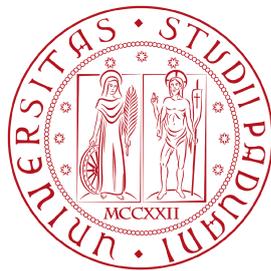


Università degli Studi di Padova
Dipartimento di Scienze Statistiche
Corso di Laurea Triennale in
Statistica per le Tecnologie e le Scienze



RELAZIONE FINALE

**Sclerosi multipla e depressione: uno studio
sull'efficacia del protocollo Coimbra**

Relatore: Dott. Andrea Sottosanti
Dipartimento di Medicina

Correlatore: Dott. Pietro Belloni
Dipartimento di Scienze Statistiche

Laureando: Jacopo Gasparoni
Matricola N. 2010155

Anno Accademico 2023/2024

Indice

Introduzione	v
1 Dati e metodi statistici	1
1.1 Motivazione dello studio, definizione del disegno sperimentale e raccolta dei dati	1
1.2 Analisi esplorative univariate	3
1.2.1 Variabili quantitative	3
1.2.2 Variabili qualitative	7
1.3 Metodi per l'analisi dei dati	12
2 Risultati	15
2.1 Analisi esplorative bivariate	15
2.2 Analisi dei confondenti o modificatori d'effetto	27
2.3 Analisi della relazione tra il grado di depressione e il tipo di trattamento	32
2.3.1 Analisi con il modello lineare	32
2.3.2 Analisi tramite il modello additivo	44
3 Conclusioni	47
A Questionari HADS e CES-D di autovalutazione del grado di depressione	51

Introduzione

La sclerosi multipla (SM) è una malattia autoimmune cronica del sistema nervoso centrale, che può determinare disabilità progressiva ed è causata da una risposta abnorme del sistema immunitario, che provoca l'infiammazione e danneggia la mielina e i neuroni [5]. La demielinizzazione (perdita di mielina) compromette la trasmissione degli impulsi nervosi tra il cervello, il midollo spinale e il resto del corpo, provocando i sintomi tipici della SM, cioè deficit motori e cognitivi, che impattano sulla qualità della vita [3, 5].

La sclerosi multipla è la causa più comune di disabilità neurologica nei giovani adulti, con una prevalenza stimata pari a 142/100,000 persone in Europa e un'età media di esordio pari a 32 anni [3]. Inoltre, la malattia colpisce le donne in misura maggiore degli uomini, con un rapporto delle prevalenze tra femmine e maschi pari a 2.2:1 [3].

Inizialmente, la maggioranza dei pazienti con SM presenta una forma della malattia recidivante-remittente (più dell'80%), anche se, dopo 10 - 15 anni, il 60% circa dei soggetti malati mostra una transizione a una forma progressiva secondaria, caratterizzata da un graduale declino delle funzioni neurologiche [5]. In meno del 15% dei casi, il decorso della malattia è progressivo (primario) dall'esordio [5].

La Scala di Invalidità Espansa (EDSS) è lo strumento più popolare e ampiamente utilizzato (a livello mondiale) per misurare e descrivere il decorso clinico della malattia nei soggetti con sclerosi multipla e valutarne l'efficacia degli interventi terapeutici negli studi clinici [5]. Valori più alti della scala, che presenta un range da 0 a 10, indicano una maggiore disabilità e una minore qualità della vita [3].

Diversi studi sulla sclerosi multipla hanno dimostrato come livelli bassi di vitamina D (VD) siano associati con una peggiore qualità della vita (calcolata attraverso la scala MSQOL-54, riconosciuta a livello internazionale) e un maggior rischio di sviluppare forme più gravi della malattia [3]. Nello specifico, uno studio trasversale (pubblicato nell'aprile del 2023 e a cui si fa riferimento in [3]) su 324 pazienti con la sclerosi multipla, suddivisi in diversi gruppi in base al trattamento a cui sono stati sottoposti, ha evidenziato il seguente risultato: il gruppo a cui sono state somministrate elevate dosi di vitamina D, rispetto a quello sottoposto a terapie farmacologiche tradizionali, è associato con un incremento della qualità della vita dal punto di

vista fisico e mentale e una diminuzione di percezione della fatica, uno dei principali sintomi della sclerosi multipla.

La carenza di vitamina D, infatti, è considerata un vero e proprio fattore di rischio per lo sviluppo della sclerosi multipla (e per le relative ricadute): uno studio prospettico (a cui si fa riferimento in [7]) ha dimostrato, inoltre, come il rischio di ammalarsi di SM diminuisca significativamente con l'aumentare del livello ematico di 25-idrossivitamina D, forma dell'ormone maggiormente rappresentata in circolo e buon indicatore della disponibilità di VD nei tessuti.

Su queste assunzioni si basa il protocollo Coimbra, una terapia, sviluppata agli inizi del 2002, ad alte dosi di vitamina D (circa 1000 IU al giorno inizialmente e successivamente fino a 40/200,000 IU al giorno), sotto controllo medico e indicata per tutte le malattie autoimmuni [3]. Le dosi elevate sono richieste per compensare i livelli di resistenza agli effetti biologici della vitamina D, presenti in tutti i pazienti con malattie autoimmuni [S1]. La terapia prevede anche regolari controlli ecografici dei reni e dell'omeostasi del calcio, oltre a misure precauzionali, come il seguire una dieta a basso contenuto di calcio e il bere almeno 2.5 litri di acqua al giorno [S1]. Infatti, una dieta e idratazione corrette sono fondamentali per prevenire l'aumentato assorbimento di calcio a livello intestinale da parte della VD e la possibile formazione di calcoli di ossalato di calcio. Seguendo queste due importanti indicazioni si è in grado di prevenire la tossicità da vitamina D, unico (e serio) possibile effetto collaterale del trattamento [S1].

Altri studi hanno esplorato l'associazione tra la depressione e la sclerosi multipla, evidenziando come le persone con SM vadano incontro più facilmente a uno stato depressivo, rispetto alla popolazione generale, ma anche rispetto alle persone con altre malattie croniche, con un rischio di presentare almeno un episodio di depressione, nel corso della vita, pari al 50% circa [9].

La depressione, a causa della sua alta prevalenza nei pazienti con SM, è in grado di influenzare non solo la qualità della vita di tali soggetti, ma anche la loro aderenza alle terapie e il decorso della malattia stessa, oltre che portare all'insorgenza di stati di ansia e stress [8]. Inoltre, la prevalenza della depressione nei soggetti con SM risulta essere maggiore tra le persone più giovani, con 18-45 anni di età [9].

Ulteriori studi hanno poi valutato la relazione tra la carenza di vitamina D e la presenza di stati depressivi in soggetti con la sclerosi multipla, sottolineando come livelli bassi di VD risultino associati con uno *score* (punteggio) del grado di depressione più alto [4], ma anche come elevate dosi di vitamina D (150,000 IU e 300,000 IU), somministrate a pazienti diagnosticati come depressi, portino a un miglioramento ancora più significativo in termini di stato di depressione, soprattutto per le dosi più elevate (300,000 IU) [6].

Sulla base di quanto detto, l'obiettivo dello studio seguente è valutare l'insorgenza di stati di depressione in pazienti affetti da sclerosi multipla, suddivisi in diversi gruppi in base al tipo di trattamento al quale sono sot-

toposti. Si vuole soprattutto confrontare il gruppo di coloro a cui sono somministrate elevate dosi di vitamina D (ovvero gli aderenti al protocollo Coimbra) con il gruppo di utilizzatori di terapie tradizionali (farmacologiche), per vedere se vi sono differenze in termini di grado di depressione. Ovviamente, oltre alle variabili relative allo stato di depressione e tipologia del trattamento, saranno considerate ulteriori variabili socio-demografiche e cliniche (relative alla gravità o allo stato di avanzamento della malattia), al fine di comprendere come queste intervengano nella relazione tra lo *score* relativo al grado di depressione e il tipo di trattamento. In sostanza, si vuole valutare l'ipotesi secondo cui i soggetti sottoposti al protocollo Coimbra hanno un grado di depressione minore rispetto a chi assume i farmaci.

Si noti che questo tipo di lavoro verte sulla salute mentale dei pazienti con SM e, di conseguenza, non sarà possibile stabilire se il trattamento con alte dosi di VD, rispetto a quello coi farmaci, porti a un effettivo miglioramento a livello di stato fisico. Per conclusioni di questa tipologia si rimanda allo studio citato poc'anzi [3], che si concentra sui miglioramenti che il protocollo Coimbra apporta alle persone con SM, per quel che riguarda la qualità della vita dal punto di vista fisico.

Nel capitolo 1 si definisce il contesto epidemiologico nel quale ci si sta muovendo, specificando il tipo di dati raccolti e di studio che si intende condurre. Inoltre, si andrà a descrivere il campione e le variabili che lo costituiscono, ponendo particolare attenzione a quelle di interesse primario, e si specificheranno i metodi statistici utilizzati per le analisi, i cui risultati sono riportati nel capitolo 2.

Capitolo 1

Dati e metodi statistici

1.1 Motivazione dello studio, definizione del disegno sperimentale e raccolta dei dati

Il fine primario di questo studio è investigare gli effetti del protocollo Coimbra, cioè del trattamento in cui vengono somministrate elevate dosi di vitamina D, in pazienti affetti dalla sclerosi multipla, valutandone, nello specifico, il conseguente sviluppo di uno stato depressivo. In particolare, l'obiettivo è quello di confrontare tale trattamento con la terapia farmacologica.

Si sta, di fatto, eseguendo uno studio pilota (esplorativo), che ha lo scopo di fornire un'analisi preliminare del fenomeno preso in considerazione, al fine di valutare se vi possano essere le basi, a seconda che i risultati ottenuti siano più o meno significativi, per condurre uno studio più ampio e approfondito. Risulta anche utile per individuare potenziali problemi o limitazioni del disegno sperimentale, dei metodi utilizzati o del campione considerato.

Per questo motivo, necessariamente si parte con un tipo di studio trasversale (veloce e con costi bassi), in cui viene a mancare la componente temporale, per il quale la raccolta dei dati avviene nel modo più grezzo e semplice possibile (proprio perché si vuole condurre uno studio esplorativo). Inoltre, sarà importante isolare gli effetti causali (svantaggio di questo tipo di studio), poiché le associazioni osservate tra le variabili possono essere influenzate dalla causalità inversa. Ciò significa che la variabile esplicativa può effettivamente causare cambiamenti nella variabile risposta, piuttosto che il contrario. Quindi, sarà fondamentale andare ad analizzare il legame tra la depressione e il tipo di trattamento, considerando anche le variabili socio-demografiche e cliniche, come il sesso, l'età, lo stato civile, l'EDSS, ecc.

I dati sono stati raccolti mediante dei questionari auto-somministrati via web (senza la presenza di un supervisore) a dei pazienti affetti da sclerosi multipla, facenti parte di alcuni gruppi Facebook, autogestiti da loro, sia di

pertinenza del protocollo Coimbra, sia di coloro che seguono le terapie farmacologiche oppure nessuna terapia. Questi gruppi Facebook risultano molto utili per le persone con SM, in quanto rappresentano uno strumento che consente loro di raccontare la loro esperienza e di relazionarsi con altri soggetti che condividono la stessa patologia, ma rappresentano anche una fonte di distorsione, in quanto rendono il campione non del tutto rappresentativo (si parla di *selection bias*).

Il questionario si compone di tre sezioni principali.

- La prima è una sezione generale in cui vengono raccolte le informazioni relative alle variabili socio-demografiche, come il sesso, l'età, l'altezza, l'indice di massa corporea (BMI), lo stato civile e lavorativo, il titolo di studio e l'attività fisica.
- La seconda sezione è relativa alla classificazione della malattia e al trattamento curativo: sono rilevate informazioni cliniche come il tipo di diagnosi di SM, il valore di EDSS (Scala di Invalidità Espansa, compresa tra 0 e 10), il tipo di terapia a cui si è sottoposti (Coimbra o Farmaci), la durata di tempo dall'insorgenza della SM, il dosaggio della vitamina D per coloro che seguono il protocollo Coimbra e l'aver avuto una diagnosi di depressione pregressa (con eventuale annessa terapia di psicofarmaci).
- La terza sezione è quella inerente alla salute mentale dei pazienti e, quindi, di primario interesse al fine dello studio che si sta svolgendo. In particolare, si compone di due ulteriori questionari che hanno lo scopo di determinare un punteggio su una scala di autovalutazione della depressione: il primo, nominato HADS (*Hospital Anxiety and Depression Scale*) è un test a 14 item su scala *Likert* a 4 punti (da 0 a 3), volto a rilevare la presenza e intensità dei sintomi di ansia e depressione nei pazienti con SM; il secondo, nominato CES-D (*Center for Epidemiologic Studies Depression Scale*) è un test a 20 item su scala *Likert* a 4 punti (da 0 a 3), con lo stesso scopo del primo test, ma che si concentra solo sui sintomi di depressione (e non di ansia). Si vedano le Tabelle A.1 e A.2 in Appendice, per esaminare come vengono composti, anche a livello di quesiti, i questionari HADS e CES-D. Nello specifico, da questa terza sezione si ottengono tre indici: i primi due, ricavati dal primo test, sono i punteggi di ansia e depressione totali, compresi tra 0 e 21 e calcolati come somma dei punteggi ottenuti nelle singole domande del questionario, mentre il terzo e ultimo indice, ricavato dal secondo test, è il punteggio di depressione totale, compreso tra 0 e 60, e calcolato sempre come somma dei punteggi ottenuti nelle singole domande.

Il campione è originariamente costituito dai 518 pazienti con sclerosi multipla che hanno risposto al questionario; tra questi, solo 451 hanno compilato entrambi i test sulla depressione (illustrati poc'anzi), contenuti nella terza sezione del questionario. Al fine di ottenere risultati più robusti nelle analisi, si è scelto quindi di eliminare dal campione i 67 soggetti che hanno risposto a solo uno dei due test. Inoltre, si è convenuto rimuovere anche le 136 persone che non hanno fornito il valore del proprio EDSS, molto importante per stabilire la gravità della loro malattia. Infine, si è deciso di considerare direttamente i pazienti sottoposti alla sola terapia farmacologica o al solo protocollo Coimbra, togliendo le ulteriori 100 persone sottoposte a nessuna terapia o a quella doppia.

Il campione finale risulta così composto da 215 soggetti, sui quali sono state svolte le analisi che seguono.

1.2 Analisi esplorative univariate

Si presenta ora una sezione volta a descrivere le variabili contenute nel questionario: si inizia con quelle quantitative, per poi continuare con quelle qualitative o categoriali (che sono la maggior parte).

1.2.1 Variabili quantitative

Le variabili quantitative considerate sono l'età, l'indice di massa corporea (BMI), l'EDSS e il valore delle due scale (HADS e CES-D) di autovalutazione della depressione. Le statistiche descrittive relative a tali variabili sono riportate in Tabella 1.1. Si noti che per la scala HADS si è considerato il punteggio (lo *score*) relativo alla sola depressione e non quello relativo all'ansia. Inoltre, per rendere le due scale confrontabili, si sono riportati anche i valori standardizzati per entrambe (ultime due righe della Tabella 1.1).

Variabile	Min.	1st Qu.	Median	Mean	3rd Qu.	Max.	St. dev.
Età	22.00	37.50	43.00	43.64	49.50	73.00	9.72
BMI	14.72	20.48	22.86	23.61	25.75	42.97	4.41
EDSS	0.00	0.50	2.00	2.37	4.00	7.00	2.10
<i>Score</i> HADS	0.00	4.00	8.00	7.58	11.00	18.00	4.38
<i>Score</i> CES-D	4.00	14.50	24.00	24.87	34.00	54.00	11.81
<i>Score</i> HADS (std.)	0.00	0.22	0.44	0.42	0.61	1.00	0.24
<i>Score</i> CES-D (std.)	0.00	0.21	0.40	0.42	0.60	1.00	0.23

Tabella 1.1: Statistiche descrittive per le variabili quantitative.

La distribuzione dell'età nel campione, che appare simmetrica, (Figura 1.1), presenta un minimo pari a 22 anni e un massimo pari a 73, con un va-

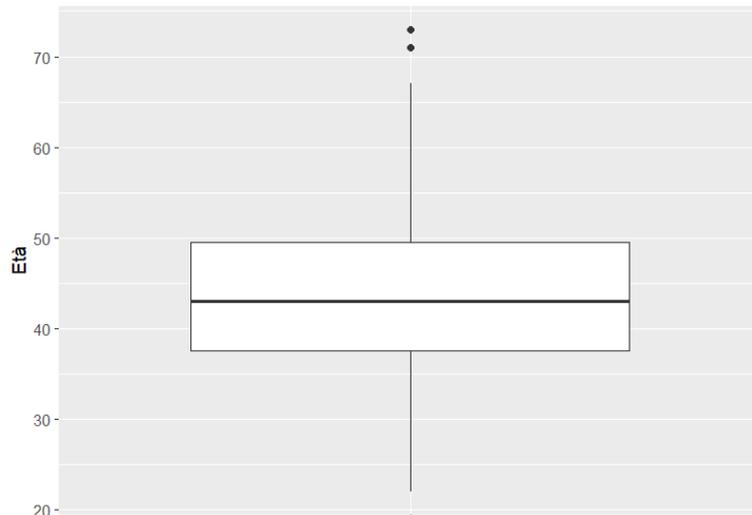


Figura 1.1: Boxplot dell'età dei pazienti.

lore medio che si posiziona intorno ai 43 anni (Tabella 1.1). Si evidenziano i due valori anomali, riportati nel boxplot, di soggetti con un'età superiore ai 70 anni, nello specifico di 71 e 73 anni.

L'indice di massa corporea (BMI), dei soggetti appartenenti allo studio, presenta dei valori in un range che si estende da un minimo di 14.72 kg/m^2 a un massimo di 42.97 kg/m^2 , con una media di 23.61 kg/m^2 (Tabella 1.1). La sua distribuzione presenta una lieve asimmetria a destra (media maggiore della mediana), con la presenza di diverse osservazioni anomale (una decina circa) che hanno un valore del BMI superiore a 32 kg/m^2 (Figura 1.2).

Per una migliore interpretazione, è possibile trasformare la variabile relativa all'indice di massa corporea in una qualitativa con quattro categorie: sottopeso, normopeso, sovrappeso, obeso, in base al valore del BMI. I risultati (Figura 1.2) indicano che la maggior parte dei pazienti è normopeso (il 62%), seguiti poi dai sovrappeso (il 20%) e dagli obesi (il 10%) e concludendo con i sottopeso (l'8%).

L'EDSS, scala di disabilità per persone affette da sclerosi multipla, che è stato rilevato inizialmente come variabile categoriale con 8 livelli (Figura 1.3), viene trasformato in una variabile quantitativa sostituendo a ogni modalità il corrispondente valore numerico associato alla scala (per l'ultima categoria che indicava un EDSS maggiore o uguale a 7, si è sostituito il va-

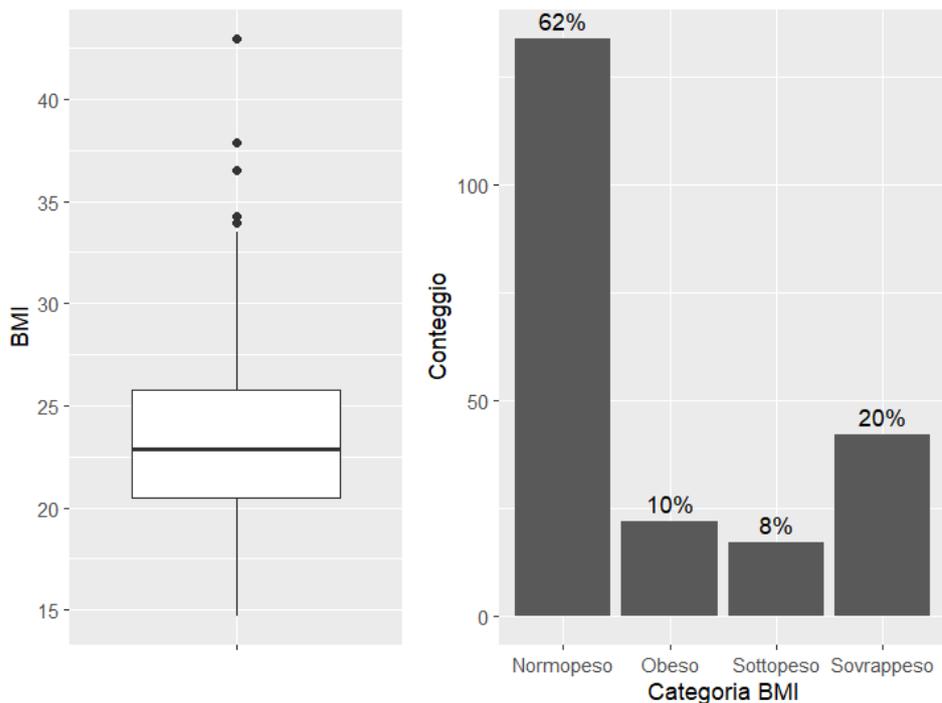


Figura 1.2: Boxplot dell'indice di massa corporea dei pazienti (a sinistra) e grafico a barre del numero di soggetti per categoria di BMI (a destra).

lore 7). Così facendo, si osserva (Figura 1.3) che la distribuzione presenta un'asimmetria a destra, cioè la mediana risulta inferiore alla media (Tabella 1.1). Questo perché la maggior parte dei soggetti presenta valori bassi di EDSS. Infatti, considerando solo coloro che hanno valori della scala pari a 0 o 1, questi rappresentano il 45% (Figura 1.3) del campione totale.

