

**MEDICINA SCIENZA E SOCIETÀ**

# STORIA DEL SEVEN COUNTRIES STUDY: UN PERCORSO DI 60 ANNI DALLE ORIGINI ALL'ESTINZIONE DELLE COORTI

## The Seven Countries Study: a journey lasting 60 years from the start to cohorts' extinction

**ALESSANDRO MENOTTI, PAOLO EMILIO PUDDU***Associazione per la Ricerca Cardiologica, Roma***SUMMARY**

The Seven Countries Study of Cardiovascular Diseases was the first epidemiological investigation at international level dealing with coronary heart disease. It started in 1958 enrolling 16 cohorts of middle-aged men in 8 nations of 7 countries of 3 continents and the follow-up for survival and mortality has reached 60 years for 10 of the 16 cohorts with the practical extinctions of the same.

The present contribution is an historical description of this long enterprise including some major results but mainly a number of details and historic facts that are little known or simply unknown.

The study has shown the existence of large differences in the occurrence and mortality from coronary heart disease across various international cohorts; that such differences were largely explained, at ecological levels, by serum cholesterol levels and dietary habits, mainly the intake of saturated fat; that within cohorts levels of serum cholesterol, blood pressure and smoking habits are predictive, at individual level, of coronary heart disease. Moreover, the study prompted the identification of the so-called Mediterranean Diet. Many other, largely unexpected, findings were identified in the long-term follow-up.

**Key words:** *Seven Countries Study, Mediterranean diet, CHD, risk factors, cholesterol, prediction.*

**Premessa**

Questo articolo, pur essendo basato su una ricerca scientifica, ha un carattere prevalentemente storico ed ha l'intento di descrivere un'impresa epidemiologica singolare, durata decenni, comprendente anche la documentazione di curiosità di

*Indirizzo per la corrispondenza*

Paolo Emilio Puddu  
Via Voghera, 31 - 00182 Roma  
E-mail: [puddu.pe@gmail.com](mailto:puddu.pe@gmail.com)

vario tipo e di problemi negativi incontrati lungo il suo percorso. Non verranno citate o commentate analisi relative a singole coorti o singoli Paesi (salvo rare eccezioni) mentre i dati numerici, le tabelle e le figure saranno limitati e la bibliografia sarà confinata ad una selezione di contributi esemplificativi e significativi.

### Introduzione

La storia cominciò negli anni 1950 quando il Prof. Ancel Keys, professore di fisiologia all'Università del Minnesota, dopo una lunga serie di studi pilota ed esplorativi in vari paesi e la messa a punto di numerose metodologie di misura da adottare "sul campo", avviò quello che doveva diventare il primo vero studio epidemiologico sulla cardiopatia coronarica di portata internazionale.

Le sue esperienze precedenti erano state multiformi ed erano passate attraverso titoli accademici in zoologia, economia, biochimica e fisiologia nonché attraverso ricerche classiche come il più grande esperimento mai eseguito sulla fisiologia del digiuno, una serie ormai storica di studi sperimentali sulle relazioni tra i vari grassi della dieta e la colesterolemia nonché l'avvio del primo studio epidemiologico sulla cardiopatia coronarica, conosciuto come il "Minnesota Professional and Business Men Study" che precedette di 2 anni l'inizio del più famoso studio di Framingham.

Recentemente è stato scoperto, negli archivi dell'Università del Minnesota, un documento scritto dal Prof. Keys nel Novembre 1958 che in 20 pagine dattiloscritte descriveva l'idea di quello che sarebbe diventato il Seven Countries Study of Cardiovascular Diseases (SCS) (1). Il testo conteneva la descrizione di ipotesi, scopi e propositi, caratteristiche generali del programma, misure ed osservazioni, organiz-

zazione, caratteristiche delle aree e delle popolazioni, procedure per l'arruolamento delle popolazioni, squadre per il lavoro sul campo, tipologia delle operazioni sul campo, follow-up interinale, costi e budget.

Il SCS intendeva rispondere ad una serie di ipotesi sviluppate nell'esperienza precedente che riguardavano sostanzialmente il tentativo di fornire soluzione a tre quesiti:

1. se tra popolazioni diverse e contrastanti fossero dimostrabili reali differenze di prevalenza, incidenza e mortalità per cardiopatia coronarica (infarto, morte improvvisa, etc.);
2. se tali differenze, qualora vere, fossero almeno in parte spiegate da diverse caratteristiche delle popolazioni in questione e specie quelle legate alle abitudini di vita ed a quelle alimentari in particolare;
3. se all'interno delle singole popolazioni fossero identificabili caratteristiche personali capaci di predire la comparsa di futuri eventi coronarici maggiori.

### Organizzazione dello studio, prima fase

Quella che definiamo prima fase dello studio corrisponde alla fase iniziale a partire dal 1958 con un follow-up delle coorti di circa 15 anni e con una completa responsabilità del Prof. Keys fino al 1986 circa, anche se tale data non corrisponde alla scadenza esatta del follow-up sopra-citato. Tale fase fu di fatto preceduta da un'altra fase preparatoria durata almeno 6 anni.

Il percorso fu lungo e difficile, passando attraverso la ricerca di collaboratori in vari Paesi, addestrandoli presso il famoso Laboratory of Physiological Hygiene dell'Università del Minnesota, dove cominciò a formarsi la grande famiglia del Seven Countries; richiedendo ed ottenendo finanziamenti dal National Institute of

Health (NIH) degli USA ed organizzando una complicata logistica operativa in 7 Paesi di 3 continenti. Alla fine, con inizio nel 1958 e termine nel 1964, furono arruolati 16 campioni di popolazione, costituiti da uomini di età compresa tra 40 e 59 anni, situati negli Stati Uniti (1), in Finlandia (2), in Olanda (1), in Italia (3) nell'ex-Iugoslavia (5) (già da allora suddivisa per le finalità dello studio in Croazia e Serbia), in Grecia (2) ed in Giappone (2) per un totale di 12.763 soggetti ed ottenendo altissime partecipazioni a quell'esame iniziale.

Le misure negli esami sul campo comprendevano questionari sullo stato sociale e sull'attività fisica, misure biochimiche, biofisiche ed antropometriche, una visita medica con anamnesi ed esame obiettivo, la registrazione di un elettrocardiogramma a riposo e da sforzo ed un test spirometrico (2). Un elenco dettagliato delle misure eseguite è riportato nella *Tabella 1*.

Una caratteristica dello studio fu quella di adottare tecniche di misura fortemente standardizzate e sottoposte a rigidi controlli di qualità. Nonostante il notevole numero di misure effettuate, molte altre furono scartate perché a quel tempo non fu possibile realizzare adeguate procedure di standardizzazione. Furono escluse p.e. le misure della glicemia, delle alfa-lipoproteine (un modo a quei tempi per caratterizzare il colesterolo-HDL), della trigliceridemia, di alcuni indicatori della coagulazione, della radiografia del torace e di altre per le quali grande attenzione era stata posta nel corso degli studi pilota. Molte misure furono centralizzate, quando possibile, come p.e. la determinazione della colesterolemia, l'interpretazione degli elettrocardiogrammi, la lettura dei tracciati spirometrici, la formulazione finale delle diagnosi cliniche secondo criteri predeterminati e l'assegnazione delle cause di morte nel corso del follow-up.

La maggior parte delle tecniche di misura impiegate sul campo furono poi riportate nel manuale dell'OMS intitolato *Cardiovascular Survey Methods*, pubblicato nel 1968 (3).

