenicamente sinergico in un soggetto, questo potrebbe manifestare una

malattia in modo isolato, in quanto poi il corteo di geni alterati andrebbe a diluirsi nelle generazioni, in modo diverso da quanto accadrebbe da una forma monogenica autosomica dominante. Nel 1999, uno studio condotto su 3 probandi marchigiani è risultato essere legato a 28 altri casi di SLA familiare ad elevata penetranza (90%, senza preferenza di genere). La loro analisi genealogica, spinta fino al 1800, ha portato gli Autori a concludere che i pazienti avessero dei parenti provenienti dalle medesime aree dell'entroterra marchigiano. Tutti i pazienti erano portatori di una mutazione esonica missenso puntiforme (L84F, esone 4 del gene SOD1) che ha portato alla clusterizzazione della malattia. Gli Autori hanno ipotizzato l'esistenza di un progenitore comune (Ceroni et al., 1999).

b. Punti di forza e limitazioni

Questo studio ha dei punti di forza e delle fragilità che è bene riassumere in modo sistematico. Tra i punti di forza riconosciamo un periodo sufficientemente lungo da individuare 389 casi incidenti, un numero soddisfacente in termini di analisi epidemiologica considerando la relativa rarità della SLA. Il *record-linkage* deterministico, utilizzato per incrociare più flussi amministrativi (anagrafe, SDO, esenzioni) ha mostrato un'elevata sensibilità nel catturare i casi incidenti di SLA nel periodo di riferimento. Questo algoritmo potrebbe essere sfruttato, in parallelo, in più Regioni italiane in modo da offrire un quadro epidemiologico più vasto e solido, nonché omogeneo dal punto di vista metodologico e quindi confrontabile. Questo lavoro è inoltre il primo ad affrontare in maniera sistematica, sul lungo periodo, l'epidemiologia della SLA nella Regione Marche.

Le limitazioni di questo studio possono essere suddivise in a) metodologiche e b) tecniche. Tra le metodologiche, ci si sente di sottolineare che:

- **Disegno dello studio.** il presente studio è uno studio osservazionale di tipo ecologico, il quale per sua natura fallisce nell'individuare una correlazione tra ambiente e malattia;

- **Periodo temporale di riferimento.** la lunghezza del periodo di riferimento potrebbe non essere stata sufficiente a individuare un andamento dell'incidenza di SLA nella Regione Marche.

  Il periodo in esame inoltre è francamente diverso da quello esaminato negli altri studi, così come i database utilizzati dai vari Autori per raccogliere i casi incidenti: non si può escludere se queste incoerenze sul piano metodologico e temporale siano complici delle diversità epidemiologiche.

Tra le limitazioni tecniche, si possono riconoscere:

- **Dati limitati.** Le limitazioni dei dati, e il limitato accesso a questi, sono principalmente rivolte alla storia dei pazienti e della salute ambientale. Per quanto riguarda i pazienti, sarebbe risultato utile conoscere:
  - Maggiori informazioni sulla residenza dei casi incidenti: da quanto il paziente fosse ivi residente, se il paziente avesse residenze multiple;
  - Informazioni sulla storia lavorativa dei casi incidenti: impiego e sottocategoria di impiego (es, impiegato operaio in calzaturificio addetto alla suolatura delle scarpe), luogo di lavoro, cronologia della storia lavorativa (quanti lavori e per quanto tempo);
  - Informazioni sull'anamnesi personale dei casi incidenti: non si hanno notizie sullo stile di vita del paziente, o se fosse esposto ad agenti ambientali ad oggi negletti (*Hobby*? Attività sportiva?)
  - Informazioni sulla storia di SLA: modalità di esordio (spinale, bulbare), anche specifico (arti superiori, inferiori, tronco e diaframma);
  - Impossibilità di distinguere con certezza casi di SLA sporadica e familiare;

  Per quanto riguarda l'ambiente, sarebbe risultato utile conoscere:

  - Maggiori informazioni sulla salute delle acque, ma anche dei terreni, temporalmente coerenti con la nostra analisi. Non ci è dato sapere se i parametri analitici siano migliorati o peggiorati nel tempo. Sarebbe interessante ottenere più dati in merito alle acque potabili, o alla salute dell'ambiente a monte, nei pressi, e a valle degli impianti di potabilizzazione. Un altro spunto sarebbe uno studio meteorologico-

orografico di come, nel corso dell'anno o degli anni, le precipitazioni, i vènti e i bacini idrografici si comportino in modo da individuare sistematicamente potenziali fattori mobilizzanti e accumulanti;

- **Età dei dati.** Alcuni dati, come quelli sulle indagini delle acque fornite dall'ARPA Marche, sono troppo giovani rispetto al periodo di riferimento. Non è stato possibile risalire alle condizioni ambientali dei punti caldi in periodi precedenti a questo.

Visti i limiti riconosciuti, la cooperazione tra ricerca, sanità pubblica e i servizi di protezione ambientale, come l'ARPA o l'Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale (ISPRA) potrebbe contribuire a rispondere agli interrogativi in sospeso. Riconoscere con certezza un fattore eziologico significa prevenzione.

VIII. CONCLUSIONI

Lo studio osservazionale condotto ha rilevato un'incidenza di SLA nella Regione Marche nel periodo 2013-2019 statisticamente superiore a quella delle altre Regioni italiane, in cui l'epidemiologia della SLA è stata indagata. Le Marche si caratterizzano per alcuni aspetti ambientali che la letteratura ha ampiamente indagato come fattori di rischio di SLA, ma nei limiti di uno studio osservazionale di tipo ecologico, non ci è stato possibile giungere a ipotesi di correlazione, per le quali servono ulteriori analisi.

Tra i limiti sottolineo il disegno ecologico di questo studio, che non offre la possibilità di ipotesi di correlazione, l'incoerenza sul piano temporale con gli altri studi epidemiologici svolti nel resto d'Italia in ambito SLA, e la mancanza di alcuni dati importanti circa i pazienti e la salute ambientale.

Questo è il primo studio condotto in maniera sistematica che valuta l'incidenza della SLA nella Regione Marche nel lungo periodo. Alla luce della buona accuratezza del nostro algoritmo di identificazione dei casi incidenti nella suddetta Regione nel periodo di riferimento, la metodologia impiegata potrebbe essere estesa in più Regioni italiane in modo da ottenere risultati più omogenei e meglio confrontabili.

RINGRAZIAMENTI

Il capitolo più difficile. La scuola di Medicina è un percorso così lungo che con la massima probabilità ci si dimentica di manifestare gratitudine a qualcuno, magari cruciale nei primi anni, da cui poi ci si è allontanati. Le dinamiche sociali in 6 anni cambiano profondamente, non solo ci si divezza (come mi è successo) dalle compagnie adolescenziali, ma si creano e sfaldano nuovi legami. Sei anni sono un quarto della vita vissuta fino ad oggi, si entra quasi spensierati e si esce cresciuti. Se potessi incontrarmi il giorno dopo del test, mi farei coraggio e offrirei compassione. Nella lunghezza di questo cammino sarebbe riduttivo limitarmi alla famiglia o ai colleghi, l'Università si "vive" come fosse una città, e non solo in ambito di studi.

Comincerei in modo "sistematico" ringraziando i miei genitori, mio fratello Alessio e Andra, la mia ragazza. Questi 4 nomi sono stati la costante di questo cammino, una colonna portante. Andra è il mio porto sicuro, fonte di ispirazione e supporto. Ringrazio Federico C., con il quale ho condiviso quasi tutto il viaggio, dal test alla celebrazione, dai trionfi alle sconfitte; e Paolo P., con cui il legame in quest'ultimo anno di "coinquilinanza" è rinato, dopo alcuni puntini di sospensione. Ringrazio Enio P. e il nostro rapporto quasi fraterno. Loro 3 sono stati il paracolpi di questo anno molto duro, ma anche il più bello. Il nostro rapporto è stato fondamentale, specie quando alcune cose non sono andate. Ringrazio Lorenzo R. e Federico P., i primi coi quali ho fatto amicizia all'Università, che è risorta vigorosa in quest'ultimo anno. Ringrazio Marti e "Ale & Ele", le mie 3 sorelle (ma loro non lo sanno) di questa passeggiata: ci siamo voluti molto bene e "presi a schiaffi" quando serviva. Ringrazio anche Selene M., e la nostra amicizia nata da un fertile suolo di "sportello di ascolto" bidirezionale. Ringrazio Francesko A. per avermi trascinato nelle sue avventure montane, un gorgo che mi ha avviluppato e si sta trasformando in passione. La mia gratitudine non si vuole fermare al tetto del Polo Eustachio. Ringrazio Alessandro P. e Amedeo B., amici da una vita nonostante gli alti e bassi. A loro devo la mia adolescenza. Voglio ringraziare anche i compagni delle Scuole Superiori con cui sono riuscito a rimanere in contatto, in particolare Vincenzo P., Stefano E., Ludovico E., i quali, grazie a uscite e vacanze, mi hanno più volte regalato una boccata

di ossigeno lontana dall'ambiente sanitario. Ringrazio i ragazzi della pagina Facebook *The Medical Alphabet*: da colleghi articolisti ad amici a distanza il passo è stato breve.

Quindi un ringraziamento a Lydia J., che mi ha aperto le porte a quest'esperienza di soddisfazioni; a Paolo C. e Angelo B., che non fatico ad investire del titolo di "maestri": coi giusti toni mi hanno ispirato e guidato, nonché istruito (grazie anche alle mie tediose richieste di "consulenze"). Ringrazio i miei parenti per essermi stati vicino quando è servito, in particolare zio Giacomo, zio Giovanni, zia "Peppina" e i miei nonni paterni, Giancarlo e Carla.