Le due scale di autovalutazione della depressione hanno range diversi: la prima presenta valori da 0 a 18, mentre la seconda da 4 a 54 (Tabella 1.1). La versione standardizzata (range da 0 a 1) delle due si ottiene come di seguito:

$$Score_{std} = \frac{Score - \min(Score)}{\max(Score) - \min(Score)} \cdot$$

Si evidenzia come le due scale standardizzate abbiano in realtà una distribuzione molto simile (Figura 1.4). Inoltre, il diagramma di dispersione tra le due (in Figura 1.4) indica che è presente un'elevata correlazione (pari a 0.72), il che significa che è ragionevole aspettarsi di ottenere risultati simili per entrambi gli *score* nelle analisi svolte nel capitolo 2.

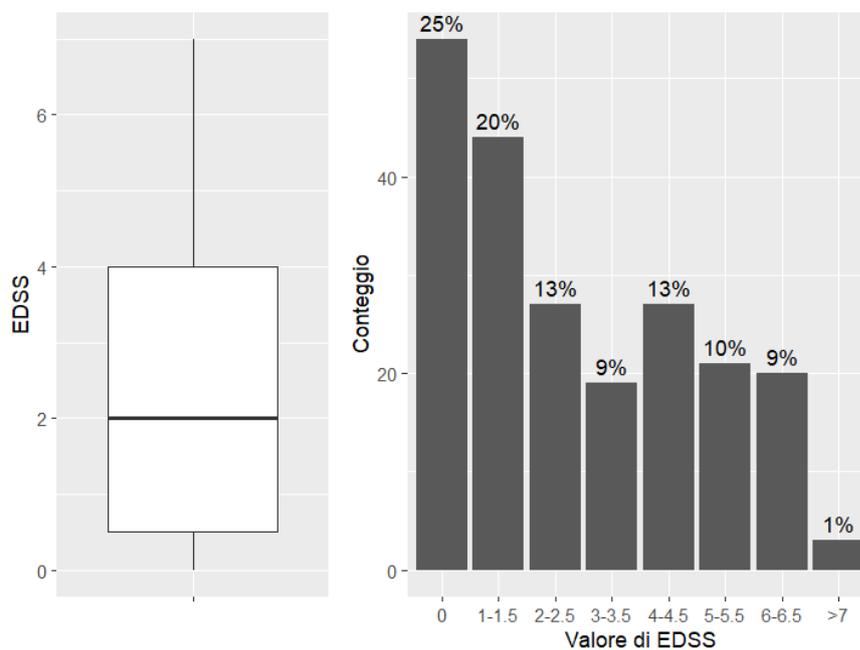


Figura 1.3: Boxplot della scala di disabilità dei pazienti (a sinistra) e grafico a barre del numero di soggetti per valore di EDSS (a destra).

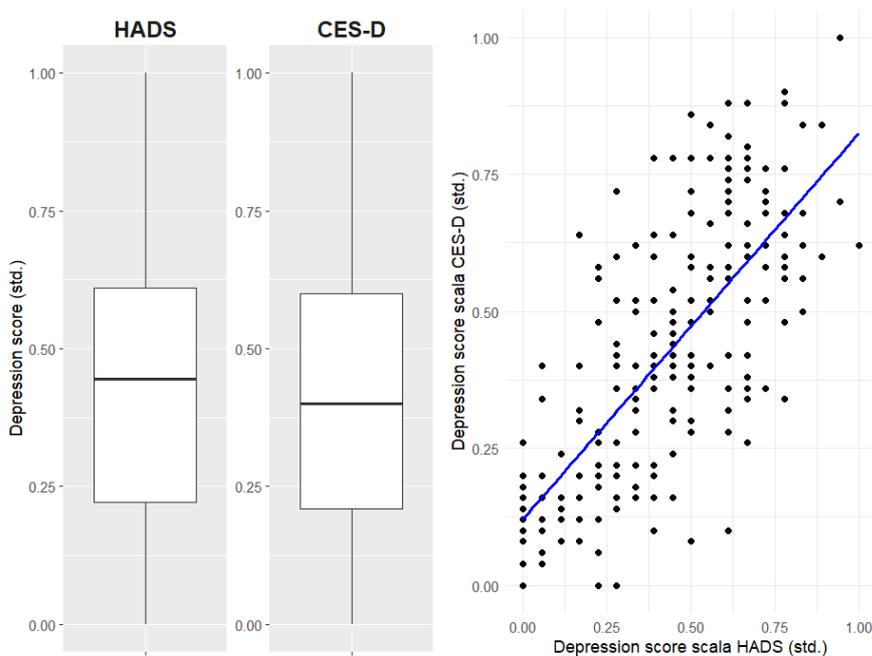


Figura 1.4: Boxplot dello *score* di depressione dei pazienti per le scale HADS e CES-D (a sinistra) e grafico della correlazione tra le due scale (a destra).

Variabile	Modalità		Totale (100%)
	Maschio	Femmina	
Sesso	46 (21%)	169 (79%)	215
Attività fisica	Non la pratica 101 (47%)	La pratica 114 (53%)	215
Diagnosi di SM	Recidivante-remittente 179 (83%)	Progressiva 36 (17%)	215
Trattamento	Farmaci 132 (61%)	Coimbra 83 (39%)	215
Diagnosi di depressione pregressa	Non l'ha avuta 161 (75%)	L'ha avuta 54 (25%)	215

Tabella 1.2: Distribuzione di frequenza delle variabili qualitative a due categorie.

1.2.2 Variabili qualitative

Si considerano di seguito le variabili qualitative, come il sesso, lo stato civile, quello lavorativo, il titolo di studio, l'attività fisica, il tipo di diagnosi di SM, il trattamento per la SM, l'aver avuto o meno una diagnosi di depressione pregressa e l'eventuale tipo di terapia.

Si riporta la Tabella 1.2, che riassume l'informazione delle variabili qualitative con due modalità. Si fa presente che, per la diagnosi di SM, si sono raggruppate le due categorie relative alla tipologia progressiva (primaria e secondaria), al fine di ottenerne una unica.

Il campione si compone di 46 maschi e 169 femmine (Tabella 1.2). La percentuale di donne sull'intero campione, pari al 79%, risulta essere significativamente più elevata di quella dei maschi, pari al 21%. Tale differenza si potrebbe giustificare, in parte, considerando che la SM è una patologia più frequente nelle donne che negli uomini, con un rapporto tra le prevalenze nelle femmine rispetto ai maschi, pari a 2.2:1. Nel campione che si sta analizzando, tale rapporto equivale a 3.67:1.

Osservando la suddivisione dei pazienti per stato civile (Figura 1.5) si può vedere come la categoria delle persone sposate o conviventi sia quella con frequenza maggiore (rappresenta circa il 65% del totale), seguita poi da quella delle nubili o dei celibi (il 23%) e da quella dei separati o divorziati (l'11%), concludendo infine con la categoria delle persone vedove (l'1%).

Il grafico in Figura 1.5 mostra anche come il 42% della popolazione abbia un lavoro a tempo pieno, seguito dal 20% che ha un lavoro part-time, dal

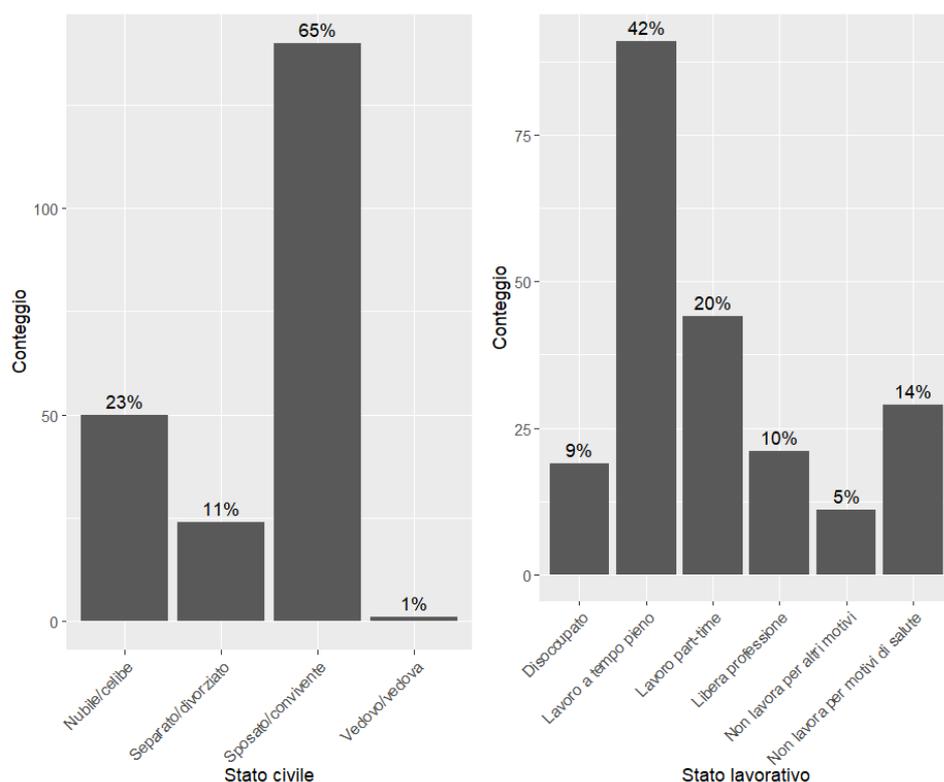


Figura 1.5: Grafico a barre del numero di pazienti per stato civile (a sinistra) e per stato lavorativo (a destra).

10% che esercita una libera professione e dal 9% che è disoccupato. Inoltre, il 14% della popolazione non lavora per motivi di salute, mentre il 5% non lavora per altri motivi.

In relazione al titolo di studio, si nota (Figura 1.6) che la licenza media superiore rappresenta il 49% del totale, seguita poi dal diploma universitario che ne rappresenta il 17%, dal diploma di laurea magistrale (il 16%), dalla licenza media inferiore (l'11%), dalla specializzazione post laurea o master (il 5%) e, infine, dalla licenza elementare e nessun titolo (lo 0% e l'1%, rispettivamente).

Visionando la Tabella 1.2, si nota che la maggior parte dei soggetti dello studio (l'83%) presenta la forma recidivante remittente (SMRR) della sclerosi multipla, considerata quella più comune e caratterizzata dall'alternarsi di episodi acuti (le recidive o ricadute) e periodi privi di sintomi o manifestazioni (le remissioni). La forma progressiva, che costituisce il 17% dei soggetti, si suddivide in secondaria (SMSP, presente per il 13% nel campio-

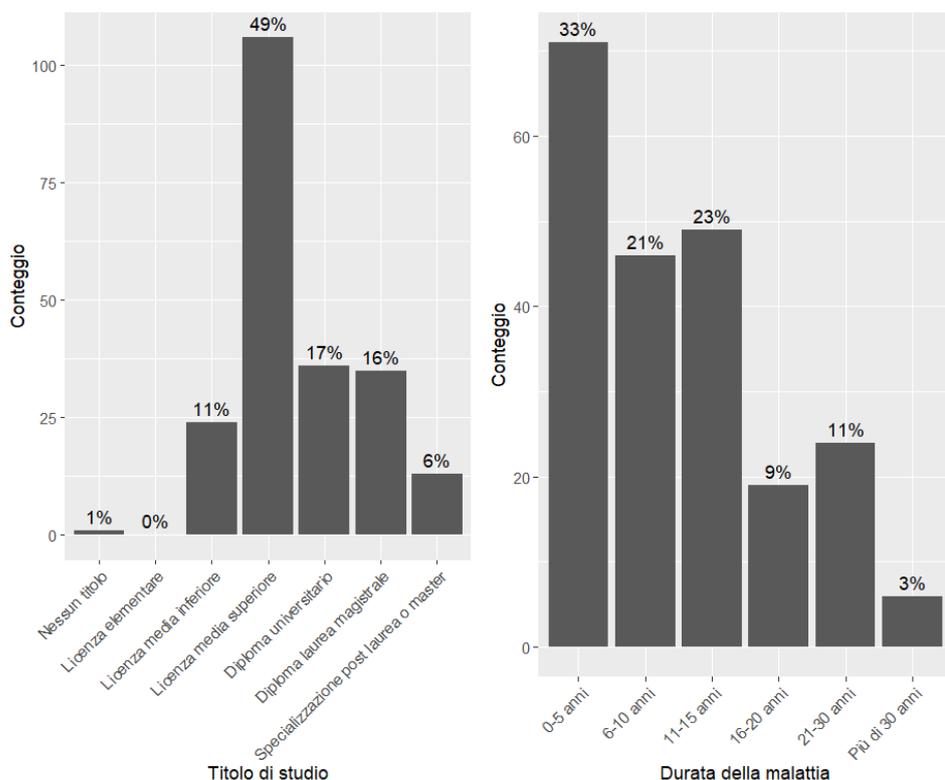


Figura 1.6: Grafico a barre del numero di pazienti per titolo di studio (a sinistra) e per anni di malattia della SM (a destra).

ne), da considerarsi come uno stadio avanzato della forma precedente, con una disabilità persistente che progredisce gradualmente nel tempo, e primaria (SMPP, presente per il 4% nel campione), che indica un peggioramento delle funzioni neurologiche fin dalla comparsa dei primi sintomi, in assenza di vere e proprie ricadute o remissioni.

In relazione agli anni di malattia dei soggetti affetti da SM (Figura 1.6), si può osservare che il 33% è ammalato da meno di 6 anni, il 21% è ammalato dai 6 ai 10 anni, il 23% è ammalato dagli 11 ai 15 anni, il 9% è ammalato dai 16 ai 20 anni, l'11% è ammalato dai 21 ai 30 anni e, infine, il 3% è ammalato da più di 30 anni. In definitiva, il 77% del campione è ammalato da meno di 15 anni.

Si osserva che circa metà della popolazione pratica attività fisica: per la precisione il 53% contro il 47% che non la pratica (Tabella 1.2). Inoltre, è stato chiesto, a chi la pratica, di specificare una o più attività svolte, scegliendo tra una lista prestabilita. I risultati evidenziano come la maggior

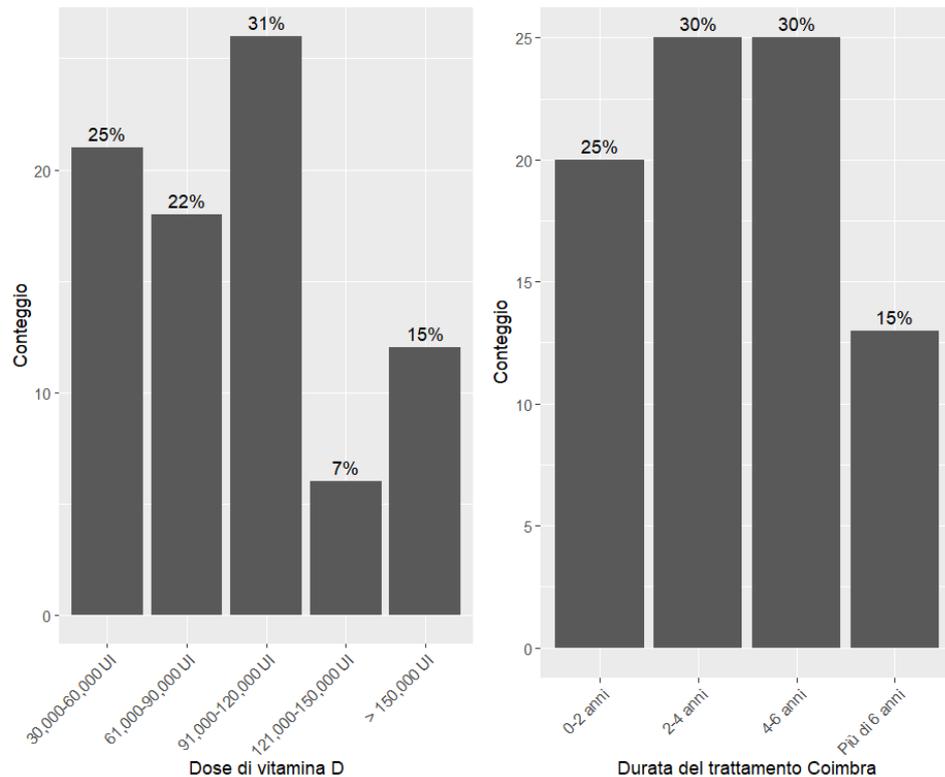


Figura 1.7: Grafico a barre del numero di pazienti per dose giornaliera di vitamina D somministrata (a sinistra) e per durata del trattamento Coimbra (a destra).

parte dei soggetti pratici la camminata veloce e la fisioterapia.

Analizzando, invece, la frequenza con cui i pazienti svolgono l'attività fisica, si riscontra che il 37% si allena 3 o 4 volte a settimana, il 33% 1 o 2 volte, il 19% 5 o 6 volte, mentre il 6% si allena tutti i giorni e il 5% saltuariamente.

Per quanto riguarda il tipo di trattamento per la sclerosi multipla, a cui i pazienti sono sottoposti, si rileva (Tabella 1.2) che circa il 39% del campione segue il protocollo Coimbra, mentre il 61% è sottoposto alla terapia farmacologica.

Per gli 83 soggetti sottoposti al protocollo Coimbra, si osserva (Figura 1.7) che il 25% di loro assume una dose giornaliera di vitamina D (VD) tra le 30,000 e le 60,000 UI, il 22% ne assume una tra le 61,000 e le 90,000 UI, il 31% tra le 91,000 e le 120,000 UI, il 7% tra le 121,000 e le 150,000 UI e, infine, il 15% assume una dose maggiore alle 150,000 UI.

Si valuta, inoltre, la durata (in anni) per la quale gli 83 pazienti sono stati

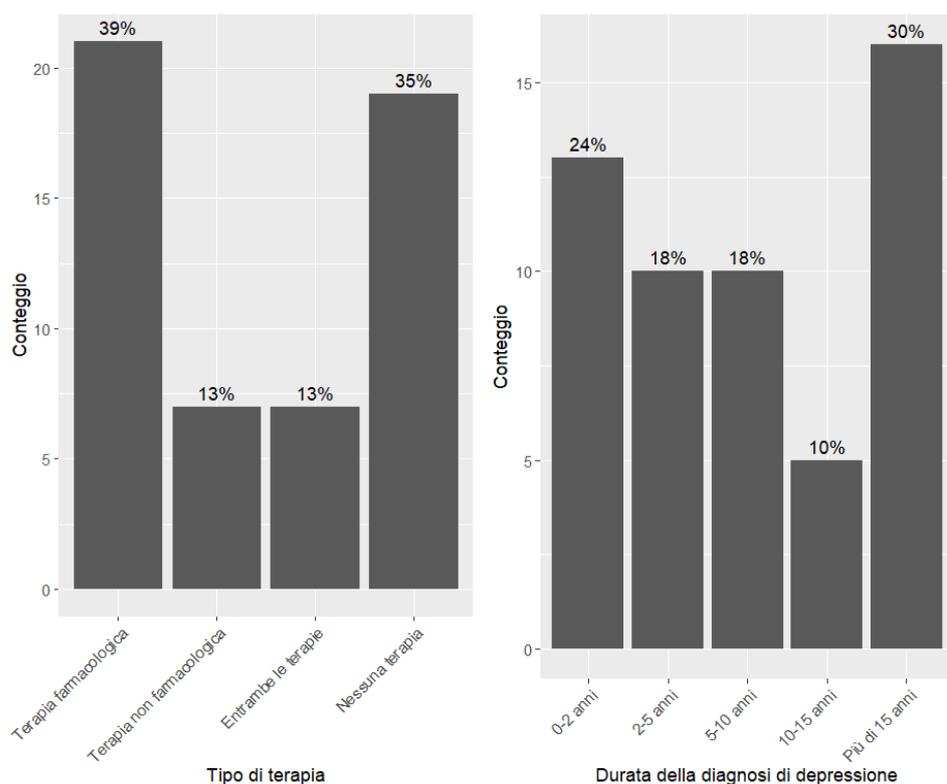


Figura 1.8: Grafico a barre del numero di pazienti per terapia (a sinistra) e durata (a destra) della depressione.

sottoposti al trattamento Coimbra (Figura 1.7): il 25% per meno di due anni, il 30% tra i 2 e i 4 anni, ancora il 30% tra i 4 e i 6 anni e, infine, il 15% per più di 6 anni.