In particolare tra le misure centralizzate, la colesterolemia venne misurata in due laboratori, a Minneapolis ed a Napoli, con una tecnica attendibile su sieri seccati su carta da filtro che permettevano una facile conservazione e trasportabilità, (4); gli elettrocardiogrammi vennero interpretati a Minneapolis da parte di tecnici addestrati e sotto supervisione usando il Codice del Minnesota (5); nella stessa sede veniva eseguita la conversione dei tracciati spirometrici in dati numerici; la formulazione delle diagnosi sul campo furono basate su criteri predeterminati ed eseguite da due ricercatori per i primi 14 anni e da uno solo di loro successivamente, utilizzando criteri e codici creati ad-hoc per lo studio (6). Lo stesso avvenne per la determinazione delle cause di morte basate sulla revisione 8 della Classificazione Internazionale dell'OMS (ICD-8) (7) e su un sistema di codici specifici per lo studio, che oltre alla disponibilità del certificato di morte furono basate (in almeno la metà dei casi) sulla disponibilità dei dati raccolti negli esami sul campo, su visite interinali a malati, sulla revisione di cartelle cliniche ospedaliere e su interviste con medici ospedalieri, medici di famiglia, familiari di malati e deceduti ed ogni altro possibile testimone degli eventi. Tutto ciò precedette di molti anni la creazione la parte dell'OMS della *Verbal Autopsy (Autopsia Verbale)*, basata su questionari ad hoc che fu utilizzata specie nei Paesi in via di sviluppo (8).

Il numero di coorti sottoposte alle varie rilevazioni all'esame iniziale e durante il follow-up è indicato nella *Tabella 2*.

Le operazioni di screening sul campo erano condotte da squadre multinazionali

di medici, infermieri e tecnici che usualmente si distribuivano il lavoro assegnando ai rappresentanti nazionali i compiti che richiedevano la conoscenza della lingua locale (anche se vi furono eccezioni legate a poliglotti capaci di inserirsi anche in que-

sta attività), mentre tutte le altre operazioni erano affidate ai membri stranieri della squadra, creando in tal modo una completa e sostanziale fusione dell'intero gruppo. Questo fu uno degli elementi fondamentali nel creare la validità dei rilevamenti

**Tabella I - Dati raccolti negli esami sul campo e durante il follow-up.**  
Derivata da voci bibliografiche (2, 5-7, 13).

		Note
<i>Dati anagrafici</i>	Data di nascita Età	
<i>Dati socio-economici</i>	Stato civile Numero figli Professione	
<i>Comportamenti ed abitudini di vita</i>	Attività fisica lavorativa Fumo di sigarette e di altro tipo Dieta suggerita dal medico Indagine dietetica speciale (in sottocampioni di 16 coorti, Questionario dietetico in tutti gli esaminati di 6 coorti)	
<i>Misure antropometriche</i>	Statura Statura seduta Peso Diametro biacromiale Diametro bicrestoilico, Plica cutanea tricipitale Plica cutanea sottoscapolare Circonferenza del braccio	Misure derivate: Indice di massa corporea, Rapporto tronco/statura, Indice lateralità/linearità Rapporto spalle/bacino
<i>Misure biofisiche</i>	Pressione arteriosa Frequenza cardiaca Capacità vitale Volume espiratorio forzato in ¼ sec Elettrocardiogramma a riposo Elettrocardiogramma da sforzo	Elettrocardiogramma letto secondo il codice del Minnesota
<i>Misure biochimiche</i>	Colesterolemia totale Glicosuria Proteinuria	Glicosuria e proteinuria con uristix
<i>Anamnesi clinica</i>	Famigliarità per patologie cardiovascolari maggiori Anamnesi per le più comuni patologie con particolare attenzione per patologie cardiovascolari	
<i>Esame obiettivo</i>	Completo esame obiettivo	
<i>Diagnosi in vita</i>	Basate su criteri predeterminati utilizzando anamnesi, esame obiettivo ed esami strumentali	Codificate secondo classificazione interna dello studio
<i>Cause di morte</i>	Basate su certificato di morte, esami sul campo, esami interinali ad hoc, cartelle cliniche ospedaliere, interviste con medici e famigliari	Codificate secondo la classificazione internazionale dell'OMS ICD-8 e secondo classificazione interna dello studio

Tabella 2 - Numero di coorti sottoposte a varie procedure nel corso dello studio.

Anno di follow-up	Esami sul campo	Stima incidenza	Mortalità
0	16	–	–
5	15	16	16
10	15	16	16
15	2	–	16
20	2	–	16
25	8	–	16
30	6	–	13
35	8	–	13
40	9	–	13
45	–	–	13
50	–	2	16*
55	–	–	10
60	–	–	10

\*In 6 coorti mortalità per cardiopatia coronarica e per tutte le cause sono state estrapolate matematicamente a 50 anni a partire da un follow-up più breve.

e nel cementare la collegialità e l'amicizia tra i ricercatori dei vari Paesi, che spesso si estese alle rispettive famiglie.

I membri stranieri delle squadre in azione, parteciparono alle operazioni sul campo una sola volta, altri varie volte, altri nella maggior parte delle occasioni per un periodo di oltre 10 anni. Alcuni svolsero anche il ruolo di "controllori" per l'istruzione dei rilevatori e la validazione delle procedure. Di fatto le operazioni di screening furono continue, senza soste, tra il 1958 ed il 1974, perché oltre al primo esame erano previsti riesami dopo 5 e 10 anni.

Il lavoro sul campo durava circa un mese per ogni popolazione ad eccezione di quello che coinvolse il campione Americano che durò circa 2 anni a causa della maggiore dimensione e della dispersione geografica. Era sempre necessario adattarsi a situazioni locali, non ideali dal punto di vista logistico ed organizzativo e risolvere una quantità di problemi contingenti e talora di emergenze. Molto spesso era necessario lavorare anche nei giorni festivi,

per aumentare la partecipazione dei soggetti prescelti e quasi sempre i ricercatori avevano anche compiti "manuali" nel caricare e scaricare e nel montare e smontare il materiale e le attrezzature utilizzate, finendo per vivere una situazione da circo equestre.

Molti ricercatori hanno vissuto reali avventure che vengono sempre ricordate con piacere. Le sedi di lavoro furono le più varie e disparate, passando da un vagone ferroviario attrezzato ad ambulatorio negli Stati Uniti, ad un garage dei pompieri in Olanda, da un convento e una cantina in alcune aree della Jugoslavia, dal pronto soccorso della Stazione Termini a Roma ad una fabbrica di camicie a Crevalcore in Emilia (guardata in funzione di cane da guardia da un piccolo coccodrillo, vivo), per finire con una caserma delle guardie di frontiera in Finlandia. Spesso fu necessario risolvere problemi veramente imprevisti, come p.e. rieseguire da capo i prelievi di sangue quando si scoprì, a Creta, che gli escrementi depositati dalle mosche sui

sieri seccati su carta da filtro facevano artificialmente aumentare i valori della colesterolemia (per la presenza di steroli aspecifici); oppure, in seguito ad un guasto, smontare 2 elettrocardiografi in Dalmazia per ricostruirne uno funzionante; oppure correre ad acquistare delle stufe elettriche a Montegiorgio nelle Marche quando, alla fine di un Aprile per il momento mite, arrivò un'incredibile nevicata con freddo; oppure coesistere difficilmente con un'epidemia di peste suina in Slavonia e quasi contemporaneamente interrompere tutte le operazioni perché il Maresciallo Tito aveva requisito l'albergo dove risiedeva la squadra dei ricercatori per venire a schiarare i suoi carri armati di fronte a quelli Russi che si trovavano al di là del vicino confine con l'Ungheria (1968); oppure in Finlandia scoprire (dopo giorni di disperazione) che la registrazione degli elettrocardiogrammi era fortemente disturbata da potenti onde elettromagnetiche provenienti da un gigantesco pela-patate situato nella cucina situata al piano inferiore della caserma delle guardie di frontiera.