Ringrazio il Dr. Gaspare Costa, che mi ha rivoluzionato l'esistenza e permesso di uscire da un periodo molto difficile.

Voglio ringraziare anche il Prof. Procopio e la Prof.ssa Ceravolo. Sono andati oltre il loro ruolo di Professori e hanno avuto il coraggio, o la forza, o la pazzia di darmi ascolto per primi. Covavo questa idea da anni, ma solo da loro mi sono sentito compreso e ho avuto la loro fiducia.

Un ringraziamento speciale a nonna Nicolina e nonno "'Ngelì", cui dedico questo lavoro. Spero siate orgogliosi di me.

- Federico

REFERENZE

A novel gene containing a trinucleotide repeat that is expanded and unstable on Huntington's disease chromosomes. The Huntington's Disease Collaborative Research Group. (1993). *Cell*, *72*(6), 971–983. https://doi.org/10.1016/0092-8674(93)90585-e

A, P. (1892). Uber die Beziehungen der senilen Hirnatrophie zur Aphasie. *Prag Med Wochenschr*, *17*, 165–167.

Alcaz, S., Jarebinski, M., Pekmezović, T., Stević-Marinković, Z., Pavlović, S., & Apostolski, S. (1996). Epidemiological and clinical characteristics of ALS in Belgrade, Yugoslavia. *Acta Neurologica Scandinavica*, *94*(4), 264–268. https://doi.org/10.1111/j.1600-0404.1996.tb07063.x

Analysis of amyotrophic lateral sclerosis as a multistep process: A population-based modelling study—The Lancet Neurology. (s.d.). Recuperato 24 luglio 2022, da https://www.thelancet.com/journals/laneur/article/PIIS1474-4422(14)70219-4/fulltext

Andersen, P. M., Nilsson, P., Keränen, M. L., Forsgren, L., Hägglund, J., Karlsborg, M., Ronnevi, L. O., Gredal, O., & Marklund, S. L. (1997). Phenotypic heterogeneity in motor neuron disease patients with CuZn-superoxide dismutase mutations in Scandinavia. *Brain: A Journal of Neurology*, *120 (Pt 10)*, 1723–1737. https://doi.org/10.1093/brain/120.10.1723

Andersen PM, Borasio GD, Dengler R, et al. (2007). *Good practice in the management of amyotrophic lateral sclerosis: Clinical guidelines. An evidence-based review with good practice points. EALSC Working Group. 8*, 195-213.

Andrew, A. S., Chen, C. Y., Caller, T. A., Tandan, R., Henegan, P. L., Jackson, B. P., Hall, B. P., Bradley, W. G., & Stommel, E. W. (2018). Toenail mercury levels are associated with amyotrophic lateral sclerosis (ALS) risk. *Muscle & nerve*, 10.1002/mus.26055. https://doi.org/10.1002/mus.26055

Andrew, A. S., O'Brien, K. M., Jackson, B. P., Sandler, D. P., Kaye, W., Wagner, L., Stommel, E. J., Horton, K. D., Mehta, P., & Weinberg, C. R. (2020). Keratinous biomarker of mercury exposure associated with amyotrophic lateral sclerosis risk in a nationwide U.S. study. *Amyotrophic lateral sclerosis & frontotemporal degeneration*, *21*(5–6), 420–427. https://doi.org/10.1080/21678421.2020.1753777

Armitage, P., & Doll, R. (1954). The Age Distribution of Cancer and a Multi-stage Theory of Carcinogenesis. *British Journal of Cancer*, *8*(1), 1–12.

Assessments), T. M. (Pteropidae. (2019). IUCN Red List of Threatened Species: Pteropus mariannus. *IUCN Red List of Threatened Species*. https://www.iucnredlist.org/en

Bach, J. (2004). Air stacking for cough assistance. *Muscle & Nerve*, *30*(5), 680–681; author reply 681. https://doi.org/10.1002/mus.20116

Bak, T. H., & Hodges, J. R. (2001). Motor neurone disease, dementia and aphasia: Coincidence, co-occurrence or continuum? *Journal of Neurology*, *248*(4), 260–270. https://doi.org/10.1007/s004150170199

Banack, S. A., & Cox, P. A. (2003). Biomagnification of cycad neurotoxins in flying foxes: Implications for ALS-PDC in Guam. *Neurology*, *61*(3), 387–389. https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000078320.18564.9f

Bancher, C., Brunner, C., Lassmann, H., Budka, H., Jellinger, K., Wiche, G., Seitelberger, F., Grundke-Iqbal, I., Iqbal, K., & Wisniewski, H. M. (1989). Accumulation of abnormally phosphorylated tau precedes the formation of neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease. *Brain Research*, *477*(1–2), 90–99. https://doi.org/10.1016/0006-8993(89)91396-6

Bandettini di Poggio, M., Sormani, M. P., Truffelli, R., Mandich, P., Origone, P., Verdiani, S., Mantero, V., Scialò, C., Schenone, A., Mancardi, G. L., Caponnetto, C., & LIGALS. (2013). Clinical epidemiology of ALS in Liguria, Italy. *Amyotrophic Lateral Sclerosis & Frontotemporal Degeneration*, *14*(1), 52–57. https://doi.org/10.3109/17482968.2012.729062

Barber, G. N. (2011). Innate Immune DNA Sensing Pathways: STING, AIMII and the Regulation of Interferon Production and Inflammatory Responses. *Current opinion in immunology*, *23*(1), 10.1016/j.coi.2010.12.015. https://doi.org/10.1016/j.coi.2010.12.015

Beghi, E., Logroscino, G., Chiò, A., Hardiman, O., Millul, A., Mitchell, D., Swingler, R., & Traynor, B. J. (2010). Amyotrophic lateral sclerosis, physical exercise, trauma and sports: Results of a population-based pilot case-control study. *Amyotrophic lateral sclerosis : official publication of the World Federation of Neurology Research Group on Motor Neuron Diseases*, *11*(3), 289–292. https://doi.org/10.3109/17482960903384283

Beghi, E., Millul, A., Micheli, A., Vitelli, E., Logroscino, G., & SLALOM Group. (2007). Incidence of ALS in Lombardy, Italy. *Neurology*, *68*(2), 141–145. https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000250339.14392.bb

Belli, S., & Vanacore, N. (2005). Proportionate mortality of Italian soccer players: Is amyotrophic lateral sclerosis an occupational disease? *European Journal of Epidemiology*, *20*(3), 237–242. https://doi.org/10.1007/s10654-004-6879-7

Biogen. (2022). *A Study to Evaluate the Efficacy, Safety, Tolerability, Pharmacokinetics, and Pharmacodynamics of BIIB067 Administered to Adult Subjects With Amyotrophic Lateral Sclerosis and Confirmed Superoxide Dismutase 1 Mutation* (Clinical trial registration N. NCT02623699). clinicaltrials.gov. https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02623699

Blecher, R., Elliott, M. A., Yilmaz, E., Dettori, J. R., Oskouian, R. J., Patel, A., Clarke, A., Hutton, M., McGuire, R., Dunn, R., DeVine, J., Twaddle, B., & Chapman, J. R. (2019). Contact Sports as a Risk Factor for Amyotrophic Lateral Sclerosis: A Systematic Review. *Global Spine Journal*, *9*(1), 104–118. https://doi.org/10.1177/2192568218813916

Bonvicini, F., Marcello, N., Mandrioli, J., Pietrini, V., & Vinceti, M. (2010). Exposure to pesticides and risk of amyotrophic lateral sclerosis: A population-based case-control study. *Annali Dell'Istituto Superiore Di Sanita*, *46*(3), 284–287. https://doi.org/10.4415/ANN_10_03_10

Bozzoni, V., Pansarasa, O., Diamanti, L., Nosari, G., Cereda, C., & Ceroni, M. (2016). Amyotrophic lateral sclerosis and environmental factors. *Functional Neurology*, *31*(1), 7–19. https://doi.org/10.11138/FNeur/2016.31.1.007

Bradley, P. S., Sheldon, W., Wooster, B., Olsen, P., Boanas, P., & Krustrup, P. (2009). High-intensity running in English FA Premier League soccer matches. *Journal of Sports Sciences*, *27*(2), 159–168. https://doi.org/10.1080/02640410802512775

Brooks, B. R., Miller, R. G., Swash, M., Munsat, T. L., & World Federation of Neurology Research Group on Motor Neuron Diseases. (2000). El Escorial revisited: Revised criteria for the diagnosis of amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotrophic Lateral Sclerosis and Other Motor Neuron Disorders: Official Publication of the World Federation of Neurology, Research Group on Motor Neuron Diseases*, *1*(5), 293–299. https://doi.org/10.1080/146608200300079536

Brown, R. H., & Al-Chalabi, A. (2017). Amyotrophic Lateral Sclerosis. *New England Journal of Medicine*, *377*(2), 162–172. https://doi.org/10.1056/NEJMra1603471

Brunton, L. L., Knollmann, B. C., & Hilal-Dandan, R. (2018). *Goodman & Gilman's the Pharmacological Basis of Therapeutics*. McGraw Hill Medical.

Bunina, T. L. (1962). [On intracellular inclusions in familial amyotrophic lateral sclerosis]. *Zhurnal Nevropatologii I Psikhiatrii Imeni S.S. Korsakova (Moscow, Russia: 1952)*, *62*, 1293–1299.

Butler RC, Garvel M, Rose FC, et al: Muscle biopsy in motor neurone disease, in Rose FC (ed): Motor Neurone Disease. London, Pitman Medical Publishing Co Ltd, 1977. (s.d.).