Si considera ora se i soggetti hanno avuto o meno una diagnosi di depressione pregressa (Tabella 1.2): risulta che un quarto dei pazienti (il 25%) ce l'ha avuta, mentre i restanti tre quarti (il 75%) no.

Inoltre, per i 54 pazienti che hanno avuto la diagnosi, si vuole esaminare se questi si siano sottoposti o meno a una qualche terapia per curare la depressione. Come si può osservare in Figura 1.8, il 39% di questi segue una terapia farmacologica (ovvero assume antidepressivi), il 13% segue una terapia non farmacologica (come ad esempio la psicoterapia e la terapia cognitiva comportamentale), ancora il 13% segue entrambe le terapie e il 35% non segue alcuna terapia.

Si è anche interessati a valutare da quanti anni i soggetti hanno avuto la diagnosi di depressione e se questa sia avvenuta prima o dopo la diagnosi di sclerosi multipla. Si rileva che il 33% dei pazienti ha avuto la diagnosi

di depressione prima di quella di SM, mentre il 67% ce l'ha avuta dopo. Nello specifico (Figura 1.8), il 24% dei diagnosticati depressi ha ricevuto la diagnosi da meno di due anni, il 18% l'ha ricevuta dai 2 ai 5 anni, ancora il 18% l'ha ricevuta dai 5 ai 10 anni, il 10% l'ha ricevuta dai 10 ai 15 anni e, infine, il 30% ha ricevuto la diagnosi di depressione da più di 15 anni.

1.3 Metodi per l'analisi dei dati

Come già anticipato, lo scopo di questa analisi è valutare se il trattamento Coimbra ha un impatto significativo sull'indice del grado di depressione (scala HADS e CES-D), rispetto alla terapia farmacologica.

In un primo momento, nella sezione delle analisi esplorative bivariate, si vuole investigare l'associazione tra alcune coppie di variabili per avere una prima impressione della relazione che intercorre tra loro. Per le coppie di variabili quantitative si mostreranno dei diagrammi di dispersione al fine di valutarne la correlazione, per le qualitative delle tabelle di frequenza in modo da valutarne l'associazione e per le coppie in cui vi è una variabile quantitativa e una qualitativa, verranno forniti dei boxplot. In alcuni casi, inoltre, i grafici o le tabelle potranno essere accompagnati da test, come ad esempio il *t-test* (o il corrispondente test di *Mann-Whitney* se non è possibile assumere la normalità), ma anche l'ANOVA (o il corrispondente test non parametrico di *Kruskal-Wallis*), per valutare se la media della distribuzione di una variabile quantitativa (come ad esempio il grado di depressione) è diversa condizionatamente al gruppo di appartenenza della variabile qualitativa (ad esempio il tipo di trattamento), oppure il test *Chi-quadrato* di indipendenza, per valutare se vi è associazione tra due variabili categoriali (come ad esempio il tipo di trattamento e una qualsiasi variabile socio-demografica o clinica).

Successivamente, si procede con l'analisi dei confondenti o modificatori d'effetto, volta a valutare come la relazione tra il grado di depressione (effetto, variabile dipendente) e il tipo di trattamento (esposizione, variabile indipendente principale) si modifica a seconda dell'inserimento di una terza variabile (che può essere scelta tra quelle socio-demografiche oppure tra quelle di classificazione della malattia). Per fare ciò, come spiegato in [10], si utilizza la regressione lineare, specificando diversi modelli in cui la variabile risposta e la covariata principale sono fisse (in questo caso il grado di depressione e il tipo di trattamento, rispettivamente), mentre cambia la terza variabile (esplicativa) di volta in volta. Nello specifico, per capire se questa ha un ruolo di confondente o modificatore d'effetto nella relazione tra variabile dipendente e indipendente principale, si effettuano i seguenti passi:

- si inserisce nel modello la terza variabile insieme al termine di interazione tra questa e la covariata principale. Se l'interazione dovesse risultare significativa ($p\text{-value} < 0.05$), allora l'esplicativa in questione risulterebbe essere un modificatore d'effetto, ovvero risulta variare la relazione esposizione-effetto per diversi livelli del modificatore stesso;
- se l'interazione non dovesse risultare significativa, si dovrebbe allora eliminarla dal modello e mantenere il solo effetto marginale dell'esplicativa. Se il coefficiente associato a tale variabile risultasse significativo, in tal caso ci si potrebbe trovare di fronte a un confondente, ma prima si dovrebbe controllare, attraverso le analisi bivariate, che questo risulti essere associato con la covariata principale. Se così fosse, allora l'esplicativa in questione risulterebbe essere un confondente, ovvero una variabile che influisce sia sulla variabile indipendente principale che sulla variabile dipendente;
- se l'effetto marginale dell'esplicativa non dovesse essere significativo o se non ci dovesse essere associazione con la variabile indipendente principale, allora la variabile in questione non sarebbe né un confondente né un modificatore d'effetto.

Conseguentemente, si definisce il modello di regressione lineare normale completo, nel quale si inseriscono la variabile risposta (grado di depressione), la covariata principale (tipo di trattamento) e tutte le esplicative che sono state selezionate nell'analisi descritta precedentemente, con o senza il termine di interazione, a seconda che queste siano modificatori d'effetto o confondenti. Si otterranno due modelli diversi, uno con variabile risposta il grado di depressione della scala HADS e l'altro con variabile risposta il grado di depressione della scala CES-D. Una volta costruiti i due modelli come descritto, si valuta se tutti i termini inseriti degli effetti di interazione o marginali siano significativi, attraverso una procedura automatica di selezione all'indietro (*backward*) del modello, basata sullo svolgimento di test del log-rapporto di verosimiglianza per il confronto di modelli annidati. Le variabili (o interazioni) si eliminano una alla volta, iniziando da quella a cui corrisponde il più grande livello di significatività osservato ($p\text{-value}$, purché questo sia più grande di una soglia minima prefissata, ad esempio 0.05), arrivando così alla specificazione del modello di regressione lineare finale (uno per ciascuna scala). Si fa presente, inoltre, che è necessario definire un gruppo di riferimento, cioè un sottogruppo del campione considerato, dove le unità statistiche assumono specifiche modalità delle covariate presenti nel modello, in modo tale poi da poter interpretare i coefficienti di regressione come aumento o diminuzione in media della risposta (grado di depressione) al variare delle modalità delle esplicative, rispetto al gruppo di riferimento.

Tutte le analisi di regressione presentate in questo studio hanno verificato l'assunzione di linearità della funzione di legame tra la variabile risposta e le covariate, così come quella di normalità e omoschedasticità dei residui.

In generale, date n osservazioni per una variabile risposta (o dipendente) e per p variabili esplicative (o indipendenti), il modello di regressione lineare multipla, come descritto in [2], presenta le seguenti assunzioni:

- Linearità: condizionatamente a $X_{i1} = x_{i1}, \dots, X_{ip} = x_{ip}$, il modello prevede $Y_i = \beta_1 x_{i1} + \beta_2 x_{i2} + \dots + \beta_p x_{ip} + \varepsilon_i$, $i = 1, \dots, n$.
- Media nulla, omoschedasticità, normalità e indipendenza degli errori: $\varepsilon_i \sim \mathcal{N}(0, \sigma^2)$ indipendenti, $i = 1, \dots, n$.
- Indipendenza lineare tra le variabili esplicative: i vettori $x_j \in \mathbb{R}^n$, $j = 1, \dots, p$, sono linearmente indipendenti.

Si noti che dalle prime due assunzioni discende che le Y_i sono indipendenti con $Y_i \sim \mathcal{N}(\mu_i, \sigma^2)$, $\mu_i = \beta_1 x_{i1} + \beta_2 x_{i2} + \dots + \beta_p x_{ip}$, $i = 1, \dots, n$.

Infine, per indagare la presenza di eventuali relazioni non lineari tra le variabili esplicative e la risposta, si implementa un modello additivo, che risulta essere molto più flessibile rispetto al modello di regressione lineare. Nello specifico, si definisce il modello additivo che ha come variabile risposta il grado di depressione e come covariate le stesse incluse nel modello finale di regressione lineare.

Il modello additivo, come descritto in [1], date n osservazioni e p variabili esplicative, presenta la seguente struttura:

$$Y_i = \beta_0 + f_1(x_{i1}) + f_2(x_{i2}) + \dots + f_p(x_{ip}) + \varepsilon_i, \quad i = 1, \dots, n, \quad \text{con } \beta_0 \text{ costante.}$$

I termini f_1, \dots, f_p sono funzioni lisce non lineari delle singole variabili esplicative e, nel caso specifico, vengono stimate, non parametricamente, come *splines* (di lisciamiento), attraverso una procedura detta *backfitting*.

Tutte le analisi sono state eseguite con il software R nella versione 4.1.3. I modelli di regressione lineare sono stati implementati con le funzioni contenute nella libreria di base di R, mentre per il modello additivo si è utilizzata la libreria *mgcv*. I grafici sono stati riprodotti utilizzando la libreria *ggplot2*. Il livello di significatività è fissato al 5%.

Capitolo 2

Risultati

2.1 Analisi esplorative bivariate

Si considera la distribuzione dello *score* (standardizzato) relativo al grado di depressione, condizionatamente al tipo di trattamento, per entrambe le scale HADS e CES-D (Figura 2.1). Si osserva che coloro che seguono il protocollo Coimbra presentano valori del grado di depressione in mediana più bassi rispetto a quelli che sono sottoposti alla terapia farmacologica, per entrambe le scale. Risulterebbero, cioè, mediamente meno depressi i pazienti che prendono elevate dosi di vitamina D, rispetto a coloro che assumono i farmaci.

Per capire se questa differenza è significativa, si esegue un test sull'uguaglianza delle medie delle due distribuzioni, prima per la scala HADS e poi per la CES-D. Si controlla, con il test di *Shapiro-Wilk*, se è possibile accettare l'ipotesi di normalità per le due distribuzioni del grado di depressione della scala HADS: si accetta tale ipotesi ($p\text{-value} = 0.20$) per il gruppo della terapia farmacologica, mentre si rifiuta per quello del trattamento Coimbra ($p\text{-value} < 0.001$). In effetti, osservando i boxplot in Figura 2.1, si nota che quelli relativi al primo gruppo (farmaci) hanno una distribuzione simmetrica, mentre quelli del secondo gruppo (Coimbra) hanno una distribuzione asimmetrica a destra (oltre ad avere una maggiore variabilità). Per questi motivi non è possibile accettare l'ipotesi di normalità e di conseguenza utilizzare il test *t di Student* per verificare l'uguaglianza delle medie.

E', invece, fattibile verificare l'ipotesi nulla di uguaglianza delle mediane delle due distribuzioni del grado di depressione della scala HADS, applicando il test non parametrico di *Mann-Whitney*, che non necessita di particolari assunzioni sulla distribuzione dei dati; tale test rifiuta l'ipotesi nulla con un $p\text{-value} < 0.001$, pertanto vi è una differenza significativa tra le mediane dello *score* di depressione nei due diversi gruppi (farmaci e Coimbra), per la scala HADS. La stessa identica analisi viene svolta sul grado di depressione per la scala CES-D: anche in questo caso si rifiuta l'ipotesi di normalità per

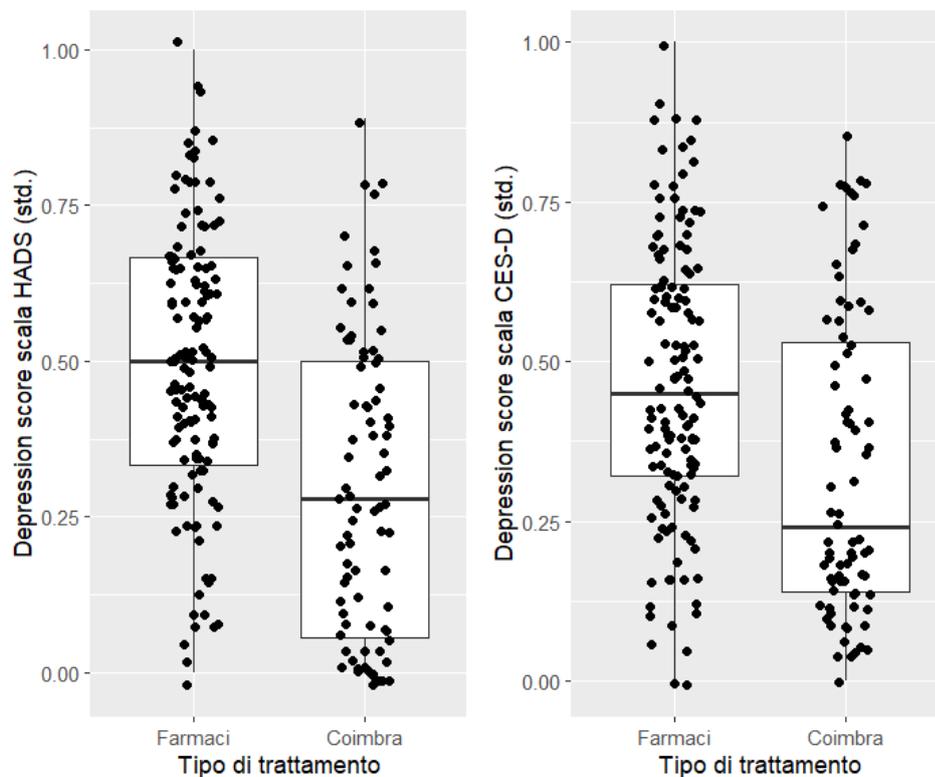


Figura 2.1: Boxplot del grado di depressione al variare del tipo di trattamento, per entrambe le scale (HADS a sinistra e CES-D a destra).

una delle due distribuzioni e si esegue, quindi, il test di *Mann-Whitney*, che porta alla stessa conclusione ($p\text{-value} < 0.001$) vista per la scala HADS.

Di conseguenza, è possibile constatare che i pazienti sottoposti al trattamento Coimbra hanno mediamente dei valori dello *score* di depressione (sia scala HADS che CES-D) significativamente più bassi rispetto ai soggetti che seguono la terapia farmacologica.

Di seguito, si considera la distribuzione dello *score* (standardizzato) relativo al grado di depressione, condizionatamente al sesso, per entrambe le scale HADS e CES-D (Figura 2.2). Si osserva che, in entrambi i casi, il gruppo dei maschi risulta essere più variabile rispetto a quello delle femmine. Inoltre, non appare esserci una differenza significativa tra le mediane dei due gruppi: infatti, eseguendo il test di *Mann-Whitney* (l'ipotesi di normalità viene rifiutata dal test di *Shapiro-Wilk* per una delle due distribuzioni della scala HADS e per entrambe le distribuzioni della scala CES-D) si ottengono $p\text{-value}$ pari a 0.97 e 0.052, per la scala HADS e CES-D, rispettivamente.

Quindi, non c'è una differenza significativa delle mediane del grado di

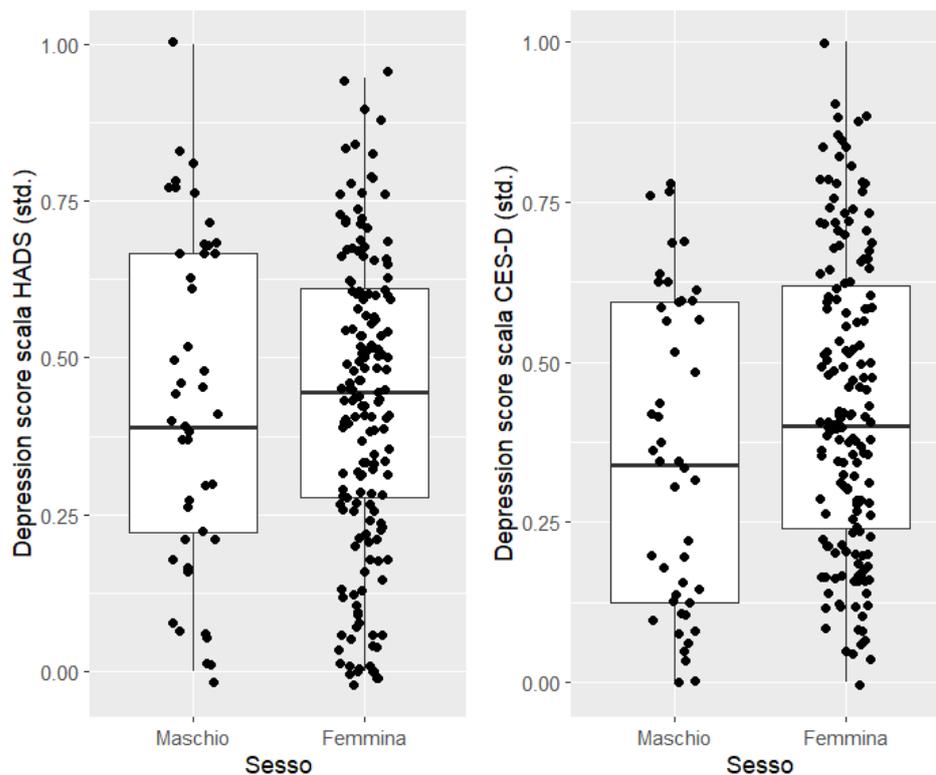


Figura 2.2: Boxplot del grado di depressione al variare del sesso, per entrambe le scale (HADS a sinistra e CES-D a destra).

depressione tra maschi e femmine, per le due scale.