Un'importante componente dello studio era legata al rilievo delle abitudini alimentari delle popolazioni in studio e quindi tra i ricercatori era largamente diffusa la cultura nutrizionale con conseguenti interessi culinari nell'andare a scoprire i più gustosi e possibilmente più sani piatti locali. In molte circostanze, specie nelle aree rurali e nei primi anni di lavoro, almeno un pasto al giorno veniva consumato dalla squadra presso una famiglia locale che si prestava allo scopo. Una delle conseguenze fu, p.e., che al ritorno dalle spedizioni in Finlandia molti si sentivano "imburrati", mentre al ritorno dalla Grecia la sensazione era quella di essere "oleati", per non parlare della strana sensazione di puzzare di pesce dopo le spedizioni in Giappone. La procedura per la determinazione della

dieta sarà riportata nel capitolo sulla Dieta Mediterranea descritta nei risultati della prima fase dello studio.

Un altro aspetto avventuroso nei primi anni della prima fase fu costituito dalla memorizzazione ed analisi dei dati che avveniva su schede perforate e con l'uso di macchine particolarmente complesse (e rumorose) che fornivano, con sorteggio, la suddivisione delle schede in base a criteri predeterminati e con ciò la possibilità di creare raggruppamenti ma con un lavoro lento, impreciso e limitato a calcoli elementari. Con l'arrivo di veri computer le cose cambiarono ma il sistema era ancora imperfetto e soprattutto lento. Per esempio, il SCS fu uno dei primi studi epidemiologici ad impiegare la funzione logica multipla per la stima del rischio multivariato ed il programma era costituito da oltre 20 kg di schede perforate. Nei primi anni 1970, riusciti a far importare (illegalmente) tale programma dagli USA, il più potente computer IBM disponibile in Italia presso l'Istituto Superiore di Sanità impiegava circa 50 minuti per risolvere l'equazione. Da notare che tale computer costava, a quei tempi, circa 350 milioni di lire di affitto all'anno (non era acquistabile) e consisteva in 5-6 enormi armadi metallici, da una macchina che ingoiava le schede perforate e da un'enorme stampante per fogli altrettanto enormi. Sempre in quel tempo, il più potente computer disponibile all'Università del Minnesota (il famoso CDC 6600) impiegava circa 6 minuti per risolvere la stessa equazione. Alcuni decenni dopo un desk-top portatile del peso inferiore a 2 kg e del costo di poco più di 1.000 Euro attuali utilizza il programma memorizzato in una pennetta di pochi grammi e impiega pochi secondi per risolvere l'equazione.

Il coordinamento dello studio fu tenuto con atteggiamento paterno e patriarca-

le ma anche con pugno di ferro dal Prof. Keys, dalla base operativa di Minneapolis nella sede del Laboratory of Physiological Hygiene che ebbe la sua sede, per molti anni, all'ingresso n. 27 sotto le scalinate dello stadio dell'Università – il famoso Stadium Gate 27 –. Tale laboratorio per almeno 2 decenni fu la Mecca degli epidemiologi cardiovascolari che andavano a farsi istruire e ad analizzare i dati.

Fra coloro che ebbero grandi responsabilità nelle prime fasi storiche dello studio vanno ricordati i Prof. Taylor e Blackburn dell'Università del Minnesota, il Prof. Karvonen e il Dr. Punsar in Finlandia, il Prof. Van Buchem in Olanda, il Prof. Fidanza, il Prof. Vittorio Puddu, il Dr. Monti in Italia, i Prof. Buzina e Mohacek in Croazia, i Prof. Djordjevic e Nedeljkovic in Serbia, i Prof. Aravanis e Dontas in Grecia ed il Prof. Kimura in Giappone.

### **Il cambio di ruolo del Prof. Keys**

Con il pensionamento del Prof. Keys dall'Università del Minnesota, nel 1972, gran parte delle attività di coordinamento e soprattutto quelle del follow-up per la mortalità e l'analisi dei dati vennero progressivamente trasferite a Roma, dapprima presso il Centro per le Malattie Cardiovascolari dell'Ospedale San Camillo, poi presso il Laboratorio di Epidemiologia e Biostatistica dell'Istituto Superiore di Sanità, quest'ultimo in collaborazione con l'Istituto Nazionale di Sanità Pubblica (RIVM) a Bilthoven in Olanda. Successivamente, tra il 1994 ed il 2000, alcune attività tornarono alla Division of Epidemiology dell'Università del Minnesota (erede del Laboratory of Physiological Hygiene), mentre dopo il 2000 gran parte dell'attività venne svolta presso l'Associazione per la Ricerca Cardiologica, a Roma.

Nel frattempo il Prof. Keys aveva sta-

bilito la sua seconda dimora a Pioppi, in provincia di Salerno, in una bella casa sul mare. Il suo interesse per lo studio rimase, ma si diluì nel tempo ed il 1986 è stato probabilmente un momento critico nella sua attività perché in tale anno fu pubblicato l'ultimo articolo in cui compariva come primo autore mentre negli anni successivi fu solo co-autore fino al 1992, ma sempre più raramente.

### **Struttura della seconda fase**

Quella che intendiamo per seconda fase è il periodo di tempo successivo ai primi 15 e fino ai 60 anni di follow-up, ma che di fatto iniziò nella seconda metà degli anni 1980.

Dopo i primi 10 anni di follow-up gli esami periodici quinquennali non furono più finanziati né coordinati centralmente (anche se eseguiti più o meno regolarmente in molti campioni), ma all'anno 15 gli esami sul campo furono ripetuti solo in Finlandia e all'anno 20 solo in Italia. Rimasero comuni l'uso di questionari e procedure identiche e centralizzate (ma coordinate in Europa) ed i meccanismi per il follow-up della mortalità e delle cause di morte. Sempre in Europa si provvide ad omogeneizzare i dati dei riesami periodici e quelli della mortalità ed a creare i relativi files.

In 9 coorti Europee si svolsero esami quinquennali successivi all'anno 10, almeno una volta e per un massimo di 4 volte a partire dall'anno 25 e fino all'anno 40 di follow-up.

Nel 2021, tra i 16 campioni di popolazione, la raccolta dei dati di mortalità aveva raggiunto 60 anni di follow-up in 10 coorti, con la sostanziale estinzione delle stesse.

Col passare degli anni, la generazione che aveva avviato lo studio è andata in pensione ed abbiamo avuto anche molte

perdite. Entro il 2019 sono scomparsi quasi tutti i ricercatori che avevano avviato lo studio e probabilmente l'unico sopravvissuto è il Prof. Blackburn che nel 2022 ha compiuto 97 anni.

Nel frattempo sono subentrate nuove leve che hanno configurato il gruppo dei ricercatori della seconda generazione, tra i quali vanno soprattutto ricordati il Prof. Daan Kromhout, olandese, che ha fornito mezzi, organizzazione, strutture ed idee per mantenere in vita lo studio fino al lunghissimo follow-up sopra descritto ed il Prof. Hironori Toshima, giapponese, che ha organizzato uno straordinario convegno sul Seven Countries a Fukuoka in Giappone nel 1993 per celebrare i 35 anni di attività. La Prof.ssa Aulikki Nissinen divenne responsabile per la Finlandia, il Prof. Antony Kafatos per la Grecia, il Prof. Hisashi Adachi per il Giappone, il Prof. David Jacobs per gli USA, mentre non fu identificabile un chiaro responsabile per la Serbia.

Uno degli autori di questo articolo (AM) ha avuto il singolare destino di trovarsi a cavallo tra le prime due generazioni: infatti era il più giovane della prima generazione e, non essendosi ancora ritirato ai fini di questo studio, divenne il più anziano della seconda generazione.

Nel 2006, un incontro tenutosi a Roma tra i potenziali ricercatori ancora in attività, formalizzò l'esistenza di una Terza Generazione ed affidò il coordinamento dello studio al Prof. Kromhout ed al Prof. Menotti, mentre il Prof. Blackburn assunse il ruolo di Presidente onorario. Tuttavia, solo due, forse tre ricercatori divennero veramente attivi negli anni successivi.