Byrne, S., Elamin, M., Bede, P., Shatunov, A., Walsh, C., Corr, B., Heverin, M., Jordan, N., Kenna, K., Lynch, C., McLaughlin, R. L., Iyer, P. M., O'Brien, C., Phukan, J., Wynne, B., Bokde, A. L., Bradley, D. G., Pender, N., Al-Chalabi, A., & Hardiman, O. (2012). Cognitive and clinical characteristics of patients with amyotrophic lateral sclerosis carrying a C9orf72 repeat expansion: A population-based cohort study. *The Lancet. Neurology*, *11*(3), 232–240. https://doi.org/10.1016/S1474-4422(12)70014-5

C9orf72 expansions are the most common genetic cause of Huntington disease phenocopies. (2014). *Neurology*, *82*(19), 1753. https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000000510

Capozzella, A., Sacco, C., Chighine, A., Loreti, B., Scala, B., Casale, T., Sinibaldi, F., Tomei, G., Giubilati, R., Tomei, F., & Rosati, M. V. (2014). Work related etiology of amyotrophic lateral sclerosis (ALS): A meta-analysis. *Annali Di Igiene: Medicina Preventiva E Di Comunita*, *26*(5), 456–472. https://doi.org/10.7416/ai.2014.2005

Ceroni, M., Malaspina, A., Poloni, T. E., Alimonti, D., Rognoni, F., Habgood, J., Imbesi, F., Antonelli, P., Alfonsi, E., Curti, D., & deBelleroche, J. (1999). Clustering of ALS patients in central Italy due to the occurrence of the L84F SOD1 gene mutation. *Neurology*, *53*(5), 1064–1071. https://doi.org/10.1212/wnl.53.5.1064

Chang, L. W. (1977). Neurotoxic effects of mercury—A review. *Environmental Research*, *14*(3), 329–373. https://doi.org/10.1016/0013-9351(77)90044-5

Chatwin, M., Ross, E., Hart, N., Nickol, A. H., Polkey, M. I., & Simonds, A. K. (2003). Cough augmentation with mechanical insufflation/exsufflation in patients with neuromuscular weakness.

The European Respiratory Journal, *21*(3), 502–508. https://doi.org/10.1183/09031936.03.00048102

Chen, Z.-Y., Liu, M.-Q., & Ma, L. (2018). Cortical Thinning Pattern of Bulbar- and Spinal-onset Amyotrophic Lateral Sclerosis: A Surface-based Morphometry Study. *Chinese Medical Sciences Journal = Chung-Kuo I Hsueh K'o Hsueh Tsa Chih*, *33*(2), 100–106. https://doi.org/10.24920/11812

Chernoff, N., Hill, D. J., Diggs, D. L., Faison, B. D., Francis, B. M., Lang, J. R., Larue, M. M., Le, T.-T., Loftin, K. A., Lugo, J. N., Schmid, J. E., & Winnik, W. M. (2017). A critical review of the postulated role of the non-essential amino acid, β-N-methylamino-L-alanine, in neurodegenerative disease in humans. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B*, *20*(4), 183–229. https://doi.org/10.1080/10937404.2017.1297592

Chiò, A., Benzi, G., Dossena, M., Mutani, R., & Mora, G. (2005). Severely increased risk of amyotrophic lateral sclerosis among Italian professional football players. *Brain: A Journal of Neurology*, *128*(Pt 3), 472–476. https://doi.org/10.1093/brain/awh373

Chio, A., Calvo, A., Dossena, M., Ghiglione, P., Mutani, R., & Mora, G. (2009). ALS in Italian professional soccer players: The risk is still present and could be soccer-specific. *Amyotrophic Lateral Sclerosis: Official Publication of the World Federation of Neurology Research Group on Motor Neuron Diseases*, *10*(4), 205–209. https://doi.org/10.1080/17482960902721634

Chiò, A., Logroscino, G., Traynor, B., Collins, J., Simeone, J., Goldstein, L., & White, L. (2013). Global Epidemiology of Amyotrophic Lateral Sclerosis: A Systematic Review of the Published Literature. *Neuroepidemiology*, *41*(2), 118–130. https://doi.org/10.1159/000351153

Chiò, A., Mora, G., Moglia, C., Manera, U., Canosa, A., Cammarosano, S., Ilardi, A., Bertuzzo, D., Bersano, E., Cugnasco, P., Grassano, M., Pisano, F., Mazzini, L., Calvo, A., & Piemonte and Valle d'Aosta Register for ALS (PARALS). (2017a). Secular Trends of Amyotrophic Lateral Sclerosis: The Piemonte and Valle d'Aosta Register. *JAMA Neurology*, *74*(9), 1097–1104. https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2017.1387

Chiò, A., Mora, G., Moglia, C., Manera, U., Canosa, A., Cammarosano, S., Ilardi, A., Bertuzzo, D., Bersano, E., Cugnasco, P., Grassano, M., Pisano, F., Mazzini, L., Calvo, A., & Piemonte and Valle d'Aosta Register for ALS (PARALS). (2017b). Secular Trends of Amyotrophic Lateral Sclerosis:

The Piemonte and Valle d'Aosta Register. *JAMA Neurology*, *74*(9), 1097–1104. https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2017.1387

Chiu, A. S., Gehringer, M. M., Welch, J. H., & Neilan, B. A. (2011). Does α-Amino-β-methylaminopropionic Acid (BMAA) Play a Role in Neurodegeneration? *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *8*(9), 3728–3746. https://doi.org/10.3390/ijerph8093728

Coats, J. R. (1990). Mechanisms of toxic action and structure-activity relationships for organochlorine and synthetic pyrethroid insecticides. *Environmental Health Perspectives*, *87*, 255–262.

Coffman, C. J., Horner, R. D., Grambow, S. C., Lindquist, J., & VA Cooperative Studies Program Project #500. (2005). Estimating the occurrence of amyotrophic lateral sclerosis among Gulf War (1990-1991) veterans using capture-recapture methods. *Neuroepidemiology*, *24*(3), 141–150. https://doi.org/10.1159/000083297

Corrao, G., Rea, F., Di Martino, M., De Palma, R., Scondotto, S., Fusco, D., Lallo, A., Belotti, L. M. B., Ferrante, M., Pollina Addario, S., Merlino, L., Mancia, G., & Carle, F. (2017). Developing and validating a novel multisource comorbidity score from administrative data: A large population-based cohort study from Italy. *BMJ Open*, *7*(12), e019503. https://doi.org/10.1136/bmjopen-2017-019503

Cox, P. A., Banack, S. A., & Murch, S. J. (2003). Biomagnification of cyanobacterial neurotoxins and neurodegenerative disease among the Chamorro people of Guam. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *100*(23), 13380–13383. https://doi.org/10.1073/pnas.2235808100

Cox, P. A., Banack, S. A., Murch, S. J., Rasmussen, U., Tien, G., Bidigare, R. R., Metcalf, J. S., Morrison, L. F., Codd, G. A., & Bergman, B. (2005). Diverse taxa of cyanobacteria produce β-N-methylamino-l-alanine, a neurotoxic amino acid. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *102*(14), 5074–5078. https://doi.org/10.1073/pnas.0501526102

Cudkowicz, M. E., McKenna-Yasek, D., Sapp, P. E., Chin, W., Geller, B., Hayden, D. L., Schoenfeld, D. A., Hosler, B. A., Horvitz, H. R., & Brown, R. H. (1997). Epidemiology of mutations in superoxide dismutase in amyotrophic lateral sclerosis. *Annals of Neurology*, *41*(2), 210–221. https://doi.org/10.1002/ana.410410212

Cycas micronesica—Useful Tropical Plants. (s.d.). Recuperato 18 luglio 2022, da http://tropical.theferns.info/viewtropical.php?id=Cycas+micronesica

Daneshvar, D. H., Mez, J., Alosco, M. L., Baucom, Z. H., Mahar, I., Baugh, C. M., Valle, J. P., Weuve, J., Paganoni, S., Cantu, R. C., Zafonte, R. D., Stern, R. A., Stein, T. D., Tripodis, Y., Nowinski, C. J., & McKee, A. C. (2021). Incidence of and Mortality From Amyotrophic Lateral Sclerosis in National Football League Athletes. *JAMA Network Open*, *4*(12), e2138801. https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2021.38801

Davies, T. G. E., Field, L. M., Usherwood, P. N. R., & Williamson, M. S. (2007). DDT, pyrethrins, pyrethroids and insect sodium channels. *IUBMB Life*, *59*(3), 151–162. https://doi.org/10.1080/15216540701352042

DDT, DDE, DDD | Toxicological Profile | ATSDR. (s.d.). Recuperato 24 luglio 2022, da https://wwwn.cdc.gov/TSP/ToxProfiles/ToxProfiles.aspx?id=81&tid=20

de Carvalho, M., Dengler, R., Eisen, A., England, J. D., Kaji, R., Kimura, J., Mills, K., Mitsumoto, H., Nodera, H., Shefner, J., & Swash, M. (2008). Electrodiagnostic criteria for diagnosis of ALS. *Clinical Neurophysiology: Official Journal of the International Federation of Clinical Neurophysiology*, *119*(3), 497–503. https://doi.org/10.1016/j.clinph.2007.09.143

DeJesus-Hernandez, M., Mackenzie, I. R., Boeve, B. F., Boxer, A. L., Baker, M., Rutherford, N. J., Nicholson, A. M., Finch, N. A., Gilmer, H. F., Adamson, J., Kouri, N., Wojtas, A., Sengdy, P., Hsiung, G.-Y. R., Karydas, A., Seeley, W. W., Josephs, K. A., Coppola, G., Geschwind, D. H., … Rademakers, R. (2011). Expanded GGGGCC hexanucleotide repeat in non-coding region of C9ORF72 causes chromosome 9p-linked frontotemporal dementia and amyotrophic lateral sclerosis. *Neuron*, *72*(2), 245–256. https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.09.011

del Aguila, M. A., Longstreth, W. T., McGuire, V., Koepsell, T. D., & van Belle, G. (2003). Prognosis in amyotrophic lateral sclerosis: A population-based study. *Neurology*, *60*(5), 813–819. https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000049472.47709.3b

Desai, J., & Swash, M. (1999). Extrapyramidal involvement in amyotrophic lateral sclerosis: Backward falls and retropulsion. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, *67*(2), 214–216.