Successivamente, si analizza la distribuzione dello *score* (standardizzato) relativo al grado di depressione, condizionatamente all'età, per entrambe le scale HADS e CES-D. Si noti che, per una migliore visualizzazione, si è resa categoriale la variabile inerente all'età, suddividendo i soggetti in tre classi: 18-35, 36-55 e 56-75. Si osserva (Figura 2.3) che i tre boxplot, di entrambe le scale, mostrano alcune differenze tra i gruppi di pazienti in termini di mediana. Nello specifico, per la scala CES-D, la variabilità entro i tre gruppi parrebbe comparabile e sembrerebbe che la classe d'età 18-35 avesse valori del grado di depressione più elevati in mediana rispetto alle altre due. Per la scala HADS, invece, appare diversa la variabilità entro i tre gruppi e sembrerebbe che la classe d'età 36-55 avesse valori del grado di depressione in mediana più bassi rispetto alle altre due. Per valutare se tali differenze siano significative è possibile eseguire l'analisi della varianza (ANOVA) per confrontare la media dei tre gruppi. A tal proposito, è prima necessario verificare l'ipotesi di normalità per le tre distribuzioni: il test di *Shapiro-Wilk*

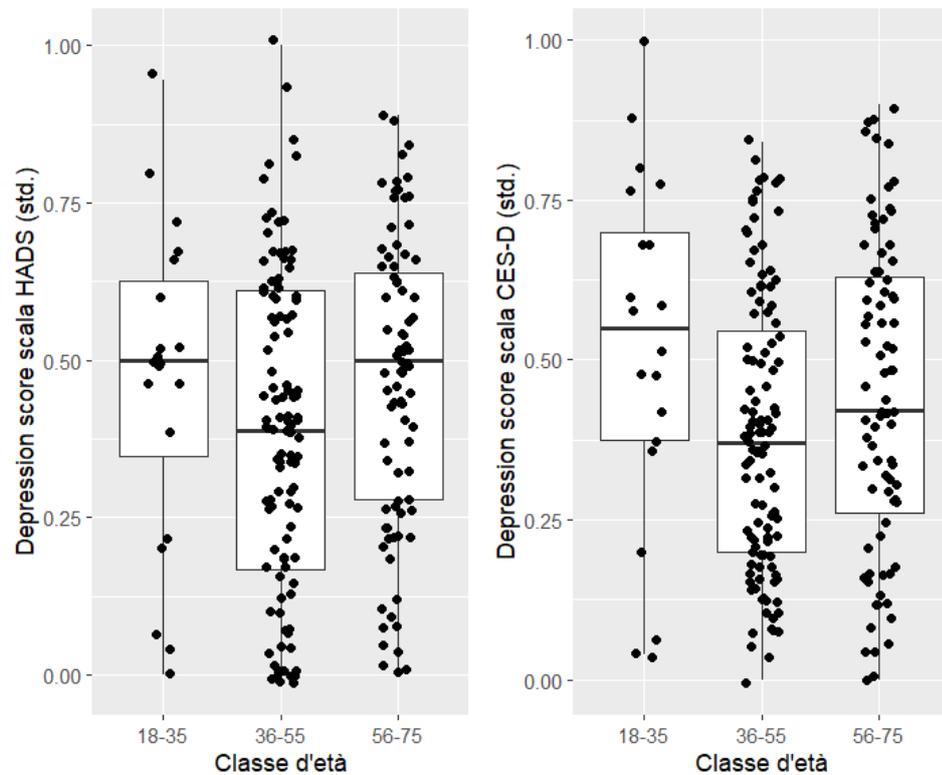


Figura 2.3: Boxplot del grado di depressione al variare della classe di età, per entrambe le scale (HADS a sinistra e CES-D a destra).

rifiuta tale ipotesi, in particolare per la classe di età 36-55, che in effetti presenta un'asimmetria a destra, visibile dai grafici in Figura 2.3. Di conseguenza, si può solo effettuare il test di *Kruskal-Wallis* (la controparte non parametrica dell'ANOVA) sull'uguaglianza delle mediane, il quale restituisce *p-value* pari a 0.048 e 0.053, per la scala HADS e CES-D, rispettivamente. Si ottengono, quindi, due valori al limite della significatività e, per prendere una decisione sul rifiuto o meno dell'ipotesi nulla, si prova a considerare il test di *Holm* (test post-hoc) per identificare quali coppie di medie (delle tre classi d'età) siano significativamente diverse per il contributo all'eventuale rifiuto dell'ipotesi nulla del test di *Kruskal-Wallis*. Dai risultati di questo ultimo test, si evince che, per entrambe le scale, nessuno dei confronti risulta significativo, pertanto si decide di accettare l'ipotesi nulla di uguaglianza delle mediane (delle tre classi d'età) del test di *Kruskal-Wallis*, concludendo che non vi è alcuna differenza significativa in mediana del grado di depressione condizionatamente all'età.

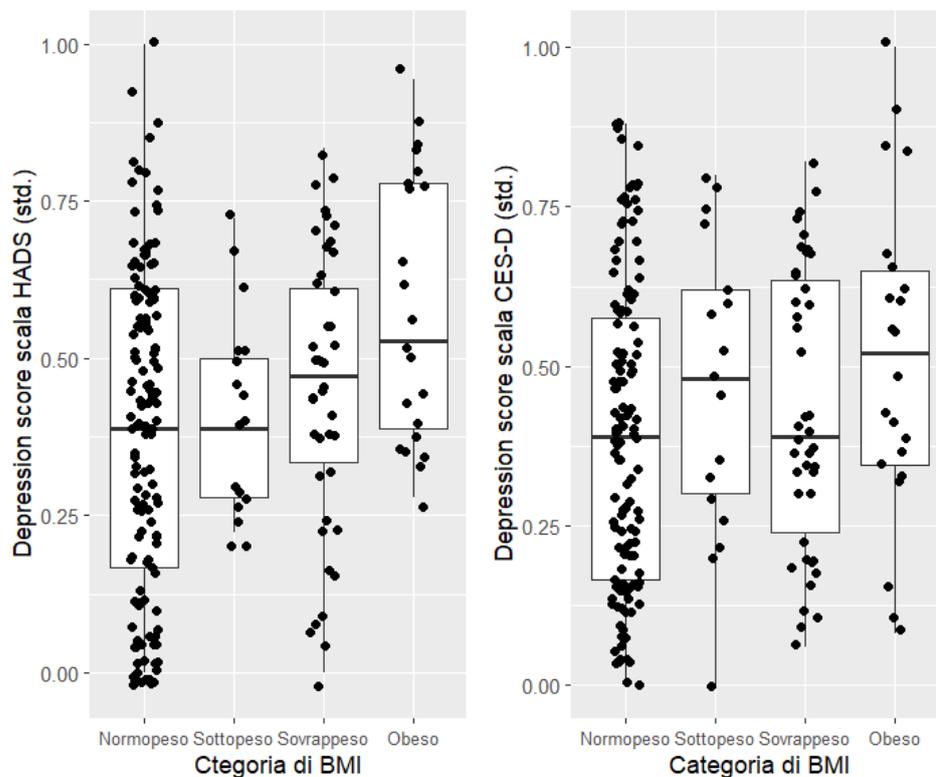


Figura 2.4: Boxplot del grado di depressione al variare della categoria dell'indice di massa corporea, per entrambe le scale (HADS a sinistra e CES-D a destra).

Con il grafico in Figura 2.4 si vuole valutare come varia la distribuzione dello *score* (standardizzato) relativo al grado di depressione, condizionata alla categoria dell'indice di massa corporea (BMI), per entrambe le scale HADS e CES-D. Si osserva che non appare esserci una particolare differenza tra le mediane dei 4 gruppi, per entrambe le scale. Sicuramente si nota come il gruppo relativo alla categoria “Normopeso” abbia una variabilità maggiore rispetto agli altri (essendo anche la classe più popolata). Per stabilire che le differenze non siano effettivamente significative, si utilizza anche in questo caso il test non parametrico di *Kruskal-Wallis* (l'ipotesi di normalità non viene accettata per tutti i gruppi delle due scale), che fornisce due risultati diversi per la scala HADS e la scala CES-D: per la prima si rifiuta l'ipotesi di uguaglianza delle mediane dei quattro gruppi con un *p-value* pari a 0.01, mentre per la seconda si accetta l'ipotesi con un *p-value* pari a 0.15. Si esegue il test di *Holm* per identificare quali coppie di medie sono significativamente differenti e hanno contribuito al rifiuto dell'ipotesi nulla, per la scala HADS. Risulta che l'unico confronto significativo è quello

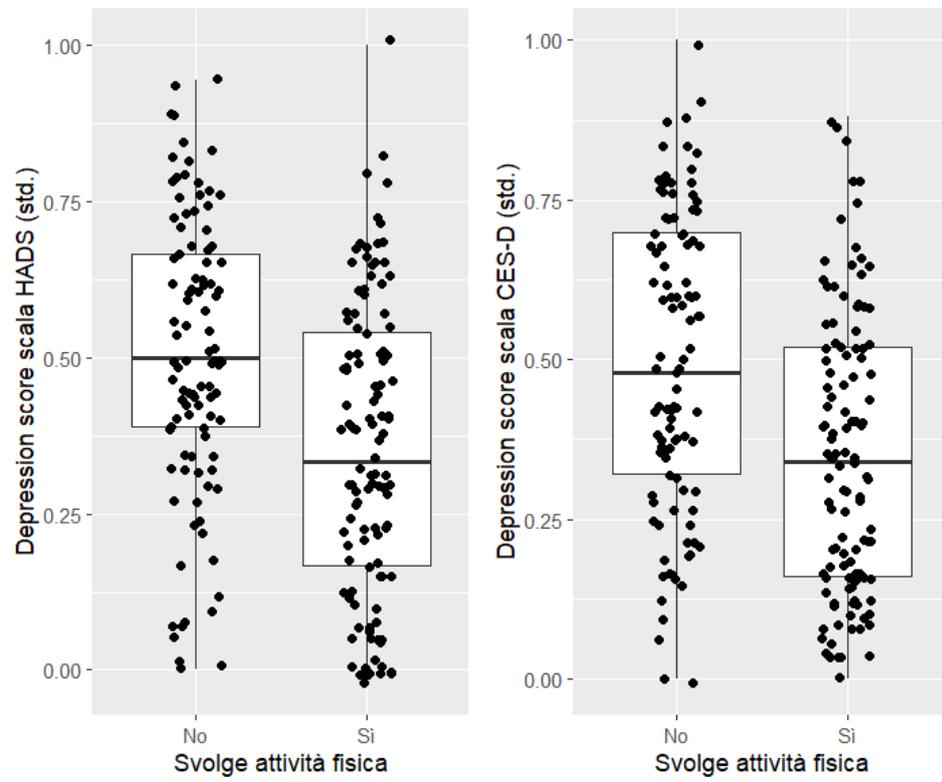


Figura 2.5: Boxplot del grado di depressione al variare dello svolgere o meno attività fisica, per entrambe le scale (HADS a sinistra e CES-D a destra).

tra la coppia di modalità “Normopeso” e “Obeso”.

Di conseguenza, si può dire che, per la scala HADS, vi è differenza in mediana dello *score* relativo al grado di depressione, condizionatamente alle categorie dell'indice di massa corporea (soprattutto tra i normopeso e gli obesi), mentre per la scala CES-D non vi è alcuna differenza significativa.

Di seguito si valuta come cambia la distribuzione dello *score* (standardizzato) relativo al grado di depressione, condizionatamente allo svolgere o meno attività fisica, per entrambe le scale HADS e CES-D. Si riscontra (Figura 2.5) che i pazienti che svolgono attività fisica hanno valori del grado di depressione più bassi rispetto a chi non la svolge. In particolare, questa differenza è ancora più marcata per la scala HADS, in cui si può anche osservare come il gruppo dei “Sì” risulti più variabile rispetto a quello dei “No”. Per valutare se le differenze esaminate sono significative, è possibile sfruttare il test non parametrico di *Mann-Whitney* (dato che l'assunto di normalità non viene rispettato per nessuna delle quattro distribuzioni): i risultati portano

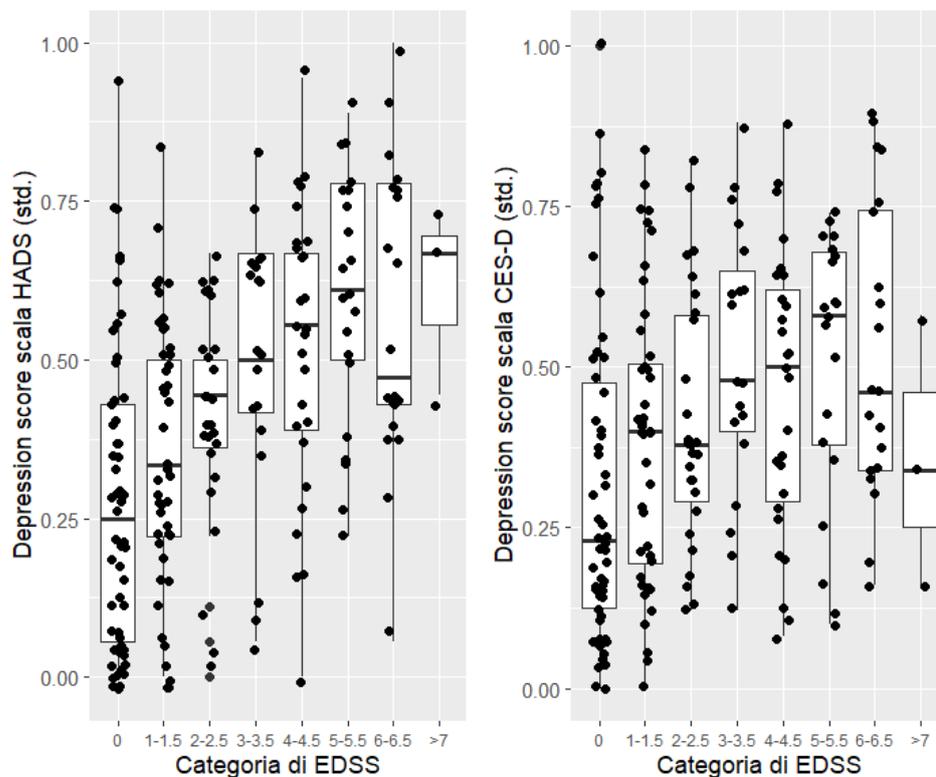


Figura 2.6: Boxplot del grado di depressione al variare della categoria di EDSS, per entrambe le scale (HADS a sinistra e CES-D a destra).

a rifiutare l'ipotesi di uguaglianza delle mediane nei due gruppi, sia per la scala HADS che per la scala CES-D, con un $p\text{-value} < 0.001$ per entrambe.

Pertanto, è possibile constatare che chi svolge attività fisica risulta avere uno *score* relativo al grado di depressione in mediana significativamente più basso, rispetto a chi non la pratica.

Si considera ora la distribuzione dello *score* (standardizzato) relativo al grado di depressione, condizionatamente all'EDSS, per entrambe le scale HADS e CES-D. Anche in questo caso, per una migliore visualizzazione, si considera la versione categoriale (fornita dal questionario) della scala di disabilità (EDSS). Si osserva (Figura 2.6) che, tendenzialmente, all'aumentare del valore di EDSS, aumenta anche il grado di depressione, per cui le mediane dello *score* relativo alla depressione appaiono diverse per le categorie della scala di disabilità, per entrambe le scale HADS e CES-D. Per determinare se tali differenze sono significative si può effettuare, anche in questo caso, il test di *Kruskal-Wallis* non parametrico (l'assunto di normalità non viene

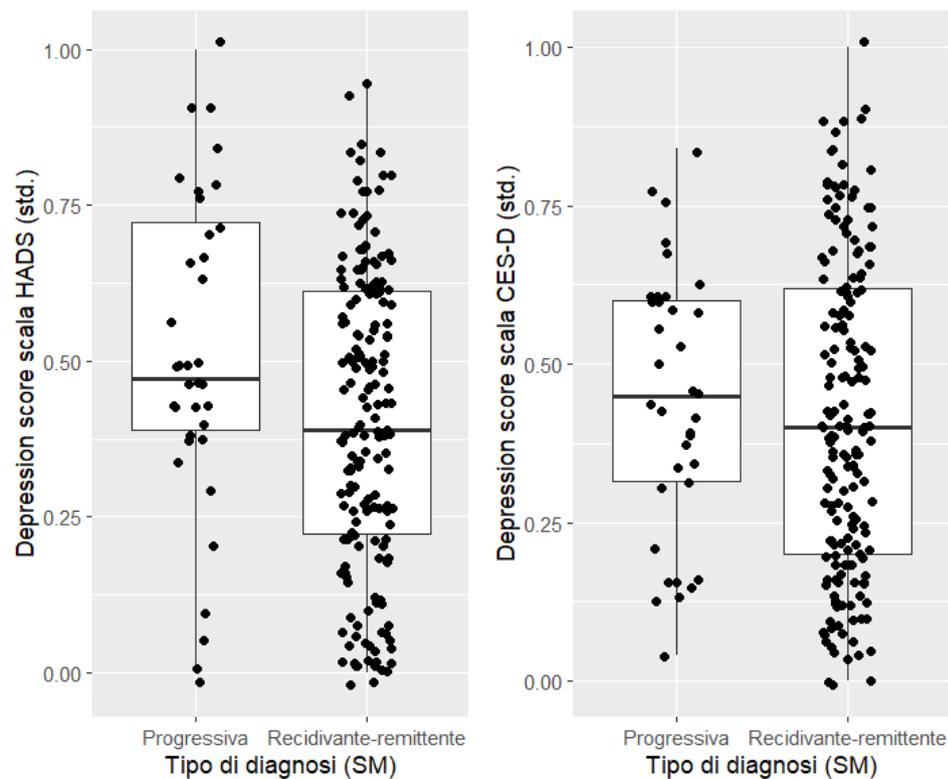


Figura 2.7: Boxplot del grado di depressione al variare del tipo di diagnosi di sclerosi multipla, per entrambe le scale (HADS a sinistra e CES-D a destra).

rispettato) sull'uguaglianza delle mediane del grado di depressione nelle otto categorie di EDSS. I risultati indicano che tale test risulta significativo, sia per la scala HADS che per la CES-D, con $p\text{-value} < 0.001$ e pari a 0.002, rispettivamente.

Pertanto, le differenze in mediana dello *score* relativo al grado di depressione, condizionatamente alla categoria di EDSS, sono significative per entrambe le scale.

E' di interesse ora considerare come varia la distribuzione dello *score* (standardizzato) relativo al grado di depressione, condizionatamente al tipo di diagnosi di sclerosi multipla, per entrambe le scale HADS e CES-D. Per fare questo, si è scelto di raggruppare le due modalità della diagnosi di SM relative alla tipologia progressiva (primaria e secondaria), in un'unica classe, ottenendo perciò due sole categorie della diagnosi: "Recidivante-remittente" e "Progressiva". Questa scelta è dovuta anche alla scarsa numerosità dei pazienti che presentano la diagnosi progressiva (solo 36, contro

i 179 che presentano la forma recidivante-remittente). Si vede (Figura 2.7) che i pazienti con diagnosi recidivante-remittente hanno valori in mediana più bassi rispetto a coloro con una diagnosi di tipo progressivo (differenza più marcata nella scala HADS rispetto alla CES-D). Per valutare se le differenze siano effettivamente significative, è possibile utilizzare il test di *Mann-Whitney* (l'ipotesi di normalità non viene accettata per il gruppo di diagnosi recidivante-remittente), il quale porta a due conclusioni diverse a seconda della scala considerata: per la HADS si rifiuta l'ipotesi di uguaglianza delle mediane con un *p-value* pari a 0.03, mentre per la CES-D si accetta tale ipotesi con un *p-value* pari a 0.43.

Si conclude, perciò, che, solo per la scala HADS, lo *score* relativo al grado di depressione è in mediana significativamente più basso per coloro che presentano una diagnosi di tipo recidivante-remittente, rispetto a quella progressiva (in effetti considerata più debilitante).

Per ultima, si analizza la distribuzione dello *score* (standardizzato) relativo al grado di depressione, condizionatamente all'aver avuto una diagnosi di depressione pregressa e, in caso positivo, all'uso o meno di antidepressivi, per entrambe le scale HADS e CES-D.

Per fare ciò, è stata creata una nuova variabile qualitativa che riassume in tre modalità l'informazione espressa dalle due variabili "Diagnosi di depressione pregressa" e "Tipo di terapia", presentate precedentemente nella sezione 1.2.2 del Capitolo 1. Nello specifico, si sono create tre categorie: "No diagnosi", che indica il non aver avuto una diagnosi di depressione pregressa, "Antidepressivi", che indica l'aver avuto la diagnosi e l'assumere antidepressivi e, infine, la categoria "No antidepressivi", che indica l'aver avuto la diagnosi ma il non utilizzo di farmaci contro la depressione (per cui nessuna terapia oppure terapia non farmacologica).

Osservando i grafici in Figura 2.8, si nota che i pazienti che non hanno avuto una diagnosi di depressione pregressa, risultano avere un valore del grado di depressione in mediana più basso rispetto a coloro che hanno avuto la diagnosi e che assumono oppure no antidepressivi, in entrambe le scale. Le distribuzioni del gruppo "No diagnosi" rifiutano l'ipotesi di normalità del test di *Shapiro-Wilk* con un *p-value* < 0.001 . Pertanto, per valutare se le differenze osservate siano significative, è necessario applicare il test di *Kruskal-Wallis*, il quale rifiuta l'ipotesi nulla di uguaglianza delle mediane nei tre diversi gruppi, con un *p-value* < 0.001 , per entrambe le scale HADS e CES-D. Eseguendo, inoltre, il test di *Holm* (post-hoc) per identificare quali coppie di medie sono significativamente differenti e hanno contribuito al rifiuto dell'ipotesi nulla, si evidenzia come i confronti significativi siano proprio quelli tra coloro che non hanno avuto la diagnosi di depressione e quelli che ce l'hanno avuta e assumono oppure no antidepressivi, per entrambe le scale.