### **La scomparsa del Prof. Keys e le critiche postume al Seven Countries**

Nel 2004, all'età di oltre 100 anni è scomparso il Prof. Keys, lasciando un grande

vuoto ma un'eredità straordinaria. Successivamente a questo doloroso evento cominciarono a comparire numerose critiche nei riguardi della sua attività scientifica e del SCS in particolare. Tale operazione venne eseguita prevalentemente da parte di giornalisti e scrittori, molto meno da parte di ricercatori. Gli stessi suggerivano la necessità di incrementare i consumi di latte, burro, carne ed in genere di alimenti ricchi in grassi saturi per prevenire le malattie cardiovascolari. Vennero sollevati problemi relativi alla selezione delle popolazioni, all'esclusione della Francia tra i Paesi partecipanti, alla raccolta di dati dietetici durante la quaresima in Grecia, al valore dello zucchero quale alimento pericoloso per la salute, alla pubblicazione di grafici erroneamente attribuiti al SCS, all'associazione tra grassi totali nella dieta con la mortalità per cardiopatia coronarica, al valore delle associazioni ecologiche (tra gruppi invece che tra individui) tra possibili cause e possibili effetti.

Di fatto queste critiche postume erano largamente basate su notizie e informazioni false (fake news) ed erano fornite da persone che non avevano letto le monografie né gli articoli originali, riportando false impressioni ed interpretazioni spesso trasmesse da una cascata di diverse fonti mediatiche.

### **La riabilitazione del Prof. Keys e del Seven Countries**

Il Prof. Keys non potette rispondere alle critiche e nel corso di vari anni i suoi collaboratori ebbero grandi difficoltà nell'affrontare il problema, ma nel corso del tempo avvenne la sua riabilitazione prevalentemente legata a due episodi.

Nel 2017 la Society for Epidemiology Research negli USA celebrò i suoi 50 anni e decise di ripubblicare i 15 migliori ar-

ticoli comparsi durante 50 anni nella sua rivista, l'American Journal of Epidemiology. I cosiddetti "articoli storici" furono selezionati tra migliaia ed uno di questi fu un articolo sul Seven Countries pubblicato nel 1986 dal Prof. Keys con 14 collaboratori che riguardava la dieta e la cardiopatia coronarica con 15 anni di follow-up (9). Esso rappresentava una descrizione completa delle relazioni ecologiche tra dieta e cardiopatia coronarica e mortalità totale nonché del ruolo di alcuni fattori di rischio come colesterolemia, pressione arteriosa e fumo. Inoltre per la prima volta fu valutato il ruolo del rapporto grassi monoinsaturi/grassi saturi che dimostrò una forte associazione inversa a livello ecologico con la mortalità per cardiopatia coronarica e con la mortalità totale. Tale rapporto rappresentava approssimativamente un indicatore della Dieta Mediterranea dove i grassi monoinsaturi sono quelli prevalentemente contenuti nell'olio di oliva. Incidentalmente, come indicato sopra, questo articolo fu l'ultimo del SCS nel quale il Prof. Keys ebbe il ruolo di primo autore.

Sempre nel 2017, venne pubblicato su Internet un White Paper riguardante il Prof. Keys ed il Seven Countries commissionato dalla True Health Initiative (USA) (10) e scritto da eminenti ed indipendenti esperti. Le 64 pagine del testo erano basate su fonti originarie, documenti storici e revisione e critiche da parte dei ricercatori del SCS. L'insistente ricerca della verità dimostrò che le critiche erano basate su informazioni false o deformate, su lettura incompleta delle pubblicazioni originarie e su errate interpretazioni di dati o semplicemente su "fake news". Inoltre, il White Paper fornì l'occasione per rispondere alle critiche con fatti documentati e di chiarire alcune incertezze nell'interpretazione dello studio.

In particolare:

1. La scelta delle popolazioni intendeva arruolare gruppi presumibilmente molto diversi per abitudini dietetiche e per mortalità coronarica senza peraltro avere la certezza che tali differenze fossero vere o già note a priori.
2. L'esclusione della Francia dipese da alcuni ricercatori Francesi che erano stati invitati a partecipare allo studio ma che alla fine si ritirarono; inoltre, il cosiddetto paradosso Francese non era ancora noto.
3. La misura della dieta eseguita in parte durante la quaresima nelle aree della Grecia era stata intenzionale e dimostrò che non esistevano differenze sostanziali rispetto ai periodi non quaresimali.
4. Le analisi sul consumo di zucchero dimostrarono che esisteva una sua associazione positiva con la mortalità coronarica, ma di entità inferiore a quella dei gruppi di alimenti ricchi in grassi saturi.
5. Due grafici pubblicati sui rapporti tra dieta e mortalità coronarica, derivati da dati della FAO e dell'OMS rispettivamente, falsamente attribuiti al SCS e che sembravano contraddire i risultati del SCS, erano stati prodotti diversi anni prima dei risultati del SCS e contenevano solo una parte dei Paesi coinvolti nel SCS.
6. La presenza di una modesta associazione tra consumo di grassi totali e cardiopatia coronarica osservata nel SCS non è mai stata seguita da proposte di sostituire i grassi alimentari con i carboidrati.
7. Tutte le pubblicazioni del SCS sono sempre state molto caute nell'attribuire un ruolo causale al consumo di grassi saturi.

### Risultati della prima fase con follow-up di 15 anni

I risultati principali relativi alla prima fase fornirono risposte positive ai tre quesiti posti a priori e furono in larga parte riportati in due monografie (6, 11). In particolare:

#### *Differenze di patologia tra aree*

Furono documentate grandi differenze di prevalenza, incidenza e mortalità per cardiopatia coronarica tra le varie coorti, con valori molto elevati in Nord Europa e Nord America, più bassi in Sud ed Est Europa ed in Giappone; simili trend, anche se meno marcati, furono dimostrati per la mortalità per tutte le cause.

#### *Spiegazione delle differenze*

Buona parte delle differenze in questione furono significativamente associate, in termini ecologici (cioè confrontando coorti e non individui) ed in forma diretta con i consumi di grassi saturi ed in forma inversa con il rapporto grassi monoinsaturi/grassi saturi (9); inoltre, elevate correlazioni furono trovate in via diretta tra colesterolemia media delle coorti e incidenza e mortalità per cardiopatia coronarica; analoga correlazione diretta fu trovata tra consumi di grassi saturi e colesterolemia (6).

#### *Fattori di rischio individuali*

A livello individuale, all'interno delle singole aree e nel loro pool, fu documentato il potere predittivo diretto multivariato tra colesterolemia, pressione arteriosa ed abitudini al fumo ed incidenza e mortalità per cardiopatia coronarica nel corso di 5 e 10 anni di follow-up (11, 12).

#### *Dieta Mediterranea*

Il Prof. Keys è considerato lo scopritore e padre della cosiddetta Dieta Mediterranea identificata nell'ambito del Seven

Countries Study con i suoi collaboratori internazionali, ma la storia di questo aspetto è peraltro assai complessa e per certi versi assai strana.

I dati sulle abitudini alimentari vennero raccolti con complessi questionari, la pesata degli alimenti consumati a casa dei soggetti studiati e la raccolta di porzioni di alimenti per l'esecuzione di determinazioni biochimiche dei nutrienti (13). Queste operazioni vennero eseguite in coincidenza con il primo esame sul campo in sottocampioni di ogni coorte.

L'evidenza fu basata sulle relazioni ecologiche (confrontando coorti e non individui) tra dieta ed eventi coronarici e mortalità totale, legate alla stima della dieta nei sottogruppi di soggetti in ogni coorte. Il principale nutriente implicato erano i grassi saturi presenti nelle componenti animali della dieta (6, 11), mentre le abitudini dietetiche protettive erano caratterizzate dall'elevato consumo di alimenti vegetali, olio di oliva, frutta e cereali in generale e scarso consumo di carne, latte e derivati, zucchero e dolci, con moderate quantità di pesce e di alcool. Le relazioni tra consumo di grassi saturi e mortalità coronarica in 10 anni a livello ecologico sono riportate nella *Figura 1* (14).