Doble, A. (1996). The pharmacology and mechanism of action of riluzole. *Neurology*, *47*(6 Suppl 4), S233-241. https://doi.org/10.1212/wnl.47.6_suppl_4.233s

Dohna-Schwake, C., Ragette, R., Teschler, H., Voit, T., & Mellies, U. (2006). Predictors of severe chest infections in pediatric neuromuscular disorders. *Neuromuscular Disorders: NMD*, *16*(5), 325–328. https://doi.org/10.1016/j.nmd.2006.02.003

Drigo, D., Verriello, L., Clagnan, E., Eleopra, R., Pizzolato, G., Bratina, A., D'Amico, D., Sartori, A., Masè, G., Simonetto, M., Lazzarino de Lorenzo, L., Cecotti, L., Zanier, L., Pisa, F., & Barbone, F. (2013). The incidence of amyotrophic lateral sclerosis in Friuli Venezia Giulia, Italy, from 2002 to 2009: A retrospective population-based study. *Neuroepidemiology*, *41*(1), 54–61. https://doi.org/10.1159/000350015

Duffy, J. R., Peach, R. K., & Strand, E. A. (2007). Progressive apraxia of speech as a sign of motor neuron disease. *American Journal of Speech-Language Pathology*, *16*(3), 198–208. https://doi.org/10.1044/1058-0360(2007/025)

Duncan, M. W., Steele, J. C., Kopin, I. J., & Markey, S. P. (1990). 2-Amino-3-(methylamino)-propanoic acid (BMAA) in cycad flour: An unlikely cause of amyotrophic lateral sclerosis and parkinsonism-dementia of Guam. *Neurology*, *40*(5), 767–772. https://doi.org/10.1212/wnl.40.5.767

Dunlop, R. A., Cox, P. A., Banack, S. A., & Rodgers, K. J. (2013). The Non-Protein Amino Acid BMAA Is Misincorporated into Human Proteins in Place of l-Serine Causing Protein Misfolding and Aggregation. *PLoS ONE*, *8*(9), e75376. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0075376

È ufficiale: Il tofersen è il primo farmaco efficace in fase 3 nel trattamento della SLA. (s.d.). *AISLA | Associazione Italiana Sclerosi Laterale Amiotrofica | SLA*. Recuperato 28 luglio 2022, da https://www.aisla.it/e-ufficiale-il-tofersen-e-il-primo-farmaco-efficace-in-fase-3-nel-trattamento-della-sla/

Eto, K. (1997). Pathology of Minamata disease. *Toxicologic Pathology*, *25*(6), 614–623. https://doi.org/10.1177/019262339702500612

European Medical Agency. (s.d.). *Rilutek—INN Riluzole. Riassunto delle Caratteristiche del Prodotto.*

Fallis, B. A., & Hardiman, O. (2009). Aggregation of neurodegenerative disease in ALS kindreds. *Amyotrophic Lateral Sclerosis: Official Publication of the World Federation of Neurology Research Group on Motor Neuron Diseases*, *10*(2), 95–98. https://doi.org/10.1080/17482960802209664

Felbecker, A., Camu, W., Valdmanis, P. N., Sperfeld, A.-D., Waibel, S., Steinbach, P., Rouleau, G. A., Ludolph, A. C., & Andersen, P. M. (2010). Four familial ALS pedigrees discordant for two SOD1 mutations: Are all SOD1 mutations pathogenic? *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, *81*(5), 572–577. https://doi.org/10.1136/jnnp.2009.192310

Ferguson, T. A., & Elman, L. B. (2007). Clinical presentation and diagnosis of amyotrophic lateral sclerosis. *NeuroRehabilitation*, *22*(6), 409–416.

Fowler, W. S., Miller, R. D., Mulder, D. W., & Olsen, A. M. (1957). Exertional dyspnea: A primary complaint in unusual cases of progressive muscular atrophy and amyotrophic lateral sclerosis. *Annals of Internal Medicine*, *46*(1), 119–125. https://doi.org/10.7326/0003-4819-46-1-119

Fromm, G. B., Wisdom, P. J., & Block, A. J. (1977). Amyotrophic lateral sclerosis presenting with respiratory failure. Diaphragmatic paralysis and dependence on mechanical ventilation in two patients. *Chest*, *71*(5), 612–614. https://doi.org/10.1378/chest.71.5.612

Genetic susceptibility to environmental toxicants in ALS - PubMed. (s.d.). Recuperato 23 agosto 2022, da https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17503480/

Gianferrari, G., Martinelli, I., Zucchi, E., Simonini, C., Fini, N., Vinceti, M., Ferro, S., Gessani, A., Canali, E., Valzania, F., Sette, E., Pugliatti, M., Tugnoli, V., Zinno, L., Stano, S., Santangelo, M., De Pasqua, S., Terlizzi, E., Guidetti, D., … Mandrioli, J. (2022). Epidemiological, Clinical and Genetic Features of ALS in the Last Decade: A Prospective Population-Based Study in the Emilia Romagna Region of Italy. *Biomedicines*, *10*(4), 819. https://doi.org/10.3390/biomedicines10040819

Giguet-Valard, A.-G., Bellance, R., Jeannin, S., Duclos, S., Olive, P., Allard-Saint-Albin, O., Cazeneuve, C., Clot, F., Sophie, P.-V., Barnetche, T., Smith-Ravin, J., & Goizet, C. (2021). SOD1-related ALS with anticipation in a large family from Martinique. *Amyotrophic Lateral Sclerosis & Frontotemporal Degeneration*, *22*(7–8), 545–551. https://doi.org/10.1080/21678421.2021.1900870

Gisella. (2021, marzo 9). *Il PDTA SLA dell'AISLA*. SICP. https://www.sicp.it/documenti/altri/2021/03/il-pdta-sla-dellaisla/

Gordon, P. H., Cheng, B., Katz, I. B., Pinto, M., Hays, A. P., Mitsumoto, H., & Rowland, L. P. (2006). The natural history of primary lateral sclerosis. *Neurology*, *66*(5), 647–653. https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000200962.94777.71

Gozal, D. (2000). Pulmonary manifestations of neuromuscular disease with special reference to Duchenne muscular dystrophy and spinal muscular atrophy. *Pediatric Pulmonology*, *29*(2), 141–150. https://doi.org/10.1002/(sici)1099-0496(200002)29:2<141::aid-ppul9>3.0.co;2-y

Gregg, I., & Nunn, A. J. (1973). Peak Expiratory Flow in Normal Subjects. *British Medical Journal*, *3*(5874), 282–284.

Gurney, M. E., Belton, A. C., Cashman, N., & Antel, J. P. (2010, gennaio 13). *Inhibition of Terminal Axonal Sprouting by Serum from Patients with Amyotrophic Lateral Sclerosis* (world) [Research-article]. Https://Doi.Org/10.1056/NEJM198410113111501; Massachusetts Medical Society. https://doi.org/10.1056/NEJM198410113111501

Haley, R. W. (2003). Excess incidence of ALS in young Gulf War veterans. *Neurology*, *61*(6), 750–756. https://doi.org/10.1212/wnl.61.6.750

Hannaford, A., Pavey, N., van den Bos, M., Geevasinga, N., Menon, P., Shefner, J. M., Kiernan, M. C., & Vucic, S. (2021). Diagnostic Utility of Gold Coast Criteria in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Annals of Neurology*, *89*(5), 979–986. https://doi.org/10.1002/ana.26045

Harada, M. (1995). Minamata disease: Methylmercury poisoning in Japan caused by environmental pollution. *Critical Reviews in Toxicology*, *25*(1), 1–24. https://doi.org/10.3109/10408449509089885

Hawkes, C. H., & Fox, A. J. (1981). Motor neurone disease in leather workers. *Lancet (London, England)*, *1*(8218), 507. https://doi.org/10.1016/s0140-6736(81)91900-0

Hensman Moss, D. J., Poulter, M., Beck, J., Hehir, J., Polke, J. M., Campbell, T., Adamson, G., Mudanohwo, E., McColgan, P., Haworth, A., Wild, E. J., Sweeney, M. G., Houlden, H., Mead, S., & Tabrizi, S. J. (2014). C9orf72 expansions are the most common genetic cause of Huntington disease phenocopies. *Neurology*, *82*(4), 292–299. https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000000061

Hetz, C. (2012). The unfolded protein response: Controlling cell fate decisions under ER stress and beyond. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, *13*(2), 89–102. https://doi.org/10.1038/nrm3270

Home—ClinicalTrials.gov. (s.d.). Recuperato 28 luglio 2022, da https://www.clinicaltrials.gov/

Horner, R. D., Grambow, S. C., Coffman, C. J., Lindquist, J. H., Oddone, E. Z., Allen, K. D., & Kasarskis, E. J. (2008). Amyotrophic lateral sclerosis among 1991 Gulf War veterans: Evidence for a time-limited outbreak. *Neuroepidemiology*, *31*(1), 28–32. https://doi.org/10.1159/000136648

Horner, R. D., Kamins, K. G., Feussner, J. R., Grambow, S. C., Hoff-Lindquist, J., Harati, Y., Mitsumoto, H., Pascuzzi, R., Spencer, P. S., Tim, R., Howard, D., Smith, T. C., Ryan, M. a. K., Coffman, C. J., & Kasarskis, E. J. (2003). Occurrence of amyotrophic lateral sclerosis among Gulf War veterans. *Neurology*, *61*(6), 742–749. https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000069922.32557.ca