E' possibile, dunque, affermare che chi non ha avuto la diagnosi di de-

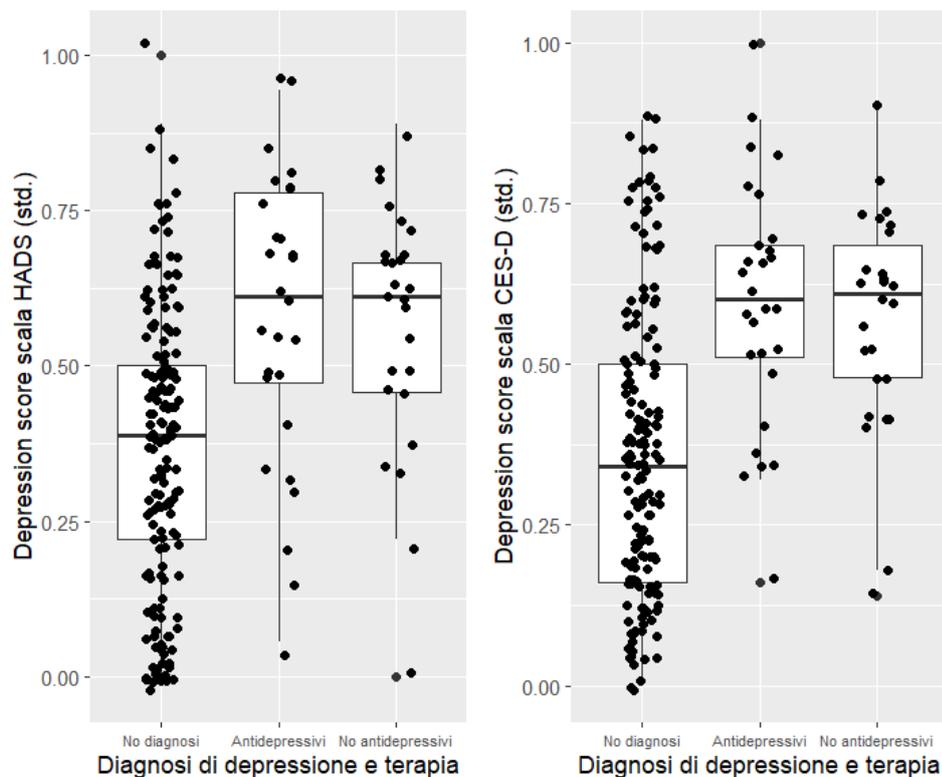


Figura 2.8: Boxplot del grado di depressione al variare dell'aver avuto una diagnosi di depressione progressiva e dell'assunzione di antidepressivi, per entrambe le scale (HADS a sinistra e CES-D a destra).

pressioni progressiva risulta avere dei valori dello *score* relativo al grado di depressione significativamente più bassi in mediana, rispetto a chi, invece, l'ha avuta, indipendentemente dal fatto che questi poi assumano o meno antidepressivi, sia per la scala HADS che CES-D.

Si vuole ora valutare l'effetto del tipo di trattamento sulle rimanenti variabili quantitative (oltre agli *score* di depressione), come l'età e l'EDSS (Figura 2.9).

Si nota che i due boxplot relativi all'età hanno una variabilità comparabile e non sembra esserci una particolare differenza tra le mediane nei due gruppi di trattamento.

Per le distribuzioni della scala di disabilità (EDSS), invece, si osserva che il gruppo di coloro che seguono la terapia farmacologica risulta più variabile e con una mediana più alta, rispetto al gruppo sottoposto al protocollo Coimbra.

Per esaminare se tali differenze siano significative, è possibile eseguire

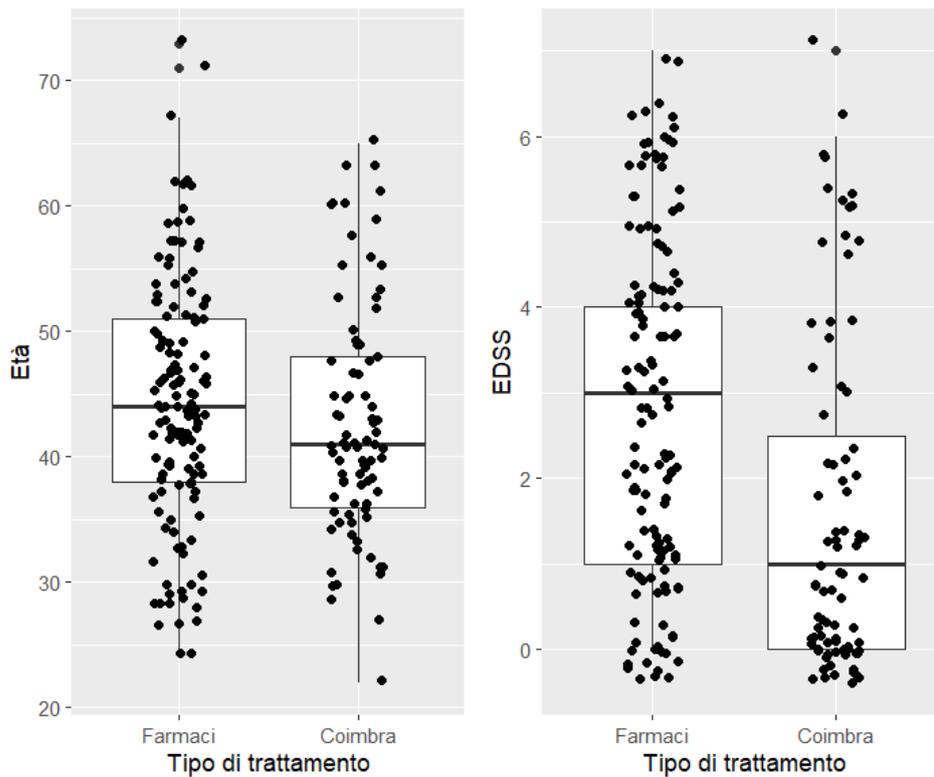


Figura 2.9: Boxplot dell'età (a sinistra) e dell'EDSS (a destra) al variare del tipo di trattamento.

il test di *Mann-Whitney* non parametrico (l'assunto di normalità non viene rispettato dalle distribuzioni, come è possibile vedere anche dalle evidenti asimmetrie), il quale indica che per l'età la differenza tra le mediane non è significativa ($p\text{-value} = 0.15$), mentre per l'EDSS le mediane risultano significativamente diverse ($p\text{-value} < 0.001$).

Si può dire, quindi, che il tipo di trattamento non risulta avere un effetto significativo per l'età, ma risulta avercelo per l'EDSS, che assume valori in mediana significativamente più bassi per il gruppo Coimbra, rispetto a quello dei farmaci.

Con la Tabella 2.1 si vuole considerare l'associazione tra le variabili qualitative a disposizione, ponendo particolare attenzione alla relazione tra il tipo di trattamento e le altre variabili categoriali.

Variabile	Modalità	Tipo di trattamento		Totale (100%)	<i>p-value</i>
		Farmaci	Coimbra		
Sesso	Maschio	29 (63%)	17 (37%)	46	0.93
	Femmina	103 (61%)	66 (39%)	169	
BMI	Sottopeso	14 (82%)	3 (18%)	17	0.02
	Normopeso	72 (54%)	62 (46%)	134	
	Sovrappeso	30 (71%)	12 (29%)	42	
	Obeso	16 (73%)	6 (27%)	22	
Stato civile	Nubile/celibe	31 (62%)	19 (38%)	50	0.77
	Sposato/convivente	86 (61%)	54 (39%)	140	
	Separato/divorziato/vedovo	15 (60%)	10 (40%)	25	
Stato lavorativo	Lavoro a tempo pieno	53 (58%)	38 (42%)	91	0.17
	Lavoro part-time	26 (59%)	18 (41%)	44	
	Libera professione	11 (52%)	10 (48%)	21	
	Disoccupato	14 (74%)	5 (26%)	19	
	Non lavora per motivi di salute	23 (79%)	6 (21%)	9	
	Non lavora per altri motivi	5 (46%)	6 (54%)	11	
Titolo di studio	Nessun titolo	0 (0%)	1 (100%)	1	0.62
	Licenza media inf.	16 (67%)	8 (33%)	24	
	Licenza media sup.	67 (63%)	39 (37%)	106	
	Diploma laurea triennale	19 (53%)	17 (47%)	36	
	Diploma laurea magistrale	23 (66%)	12 (34%)	35	
Specializzazione o master	7 (54%)	6 (46%)	13		
Attività fisica	Non la pratica	73 (72%)	28 (28%)	101	0.003
	La pratica	59 (52%)	55 (48%)	114	
Diagnosi SM	Recidivante-remittente	111 (62%)	68 (38%)	179	0.82
	Progressiva	21 (58%)	15 (42%)	36	
Anni di malattia	≤ 15	97 (58%)	69 (42%)	166	0.14
	> 15	35 (71%)	14 (29%)	49	
Diagnosi di depressione e terapia	No diagnosi	93 (58%)	68 (42%)	161	0.05
	Antidepressivi	23 (82%)	5 (18%)	28	
	No antidepressivi	16 (62%)	10 (38%)	26	

Tabella 2.1: Distribuzione di frequenza delle variabili categoriali, condizionatamente al tipo di trattamento. L'ultima colonna riporta il *p-value* relativo al test *Chi-quadrato* di indipendenza.

Anzitutto, si specifica che per alcune delle variabili in Tabella 2.1 non sono state riportate tutte le modalità originarie. Nello specifico, per le variabili “BMI”, “Diagnosi SM” e “Diagnosi depressione e terapia” si sono utilizzate le classi definite in precedenza in questo capitolo. Per la variabile

“Stato lavorativo” si è omessa la categoria relativa alla licenza elementare, in quanto nessuno dei 215 soggetti del campione presenta tale modalità, mentre per lo “Stato civile” si è scelto di aggregare la modalità “Vedovo/a” (costituita da un solo soggetto) con “Separato/divorziato”. Infine, si è scelto di dicotomizzare la variabile “Anni di malattia”, scegliendo come *cut-off* il valore medio, al fine di una migliore rappresentazione.

Osservando l’ultima colonna della Tabella 2.1, si nota come alcuni *p-value* relativi al test *Chi-quadrato* di indipendenza (utilizzato per determinare se esiste un’associazione tra due variabili categoriali) risultino significativi. Si può quindi affermare che il tipo di trattamento risulta essere associato (dato che si rifiuta l’ipotesi nulla di indipendenza) con l’indice di massa corporea (BMI), l’attività fisica e l’aver avuto una diagnosi di depressione pregressa con assunzione o meno di antidepressivi. Si specifica, inoltre, che, in corrispondenza delle variabili con frequenze minori di 5 per qualche categoria (come nel caso del BMI e del titolo di studio), si è utilizzato il test *Chi-quadrato* con correzione del *p-value*, simulato mediante replicazioni *Monte Carlo*, in quanto fornisce stime più attendibili della significatività del test. Questo approccio è stato scelto per compensare le limitazioni del test classico, dovute alla presenza di frequenze basse nelle celle delle tabelle di contingenza.

2.2 Analisi dei confondenti o modificatori d’effetto

In questa sezione è di interesse valutare se e come alcune tra le variabili quantitative e categoriali presentate in precedenza, intervengono nella relazione di interesse tra lo *score* (standardizzato) relativo al grado di depressione (per la scala HADS e CES-D) e il tipo di trattamento per la sclerosi multipla (protocollo Coimbra o terapia farmacologica). Come spiegato nel paragrafo 1.3 del Capitolo 1, la procedura adatta per tale analisi è quella della regressione lineare, in cui si pongono la variabile risposta e la covariata principale come fisse (in questo caso lo *score* relativo al grado di depressione e il tipo di trattamento, rispettivamente) e si costruiscono tanti modelli quante sono le variabili da considerare come eventuali confondenti o modificatori d’effetto, le quali vengono inserite nel modello come esplicative, una per volta. Per trarre delle conclusioni, si esamina la significatività dei coefficienti relativi all’effetto marginale (dell’esplicativa oggetto di studio) e di quello di interazione con il tipo di trattamento.

Nelle Tabelle 2.2 e 2.3 vengono riportati i risultati dell’analisi descritta, per le due scale del grado di depressione.

Variabile	Stima coefficiente effetto marginale (trattamento)	Stima coefficiente effetto marginale (esplicativa)	Stima coefficiente effetto di interazione (esplicativa * trattamento)
Trattamento [Coimbra]	-0.182 (***)	/	/
Sesso [Femmina]	-0.182 (***)	0.003	/
Età	-0.631 (***)	-0.002	0.01 (**)
BMI			
[Sottopeso]		-0.029	/
[Sovrappeso]	-0.174 (***)	0.031	/
[Obeso]		0.157 (**)	/
Stato civile			
[Sposato/convivente]		-0.029	/
[Separato/divorziato/vedovo]	-0.182 (***)	-0.017	/
Stato lavorativo			
[Lavoro part-time]		-0.021	/
[Libera professione]		0.056	/
[Disoccupato]		0.143 (*)	/
[Non lavora per motivi di salute]	-0.161 (***)	0.165 (***)	/
[Non lavora per altri motivi]		0.015	/
Titolo di studio			
[Nessun titolo]		-0.248	/
[Licenza media inf.]		0.036	/
[Diploma laurea triennale]	-0.184 (***)	0.068	/
[Diploma laurea magistrale]		-0.057	/
[Specializzazione o master]		-0.014	/
Attività fisica [Sì]	-0.071	-0.063	-0.147 (*)
Diagnosi SM [Progressiva]	-0.185 (***)	0.113 (**)	/
Anni di malattia [>15]	-0.183 (***)	-0.004	/
EDSS	-0.124 (***)	0.046 (***)	/
Diagnosi di depressione e terapia			
[Antidepressivi]		0.173 (***)	/
[No antidepressivi]	-0.163 (***)	0.195 (***)	/

Tabella 2.2: Adattamento dei modelli di regressione lineare per l'analisi dei confondenti o modificatori d'effetto, per la scala HADS. Il simbolo *, ove riportato, fa riferimento alla significatività del coefficiente associato. Nello specifico * indica un p -value < 0.05, ** indica un p -value < 0.01 e *** indica un p -value < 0.001.

Variabile	Stima coefficiente effetto marginale (trattamento)	Stima coefficiente effetto marginale (esplicativa)	Stima coefficiente effetto di interazione (esplicativa * trattamento)
Trattamento [Coimbra]	-0.129 (***)	/	/
Sesso [Femmina]	-0.13 (***)	0.08 (**)	/
Età	-0.634 (***)	-0.004 (*)	0.012 (***)
BMI			
[Sottopeso]		0.042	/
[Sovrappeso]	-0.12 (***)	0.017	/
[Obeso]		0.097	/
Stato civile			
[Sposato/convivente]	-0.129 (***)	-0.03	/
[Separato/divorziato/vedovo]		0.015	/
Stato lavorativo			
[Lavoro part-time]		0.062	/
[Libera professione]		-0.017	/
[Disoccupato]		0.129 (*)	/
[Non lavora per motivi di salute]	-0.11 (***)	0.149 (**)	/
[Non lavora per altri motivi]		0.058	/
Titolo di studio			
[Nessun titolo]		-0.233	/
[Licenza media inf.]		0.012	/
[Diploma laurea triennale]	-0.125 (***)	-0.006	/
[Diploma laurea magistrale]		-0.046	/
[Specializzazione o master]		-0.068	/
Attività fisica [Si]	-0.016	-0.07	0.021 (*)
Diagnosi SM [Progressiva]	-0.13 (***)	0.034	/
Anni di malattia [>15]	-0.132 (***)	-0.006	/
EDSS	-0.097 (**)	0.025 (**)	/
Diagnosi di depressione e terapia			
[Antidepressivi]	-0.105 (***)	0.207 (***)	/
[No antidepressivi]		0.204 (***)	/

Tabella 2.3: Adattamento dei modelli di regressione lineare per l'analisi dei confondenti o modificatori d'effetto, per la scala CES-D. Il simbolo *, ove riportato, fa riferimento alla significatività del coefficiente associato. Nello specifico * indica un p -value < 0.05, ** indica un p -value < 0.01 e *** indica un p -value < 0.001.

Nella prima riga delle Tabelle 2.2 e 2.3, si è riportato il risultato del modello lineare normale che include solo il tipo di trattamento come covariata, mentre la variabile risposta è lo *score* (standardizzato) relativo al grado di depressione per la scala HADS o CES-D. Di seguito, per ogni altra riga, si è riportato il risultato dell'analisi di regressione in cui la variabile risposta e la covariata principale sono rimaste fisse, mentre viene aggiunta una seconda esplicativa (di cui viene riportato il nome in grassetto nella prima colonna), per valutare come questa modifichi la relazione di interesse. Nella seconda colonna si riporta il coefficiente relativo all'effetto marginale del tipo di trattamento (covariata principale fissa), presente in ogni modello. Le ultime due colonne, invece, fanno riferimento, rispettivamente, all'effetto marginale della seconda esplicativa inserita e al suo eventuale effetto di interazione con il tipo di trattamento. Inoltre, il simbolo * riportato tra parentesi, al fianco di alcune delle stime dei coefficienti, fa riferimento alla significatività dei *p-value* associati: all'aumentare (da 1 a 3) del numero di asterischi, aumenta la significatività ($p\text{-value} < 0.05$, $p\text{-value} < 0.01$, $p\text{-value} < 0.001$, rispettivamente) del relativo coefficiente.

Sostanzialmente, ogni riga delle Tabelle 2.2 e 2.3 indica l'adattamento di un modello lineare normale, dove può essere o meno presente l'effetto di interazione. In questo caso, si è scelto di riportare i coefficienti relativi a tale effetto (quarta colonna delle tabelle) solo per quelle variabili per cui questi risultassero significativi, mentre per le altre si sono riportati i soli coefficienti relativi all'effetto marginale (terza colonna), per ciascuna categoria (non presa a riferimento) delle esplicative inserite. Infatti, nella prima colonna, si riportano, tra parentesi quadrate, le categorie delle variabili qualitative a cui sono associati i coefficienti degli effetti marginali. Ovviamente, per ciascuna variabile categoriale, la modalità mancante (non riportata nella prima colonna) è quella presa a riferimento dal modello corrispondente. Ciò non accade per le variabili "Età" ed "EDSS", in quanto sono state considerate come quantitative.

Per le due scale HADS e CES-D si ottengono dei risultati simili, ma non del tutto identici. In particolare, per entrambe, l'età e l'attività fisica risultano essere due modificatori d'effetto, dato che l'interazione con il tipo di trattamento è significativa (si veda l'ultima colonna di entrambe le Tabelle 2.2 e 2.3). In effetti, considerando il coefficiente relativo all'effetto marginale del tipo di trattamento (seconda colonna), si nota come questo venga modificato nelle righe relative alle variabili "Età" e "Attività fisica", rispetto al valore contenuto nella prima riga (attinente al modello con il tipo di trattamento come unica esplicativa).

Per quanto riguarda i confondenti, invece, risultano potenzialmente come tali, per entrambe le scale, lo stato lavorativo, l'EDSS e la diagnosi di depressione pregressa (con relativa terapia), dato che i coefficienti degli effetti marginali (terza colonna) risultano significativi. Si noti che, per la variabile "Stato lavorativo", dei cinque coefficienti riportati relativi alle cinque moda-

lità, solo due risultano significativi. Pertanto, per stabilire se tale variabile ha un effetto complessivo marginale rilevante, si è eseguito un test del log-rapporto di verosimiglianza per confronto tra modelli annidati (cioè tra il modello con la sola covariata principale, il tipo di trattamento, e quello con anche lo stato lavorativo come esplicativa), il quale rifiuta l'ipotesi nulla che non vi sia influenza dello stato lavorativo sul grado di depressione, con un *p-value* pari a 0.001. Quindi, anche l'effetto marginale complessivo risulta significativo.

Considerando, inoltre, i risultati ottenuti in Tabella 2.1, si nota come l'associazione tra il tipo di trattamento e le variabili "EDSS" e "Diagnosi di depressione e terapia" risulti significativa, il che conferma l'ipotesi che siano dei confondenti, mentre non si può dire lo stesso per lo stato lavorativo, che risulta indipendente dal tipo di trattamento, per entrambe le scale.