Tuttavia, la prima volta in cui – sia pure indirettamente – il Prof. Keys accennò al Mediterraneo avvenne nel titolo del suo secondo libro sulla dieta il cui sottotitolo era *The Mediterranean Way* (15), dove i dati erano largamente supportati dai risultati dei primi 5 anni di follow-up del Seven Countries pubblicati 5 anni prima, nel 1970 (6).

Inoltre, il Prof. Keys non usò mai il termine di Dieta Mediterranea che fu usato per la prima volta in un testo scientifico pubblicato nel 1984 (non legato al SCS) il cui primo autore era Anna Ferro-Luzzi dell'Istituto Nazionale della Nutrizione a

Roma (16), termine successivamente usato (e abusato) da molti altri.

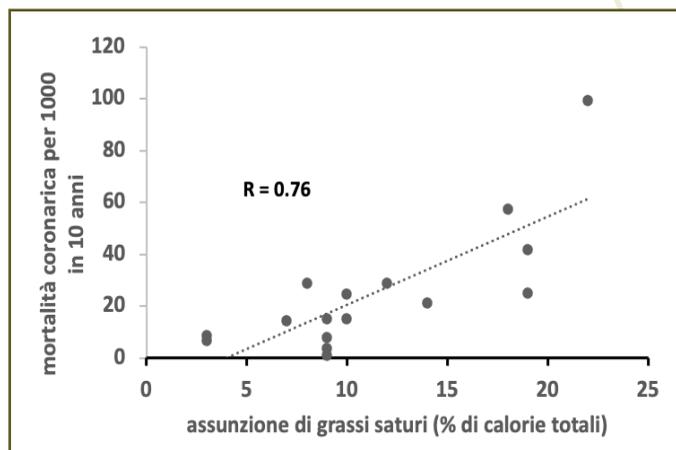
Ancora, il Prof. Keys non partecipò mai ad analisi in cui venivano usati i gruppi di alimenti invece che i nutrienti e non si occupò mai dei dati dietetici che in alcune coorti (in Finlandia, in Olanda ed in Italia) vennero raccolti in tutti i soggetti (e non solo su sotto-campioni) partecipanti ad almeno un esame sul campo.

### Risultati della seconda fase, previsti e non previsti

#### Quozienti di mortalità a 50 anni

Le analisi condotte con un follow-up di 50 anni hanno confermato le notevoli differenze di mortalità per cardiopatia coronarica a livello ecologico tra le 16 coorti. In questo caso i valori più elevati (quozienti di 10 o più per 1000 anni persona) erano situati nelle coorti del Nord Europa e negli USA, ma anche nelle coorti Serbe di Zrenjanin e Belgrado, mentre i valori più bassi erano situati in Sud Europa ed in Giappone (17).

Analoghe differenze furono trovate per la mortalità per tutte le cause anche se con qualche variazione. I valori più elevati (quozienti di 40 o più per 1000 anni persona) erano localizzati in Finlandia ed in due aree dell'ex Jugoslavia (Slavonia e Zrenjanin), con valori più bassi altrove e minimi a Creta (18).



**Figura 1** - Relazioni ecologiche (in 16 coorti) tra consumo di grassi saturi e mortalità per cardiopatia coronarica in 10 anni. Grafico costruito da dati tabulati da una voce bibliografica (14).

Per le aree dell'ex Jugoslavia il raggiungimento di tali livelli fu spiegato, in un'analisi dedicata alla cardiopatia coronarica, dagli straordinari incrementi nei livelli medi di pressione arteriosa e specie di colesterolemia durante il lungo follow-up (19).

#### Predizione degli eventi durante 50 anni

La predizione degli eventi coronarici fatali in 50 anni di follow-up, eseguita in raggruppamenti geografici delle varie coorti, ha dimostrato la persistenza del ruolo predittivo significativo dell'età, della pressione arteriosa, della colesterolemia e delle abitudini al fumo, con l'unica eccezione della colesterolemia nelle aree Giappone-

**Tabella 3** - Soluzioni del modello di Cox per la predizione della mortalità coronarica durante 45 anni in 13 coorti del Seven Countries Study. Denominatore =10.628, eventi coronarici =2.377. Stime aggiustate per coorte. Dati derivati da una voce bibliografica (21).

Fattori di rischio	Coefficiente	Differenza per hazard ratio	Hazard ratio	95% limiti fiduciali
Età, anni	0,0727	5	1,44	1,38 1,50
Fumatori versus non fumatori, %	0,3602	1	1,43	1,22 1,56
Pressione sistolica, mmHg	0,0141	20	1,43	1,27 1,38
Colesterolemia, mmol/L	0,1920	1	1,21	1,17 1,25

si, probabilmente dovuta ai piccoli numeri coinvolti (20). Un esempio di predizione multivariata della mortalità coronarica a 45 anni di follow-up in un gruppo di 13 coorti è riportato nella *Tabella 3* (21).

Anche la mortalità per tutte le cause, in questo caso con un follow-up di 40 anni, risultava predetta significativamente da una serie di fattori di rischio cardiovascolare in tre raggruppamenti di coorti Europee. In particolare, età, fumo, pressione arteriosa e frequenza cardiaca erano direttamente correlate con la mortalità, mentre il volume espiratorio forzato lo era in forma inversa (22).

#### *Somiglianza dei coefficienti multivariati dei fattori di rischio nella predizione della cardiopatia coronarica in aree diverse*

Dalla letteratura non sembra che il problema abbia mai sollevato un qualche interesse. La disponibilità di 16 coorti di uomini con lo stesso range di età, situate in 7 Paesi diversi e studiate con le stesse procedure ha invece fornito lo spunto per porsi il problema e tentare di dare una risposta. L'operazione fu sviluppata lungo una serie di 5 analisi che hanno considerato in dettaglio le relazioni della pressione arteriosa, della colesterolemia e della prevalenza di fumatori nella predizione di eventi coronarici fatali sulla base di follow-up variabili tra 25 e 50 anni (23). I risultati hanno indicato in forma pressoché sistematica la non diversità dei coefficienti in questione tra le varie aree. Poiché tali coefficienti esprimono la forza di associazione tra fattori ed eventi, risulta chiaro che dalla loro dimensione non dipendono eventuali differenze di incidenza-mortalità tra gruppi, cosa che dipende invece dai valori medi che caratterizzano le varie aree. Pertanto si può ipotizzare l'esistenza di una specie di legge matematico-biologica universale che regola l'influenza dei fattori sugli eventi.

#### *Lunga durata del potere predittivo dei fattori di rischio della cardiopatia coronarica*

Viene spesso affermato che un limite temporale ragionevole per la predizione di eventi cardiovascolari in funzione dei fattori di rischio non dovrebbe superare i 5-10 anni.

Nell'ambito del SCS c'è stata molta cura nel proseguire e aggiornare il follow-up più a lungo possibile, pur subendo talora critiche da parte di chi definiva il Gruppo SCS dedicato "all'epidemiologia circolare" (mentre in effetti è invece lineare). La stima della durata del potere predittivo è stata eseguita con modelli multivariati usando una tecnica basata sull'approccio "partitioned" che consiste nell'utilizzare i valori basali dei fattori di rischio e stimare le loro relazioni con eventi collocati in blocchi temporali successivi ed indipendenti (p.e. di 5 o 10 anni ciascuno). L'esito ha dimostrato che i maggiori fattori di rischio mantengono il loro potere predittivo significativo per molti decenni e fino a quasi 40 anni, pur con un certo declino di tale potere nel corso del tempo (24).