Hug, F., Grélot, L., Le Fur, Y., Cozzone, P. J., & Bendahan, D. (2006). Recovery kinetics throughout successive bouts of various exercises in elite cyclists. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, *38*(12), 2151–2158. https://doi.org/10.1249/01.mss.0000235882.86734.9a

Huisman, M. H. B., Seelen, M., de Jong, S. W., Dorresteijn, K. R. I. S., van Doormaal, P. T. C., van der Kooi, A. J., de Visser, M., Schelhaas, H. J., van den Berg, L. H., & Veldink, J. H. (2013). Lifetime physical activity and the risk of amyotrophic lateral sclerosis. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, *84*(9), 976–981. https://doi.org/10.1136/jnnp-2012-304724

ICD-11 for Mortality and Morbidity Statistics. (s.d.). Recuperato 26 giugno 2022, da https://icd.who.int/browse11/l-m/en#/http%3a%2f%2fid.who.int%2ficd%2fentity%2f1982355687

Ikemoto, A., Hirano, A., & Akiguchi, I. (2000). Neuropathology of amyotrophic lateral sclerosis with extra-motor system degeneration: Characteristics and differences in the molecular pathology between ALS with dementia and Guamanian ALS. *Amyotrophic Lateral Sclerosis and Other Motor Neuron Disorders: Official Publication of the World Federation of Neurology, Research Group on Motor Neuron Diseases*, *1*(2), 97–104. https://doi.org/10.1080/14660820050515395

Jablonowski, N. D., Köppchen, S., Hofmann, D., Schäffer, A., & Burauel, P. (2009). Persistence of 14C-labeled atrazine and its residues in a field lysimeter soil after 22 years. *Environmental Pollution (Barking, Essex: 1987)*, *157*(7), 2126–2131. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2009.02.004

Jablonowski, N. D., Modler, J., Schaeffer, A., & Burauel, P. (2008). Bioaccessibility of environmentally aged 14C-atrazine residues in an agriculturally used soil and its particle-size aggregates. *Environmental Science & Technology*, *42*(16), 5904–5910. https://doi.org/10.1021/es800196z

Jablonowski, N. D., Schäffer, A., & Burauel, P. (2011). Still present after all these years: Persistence plus potential toxicity raise questions about the use of atrazine. *Environmental Science and Pollution Research International*, *18*(2), 328–331. https://doi.org/10.1007/s11356-010-0431-y

Jakubowski, H., & Goldman, E. (1992). Editing of errors in selection of amino acids for protein synthesis. *Microbiological Reviews*, *56*(3), 412–429. https://doi.org/10.1128/mr.56.3.412-429.1992

J-M, C. (1880). De la sclerose laterale amyotrophique. Symptomatologie. *Lecons sur les Maladies du Systeme Nerveux Faites a la Salpetriere*, *2*, 227–242.

Joensen, P. (2012). Incidence of amyotrophic lateral sclerosis in the Faroe Islands. *Acta Neurologica Scandinavica*, *126*(1), 62–66. https://doi.org/10.1111/j.1600-0404.2011.01611.x

Jonasson, S., Eriksson, J., Berntzon, L., Spáčil, Z., Ilag, L. L., Ronnevi, L.-O., Rasmussen, U., & Bergman, B. (2010). Transfer of a cyanobacterial neurotoxin within a temperate aquatic ecosystem suggests pathways for human exposure. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *107*(20), 9252–9257. https://doi.org/10.1073/pnas.0914417107

Kamel, F., Umbach, D. M., Bedlack, R. S., Richards, M., Watson, M., Alavanja, M. C., Blair, A., Hoppin, J. A., Schmidt, S., & Sandler, D. P. (2012). PESTICIDE EXPOSURE AND AMYOTROPHIC LATERAL SCLEROSIS. *Neurotoxicology*, *33*(3), 457–462. https://doi.org/10.1016/j.neuro.2012.04.001

Kamel, F., Umbach, D. M., Lehman, T. A., Park, L. P., Munsat, T. L., Shefner, J. M., Sandler, D. P., Hu, H., & Taylor, J. A. (2003). Amyotrophic lateral sclerosis, lead, and genetic susceptibility: Polymorphisms in the delta-aminolevulinic acid dehydratase and vitamin D receptor genes. *Environmental Health Perspectives*, *111*(10), 1335–1339. https://doi.org/10.1289/ehp.6109

Kang, H., Cha, E. S., Choi, G. J., & Lee, W. J. (2014). Amyotrophic lateral sclerosis and agricultural environments: A systematic review. *Journal of Korean Medical Science*, *29*(12), 1610–1617. https://doi.org/10.3346/jkms.2014.29.12.1610

Kang, S. W., & Bach, J. R. (2000). Maximum insufflation capacity: Vital capacity and cough flows in neuromuscular disease. *American Journal of Physical Medicine & Rehabilitation*, *79*(3), 222–227. https://doi.org/10.1097/00002060-200005000-00002

Kiernan, M. C. (2009). Amyotrophic lateral sclerosis and the neuroprotective potential of exercise. *The Journal of Physiology*, *587*(Pt 15), 3759–3760. https://doi.org/10.1113/jphysiol.2009.177022

Kiernan, M. C., Vucic, S., Cheah, B. C., Turner, M. R., Eisen, A., Hardiman, O., Burrell, J. R., & Zoing, M. C. (2011). Amyotrophic lateral sclerosis. *Lancet (London, England)*, *377*(9769), 942–955. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(10)61156-7

Kilness, A. W., & Hochberg, F. H. (1977). Amyotrophic Lateral Sclerosis in a High Selenium Environment. *JAMA*, *237*(26), 2843–2844. https://doi.org/10.1001/jama.1977.03270530051023

Kim, W., Kim, J.-S., Lee, K.-S., Gwoun, Y.-J., Kim, J.-M., & Lee, K.-H. (2007). Anticipation and phenotypic heterogeneity in korean familial amyotrophic lateral sclerosis with superoxide dismutase 1 gene mutation. *Journal of Clinical Neurology (Seoul, Korea)*, *3*(1), 38–44. https://doi.org/10.3988/jcn.2007.3.1.38

Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology, Index to Volumes 1—26, 5th Edition | Wiley. (s.d.). Wiley.Com. Recuperato 24 agosto 2022, da https://www.wiley.com/en-us/Kirk+Othmer+Encyclopedia+of+Chemical+Technology%2C+Index+to+Volumes+1+26%2C+5th+Edition-p-9780471484967

Kleopa, K. A., Sherman, M., Neal, B., Romano, G. J., & Heiman-Patterson, T. (1999). Bipap improves survival and rate of pulmonary function decline in patients with ALS. *Journal of the Neurological Sciences*, *164*(1), 82–88. https://doi.org/10.1016/s0022-510x(99)00045-3

Koninklijke Philips N.V. (2017). *CoughAssist© E70 Protocol*.

Kurt, A., Nijboer, F., Matuz, T., & Kübler, A. (2007). Depression and anxiety in individuals with amyotrophic lateral sclerosis: Epidemiology and management. *CNS Drugs*, *21*(4), 279–291. https://doi.org/10.2165/00023210-200721040-00003

Lacomblez, L., Bensimon, G., Leigh, P. N., Guillet, P., & Meininger, V. (1996). Dose-ranging study of riluzole in amyotrophic lateral sclerosis. Amyotrophic Lateral Sclerosis/Riluzole Study Group II. *Lancet (London, England)*, *347*(9013), 1425–1431. https://doi.org/10.1016/s0140-6736(96)91680-3

Laird, A. K. (1964). DYNAMICS OF TUMOR GROWTH. *British Journal of Cancer*, *13*, 490–502. https://doi.org/10.1038/bjc.1964.55

Le Marche in cifre, 2022. Regione Marche. (s.d.).

Lee, J. W., Beebe, K., Nangle, L. A., Jang, J., Longo-Guess, C. M., Cook, S. A., Davisson, M. T., Sundberg, J. P., Schimmel, P., & Ackerman, S. L. (2006). Editing-defective tRNA synthetase causes protein

misfolding and neurodegeneration. *Nature*, *443*(7107), 50–55. https://doi.org/10.1038/nature05096

Leigh, P. N., Anderton, B. H., Dodson, A., Gallo, J. M., Swash, M., & Power, D. M. (1988). Ubiquitin deposits in anterior horn cells in motor neurone disease. *Neuroscience Letters*, *93*(2–3), 197–203. https://doi.org/10.1016/0304-3940(88)90081-x

Leiner, G. C., Abramowitz, S., Small, M. J., Stenby, V. B., & Lewis, W. A. (1963). EXPIRATORY PEAK FLOW RATE. STANDARD VALUES FOR NORMAL SUBJECTS. USE AS A CLINICAL TEST OF VENTILATORY FUNCTION. *The American Review of Respiratory Disease*, *88*, 644–651. https://doi.org/10.1164/arrd.1963.88.5.644

Lesage, S., Le Ber, I., Condroyer, C., Broussolle, E., Gabelle, A., Thobois, S., Pasquier, F., Mondon, K., Dion, P. A., Rochefort, D., Rouleau, G. A., Dürr, A., Brice, A., & French Parkinson's Disease Genetics Study Group. (2013). C9orf72 repeat expansions are a rare genetic cause of parkinsonism. *Brain: A Journal of Neurology*, *136*(Pt 2), 385–391. https://doi.org/10.1093/brain/aws357

Li, W., Lee, M.-H., Henderson, L., Tyagi, R., Bachani, M., Steiner, J., Campanac, E., Hoffman, D. A., von Geldern, G., Johnson, K., Maric, D., Morris, H. D., Lentz, M., Pak, K., Mammen, A., Ostrow, L., Rothstein, J., & Nath, A. (2015). Human endogenous retrovirus-K contributes to motor neuron disease. *Science Translational Medicine*, *7*(307), 307ra153. https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aac8201

Life expectancy at birth, total (years)—Italy | Data. (s.d.). Recuperato 20 settembre 2022, da https://data.worldbank.org/indicator/SP.DYN.LE00.IN?locations=IT

Ling, S.-C., Polymenidou, M., & Cleveland, D. W. (2013). Converging Mechanisms in ALS and FTD: Disrupted RNA and Protein Homeostasis. *Neuron*, *79*(3), 416–438. https://doi.org/10.1016/j.neuron.2013.07.033

Loftfield, R. B., & Vanderjagt, D. (1972). The frequency of errors in protein biosynthesis. *Biochemical Journal*, *128*(5), 1353–1356.