Analizzando, invece, le differenze ottenute tra le due scale, si osserva come per la HADS risulti significativo anche l'effetto marginale della categoria di indice di massa corporea (BMI) e del tipo di diagnosi di SM. Anche in questo caso, come visto per lo stato lavorativo, si è eseguito il test del log-rapporto di verosimiglianza per stabilire se l'effetto marginale complessivo del BMI fosse significativo (considerando i coefficienti della terza colonna lo si vede solo per una delle tre modalità, "Obeso") e si ottiene risposta affermativa, con un *p-value* pari a 0.01. In aggiunta, valutando l'associazione tra questi due nuovi potenziali confondenti (per la scala HADS) con il tipo di trattamento (Tabella 2.1), si nota come questa risulti significativa per l'indice di massa corporea (che quindi risulta essere un confondente a tutti gli effetti), ma non per il tipo di diagnosi di sclerosi multipla.

Si nota, inoltre, che il sesso non risulta essere significativo per la scala HADS, mentre lo è per la CES-D, anche se, essendo una variabile descrittiva molto importante, viene comunque mantenuto nel modello e considerato pertanto come confondente, in entrambi i casi.

In definitiva, l'età e l'attività fisica sono due modificatori d'effetto, mentre l'EDSS e la diagnosi di depressione pregressa (con relativa terapia) sono due confondenti, sia per la scala HADS che per la CES-D. Lo stato lavorativo, anche se non associato con il tipo di trattamento, verrà comunque inserito nel modello completo, incluso nel prossimo paragrafo 2.3.1 e valutato di conseguenza. Infine, solo per la scala HADS, l'indice di massa corporea risulta essere un confondente, mentre il tipo di diagnosi di SM non risulta essere associato con il tipo di trattamento, ma verrà comunque inserita nel modello completo (relativo alla scala HADS) per valutarne l'effetto.

2.3 Analisi della relazione tra il grado di depressione e il tipo di trattamento

2.3.1 Analisi con il modello lineare

Si vuole arrivare a selezionare un modello di regressione lineare normale (finale), che tenga conto della relazione tra il grado di depressione e il tipo di trattamento, ma anche delle variabili demografiche e cliniche, che sono risultate significative nelle analisi fino a qui svolte.

Si inizia col considerare il modello completo per lo *score* relativo al grado di depressione (standardizzato) della scala HADS, contenente, oltre al tipo di trattamento, tutte le variabili che hanno risultato avere un effetto significativo nel paragrafo 2.2 precedente: il sesso, il peso, lo stato lavorativo, l'EDSS, il tipo di diagnosi di SM, l'aver avuto una diagnosi di depressione con annessa terapia (che per la maggior parte sono risultati confondenti), oltre all'età e all'attività fisica, risultati come modificatori d'effetto e, pertanto, inseriti con il termine di interazione. A questo punto si procede con una selezione automatica di semplificazione del modello (selezione all'indietro, *backward*), che consiste in una procedura a passi basata su eliminazioni consecutive delle singole variabili (o delle relative interazioni), seguendo i valori (minimi) della statistica test o (massimi) del *p-value* associato, svolgendo cioè dei test del log-rapporto di verosimiglianza (TRV) per il confronto di modelli annidati (ovvero modello completo, contenente tutte le variabili, e modelli ridotti, senza una specifica variabile o interazione).

Dal modello completo (definito in precedenza per la scala HADS) escono, nell'ordine, le seguenti variabili o interazioni (che non risultano significative):

- l'interazione tra l'attività fisica e il tipo di trattamento, con *p-value* del TRV pari a 0.33;
- la variabile relativa al tipo di diagnosi di SM, con un *p-value* del TRV pari a 0.6;
- la variabile relativa alla categoria dell'indice di massa corporea (BMI), con un *p-value* del TRV pari a 0.19;
- la variabile relativa allo stato lavorativo, con un *p-value* del TRV pari a 0.09.

Si arriva, così, alla specificazione del modello finale per la scala HADS, il cui adattamento è riportato in Tabella 2.4, contenente le seguenti variabili: il trattamento, il sesso, l'età, l'attività fisica, l'EDSS, la diagnosi di depressione progressa (con relativa terapia) e l'interazione tra l'età e il trattamento.

Predittori	Stime coefficienti	IC	<i>p-value</i>
Intercetta	0.456	0.34 – 0.57	< 0.001
Trattamento [Coimbra]	-0.24	-0.37 – -0.11	< 0.001
Età	-0.005	-0.01 – -0.00	0.011
Sesso [Femmina]	0.016	-0.05 – 0.08	0.637
Attività fisica [Sì]	-0.091	-0.15 – -0.04	0.001
EDSS	0.043	0.03 – 0.06	< 0.001
Diagnosi di depressione e terapia			
[Antidepressivi]	0.118	0.04 – 0.20	0.004
[No antidepressivi]	0.175	0.09 – 0.26	< 0.001
Trattamento [Coimbra] * Età	0.007	0.00 – 0.01	0.020

Numero di osservazioni: 215

R^2 / R^2 *aggiustato*: 0.415 / 0.393

Tabella 2.4: Adattamento del modello di regressione lineare finale, selezionato per la scala HADS.

Si noti, come già spiegato in precedenza, che, nonostante il coefficiente relativo al sesso non risulti significativo, viene comunque mantenuta la variabile nel modello, poiché considerata una caratteristica demografica dei pazienti molto importante.

E' possibile fare anche un'altra considerazione: infatti, si può osservare come le variabili selezionate nel modello siano quelle che erano risultate come effettivi confondenti (EDSS e diagnosi di depressione con relativa terapia) o modificatori d'effetto (età e attività fisica), mentre le altre, su cui si era in dubbio (stato lavorativo, BMI e tipo di diagnosi di SM), sono state eliminate dalla procedura all'indietro (*backward*).

Si fa presente, inoltre, che si è utilizzata, nel modello finale, la versione riscalata (rispetto al suo minimo) dell'età, per l'interpretazione del gruppo di base (preso a riferimento), che consiste in quei soggetti affetti da sclerosi multipla con età pari a 22 anni (quella minima rilevata nello studio).

Si considera poi il modello completo per lo *score* (standardizzato) relativo al grado di depressione per la scala CES-D, contenente, oltre al tipo di trattamento, tutte le variabili che hanno risultato avere un effetto significativo nel paragrafo 2.2 precedente: il sesso, lo stato lavorativo, l'EDSS, l'aver avuto una diagnosi di depressione con annessa terapia (che per la maggior parte sono risultati confondenti), oltre all'età e all'attività fisica, risultati come modificatori d'effetto e, pertanto, inseriti con l'effetto di interazione.

Anche in questo caso, si esegue una selezione automatica di semplificazione del modello, mettendo in atto la procedura spiegata precedentemente per la scala HADS.

Predittori	Stime coefficienti	IC	<i>p-value</i>
Intercetta	0.467	0.35 – 0.59	< 0.001
Trattamento [Coimbra]	-0.227	-0.36 – -0.09	0.001
Età	-0.006	-0.01 – -0.00	0.002
Sesso [Femmina]	0.065	-0.00 – 0.13	0.062
Attività fisica [Sì]	-0.101	-0.16 – -0.05	0.001
EDSS	0.023	0.01 – 0.04	0.002
Diagnosi di depressione e terapia			
[Antidepressivi]	0.171	0.09 – 0.25	< 0.001
[No antidepressivi]	0.193	0.11 – 0.28	< 0.001
Trattamento [Coimbra] * Età	0.008	0.00 – 0.01	0.009

Numero di osservazioni: 215

R^2 / R^2 *aggiustato*: 0.342 / 0.316

Tabella 2.5: Adattamento del modello di regressione lineare finale, selezionato per la scala CES-D.

Dal modello completo (per la scala CES-D) escono, nell'ordine, le seguenti variabili o interazioni (che non risultano significative):

- l'interazione tra l'attività fisica e il tipo di trattamento, con *p-value* del TRV pari a 0.11;
- la variabile relativa allo stato lavorativo, con un *p-value* del TRV pari a 0.42.

Si arriva, così, alla specificazione del modello finale per la scala HADS, il cui adattamento è riportato in Tabella 2.5, contenente le seguenti variabili: il trattamento, il sesso, l'età, l'attività fisica, l'EDSS, la diagnosi di depressione pregressa (con relativa terapia) e l'interazione tra l'età e il trattamento. Valgono le stesse considerazioni fatte per il modello finale sulla scala HADS.

Prima di passare all'interpretazione dei due modelli, è necessario eseguirne la diagnostica, per valutarne la bontà di adattamento e verificare che le ipotesi di normalità, linearità e omoschedasticità siano rispettate. Anzitutto, si può osservare il valore dell' R^2 , coefficiente di determinazione (riportato nell'ultima riga delle Tabelle 2.4 e 2.5), che indica, per entrambi i modelli, un buon adattamento (soprattutto per la scala HADS), considerando la complessità del fenomeno che si sta analizzando e la tipologia dei dati raccolti.

Altro strumento utile, per il controllo empirico del modello, è l'analisi dei residui, eseguita per la scala HADS (Figura 2.10) e la scala CES-D (Figura

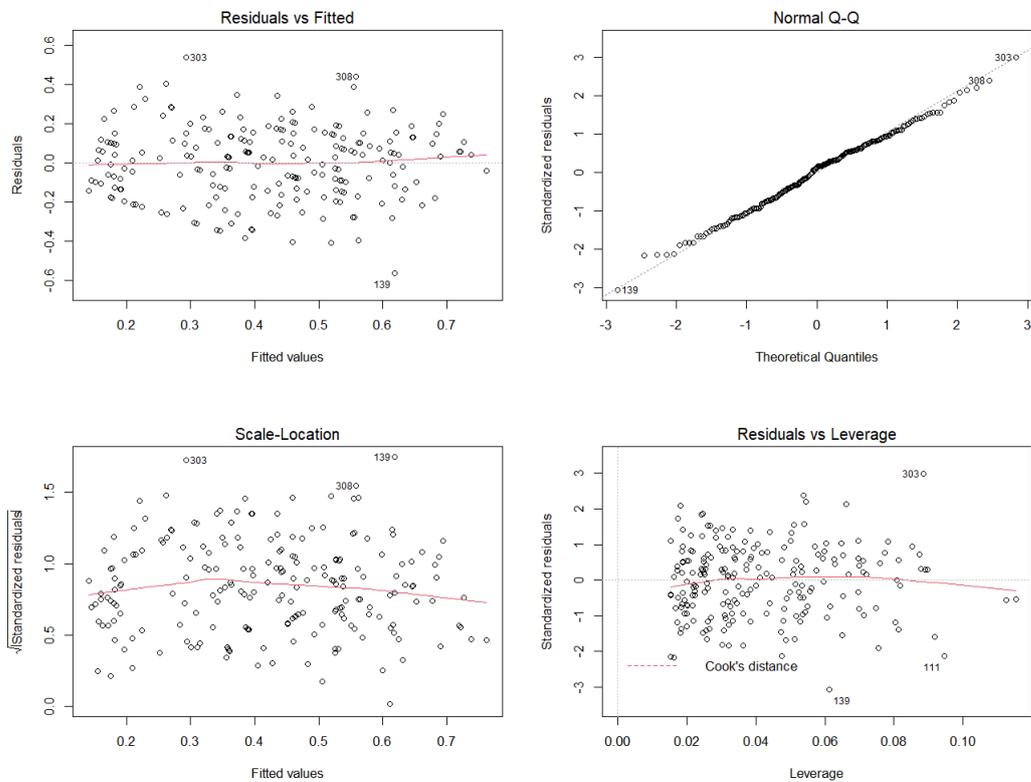


Figura 2.10: Analisi dei residui per la scala HADS.

2.11), volta a evidenziare eventuali scostamenti dalle assunzioni del modello.

Osservando i due grafici, nella colonna sinistra della Figura 2.10, dei valori predetti (stimati) contro i residui (sopra) e la radice quadrata dei residui standardizzati (sotto), si può notare come le ipotesi di linearità e omoschedasticità siano ampiamente rispettate. Inoltre, si riscontra, dal terzo grafico in alto a destra (quantili empirici contro quelli teorici), che non vi sono allontanamenti dall'ipotesi di normalità, la quale, infatti, viene confermata anche dal test di *Shapiro-Wilk* (sulla normalità dei residui), che restituisce un *p-value* pari a 0.84. Infine, l'ultimo grafico (in basso a destra) individua tre osservazioni influenti: le numero 111, 139 e soprattutto 303. Si nota come queste siano diverse rispetto a quelle individuate dallo stesso grafico in Figura 2.11, per la scala CES-D, motivo per cui non si ritiene sia il caso di rimuoverle.

Per l'analisi dei residui relativa alla scala CES-D (Figura 2.11) si possono

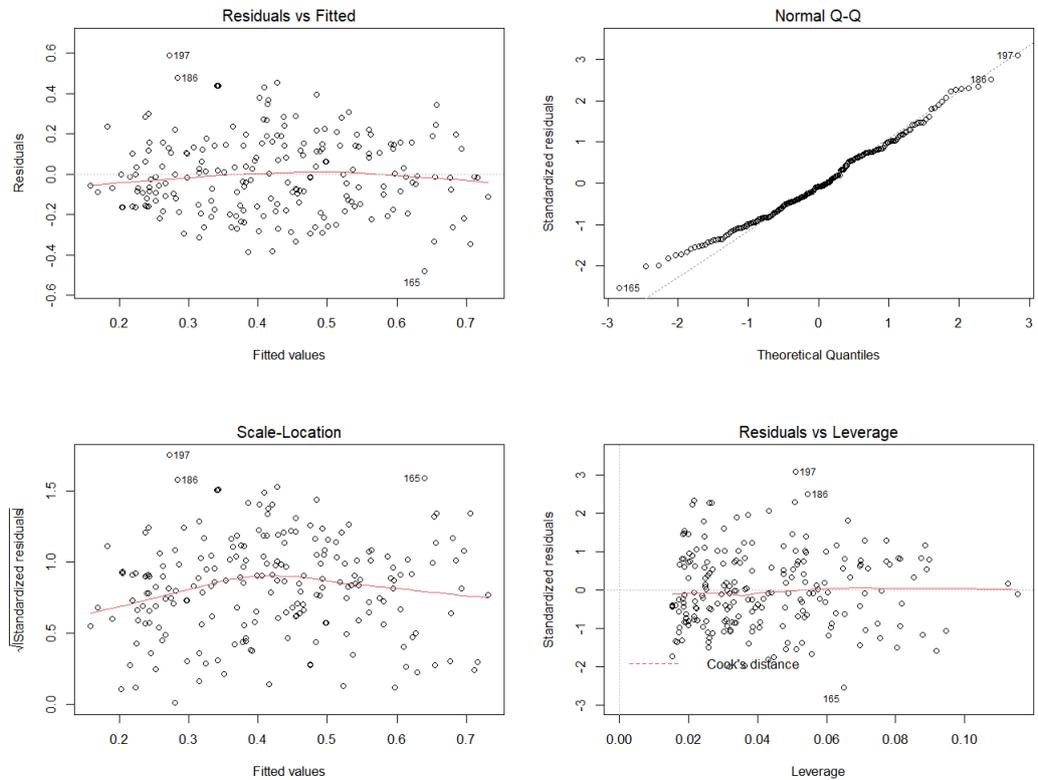


Figura 2.11: Analisi dei residui per la scala CES-D.

trarre le medesime sostanziali conclusioni fatte per la scala HADS. Ovvero, le ipotesi di linearità e omoschedasticità sono, anche in questo caso, ampiamente rispettate. La normalità, nonostante un lieve allontanamento (non sistematico) dei punti dalla retta interquartilica nella coda inferiore (si veda il terzo grafico in alto a destra della Figura 2.11), viene accettata dal test di *Shapiro-Wilk*, con un *p-value* pari a 0.09. Le osservazioni influenti, individuate dal quarto e ultimo grafico, sono le numero 165, 186, e 197, ma anche in questo caso non si ritiene di doverle rimuovere.

Una volta validati i due modelli, se ne considera ora l'interpretazione, al fine di analizzare come le variabili, selezionate nella versione finale del modello, si relazionino con il grado di depressione dei pazienti e il tipo di trattamento. A tal proposito, si riportano i grafici, per la scala HADS (Figure 2.12 e 2.13) e CES-D (Figure 2.14 e 2.15), degli effetti marginali di variabili come l'età e l'EDSS, suddividendo per categoria di sesso e di diagnosi di depressione pregressa.

In relazione ai risultati ottenuti in Tabella 2.4, per la scala HADS, si possono fare le seguenti considerazioni.

- L'intercetta, che in questo caso risulta interpretabile grazie al fatto di aver considerato l'età riscalata (rispetto al suo minimo), rappresenta lo *score* del grado di depressione (standardizzato, che va quindi da 0 a 1) per il gruppo di soggetti, affetti da SM, che è stato preso a riferimento. Cioè, 0.456 è il valore medio del grado di depressione, sulla scala HADS, per i pazienti maschi di 22 anni, che seguono la terapia farmacologica (no Coimbra), che non fanno attività fisica, che hanno un EDSS pari a 0 e che non hanno avuto una diagnosi di depressione pregressa.
- Il coefficiente relativo al sesso non risulta significativo e di conseguenza non va interpretato.
- Il coefficiente relativo all'attività fisica indica che il praticarla, rispetto a chi non lo fa, diminuisce di 0.091 la media del grado di depressione, al netto delle altre variabili inserite nel modello.
- Il coefficiente relativo all'EDSS indica che all'aumento unitario della scala di disabilità, corrisponde un aumento pari a 0.043 sulla media del grado di depressione, al netto delle altre variabili, come si può vedere anche dai grafici in Figura 2.13.
- Il coefficiente relativo alla diagnosi di depressione pregressa (con relativa terapia), indica che per chi ha avuto la diagnosi e assume antidepressivi, il valore medio del grado di depressione aumenta di 0.118, mentre per chi ha avuto la diagnosi e non assume antidepressivi, si ha un aumento medio pari a 0.175. Entrambi gli aumenti sono da considerarsi rispetto a coloro che non hanno avuto la diagnosi di depressione pregressa e al netto delle altre variabili. Tali effetti sono visibili anche nelle Figure 2.12 e 2.13.
- I coefficienti relativi al tipo di trattamento e all'età sono da considerarsi insieme, poiché si è inserito anche l'effetto di interazione tra i due.

Nello specifico, quando il trattamento è la terapia farmacologica (categoria del gruppo preso a riferimento), si può osservare che all'aumentare di un anno di età, si ha una diminuzione del valore medio del grado di depressione pari a 0.005, il che giustifica l'andamento discendente della retta rossa in Figura 2.12.

Quando, invece, il trattamento è il protocollo Coimbra, vanno considerati, insieme, i coefficienti relativi agli effetti marginali del tipo di trattamento e dell'età, con quello dell'effetto di interazione tra i due. Per i soggetti di 22 anni, ad esempio, si ha una diminuzione della media

del grado di depressione pari a 0.24, cioè il coefficiente relativo all'effetto marginale del tipo di trattamento, in quanto gli altri due coefficienti si annullano (l'età minima, 22 anni, è considerata dal modello come età 0, poiché si è utilizzata la versione riscalata). In generale, si può dire che, per aumento unitario dell'età, chi segue il protocollo Coimbra risulta avere una variazione della media del grado di depressione pari a $-0.24-0.005+0.007 = -0.238$, rispetto a chi fa la terapia farmacologica, al netto delle altre variabili. Focalizzandosi, in particolare, sul coefficiente relativo all'effetto marginale dell'età e a quello dell'effetto di interazione con il tipo di trattamento, si nota che, per chi segue il protocollo Coimbra, si ha un aumento pari a $-0.005+0.007 = 0.002$ sulla media del grado di depressione, all'aumentare di un anno di età. Questo giustifica l'andamento lievemente crescente della retta azzurra in Figura 2.12, il che potrebbe far pensare che l'effetto del Coimbra tende a svanire con l'aumentare dell'età. Per verificare se questa affermazione è vera, è possibile testare che la somma dei coefficienti relativi all'effetto marginale dell'età e a quello di interazione con il tipo di trattamento, sia significativamente diversa da 0. Dopo aver calcolato la media e la varianza della distribuzione normale della somma, si ottiene l'accettazione dell'ipotesi nulla che la somma sia nulla (cioè i due coefficienti in realtà si compensano), con un *p-value* pari a 0.38, il che indica che, in realtà, tale aumento individuato per il gruppo Coimbra non è significativo, ma è dovuto alla fluttuazione campionaria.