#### *Cardiopatie di etiologia incerta (HDUE)*

L'attenzione iniziale dello studio era focalizzata sulla cardiopatia coronarica ed ha fatto trascurare l'esistenza di altre cardiopatie meno conosciute e meno note. Analisi eseguite su gruppi e sottogruppi di cardiopatie diverse dalla cardiopatia coronarica tipica hanno permesso di identificare un vasto gruppo – probabilmente eterogeneo –, inizialmente denominato cardiopatia coronarica atipica e poi HDUE (acronimo per heart disease of uncertain etiology), che hanno caratteristiche comuni tra loro, ma opposte a quelle della cardiopatia coronarica. In particolare si tratta di casi classificati come cardiopatia coronarica cronica, di casi di cardiopatia ipertensi-

va (usualmente non convalidata dalla coesistenza di ipertrofia ventricolare sinistra) e di un ampio gruppo di cardiopatie “sintomatiche” (secondo la classificazione internazionale) costituite da insufficienza cardiaca ed aritmie varie in assenza delle sindromi tipiche della cardiopatia coronarica (25). Tali condizioni, che complessivamente coprono circa il 20% di tutta la mortalità cardiovascolare ed il 10% della mortalità totale, sono caratterizzate da relazioni inverse o nulle con la colesterolemia, nessuna protezione da parte della dieta Mediterranea e dell’attività fisica vigorosa, comparsa ad età superiore rispetto alla cardiopatia coronarica ed età alla morte decisamente superiore a quella della cardiopatia coronarica. Tutto questo ha fatto pensare a due patologie diverse (cardiopatia coronarica ed HDUE) e all’assenza di una reale componente aterosclerotica coronarica nelle forme HDUE.

### *Nuovi reperti sulla Dieta*

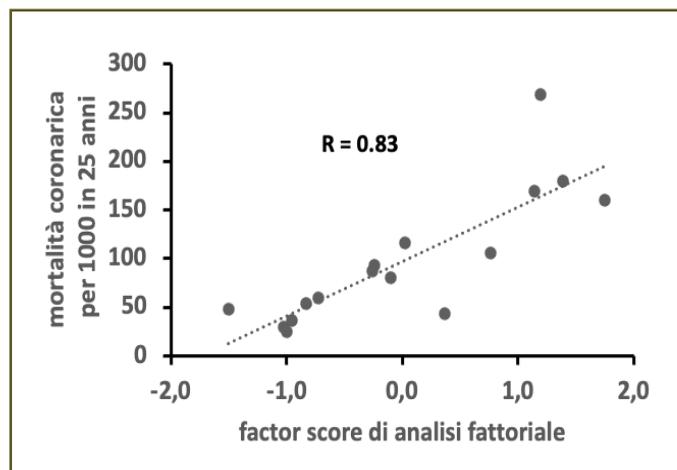
La disponibilità di dati biochimici dettagliati relativi allo studio della dieta eseguito all’esame iniziale in sotto-campioni delle varie coorti ha permesso di eseguire un’analisi ecologica tra una serie di sotto-tipi di acidi grassi e la mortalità per cardiopatia coronarica in 25 anni (26). Vari acidi grassi saturi naturali e gli acidi grassi trans erano fortemente associati, in forma diretta, con la mortalità coronarica.

Inoltre, per la prima volta è stato analizzato il ruolo di 18 gruppi di alimenti, sempre rilevati nell’esame iniziale su sotto-campioni delle varie coorti. In generale, alimenti di origine animale e lo zucchero erano direttamente correlati con la mortalità coronarica in 25 anni, mentre gli alimenti di origine vegetale (compreso l’olio di oliva) ed il pesce lo erano in forma inversa (27). Un’analisi fattoriale su tale materiale ha documentato una forte relazione

positiva tra *factor score* e mortalità coronarica in 25 anni (Figura 2).

Nel 2004, il Prof. Fidanza pubblicò un punteggio dietetico a-priori denominato Mediterranean Adequacy Index (MAI) che poneva al numeratore gli alimenti di origine vegetale ed il pesce ed al denominatore gli alimenti di origine animale, lo zucchero ed i dolci. Anche il MAI risultò fortemente correlato, ma in forma inversa su base ecologica, con la mortalità coronarica in 25 anni (28).

Utilizzando i dati di mortalità a 50 anni (estrapolati con stima matematica per alcune coorti che non avevano raggiunto i 50 anni di follow-up) venne eseguita una complessa analisi ecologica che aveva come end-point la mortalità per tutte le cause. Venne confermata una notevole varia-



**Figura 2** - Relazione ecologica in (16 coorti) tra factor score di un’analisi fattoriale di 5 gruppi di alimenti con la mortalità per cardiopatia coronarica in 25 anni. Grafico costruito sulla base di dati tabulati da una voce bibliografica (27).

L’analisi fattoriale è una complessa procedura matematico-statistica che consente di creare in forma a-posteriori (cioè indipendente dai pareri dei ricercatori) un punteggio derivato da più componenti basato sulle loro correlazioni. Tale punteggio derivato dai consumi di alimenti di origine vegetale, alimenti di origine animale, zucchero e dolci, pesce, alcol, e calcolato per le varie unità statistiche (factor score per 16 in questo caso) è stato utilizzato per studiarne l’associazione con la mortalità coronarica.

bilità di mortalità che era largamente spiegata dalla quantità di calorie ingerite, dai consumi di grassi saturi e grassi solidi in forma diretta e, in forma indiretta, dal rapporto grassi monoinsaturi/grassi saturi, dal rapporto grassi monoinsaturi/grassi poli-insaturi, dagli alimenti di origine vegetale, dagli olii, dal rapporto alimenti di origine vegetale/alimenti di origine animale. Tali relazioni venivano incrementate aggiustando la stima per lo stato socio-economico medio delle coorti (18).

Un'analisi parallela che utilizzava la mortalità per cardiopatia coronarica quale end-point giungeva a risultati simili ma assai più significativi (17). Inoltre, in entrambe le analisi, l'indice MAI era fortemente correlato, in forma inversa, con la mortalità per tutte le cause e per quella coronarica. Infine, nell'analisi relativa alla cardiopatia coronarica, venne dimostrata una relazione diretta e significativa con il consumo di carboidrati semplici ed inversa con il consumo di carboidrati complessi.

Alcuni dettagli sulle relazioni tra dieta e mortalità coronarica e per tutte le cause a 50 anni di follow-up sono sintetizzate nella *Tabella 4* (17, 18).

Dopo la pubblicazione delle relazioni ecologiche tra mortalità coronarica e per tutte le cause a 50 anni verso gruppi di alimenti ed uno score dietetico, fu fatto il

tentativo di studiare con la stessa metodologia le relazioni della dieta con la mortalità per accidenti cerebrovascolari ed HDUE. Preliminarmente, fu trovato che i gruppi di alimenti e lo score dietetico avevano relazioni ecologiche diverse (fino ad inverse) con la mortalità per HDUE e per accidenti cerebrovascolari rispetto a quanto osservato per la cardiopatia coronarica. Queste osservazioni divennero la fonte di un difficile dibattito interno tra i ricercatori responsabili del SCS il cui esito fu l'abbandono dell'analisi lasciando irrisolto il problema delle relazioni tra dieta e malattie cardiovascolari diverse dalla cardiopatia coronarica a livello ecologico.

Un'importante analisi ecologica venne pubblicata nel 2020 dopo aver calcolato i valori di un punteggio di infiammazione di vari nutrienti ed alimenti delle singole coorti utilizzando una procedura proposta da altri ricercatori (29). Tale Indice di Infiammazione dietetica derivava da una metanalisi di vari studi che avevano misurato il potere infiammatorio degli alimenti dosando vari marcatori di infiammazione.