Logroscino, G., Beghi, E., Zoccolella, S., Palagano, R., Fraddosio, A., Simone, I., Lamberti, P., Lepore, V., Serlenga, L., & the, S. (2005). Incidence of amyotrophic lateral sclerosis in southern Italy: A

population based study. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, *76*(8), 1094–1098. https://doi.org/10.1136/jnnp.2004.039180

Logroscino, G., Traynor, B. J., Hardiman, O., Chiò, A., Mitchell, D., Swingler, R. J., Millul, A., Benn, E., & Beghi, E. (2010). Incidence of Amyotrophic Lateral Sclerosis in Europe. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*, *81*(4), 385–390. https://doi.org/10.1136/jnnp.2009.183525

Lowe, J., Lennox, G., Jefferson, D., Morrell, K., McQuire, D., Gray, T., Landon, M., Doherty, F. J., & Mayer, R. J. (1988). A filamentous inclusion body within anterior horn neurones in motor neurone disease defined by immunocytochemical localisation of ubiquitin. *Neuroscience Letters*, *94*(1–2), 203–210. https://doi.org/10.1016/0304-3940(88)90296-0

MAGGIORE, CONTAMINANTI NELL'ECOSISTEMA LAGO. «Commissione internazionale per la protezione delle acque italo-svizzere.» (2002). (s.d.).

Majounie, E., Renton, A. E., Mok, K., Dopper, E. G., Waite, A., Rollinson, S., Chiò, A., Restagno, G., Nicolaou, N., Simon-Sanchez, J., van Swieten, J. C., Abramzon, Y., Johnson, J. O., Sendtner, M., Pamphlett, R., Orrell, R. W., Mead, S., Sidle, K. C., Houlden, H., … Traynor, B. J. (2012). Frequency of the C9orf72 hexanucleotide repeat expansion in patients with amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal dementia: A cross-sectional study. *The Lancet Neurology*, *11*(4), 323–330. https://doi.org/10.1016/S1474-4422(12)70043-1

Malek, A. M., Barchowsky, A., Bowser, R., Youk, A., & Talbott, E. O. (2012). Pesticide exposure as a risk factor for amyotrophic lateral sclerosis: A meta-analysis of epidemiological studies: pesticide exposure as a risk factor for ALS. *Environmental Research*, *117*, 112–119. https://doi.org/10.1016/j.envres.2012.06.007

Mangelsdorf, I., Walach, H., & Mutter, J. (2017). [Healing of Amyotrophic Lateral Sclerosis: A Case Report]. *Complementary Medicine Research*, *24*(3), 175–181. https://doi.org/10.1159/000477397

Matus, S., Glimcher, L. H., & Hetz, C. (2011). Protein folding stress in neurodegenerative diseases: A glimpse into the ER. *Current Opinion in Cell Biology*, *23*(2), 239–252. https://doi.org/10.1016/j.ceb.2011.01.003

McCauley, M. E., O'Rourke, J. G., Yáñez, A., Markman, J. L., Ho, R., Wang, X., Chen, S., Lall, D., Jin, M., Muhammad, A. K. M. G., Bell, S., Landeros, J., Valencia, V., Harms, M., Arditi, M., Jefferies,

C., & Baloh, R. H. (2020). C9orf72 in myeloid cells suppresses STING-induced inflammation. *Nature*, *585*(7823), 96–101. https://doi.org/10.1038/s41586-020-2625-x

McCool, F. D. (2006). Global physiology and pathophysiology of cough: ACCP evidence-based clinical practice guidelines. *Chest*, *129*(1 Suppl), 48S-53S. https://doi.org/10.1378/chest.129.1_suppl.48S

McCormick, A. L., Brown, R. H., Cudkowicz, M. E., Al-Chalabi, A., & Garson, J. A. (2008). Quantification of reverse transcriptase in ALS and elimination of a novel retroviral candidate. *Neurology*, *70*(4), 278–283. https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000297552.13219.b4

McFarland, D. J. (2020). Brain-computer interfaces for amyotrophic lateral sclerosis. *Muscle & nerve*, *61*(6), 702–707. https://doi.org/10.1002/mus.26828

McGuine, T. (2006). Sports injuries in high school athletes: A review of injury-risk and injury-prevention research. *Clinical Journal of Sport Medicine: Official Journal of the Canadian Academy of Sport Medicine*, *16*(6), 488–499. https://doi.org/10.1097/01.jsm.0000248848.62368.43

Medicine, I. of. (2006). *Gulf War and Health: Volume 4: Health Effects of Serving in the Gulf War*. https://doi.org/10.17226/11729

Mez, J., Daneshvar, D. H., Kiernan, P. T., Abdolmohammadi, B., Alvarez, V. E., Huber, B. R., Alosco, M. L., Solomon, T. M., Nowinski, C. J., McHale, L., Cormier, K. A., Kubilus, C. A., Martin, B. M., Murphy, L., Baugh, C. M., Montenigro, P. H., Chaisson, C. E., Tripodis, Y., Kowall, N. W., … McKee, A. C. (2017). Clinicopathological Evaluation of Chronic Traumatic Encephalopathy in Players of American Football. *JAMA*, *318*(4), 360–370. https://doi.org/10.1001/jama.2017.8334

Misfolded CuZnSOD and amyotrophic lateral sclerosis | PNAS. (s.d.). Recuperato 25 luglio 2022, da https://www.pnas.org/doi/full/10.1073/pnas.0730423100

Mitra, J., Guerrero, E. N., Hegde, P. M., Liachko, N. F., Wang, H., Vasquez, V., Gao, J., Pandey, A., Taylor, J. P., Kraemer, B. C., Wu, P., Boldogh, I., Garruto, R. M., Mitra, S., Rao, K. S., & Hegde, M. L. (2019). Motor neuron disease-associated loss of nuclear TDP-43 is linked to DNA double-strand break repair defects. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *116*(10), 4696–4705. https://doi.org/10.1073/pnas.1818415116

Mujika, I., & Padilla, S. (2001). Physiological and performance characteristics of male professional road cyclists. *Sports Medicine (Auckland, N.Z.)*, *31*(7), 479–487. https://doi.org/10.2165/00007256-200131070-00003

Murch, S. J., Cox, P. A., & Banack, S. A. (2004). A mechanism for slow release of biomagnified cyanobacterial neurotoxins and neurodegenerative disease in Guam. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *101*(33), 12228–12231. https://doi.org/10.1073/pnas.0404926101

Murch, S. J., Cox, P. A., Banack, S. A., Steele, J. C., & Sacks, O. W. (2004). Occurrence of β-methylamino-l-alanine (BMAA) in ALS/PDC patients from Guam. *Acta Neurologica Scandinavica*, *110*(4), 267–269. https://doi.org/10.1111/j.1600-0404.2004.00320.x

Neumann, M., Sampathu, D. M., Kwong, L. K., Truax, A. C., Micsenyi, M. C., Chou, T. T., Bruce, J., Schuck, T., Grossman, M., Clark, C. M., McCluskey, L. F., Miller, B. L., Masliah, E., Mackenzie, I. R., Feldman, H., Feiden, W., Kretzschmar, H. A., Trojanowski, J. Q., & Lee, V. M.-Y. (2006). Ubiquitinated TDP-43 in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis. *Science (New York, N.Y.)*, *314*(5796), 130–133. https://doi.org/10.1126/science.1134108

Nguyen, H. P., Broeckhoven, C. V., & Zee, J. van der. (2018). ALS Genes in the Genomic Era and their Implications for FTD. *Trends in Genetics*, *34*(6), 404–423. https://doi.org/10.1016/j.tig.2018.03.001

Nonaka, T., Masuda-Suzukake, M., Arai, T., Hasegawa, Y., Akatsu, H., Obi, T., Yoshida, M., Murayama, S., Mann, D. M. A., Akiyama, H., & Hasegawa, M. (2013). Prion-like properties of pathological TDP-43 aggregates from diseased brains. *Cell Reports*, *4*(1), 124–134. https://doi.org/10.1016/j.celrep.2013.06.007

O'Dowd, S., Curtin, D., Waite, A. J., Roberts, K., Pender, N., Reid, V., O'Connell, M., Williams, N. M., Morris, H. R., Traynor, B. J., & Lynch, T. (2012). C9ORF72 expansion in amyotrophic lateral sclerosis/frontotemporal dementia also causes parkinsonism. *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society*, *27*(8), 1072–1074. https://doi.org/10.1002/mds.25022

Olney, N. T., Spina, S., & Miller, B. L. (2017). Frontotemporal Dementia. *Neurologic clinics*, *35*(2), 339–374. https://doi.org/10.1016/j.ncl.2017.01.008