Attraverso i grafici in Figura 2.12 è possibile osservare come vi sia una differenza, rispetto al valore del grado di depressione, tra i due tipi di trattamento per i soggetti più giovani, soprattutto per le femmine che non hanno avuto una diagnosi di depressione progressiva (grafico in basso a sinistra). Infatti, per tale gruppo, si nota come le due fasce colorate, indicanti gli intervalli di confidenza per la media della risposta nei due gruppi (azzurro per il trattamento Coimbra e rosso per la terapia farmacologica), non risultino sovrapposte fino a un'età pari a 45 anni circa, il che indica che per le pazienti femmine, che non hanno avuto una diagnosi di depressione e che hanno meno di 45 anni, vi è una differenza significativa rispetto al valore medio del grado di depressione, che risulta essere più basso per coloro che si sottopongono al protocollo Coimbra, rispetto a chi segue la terapia farmacologica. Con l'aumentare dell'età, si osserva che i pazienti che prendono alte dosi di vitamina D hanno uno *score* medio del grado di depressione pressoché costante, in quanto si è visto precedentemente che il lieve aumento sottolineato dalla retta azzurra non risulta significativo. In sostanza, mentre chi fa uso di farmaci risulta avere un livello sostanzialmente più alto del grado medio di depressione in età giovanili (le persone più anziane risulterebbero meno depresse rispetto alle persone giovani), questo non accade per chi segue il protocollo Coimbra, dove lo *score* medio del grado di depressione risulta

costante e quindi indipendente dall'età.

Per gli altri grafici in Figura 2.12 aumenta l'incertezza (le fasce colorate risultano più sovrapposte) rispetto alla significatività della differenza dello *score* medio del grado di depressione, per i due trattamenti. Infatti, per i maschi che non hanno avuto una diagnosi di depressione si ha una differenza significativa fino ai 30 anni circa, così come per le femmine che hanno avuto la diagnosi e assumono antidepressivi. Si sottolinea, inoltre, che tale maggiore incertezza potrebbe essere dovuta al fatto che si stanno considerando categorie con una numerosità limitata. Si ricorda, infatti, che nel campione considerato i maschi sono solo 46, rispetto alle 169 femmine, mentre le persone che hanno avuto una diagnosi di depressione pregressa sono 54 (tra cui 28 che prendono antidepressivi e 26 che non li prendono), rispetto ai 161 soggetti che non hanno avuto la diagnosi.

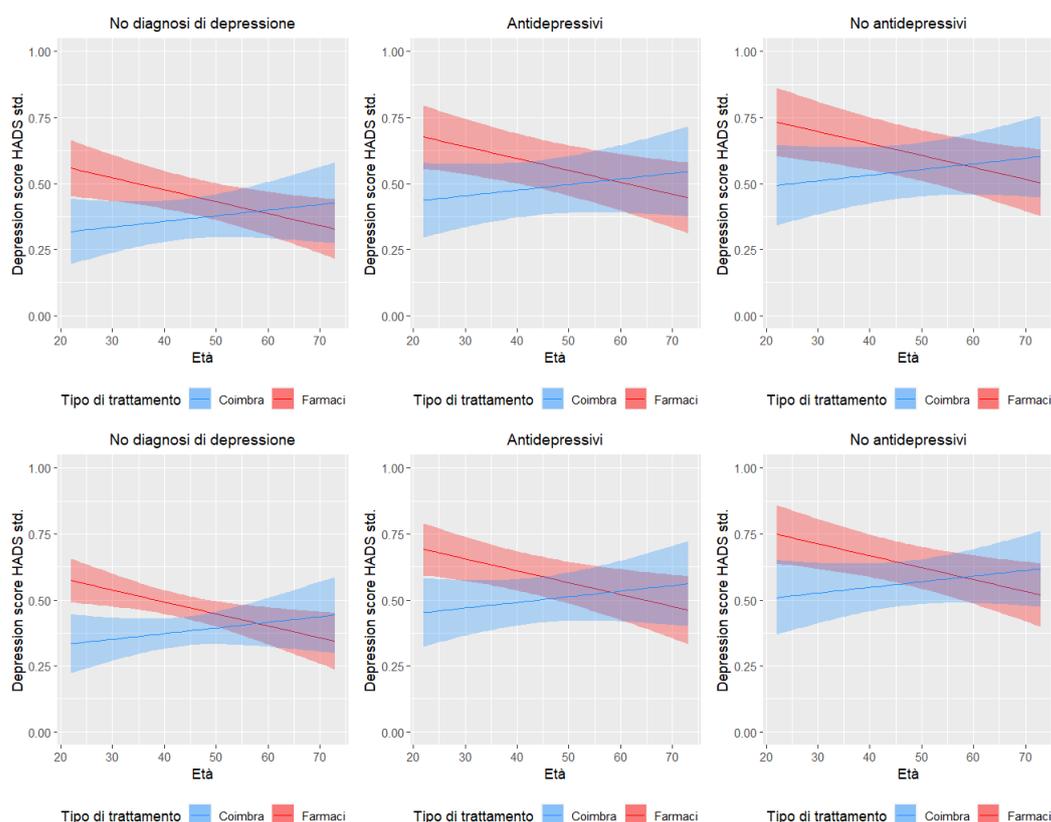


Figura 2.12: Effetto marginale e di interazione (con il tipo di trattamento) dell'età sullo *score* relativo al grado di depressione per tipo di trattamento, diagnosi di depressione (con relativa terapia) e sesso (sopra i maschi e sotto le femmine), per la scala HADS.

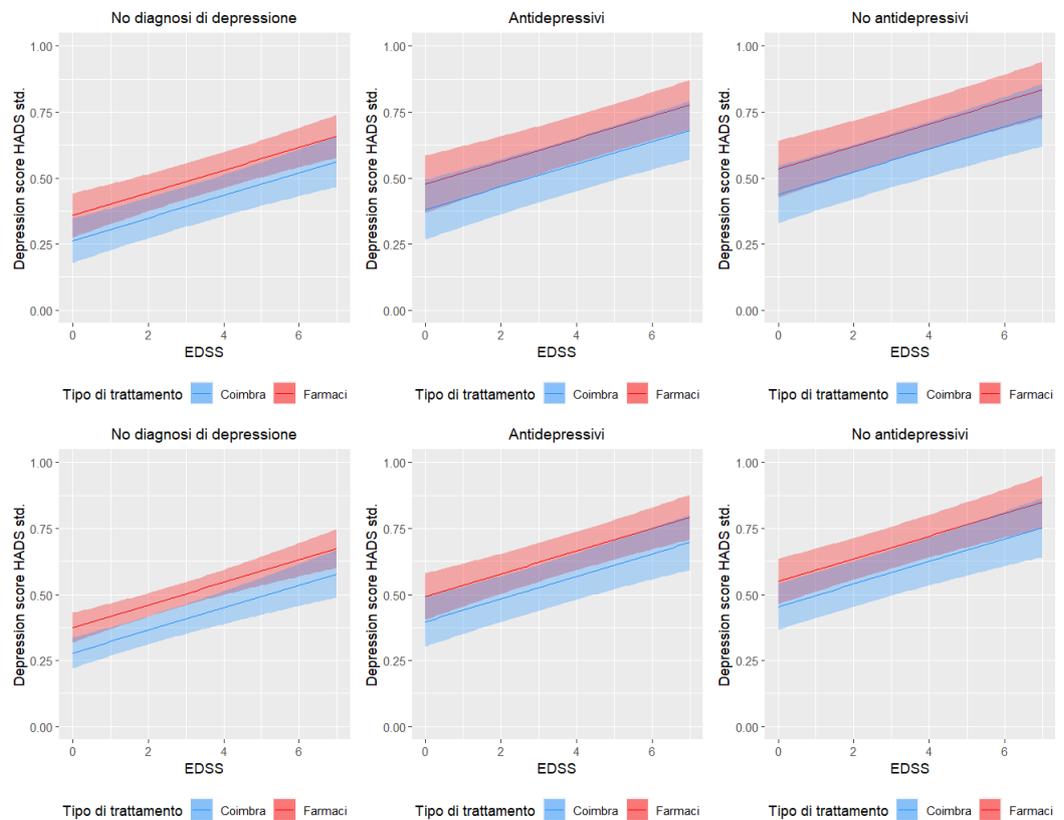


Figura 2.13: Effetto marginale dell'EDSS sullo *score* relativo al grado di depressione per tipo di trattamento, diagnosi di depressione (con relativa terapia) e sesso (sopra i maschi e sotto le femmine), per la scala HADS.

Per quanto riguarda i grafici relativi all'effetto dell'EDSS in Figura 2.13, si può constatare come il trattamento Coimbra sia correlato con una minore percezione di sintomi depressivi a parità di stato di disabilità. Infatti, per lo stesso livello di EDSS, è significativamente diverso lo *score* relativo al grado di depressione tra il gruppo della terapia farmacologica e quello del protocollo Coimbra, risultando più basso per quest'ultimo. Poiché il tipo di trattamento è comunque legato all'età, si è anche provato a eliminare l'interazione con tale variabile dal modello per osservare se l'effetto del valore di EDSS sul grado di depressione fosse lo stesso ed effettivamente si arriva alle medesime conclusioni. Anche in questo caso, come visto e spiegato con i grafici in Figura 2.12, la significatività maggiore la si vede per le femmine che non hanno avuto la diagnosi di depressione pregressa.

In relazione ai risultati ottenuti in Tabella 2.5, per la scala CES-D, si possono fare le seguenti considerazioni.

- L'intercetta, come spiegato precedentemente per la scala HADS, rappresenta lo *score* del grado di depressione (standardizzato, che va quindi da 0 a 1) per il gruppo di soggetti, affetti da SM, che è stato preso a riferimento. In questo caso, 0.467 è il valore medio del grado di depressione, sulla scala CES-D, per i pazienti maschi di 22 anni, che seguono la terapia farmacologica (no Coimbra), che non fanno attività fisica, che hanno un EDSS pari a 0 e che non hanno avuto una diagnosi di depressione pregressa.
- Il coefficiente relativo al sesso non risulta significativo e di conseguenza non va interpretato.
- Il coefficiente relativo all'attività fisica indica che il praticarla, rispetto a chi non lo fa, diminuisce di 0.101 la media del grado di depressione, al netto delle altre variabili inserite nel modello.
- Il coefficiente relativo all'EDSS indica che all'aumento unitario della scala di disabilità, corrisponde un aumento pari a 0.023 sulla media del grado di depressione, al netto delle altre variabili, come si può vedere dai grafici in Figura 2.15.
- Il coefficiente relativo alla diagnosi di depressione pregressa (con relativa terapia), indica che per chi ha avuto la diagnosi e assume antidepressivi, il valore medio del grado di depressione aumenta di 0.171, mentre per chi ha avuto la diagnosi e non assume antidepressivi, si ha un aumento medio pari a 0.193. Entrambi gli aumenti sono da considerarsi rispetto a coloro che non hanno avuto la diagnosi di depressione pregressa e al netto delle altre variabili. Tali effetti sono visibili anche nelle Figure 2.14 e 2.15.
- I coefficienti relativi al tipo di trattamento e all'età sono da considerarsi insieme, come già spiegato per la scala HADS.

Nello specifico, quando il trattamento è la terapia farmacologica (categoria del gruppo preso a riferimento), si può osservare che all'aumentare di un anno di età, si ha una diminuzione del valore medio del grado di depressione pari a 0.006, il che giustifica l'andamento discendente della retta rossa in Figura 2.14.

Quando, invece, il trattamento è il protocollo Coimbra, vanno considerati, insieme, i coefficienti relativi agli effetti marginali del tipo di trattamento e dell'età, con quello dell'effetto di interazione tra i due. In generale, si può dire che, per aumento unitario dell'età, chi segue il protocollo Coimbra risulta avere una variazione della media del grado

di depressione, pari a $-0.227-0.006+0.008 = -0.225$, rispetto a chi fa la terapia farmacologica, al netto delle altre variabili. Anche in questo caso si nota che la differenza tra il coefficiente dell'effetto marginale dell'età e quello dell'effetto di interazione con il tipo di trattamento, è pari a $-0.006+0.008 = 0.002$, il che giustifica l'andamento lievemente crescente della retta azzurra in Figura 2.14. Si verifica che anche per la scala CES-D tale aumento non sia significativo, ma sia dovuto alla variazione campionaria. Il test sulla somma dei due coefficienti pari a 0 conferma tale ipotesi, con un *p-value* pari a 0.41, per cui si ottengono le stesse conclusioni fatte per la scala HADS. Si noti, inoltre, che anche i coefficienti relativi ai vari effetti risultano molto simili tra le due scale, il che porta a rafforzare l'evidenza di quanto ottenuto con le analisi.

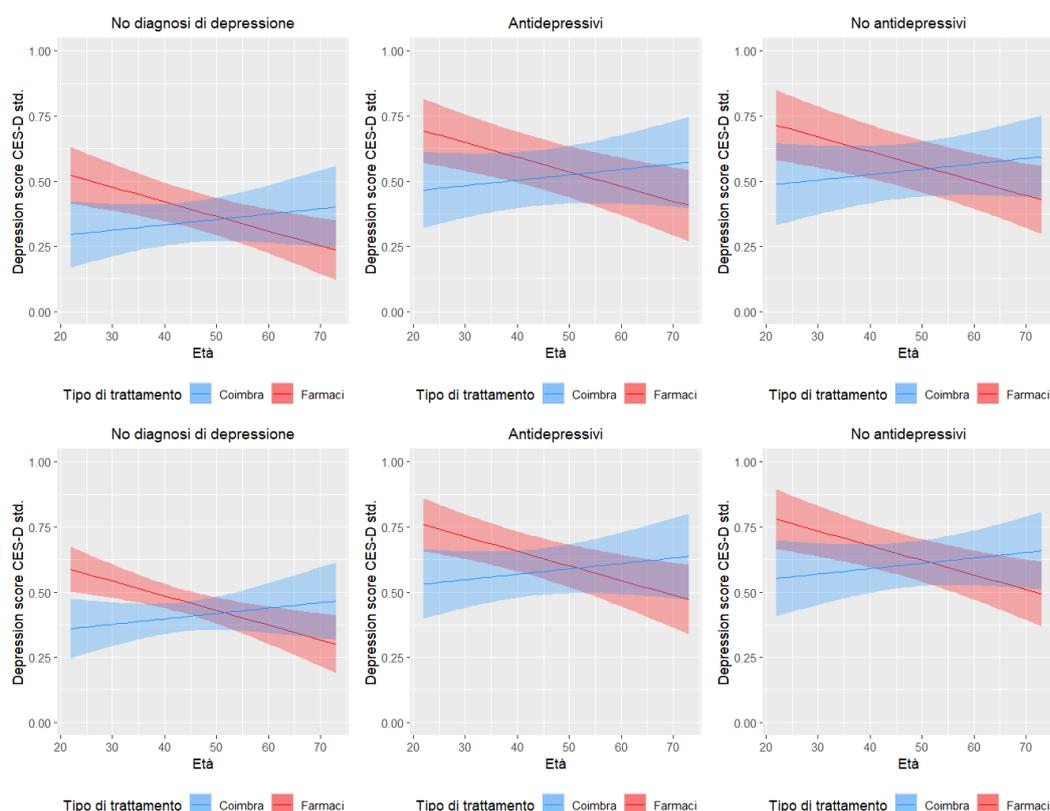


Figura 2.14: Effetto marginale e di interazione (con il tipo di trattamento) dell'età sullo *score* relativo al grado di depressione per tipo di trattamento, diagnosi di depressione (con relativa terapia) e sesso (sopra i maschi e sotto le femmine), per la scala CES-D.

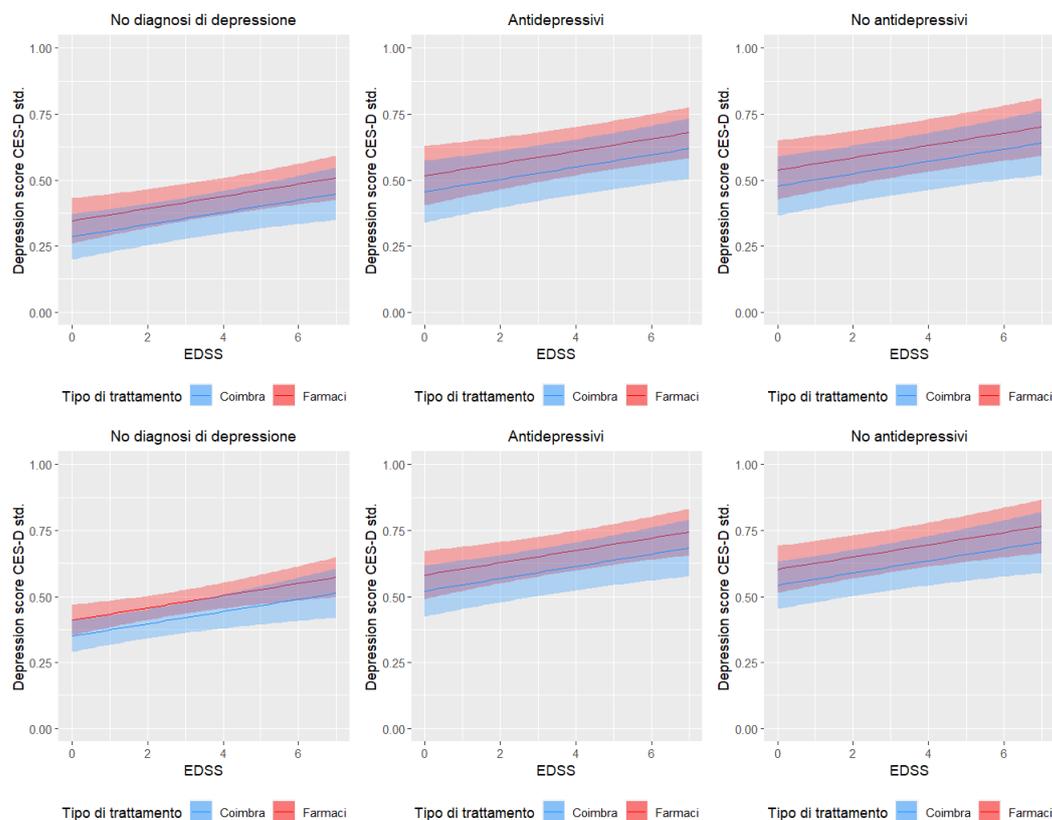


Figura 2.15: Effetto marginale dell'EDSS sullo *score* relativo al grado di depressione per tipo di trattamento, diagnosi di depressione (con relativa terapia) e sesso (sopra i maschi e sotto le femmine), per la scala CES-D.

In relazione ai grafici delle Figure 2.14 e 2.15, si possono trarre le stesse sostanziali conclusioni fatte per i medesimi grafici della scala HADS. L'unica differenza è che, per la scala CES-D, le due fasce colorate (in base al tipo di trattamento) relative agli intervalli di confidenza per la media del grado di depressione, risultano essere più sovrapposte, anche nel gruppo delle femmine senza diagnosi di depressione pregressa, il che indica risultati lievemente meno significativi.

Si sottolinea, infine, che l'effetto relativo all'attività fisica non è stato riportato nei grafici delle Figura 2.12, 2.13, 2.14 e 2.15, in quanto sarebbe risultato difficoltoso rappresentarlo. Si è, pertanto, fissata la variabile con la modalità del gruppo preso a riferimento nei modelli, cioè "Non svolge attività fisica".

2.3.2 Analisi tramite il modello additivo

Visti i risultati ottenuti nelle Figure 2.12 e 2.14, relative all'effetto di interazione tra l'età e il tipo di trattamento sul grado di depressione, ci si pone il seguente dubbio: il fatto che la retta azzurra (trattamento Coimbra) indichi che lo *score* medio tende ad aumentare con il passare dell'età, mentre quella rossa (terapia farmacologica) indichi che tende a diminuire, non potrebbe essere dovuto alla poca flessibilità del modello lineare?