Il punteggio di infiammazione tendeva a valori alti per consumi elevati di energia, grassi saturi e colesterolo ed a valori bassi per elevati consumi di vegetali, legumi, e olio (in gran parte gli stessi trovati in analisi dirette con gli eventi). Il punteggio, a

**Tabella 4 - Coefficienti di correlazione lineare tra gruppi di alimenti e score dietetico Mediterranean Adequacy Index (MAI) con la mortalità a 50 anni per cardiopatia coronarica e per tutte le cause. Dati derivati da voci bibliografiche (17, 18).**

Gruppi di alimenti	Coefficiente di correlazione lineare con mortalità coronarica	p	Coefficiente di correlazione lineare con mortalità totale*	p
Alimenti vegetali	-0,59	0,0162	-0,71	0,0020
Alimenti animali	0,68	0,0038	0,45	0,0802
Grassi solidi	0,84	<0,0001	0,72	0,0016
MAI	-0,91	<0,0001	-0,62	0,0104

\*Aggiustato per stato socio-economico.

livello ecologico, era direttamente correlato con la mortalità per tutte le cause a 50 anni, e per il complesso delle maggiori cardiopatie, mentre lo era in forma inversa con l'età alla morte (durata della sopravvivenza). I coefficienti di correlazione con gli eventi erano significativi ma di entità inferiore rispetto a quelli trovati usando nutrienti ed alimenti quali variabili indipendenti.

Si concluse che il meccanismo dell'infiammazione possa essere uno dei possibili meccanismi con cui la dieta influisce su salute e malattia.

#### *Variazione dei fattori di rischio e conseguenze sulla mortalità coronarica*

Le variazioni temporali dei principali fattori di rischio cardiovascolare si sono rivelate diverse a seconda delle varie coorti. Nell'ambito delle coorti Europee con 45-50 anni di follow-up si è verificata una fisiologica riduzione dei fumatori, mentre colesterolemia e pressione arteriosa tendevano a ridursi nel Nord-Europa, a crescere poco in Italia ed a crescere molto in Grecia e specie in Serbia. Un punteggio cumulativo che descriveva l'andamento di tali variazioni durante 35 anni risultò ben correlato con incrementi o decrementi della mortalità coronarica nelle 9 coorti studiate, come documentato dal parametro "shape" della distribuzione di Weibull, un parametro che descrive accelerazioni o decelerazioni nel rischio (19).

#### *I rischi in competizione*

L'identificazione e la caratterizzazione di HDUE, decisamente contrastanti rispetto alla cardiopatia coronarica, ha sollevato il problema sulla possibile esistenza di rischi in competizione tra cardiopatia coronarica ed altri eventi. Le prime analisi dedicate allo scopo con l'utilizzo della versione Fine-Gray del modello di Cox sono

state eseguite sui dati di mortalità delle aree Italiane con 50 anni di follow-up (30, 31). È risultata chiara la presenza di rischi in competizione tra la mortalità per cardiopatia coronarica ed il complesso delle altre cause di morte e tra mortalità coronarica e mortalità per HDUE ed accidenti cerebrovascolari in particolare. La colesterolemia risultò essere il fattore critico con coefficienti significativi e positivi per la cardiopatia coronarica e significativi e negativi per le altre condizioni.

Ulteriori analisi di questo tipo sono in programma per studiare il problema su 10 coorti estinte, considerando le relazioni tra cardiopatia coronarica ed altre patologie fatali.

#### *Età alla morte*

*Age at death* (età alla morte o sopravvivenza) è una vecchia misura demografica che recentemente è stata rivalutata per studiare l'evoluzione della longevità in popolazioni diverse. In termini tecnici non dovrebbe essere usata in presenza di popolazioni che non siano estinte o quasi estinte. Quando il follow-up è stato molto prolungato (almeno 50 anni e poi 60 anni), raggiungendo la quasi estinzione delle coorti in studio, il calcolo dell'età alla morte è servita a confrontare la sopravvivenza generale tra coorti diverse ed a stimare i determinanti dell'età alla morte stessa (32, 33). I fattori di rischio significativamente correlati con l'età alla morte sono di solito quasi tutti quelli disponibili e testati. Per esempio, in 9 coorti Europee seguite per 50 anni i fattori che favorivano un'elevata età alla morte (sopravvivenza) erano l'età all'inizio del follow-up, essere sposati, essere mai fumatori o ex fumatori, il volume espiratorio forzato, l'elevata classe socio-economica, la circonferenza del braccio, lo spessore della plica sottoscapolare, essere fisicamente attivi in forma vigorosa o

moderata; mentre i fattori che limitavano la sopravvivenza erano la mortalità precoce del padre, l'indice antropometrico lateralita/linearità, la pressione arteriosa, la colesterolemia, la presenza di cardiopatie, diabete o bronchite cronica, mentre l'indice di massa corporea aveva una relazione parabolica.

Sono state identificate differenze molto ampie tra coorti diverse. Per esempio nel follow-up a 60 anni di 10 coorti estinte la sopravvivenza minima era localizzata nella East Finland (71,8 anni) e la massima a Creta e a Corfu (80,5 e 77,0 anni rispettivamente) (33). Inoltre, combinazioni di vari livelli dei fattori di rischio sono risultate associate con differenza di età alla morte di 10 anni e più.

*Le differenze di mortalità tra Paesi per le maggiori cardiopatie non sono tanto grandi quanto supposto*

La disponibilità di dati di mortalità con 60 anni di follow-up per 10 delle 16 coorti del SCS ha permesso di dimostrare che le differenze di mortalità per il complesso delle maggiori malattie cardiovascolari tra varie aree è diversa da quanto spesso indicato o ritenuto.

In particolare, i quozienti di mortalità per cardiopatia coronarica sono effettivamente più elevati in Nord Europa e Nord America rispetto a Sud Europa e Giappone. Tuttavia il contrario si verifica per accidenti cerebrovascolari ed altre cardiopatie (HDUE) che sono più comuni in Sud Europa e Giappone rispetto alle altre aree. Pertanto, la somma di cardiopatia coronarica, più accidenti cerebrovascolari, più altre cardiopatie (HDUE) fornisce quozienti ancora più elevati in Nord America e Nord Europa rispetto alle altre aree, ma di minore rilevanza. Per esempio, in termini numerici, il rapporto di mortalità per cardiopatia coronarica tra Nord e Sud Europa

è oltre 2, mentre il rapporto per la somma di cardiopatia coronarica più accidenti cerebrovascolari più altre cardiopatie di origine incerta è di 1.11 (34). Tuttavia, per le caratteristiche della loro storia naturale, gli accidenti cerebrovascolari e le altre cardiopatie (HDUE) hanno un'età alla morte (sopravvivenza) superiore che configura comunque un vantaggio per le aree del Sud Europa e Giappone. Il problema è probabilmente spiegabile col fenomeno dei rischi in competizione (30, 31) alla cui base, dal punto di vista ecologico può esserci la grande differenza nei livelli medi di colesterolemia tra Nord e Sud Europa che è dell'ordine di circa 50 mg/dl. Analisi dedicate a questo aspetto sono tuttora in corso.

### I sotto-progetti FINE e HALE

Nel corso della seconda fase dello studio sono stati condotti due sotto-progetti promossi dal gruppo di ricerca Olandese e dedicati a questioni specifiche degli anziani, a partire dall'esame dell'anno 25 quando i sopravvissuti avevano un'età compresa tra 65 e 84 anni. FINE (Finland, Italy, Nederland, Elderly) e HALE (Healthy Aging Longitudinal Epidemiology – finanziato dalla Comunità Europea) comprendevano una serie di misure aggiuntive relative a questioni sociali, comportamentali, motorie e psicologiche e le analisi nel progetto HALE venivano eseguite in combinazione con altri progetti Europei sugli anziani.

### Pubblicazioni

Dall'inizio dello studio sono stati pubblicati:

- 7 monografie (4 nella prima fase, 3 nella seconda fase) (2, 6, 11, 13, 36-38).
- 104 articoli basati su più coorti.
- 17 articoli basati sulla coorte degli USA.