Omalu, B. I., DeKosky, S. T., Minster, R. L., Kamboh, M. I., Hamilton, R. L., & Wecht, C. H. (2005). Chronic traumatic encephalopathy in a National Football League player. *Neurosurgery*, *57*(1), 128–134; discussion 128-134. https://doi.org/10.1227/01.neu.0000163407.92769.ed

Pall, H. S., Williams, A. C., Waring, R., & Elias, E. (1987). Motoneurone disease as manifestation of pesticide toxicity. *Lancet (London, England)*, *2*(8560), 685. https://doi.org/10.1016/s0140-6736(87)92468-8

Pamphlett, R. (2012). Exposure to environmental toxins and the risk of sporadic motor neuron disease: An expanded Australian case-control study. *European Journal of Neurology*, *19*(10), 1343–1348. https://doi.org/10.1111/j.1468-1331.2012.03769.x

Parhad, I. M., Clark, A. W., Barron, K. D., & Staunton, S. B. (1978). Diaphragmatic paralysis in motor neuron disease. Report of two cases and a review of the literature. *Neurology*, *28*(1), 18–22. https://doi.org/10.1212/wnl.28.1.18

Pensato, V., Tiloca, C., Corrado, L., Bertolin, C., Sardone, V., Del Bo, R., Calini, D., Mandrioli, J., Lauria, G., Mazzini, L., Querin, G., Ceroni, M., Cantello, R., Corti, S., Castellotti, B., Soldà, G., Duga, S., Comi, G. P., Cereda, C., … SLAGEN Consortium. (2015). TUBA4A gene analysis in sporadic amyotrophic lateral sclerosis: Identification of novel mutations. *Journal of Neurology*, *262*(5), 1376–1378. https://doi.org/10.1007/s00415-015-7739-y

Pesticidi | EFSA. (s.d.). Recuperato 24 agosto 2022, da https://www.efsa.europa.eu/it/topics/topic/pesticides

Peters, O. M., Ghasemi, M., & Brown, R. H. (2015). Emerging mechanisms of molecular pathology in ALS. *The Journal of Clinical Investigation*, *125*(5), 1767–1779. https://doi.org/10.1172/JCI71601

PubChem. (s.d.-a). *Beta-N-Methylamino-L-alanine*. Recuperato 17 luglio 2022, da https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/105089

PubChem. (s.d.-b). *Clofenotane*. Recuperato 24 luglio 2022, da https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/3036

PubChem. (s.d.-c). *Tabun*. Recuperato 24 agosto 2022, da https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6500

PubChem. (s.d.-d). *TARDBP - TAR DNA binding protein (human)*. Recuperato 25 luglio 2022, da https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/gene/TARDBP/human

Pugliatti, M., Parish, L. D., Cossu, P., Leoni, S., Ticca, A., Saddi, M. V., Ortu, E., Traccis, S., Borghero, G., Puddu, R., Chiò, A., & Pirina, P. (2013). Amyotrophic lateral sclerosis in Sardinia, insular

Italy, 1995-2009. *Journal of Neurology*, *260*(2), 572–579. https://doi.org/10.1007/s00415-012-6681-5

Puls, I., Jonnakuty, C., LaMonte, B. H., Holzbaur, E. L. F., Tokito, M., Mann, E., Floeter, M. K., Bidus, K., Drayna, D., Oh, S. J., Brown, R. H., Ludlow, C. L., & Fischbeck, K. H. (2003). Mutant dynactin in motor neuron disease. *Nature Genetics*, *33*(4), 455–456. https://doi.org/10.1038/ng1123

Pupillo, E., Bianchi, E., Vanacore, N., Montalto, C., Ricca, G., Robustelli Della Cuna, F. S., Fumagalli, F., Castellani, M., Poli, F., Romeo, F., Tommasi, D., Lazzaro, P., & Beghi, E. (2020). Increased risk and early onset of ALS in professional players from Italian Soccer Teams. *Amyotrophic Lateral Sclerosis & Frontotemporal Degeneration*, *21*(5–6), 403–409. https://doi.org/10.1080/21678421.2020.1752250

Pupillo, E., Messina, P., Giussani, G., Logroscino, G., Zoccolella, S., Chiò, A., Calvo, A., Corbo, M., Lunetta, C., Marin, B., Mitchell, D., Hardiman, O., Rooney, J., Stevic, Z., Bandettini di Poggio, M., Filosto, M., Cotelli, M. S., Perini, M., Riva, N., … EURALS Consortium. (2014). Physical activity and amyotrophic lateral sclerosis: A European population-based case-control study. *Annals of Neurology*, *75*(5), 708–716. https://doi.org/10.1002/ana.24150

RA, D., SA, B., SL, B., JS, M., SJ, M., DA, D., EW, S., O, K., EB, B., AD, C., VX, T., GG, G., PA, C., DC, M., & WG, B. (2021). Is Exposure to BMAA a Risk Factor for Neurodegenerative Diseases? A Response to a Critical Review of the BMAA Hypothesis. *Neurotoxicity Research*, *39*(1), 81–106. https://doi.org/10.1007/s12640-020-00302-0

Ragonese, P., Cellura, E., Aridon, P., D'amelio, M., Spataro, R., Taiello, A. C., Maimone, D., La Bella, V., & Savettieri, G. (2012). Incidence of amyotrophic lateral sclerosis in Sicily: A population based study. *Amyotrophic Lateral Sclerosis: Official Publication of the World Federation of Neurology Research Group on Motor Neuron Diseases*, *13*(3), 284–287. https://doi.org/10.3109/17482968.2012.662689

Ranen, N. G., Stine, O. C., Abbott, M. H., Sherr, M., Codori, A. M., Franz, M. L., Chao, N. I., Chung, A. S., Pleasant, N., & Callahan, C. (1995). Anticipation and instability of IT-15 (CAG)n repeats in parent-offspring pairs with Huntington disease. *American Journal of Human Genetics*, *57*(3), 593–602.

Rao, R. V., & Bredesen, D. E. (2004). Misfolded proteins, endoplasmic reticulum stress and neurodegeneration. *Current Opinion in Cell Biology*, *16*(6), 653–662. https://doi.org/10.1016/j.ceb.2004.09.012

Ringholz, G. M., Appel, S. H., Bradshaw, M., Cooke, N. A., Mosnik, D. M., & Schulz, P. E. (2005). Prevalence and patterns of cognitive impairment in sporadic ALS. *Neurology*, *65*(4), 586–590. https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000172911.39167.b6

Rosen, D. R., Siddique, T., Patterson, D., Figlewicz, D. A., Sapp, P., Hentati, A., Donaldson, D., Goto, J., O'Regan, J. P., & Deng, H. X. (1993). Mutations in Cu/Zn superoxide dismutase gene are associated with familial amyotrophic lateral sclerosis. *Nature*, *362*(6415), 59–62. https://doi.org/10.1038/362059a0

Rowland, L. P., & Shneider, N. A. (2001). Amyotrophic lateral sclerosis. *The New England Journal of Medicine*, *344*(22), 1688–1700. https://doi.org/10.1056/NEJM200105313442207

Roy, H., & Ibba, M. (2006). Sticky end in protein synthesis. *Nature*, *443*(7107), 41–42. https://doi.org/10.1038/nature05002

Rudnicki, S., McVey, A. L., Jackson, C. E., Dimachkie, M. M., & Barohn, R. J. (2015). Symptom Management and End of Life Care. *Neurologic clinics*, *33*(4), 889–908. https://doi.org/10.1016/j.ncl.2015.07.010

Scekic-Zahirovic, J., Fischer, M., Stuart-Lopez, G., Burg, T., Gilet, J., Dirrig-Grosch, S., Marques, C., Birling, M.-C., Kessler, P., & Rouaux, C. (2021). Evidence that corticofugal propagation of ALS pathology is not mediated by prion-like mechanism. *Progress in Neurobiology*, *200*, 101972. https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2020.101972

Schwarz, S., Husstedt, I., Bertram, H. P., & Kuchelmeister, K. (1996). Amyotrophic lateral sclerosis after accidental injection of mercury. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, *60*(6), 698.

Seddon, P. C., & Khan, Y. (2003). Respiratory problems in children with neurological impairment. *Archives of Disease in Childhood*, *88*(1), 75–78. https://doi.org/10.1136/adc.88.1.75

Seelen, M., Vermeulen, R. C. H., van Dillen, L. S., van der Kooi, A. J., Huss, A., de Visser, M., van den Berg, L. H., & Veldink, J. H. (2014). Residential exposure to extremely low frequency electromagnetic fields and the risk of ALS. *Neurology*, *83*(19), 1767–1769. https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000000952

Shen, D., Yang, X., Wang, Y., He, D., Sun, X., Cai, Z., Li, J., Liu, M., & Cui, L. (2021). The Gold Coast criteria increases the diagnostic sensitivity for amyotrophic lateral sclerosis in a Chinese population. *Translational Neurodegeneration*, *10*(1), 28. https://doi.org/10.1186/s40035-021-00253-2

Shih, J. J., Krusienski, D. J., & Wolpaw, J. R. (2012). Brain-Computer Interfaces in Medicine. *Mayo Clinic Proceedings*, *87*(3), 268–279. https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2011.12.008

Sibilla, C., & Bertolotti, A. (2017). Prion Properties of SOD1 in Amyotrophic Lateral Sclerosis and Potential Therapy. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, *9*(10), a024141. https://doi.org/10.1101/cshperspect.a024141

Smith, E., & Delargy, M. (2005). Locked-in syndrome. *BMJ : British Medical Journal*, *330*(7488), 406. https://doi.org/10.1136/bmj.330.7488.406

Stato chimico delle acque sotterranee della regione nel periodo 2018-2020. (s.d.). https://www.arpa.marche.it/images/acqua/sotterranee/Tavola01_STATO_CHIMICO.pdf

Strong, M. J. (2001). Progress in clinical neurosciences: The evidence for ALS as a multisystems disorder of limited phenotypic expression. *The Canadian Journal of Neurological Sciences. Le Journal Canadien Des Sciences Neurologiques*, *28*(4), 283–298. https://doi.org/10.1017/s0317167100001505

Su, F.-Chiao., Goutman, S. A., Chernyak, S., Mukherjee, B., Callaghan, B. C., Batterman, S., & Feldman, E. L. (2016). The Role of Environmental Toxins on ALS: A Case-Control Study of Occupational Risk Factors. *JAMA neurology*, *73*(7), 803–811. https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2016.0594

Sufit, R. L., Miller, R. G., Mitsuroto, H., Parry, G. J., Ringel, S. P., & Lessard, D. (1999). Prevalence and treatment outcome of sialorrhea in amyotrophic lateral sclerosis patients as assessed by the ALS Patient Care Database. *Prevalence and treatment outcome of sialorrhea in amyotrophic lateral sclerosis patients as assessed by the ALS Patient Care Database.*, *46*(3), 506. 530 WALNUT ST, PHILADELPHIA, PA 19106-3621 USA: LIPPINCOTT WILLIAMS & WILKINS.