Per rispondere a questo quesito si implementa, di seguito, un modello additivo, che permette di stabilire una relazione tra le variabili indipendenti e la risposta che non è necessariamente lineare, ma può essere descritta mediante funzioni polinomiali di lisciamento, applicate alle covariate, denominate *splines* (si veda [1]). Nello specifico, si inseriscono nel modello tutte le variabili (comprese le interazioni risultate significative) selezionate nei due modelli di regressione lineare finali, per le scale HADS e CES-D, visti nel paragrafo 2.3.1.

Le *splines* vengono applicate alle sole variabili quantitative presenti nel modello, quindi l'età (con anche l'effetto di interazione rispetto al tipo di trattamento) e l'EDSS.

I risultati relativi all'adattamento di tale modello, per la scala HADS, indicano che i termini relativi alle funzioni di lisciamento per l'età non risultano significativi (*p-value* pari a 0.76 per l'effetto marginale e pari a 0.93 e 0.33 per l'interazione con il protocollo Coimbra e la terapia farmacologica, rispettivamente), il che indica l'effettiva esistenza di una relazione lineare, già esplorata nel paragrafo precedente.

Osservando i grafici in Figura 2.16 si nota come per la terapia farmacologica si abbia un lieve andamento (lineare) decrescente del grado di depressione rispetto all'aumentare dell'età, come già visto con il modello lineare normale. Per il protocollo Coimbra, invece, il modello additivo non stima una retta per la relazione tra lo *score* di depressione e l'età, ma piuttosto una curva, la quale conferma ulteriormente che non vi è un andamento crescente del grado di depressione, ma sembra piuttosto rimanere costante al variare dell'età. Ciò conferma quanto si era concluso nel paragrafo 2.3.1 sulla non significatività del trend crescente rilevato nelle Figure 2.12 e 2.14, per il trattamento Coimbra.

In ogni caso, poiché i termini relativi alle funzioni di lisciamento non risultano significativi, non vengono riportati i risultati relativi alla scala CES-D (che porterebbero alle stesse conclusioni) e si conferma, pertanto, la struttura lineare della relazione tra la risposta e le covariate, validando ancora una volta i due modelli di regressione lineare selezionati nel paragrafo 2.3.1.

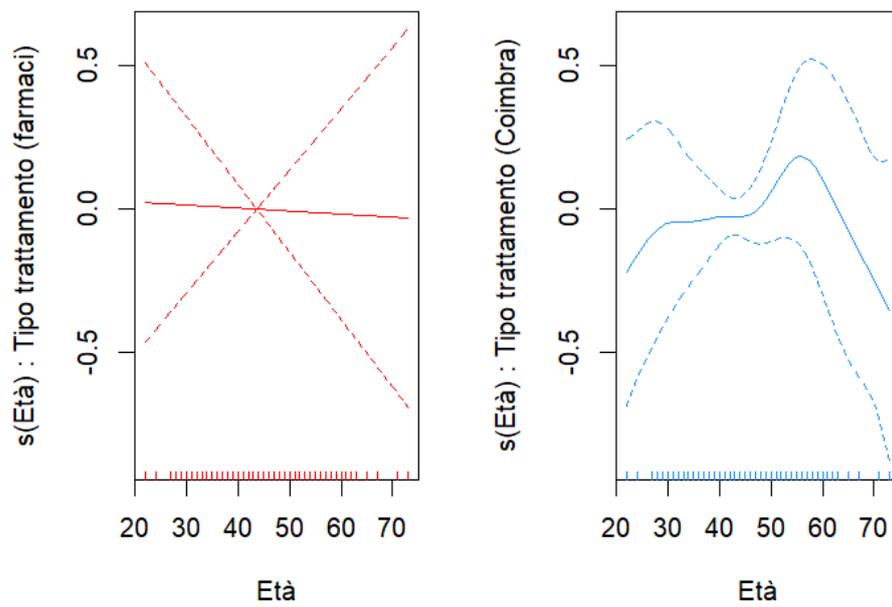


Figura 2.16: Grafici della relazione tra il predittore del modello additivo relativo all'età e il grado di depressione, suddivisi per tipo di trattamento (farmaci a sinistra e Coimbra a destra), per la scala HADS.

Capitolo 3

Conclusioni

In questo studio trasversale, è stata effettuata un'analisi su 215 soggetti affetti da sclerosi multipla, per valutare la variazione del punteggio relativo al grado di depressione, ottenuto dalla compilazione dei questionari HADS e CES-D, in base al tipo di trattamento seguito per la SM. Nello specifico, si è scelto di porre particolare attenzione su due gruppi di pazienti: coloro che seguono la terapia farmacologica e quelli sottoposti al protocollo Coimbra, che prevede l'assunzione di alte dosi di vitamina D.

Nel Capitolo 1, si è spiegato come sono stati raccolti i dati e si sono presentate le variabili demografiche e cliniche, rilevate dal questionario e utilizzate poi per le analisi, al fine di illustrare la composizione del campione considerato.

Successivamente, nel capitolo 2, si sono riportati i risultati relativi alle analisi statistiche svolte, a partire da quelle bivariate del paragrafo 2.1, con le quali si sono rilevate importanti relazioni tra alcune coppie di variabili, come ad esempio l'associazione significativa tra il tipo di trattamento e alcune caratteristiche dei soggetti, quali l'indice di massa corporea (BMI), l'attività fisica, il valore sulla scala di disabilità (EDSS) e l'aver avuto una diagnosi di depressione pregressa (con annessa eventuale assunzione di antidepressivi).

Nel paragrafo 2.2, poi, si è voluto capire come alcune tra le variabili considerate nelle analisi bivariate, andassero a modificare la relazione tra il grado di depressione (considerato come variabile risposta) e il tipo di trattamento (considerato come variabile esplicativa principale), tramite dei modelli di regressione lineare, al fine di comprendere se tali variabili potessero comportarsi come confondenti, modificatori d'effetto o nessuno dei due. Dai risultati ottenuti, i confondenti comuni a entrambe le scale HADS e CES-D sono il sesso, lo stato lavorativo, l'EDSS e l'aver avuto una diagnosi di depressione pregressa (con relativa terapia), mentre l'età e lo svolgimento di attività fisica sono risultati modificatori d'effetto.

In seguito, nel paragrafo 2.3.1, sono stati implementati i modelli di regressione lineare normale per entrambe le scale HADS e CES-D, nei quali

si sono inserite le esplicative risultate significative dalle analisi precedenti. Si è poi proceduto con una semplificazione dei modelli, basata su test di confronto del log-rapporto di verosimiglianza, al fine di eliminare eventuali effetti marginali o di interazione non significativi.

Si è arrivati così alla specificazione del modello finale, che, per entrambe le scale HADS e CES-D, comprende, oltre allo *score* relativo al grado di depressione (variabile dipendente) e al tipo di trattamento (variabile indipendente principale), il sesso, l'età, l'attività fisica, l'EDSS, la diagnosi di depressione pregressa (con eventuale terapia di antidepressivi) e l'interazione tra il tipo di trattamento e l'età.

In relazione ai risultati ottenuti dai modelli finali selezionati, è possibile constatare che lo svolgere attività fisica (rispetto a chi non lo fa) e il non aver avuto una diagnosi di depressione pregressa (rispetto a coloro che l'hanno avuta), riduce notevolmente il valore medio del grado di depressione, mentre questo tende ad aumentare in corrispondenza dell'incremento unitario relativo alla scala di disabilità (EDSS).

Per quanto riguarda l'età e il tipo di trattamento, si può dire che, per i soggetti sottoposti a terapia farmacologica, all'aumentare dell'età, il grado di depressione tende a diminuire, quindi risultano più depressi i giovani. Per chi segue il protocollo Coimbra, invece, si sottolinea come lo *score* relativo al grado di depressione risulti significativamente più basso rispetto a chi assume i farmaci, ma bisogna considerare anche l'interazione con l'età, che evidenzia una lieve crescita dello *score* per ogni anno in più preso in esame. Attraverso dei test si è arrivati a dire che tale aumento non è significativo e, pertanto, il grado di depressione appare costante al variare dell'età, per chi assume alte dosi di vitamina D.

Per questi motivi, è possibile affermare che i pazienti più giovani, che hanno meno di 45 anni e che sono sottoposti al protocollo Coimbra, hanno un grado di depressione significativamente minore, rispetto a chi segue la terapia farmacologica. Nello specifico, tale significatività la si vede soprattutto per le donne che non hanno avuto una diagnosi di depressione, probabilmente anche per una questione di numerosità campionaria (è il gruppo comprendente la maggior quantità di pazienti). Dopo i 45 anni, i due trattamenti risultano avere un effetto simile sul grado di depressione, pertanto uno non risulta significativamente migliore dell'altro.

Per avere una quantificazione numerica degli effetti relativi alle diverse variabili sullo *score* del grado di depressione, si vedano i risultati riportati nel paragrafo 2.3.1.

In definitiva, si può concludere quanto segue: in relazione all'ipotesi avanzata nella sezione introduttiva di questo lavoro, secondo cui i soggetti con sclerosi multipla vanno incontro all'insorgenza di sintomi di depressione e, in particolare, secondo la quale chi segue una terapia con integrazione di vitamina D mostra un quadro depressivo meno grave (cioè con valori dello *score* più bassi) rispetto a chi assume farmaci, si può dire che non è possibile

determinare ciò in maniera assoluta, ma dipende essenzialmente dall'età, che risulta essere una discriminante, per quanto detto in precedenza.

Senz'altro il trattamento Coimbra è correlato a una minore percezione di sintomi depressivi a parità di stato di disabilità; infatti, per lo stesso livello di EDSS, è significativamente minore il grado di depressione per chi assume elevate dosi di vitamina D, rispetto a chi segue la terapia farmacologica, soprattutto per le femmine che non hanno avuto una diagnosi di depressione.

In generale, l'incertezza aumenta, però, per chi ha avuto una diagnosi di depressione e per i maschi, nonostante vi sia comunque un'evidenza a favore del Coimbra.

Lo studio eseguito ha alcune limitazioni: si tratta di uno studio trasversale (nel quale il ricercatore non pratica alcun intervento), che rappresenta una fotografia istantanea dei pazienti considerati e, per questo motivo, la relazione temporale tra il tipo di trattamento e il grado di depressione non può essere direttamente identificata. Questo tipo di studio, cioè, non permette una valutazione della relazione causa-effetto e quindi non si possono trarre informazioni sui nessi causali, ma solo descrivere delle associazioni tra la malattia e il fattore di rischio. Non è possibile, cioè, fare affermazioni del tipo "Il protocollo Coimbra fa diminuire il grado di depressione nei soggetti affetti da SM con meno di 45 anni".

Il campione, poi, non risulta essere omogeneo nei due gruppi considerati di trattamento rispetto all'EDSS, che presenta valori significativamente più bassi per chi assume elevate dosi di vitamina D in confronto a chi segue la terapia farmacologica. Inoltre, non è possibile determinare, per quanto detto prima, se i pazienti Coimbra presentano valori di EDSS più bassi perché la terapia fa abbassare il loro stato di disabilità o perché l'assunzione di vitamina D viene indicata soprattutto per coloro che hanno un minor valore di EDSS, mentre per gli altri (con una disabilità più grave) è preferibile la terapia farmacologica.

Il campione, poi, non risulta essere equilibrato rispetto al sesso. E' risaputo, infatti, che la sclerosi multipla è una malattia che colpisce maggiormente le donne, ma avere un campione con un numero di maschi maggiore potrebbe portare a ottenere risultati significativi anche per loro.

In generale, si ritiene che uno studio randomizzato sarebbe più adatto per selezionare un campione propriamente equilibrato, come sostenuto anche in [3].

Infine, si deve tenere presente che i dati sono stati raccolti attraverso dei questionari autocompilati online, che possono essere soggetti a errori da parte dei rispondenti (a causa della fretta durante le risposte o perché non ci si ricorda correttamente alcuni parametri), oltre che l'essere affetti da *selection bias*, dato che i questionari sono stati inviati in alcuni gruppi Facebook di pazienti con la SM.

Per degli studi futuri si dovrebbe prendere in considerazione l'ipotesi di suddividere il campione in alcuni sottogruppi, rispetto ad esempio agli anni di malattia di SM o alla tipologia di diagnosi avuta (recidivante/remittente o progressiva), per valutare se vi può essere qualche differenza tra le diverse categorie (studio settorializzato) per l'effetto del tipo di trattamento sul grado di depressione, rispetto al totale. Tale separazione si potrebbe fare anche rispetto ai diversi anni da cui i pazienti, che seguono il protocollo Coimbra, assumono alte dosi di vitamina D.

Infine, sarebbe opportuno eseguire uno studio longitudinale, che permetta di seguire i pazienti con SM nel corso del tempo, al fine di dimostrare che l'associazione (risultata significativa) tra un minor grado di depressione e il protocollo Coimbra, sia direttamente causata dal tipo di trattamento.

Appendice A

Questionari HADS e CES-D di autovalutazione del grado di depressione

Questa sezione riporta le domande, con i relativi punteggi, fatte nei questionari HADS e CES-D, che si sono utilizzate per ottenere gli *score* del grado di depressione, presi in considerazione nelle analisi statistiche.

Per il primo questionario, quello sulla scala HADS (Tabella A.1) si riportano i quesiti con i punteggi da contrassegnare (da 0 a 3) relativi all'ansia (colonne denominate con "A") e alla depressione (colonne denominate con "D"). Per entrambi gli indici si ottiene poi uno *score* totale, come somma dei singoli punteggi per ciascun quesito, con un valore compreso tra 0 e 21. Per i fini dello studio eseguito si è utilizzato solo il punteggio totale relativo alla depressione.

Nel secondo questionario, quello sulla scala CES-D (Tabella A.2), sono state riportate le domande (esclusivamente sulla depressione) a cui ciascun rispondente ha attribuito, anche in questo caso, un punteggio da 0 a 3 (0 per la prima colonna, 1 per la seconda, 2 per la terza e 3 per la quarta e ultima colonna). Lo *score* totale, calcolato come somma dei singoli punteggi per ciascun quesito, con un range da 0 a 60, si è utilizzato nelle analisi statistiche ed è stato messo in relazione con quello ottenuto dalla scala HADS.

D	A		D	A	
		I feel tense or 'wound up':			I feel as if I am slowed down:
	3	Most of the time	3		Nearly all the time
	2	A lot of the time	2		Very often
	1	From time to time, occasionally	1		Sometimes
	0	Not at all	0		Not at all
		I still enjoy the things I used to enjoy:			I get a sort of frightened feeling like 'butterflies' in the stomach:
0		Definitely as much	0		Not at all
1		Not quite so much	1		Occasionally
2		Only a little	2		Quite Often
3		Hardly at all	3		Very Often
		I get a sort of frightened feeling as if something awful is about to happen:			I have lost interest in my appearance:
	3	Very definitely and quite badly	3		Definitely
	2	Yes, but not too badly	2		I don't take as much care as I should
	1	A little, but it doesn't worry me	1		I may not take quite as much care
	0	Not at all	0		I take just as much care as ever
		I can laugh and see the funny side of things:			I feel restless as I have to be on the move:
0		As much as I always could		3	Very much indeed
1		Not quite so much now		2	Quite a lot
2		Definitely not so much now		1	Not very much
3		Not at all		0	Not at all
		Worrying thoughts go through my mind:			I look forward with enjoyment to things:
	3	A great deal of the time	0		As much as I ever did
	2	A lot of the time	1		Rather less than I used to
	1	From time to time, but not too often	2		Definitely less than I used to
	0	Only occasionally	3		Hardly at all
		I feel cheerful:			I get sudden feelings of panic:
3		Not at all		3	Very often indeed
2		Not often		2	Quite often
1		Sometimes		1	Not very often
0		Most of the time		0	Not at all
		I can sit at ease and feel relaxed:			I can enjoy a good book or radio or TV program:
	0	Definitely	0		Often
	1	Usually	1		Sometimes
	2	Not Often	2		Not often
	3	Not at all	3		Very seldom

Tabella A.1: Questionario HADS.

	During the Past Week			
	Rarely or none of the time (less than 1 day)	Some or a little of the time (1-2 days)	Occasionally or a moderate amount of time (3-4 days)	Most or all of the time (5-7 days)
1. I was bothered by things that usually don't bother me.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2. I did not feel like eating; my appetite was poor.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3. I felt that I could not shake off the blues, even with help from my family or friends.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4. I felt I was just as good as other people.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5. I had trouble keeping my mind on what I was doing.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
6. I felt depressed.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
7. I felt that everything I did was an effort.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
8. I felt hopeful about the future.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
9. I thought my life had been a failure.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
10. I felt fearful.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
11. My sleep was restless.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
12. I was happy.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
13. I talked less than usual.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
14. I felt lonely.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
15. People were unfriendly.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
16. I enjoyed life.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
17. I had crying spells.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
18. I felt sad.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
19. I felt that people disliked me.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
20. I could not get "going".	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Tabella A.2: Questionario CES-D.

Bibliografia

- [1] Azzalini, Adelchi e Scarpa, Bruno. *Data analysis and data mining: An introduction*. OUP USA, 2012.
- [2] Grigoletto, Matteo, Ventura, Laura e Pauli, Francesco. *Modello lineare: teoria e applicazioni con R*. G Giappichelli Editore, 2017.
- [3] Ianniello, Antonio, Sottosanti, Andrea, Borriello, Giovanna e Vincenti, Massimo. «Perception of Quality of Life and Fatigue in Multiple Sclerosis Patients Treated with High-Dose Vitamin D». In: *Clinical and Translational Neuroscience* 7.2 (2023), p. 12.
- [4] Kotb, Mamdouh Ali, Kamal, Ahmed M, Aldossary, Nasser M e Bedewi, Mohamed Abdelmohsen. «Effect of vitamin D replacement on depression in multiple sclerosis patients». In: *Multiple sclerosis and related disorders* 29 (2019), pp. 111–117.
- [5] Meyer-Moock, Sandra, Feng, You-Shan, Maeurer, Mathias, Dippel, Franz-Werner e Kohlmann, Thomas. «Systematic literature review and validity evaluation of the Expanded Disability Status Scale (EDSS) and the Multiple Sclerosis Functional Composite (MSFC) in patients with multiple sclerosis». In: *BMC neurology* 14 (2014), pp. 1–10.
- [6] Mozaffari-Khosravi, Hassan, Nabizade, Lale, Yassini-Ardakani, Seyed Mojtaba, Hadinedoushan, Hossein e Barzegar, Kazem. «The effect of 2 different single injections of high dose of vitamin D on improving the depression in depressed patients with vitamin D deficiency: a randomized clinical trial». In: *Journal of clinical psychopharmacology* 33.3 (2013), pp. 378–385.
- [7] Munger, Kassandra L, Levin, Lynn I, Hollis, Bruce W, Howard, Noel S e Ascherio, Alberto. «Serum 25-hydroxyvitamin D levels and risk of multiple sclerosis». In: *Jama* 296.23 (2006), pp. 2832–2838.
- [8] Ochoa-Morales, A et al. «Quality of life in patients with multiple sclerosis and its association with depressive symptoms and physical disability». In: *Multiple sclerosis and related disorders* 36 (2019), p. 101386.

- [9] Taylor, Keryn L et al. «Longitudinal associations of modifiable lifestyle factors with positive depression-screen over 2.5-years in an international cohort of people living with multiple sclerosis». In: *Frontiers in Psychiatry* 9 (2018), p. 422199.
- [10] Vineis, Paolo, Duca, Piergiorgio e Pasquini, Paolo. *Manuale di metodologia epidemiologica*. NIS, 1988.

Sitografia

- [S1] *Dottor Massimo Vincenti - Protocollo Coimbra*. 2024. URL: <https://massimovincenti.it/protocollo-coimbra/> (visitato il 10/03/2023).

Ringraziamenti

A conclusione di questo elaborato, desidero dedicare uno spazio per ringraziare tutte le persone senza le quali questo lavoro di tesi non sarebbe stato possibile.

In particolare, ringrazio il mio relatore, Dott. Andrea Sottosanti e correlatore, Dott. Pietro Belloni, per la loro disponibilità, per i consigli datomi e per il supporto dimostratomi in questi mesi.

Ringrazio, inoltre, i medici, Dott. Massimo Vincenti e Dott. Antonio Ianniello, per aver reso disponibili i dati su cui si è lavorato e per aver seguito con dedizione gli sviluppi delle analisi svolte.