Sutedja, N. A., Veldink, J. H., Fischer, K., Kromhout, H., Heederik, D., Huisman, M. H. B., Wokke, J. H. J., & van den Berg, L. H. (2009). Exposure to chemicals and metals and risk of amyotrophic lateral sclerosis: A systematic review. *Amyotrophic Lateral Sclerosis: Official Publication of the World*

Federation of Neurology Research Group on Motor Neuron Diseases, *10*(5–6), 302–309. https://doi.org/10.3109/17482960802455416

Talbot, K. (2009). Motor neuron disease: The bare essentials. *Practical Neurology*, *9*(5), 303–309. https://doi.org/10.1136/jnnp.2009.188151

Tateno, F., Sakakibara, R., Kawashima, K., Kishi, M., Tsuyusaki, Y., Aiba, Y., & Ogata, T. (2014). Amyotrophic Lateral Sclerosis Presenting Respiratory Failure as the Sole Initial Manifestation. *Case Reports in Neurology*, *6*(2), 213–216. https://doi.org/10.1159/000366191

Toussaint, M., Boitano, L. J., Gathot, V., Steens, M., & Soudon, P. (2009). Limits of effective cough-augmentation techniques in patients with neuromuscular disease. *Respiratory Care*, *54*(3), 359–366.

Trojsi, F., Monsurrò, M. R., & Tedeschi, G. (2013). Exposure to Environmental Toxicants and Pathogenesis of Amyotrophic Lateral Sclerosis: State of the Art and Research Perspectives. *International Journal of Molecular Sciences*, *14*(8), 15286–15311. https://doi.org/10.3390/ijms140815286

Turner, M. R. (2022). Diagnosing ALS: The Gold Coast criteria and the role of EMG. *Practical Neurology*, *22*(3), 176–178. https://doi.org/10.1136/practneurol-2021-003256

Uccelli, R., Altavista, P., Binazzi, A., Mastrantonio, M., Belli, S., P, C., & N., V. (2006, maggio 1). *Distribuzione della mortalità per sclerosi laterale amiotrofica in Italia (poster)*.

Vais, H., Williamson, M. S., Devonshire, A. L., & Usherwood, P. N. (2001). The molecular interactions of pyrethroid insecticides with insect and mammalian sodium channels. *Pest Management Science*, *57*(10), 877–888. https://doi.org/10.1002/ps.392

van Blitterswijk, M., van Es, M. A., Hennekam, E. A. M., Dooijes, D., van Rheenen, W., Medic, J., Bourque, P. R., Schelhaas, H. J., van der Kooi, A. J., de Visser, M., de Bakker, P. I. W., Veldink, J. H., & van den Berg, L. H. (2012). Evidence for an oligogenic basis of amyotrophic lateral sclerosis. *Human Molecular Genetics*, *21*(17), 3776–3784. https://doi.org/10.1093/hmg/dds199

Van Damme, P., & Robberecht, W. (2021). STING-Induced Inflammation—A Novel Therapeutic Target in ALS? *The New England Journal of Medicine*, *384*(8), 765–767. https://doi.org/10.1056/NEJMcibr2031048

Van Mossevelde, S., van der Zee, J., Gijselinck, I., Sleegers, K., De Bleecker, J., Sieben, A., Vandenberghe, R., Van Langenhove, T., Baets, J., Deryck, O., Santens, P., Ivanoiu, A., Willems, C., Bäumer, V.,

Van den Broeck, M., Peeters, K., Mattheijssens, M., De Jonghe, P., Cras, P., … Belgian Neurology (BELNEU) Consortium. (2017). Clinical Evidence of Disease Anticipation in Families Segregating a C9orf72 Repeat Expansion. *JAMA Neurology*, *74*(4), 445–452. https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2016.4847

Vega, A., & Bell, E. A. (1967). α-Amino-β-methylaminopropionic acid, a new amino acid from seeds of Cycas circinalis. *Phytochemistry*, *6*(5), 759–762. https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)86018-5

Vinceti, M., Nacci, G., Rocchi, E., Cassinadri, T., Vivoli, R., Marchesi, C., & Bergomi, M. (2000). Mortality in a population with long-term exposure to inorganic selenium via drinking water. *Journal of Clinical Epidemiology*, *53*(10), 1062–1068. https://doi.org/10.1016/s0895-4356(00)00233-x

Vitacca, M., Clini, E., Facchetti, D., Pagani, M., Poloni, M., Porta, R., & Ambrosino, N. (1997). Breathing pattern and respiratory mechanics in patients with amyotrophic lateral sclerosis. *European Respiratory Journal*, *10*(7), 1614–1621.

Voltage-gated sodium channels as primary targets of diverse lipid-soluble neurotoxins—PubMed. (s.d.). Recuperato 24 agosto 2022, da https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12464386/

Von Braunmühl: Picksche Krankheit und amyotrophische... - Google Scholar. (s.d.). Recuperato 26 giugno 2022, da https://scholar.google.com/scholar_lookup?title=Picksche%20Krankheit%20und%20amyotrophische%20Lateralsklerose&journal=Allg.%20Z.%20Psychiat.%20u.%20psych.-gerichtl.%20Med.&volume=96&pages=364-366&publication_year=1932&author=Braunm%C3%BChl%2CA.

Vucic, S., Burke, D., & Kiernan, M. (2007). Diagnosis of motor neuron disease. *The Motor Neuron Disease Handbook*, 89–115.

Vucic, S., Ferguson, T. A., Cummings, C., Hotchkin, M. T., Genge, A., Glanzman, R., Roet, K. C. D., Cudkowicz, M., & Kiernan, M. C. (2021). Gold Coast diagnostic criteria: Implications for ALS diagnosis and clinical trial enrollment. *Muscle & Nerve*, *64*(5), 532–537. https://doi.org/10.1002/mus.27392

Weisskopf, M. G., O'Reilly, E. J., McCullough, M. L., Calle, E. E., Thun, M. J., Cudkowicz, M., & Ascherio, A. (2005). Prospective study of military service and mortality from ALS. *Neurology*, *64*(1), 32–37. https://doi.org/10.1212/01.WNL.0000148649.17706.D9

Winsor, C. P. (1932). The Gompertz Curve as a Growth Curve. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *18*(1), 1–8.

Wood, H. (2015). Motor neuron disease: Human endogenous retrovirus-K activation is implicated in amyotrophic lateral sclerosis. *Nature Reviews. Neurology*, *11*(12), 666. https://doi.org/10.1038/nrneurol.2015.206

Wu, C.-H., Fallini, C., Ticozzi, N., Keagle, P. J., Sapp, P. C., Piotrowska, K., Lowe, P., Koppers, M., McKenna-Yasek, D., Baron, D. M., Kost, J. E., Gonzalez-Perez, P., Fox, A. D., Adams, J., Taroni, F., Tiloca, C., Leclerc, A. L., Chafe, S. C., Mangroo, D., … Landers, J. E. (2012). Mutations in the profilin 1 gene cause familial amyotrophic lateral sclerosis. *Nature*, *488*(7412), 499–503. https://doi.org/10.1038/nature11280

Yanagihara, N., Von Leden, H., & Werner-Kukuk, E. (1966). The physical parameters of cough: The larynx in a normal single cough. *Acta Oto-Laryngologica*, *61*(6), 495–510. https://doi.org/10.3109/00016486609127088

Yu, C.-H., Davidson, S., Harapas, C. R., Hilton, J. B., Mlodzianoski, M. J., Laohamonthonkul, P., Louis, C., Low, R. R. J., Moecking, J., De Nardo, D., Balka, K. R., Calleja, D. J., Moghaddas, F., Ni, E., McLean, C. A., Samson, A. L., Tyebji, S., Tonkin, C. J., Bye, C. R., … Masters, S. L. (2020). TDP-43 Triggers Mitochondrial DNA Release via mPTP to Activate cGAS/STING in ALS. *Cell*, *183*(3), 636-649.e18. https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.09.020

Zhou, H., Chen, G., Chen, C., Yu, Y., & Xu, Z. (2012). Association between Extremely Low-Frequency Electromagnetic Fields Occupations and Amyotrophic Lateral Sclerosis: A Meta-Analysis. *PLoS ONE*, *7*(11), e48354. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0048354

Zlotkin, E. (1999). The insect voltage-gated sodium channel as target of insecticides. *Annual Review of Entomology*, *44*, 429–455. https://doi.org/10.1146/annurev.ento.44.1.429