- 108 articoli basati sulle coorti della Finlandia.
- 136 articoli basati sulla coorte dell'Olanda.
- 91 articoli basati sulle coorti dell'Italia.
- 4 articoli basati sulle coorti della Croazia - ex Jugoslavia.
- 5 articoli basati sulle coorti della Serbia - ex Jugoslavia.
- 16 articoli basati sulle coorti della Grecia.
- 43 articoli basati sulle coorti del Giappone.
- 35 articoli basati sui dati dei sotto-progetti FINE e HALE.

Inoltre, da circa 10 anni, esiste un sito WEB dedicato al SCS e prodotto a cura dei ricercatori Olandesi del SCS, che descrive tutti i possibili dettagli dello studio (39). I numeri sopra riportati derivano da questo sito aggiornato al 2020.

## Conclusioni

I risultati più importanti sembrano avere una portata storica nelle conoscenze dell'epidemiologia cardiovascolare e della cardiopatia coronarica in particolare. Infatti si è trattato del primo studio al mondo che a livello internazionale ha dimostrato l'esistenza di grandi differenze di prevalenza, incidenza e mortalità coronarica tra popolazioni diverse, ed ha spiegato gran parte di queste differenze con la diversa distribuzione di alcuni fattori di rischio, specie la colesterolemia, il consumo di grassi saturi nella dieta e le caratteristiche generali della dieta. Inoltre, lo studio ha rappresentato la base scientifica per elaborare il concetto di Dieta Mediterranea che ha dimostrato in questo ed altri studi il suo potenziale per mantenere la salute, prevenire alcune condizioni morbose e prolungare la speranza di vita.

Un commento particolare merita la que-

stione del valore delle associazioni ecologiche così come indentificate nel SCS ed in particolare, quale esemplificazione, quella tra consumo di grassi saturi e mortalità coronarica. Quando il reperto fu documentato nelle fasi iniziali, almeno 6 dei 9 criteri di Bradford-Hill (40) sul valore causale delle associazioni statistiche erano stati rispettati (6, 8, 11). In particolare:

1. la forza dell'associazione era documentata dagli elevati livelli delle correlazioni trovate;
2. era rispettata la sequenza temporale tra possibile causa e possibile effetto;
3. l'associazione era specifica e rappresentava un effetto singolo;
4. il gradiente biologico era rispettato ispezionando i grafici delle associazioni (cioè dose-risposta);
5. la plausibilità biologica era sostenuta almeno dalle associazioni elevate tra grassi saturi e colesterolemia, tra colesterolemia e cardiopatia coronarica e dalla nozione che studi sperimentali avevano indicato il ruolo del consumo di grassi saturi sui livelli di colesterolemia;
6. la coerenza era rispettata per l'assenza di conflitti con altre situazioni.

Un criterio non previsto dall'elenco di Bradford Hill può essere costituito da risultati positivi di trial preventivi che modificando i fattori di rischio, tra cui la dieta, siano seguiti da una riduzione degli eventi. L'esemplificazione più chiara, a livello di popolazione generale, è costituita dai risultati del North Karelia Project in Finlandia (41). In questo caso campagne sistematiche contro il fumo e per il trattamento farmacologico dell'ipertensione arteriosa, più le variazioni della dieta (passaggio dal burro alle margarine molli, e dal latte intero al latte scremato e incremento degli alimenti di origine vegetale) con conseguente riduzione della colesterolemia, si

sono associate a drammatiche riduzioni dell'incidenza e mortalità per cardiopatia coronarica. L'effetto, poi trasferito all'intero Paese, ha trasformato la Finlandia dal Paese con la più elevata mortalità coronarica ad un Paese a basso rischio.

È importante sottolineare che il Seven Countries Study è stata l'impresa epidemiologica che ha posto le basi per altri due concetti fondamentali:

1. il ruolo della popolazione come unità statistica, permettendo di differenziare popolazioni "sane" da "popolazioni "malate", imponendo il concetto di epidemia di massa, determinato da anomalie di massa dei precursori della malattia in gran parte legati ad abitudini di vita modificabili;
2. le basi teoriche, sia pure sulla scorta di dati osservazionali, per la strategia di popolazione in campo preventivo in contrapposizione, o meglio in forma complementare, alla strategia individuale che tende a trattare solo i soggetti ad alto rischio.

Questo studio, naturalmente assieme ad altri (comprendenti anche coorti di sesso femminile, come tra i tanti quelli di Willet et al. (42)), ha finito per determinare, alla distanza, gran cambiamenti nelle abitudini di vita e specie nelle abitudini alimentari, di milioni di persone in tutto il mondo. E non appare irrilevante sottolineare come alla fine la Dieta Mediterranea, così illustrata e sostenuta dai risultati del SCS, sia oggi considerata patrimonio immateriale dell'umanità da parte dell'UNESCO (43).

Inoltre, il SCS è stato di ispirazione per il lancio di almeno altri due grandi studi di popolazione e cioè il già citato North Karelia Project in Finlandia (41) e il progetto MONICA dell'OMS (44).

Infine, il SCS può forse essere definito unico perché altri studi simili non sono stati eseguiti e per aver condotto in buona parte un follow-up che si è associato con l'estinzione delle coorti.

Al di là degli aspetti scientifici, chi ha vissuto per lungo tempo dentro lo studio ne ha tratto una grande esperienza di vita.

#### RIASSUNTO

Quello denominato Seven Countries Study of Cardiovascular Diseases è stato il primo realizzato sulle coronaropatie in ambito epidemiologico ed a livello internazionale. Ebbe il suo inizio nel 1958 e coinvolse 16 coorti di uomini di mezza età in 8 nazioni di 7 Paesi su 3 continenti ed il seguito, indagando sopravvivenza e mortalità, è durato per 60 anni in 10 delle 16 coorti, fino praticamente alla completa estinzione delle stesse.

Il nostro contributo è principalmente una descrizione della storia di questa lunga impresa con allusione ai risultati principali ma dettagliando soprattutto piccoli elementi e fatti storici che possono non essere noti ai più.

Lo studio ha documentato l'esistenza di importanti differenze nell'incidenza e mortalità per coronaropatie tra le diverse coorti arruolate e che tali differenze possono essere spiegate, a livello ecologico, sulla scorta dei livelli di colesterolemia ed in base alle abitudini dietetiche, specie l'assunzione di grassi saturi. Inoltre, a livello individuale, i livelli di colesterolo plasmatico, la pressione arteriosa e l'abitudine al fumo sono predittivi della coronaropatia. Infine, sulla scorta dei risultati dello Studio, la Dieta Mediterranea è stata identificata e ne è stato valorizzato l'impiego. Durante il follow-up a lunghissimo termine vennero identificati molti altri risultati che all'inizio non erano stati previsti né pensati.

**Parole chiave:** *Seven Countries Study, Dieta Mediterranea, coronaropatie, fattori di rischio, colesterolo, predizione.*

## Ringraziamenti

Gli autori ringraziano il Prof. Renato Fellin, Emerito dell'Università di Ferrara, per la revisione preliminare del testo e per gli utili consigli.

## Bibliografia

- Keys A. An international research program on epidemiology of heart disease, 1958. Documento da Archivio dell'Università del Minnesota. Cortesia del Prof. H Blackburn, Università del Minnesota.
- Keys A, Blackburn HW, van Buchem FSP, Buzina R, Djordjevic BS, Dontas AS, et al. Epidemiological studies related to coronary heart disease: characteristics of men aged 40-59 in seven countries. *Acta Med Scand.* 1967; (Suppl.) 460: 1-392.
- Rose G, Blackburn H. Cardiovascular survey methods. Geneva, World Health Organization. 1968; 1-188.
- Anderson JT, Keys A. Cholesterol in serum and lipoprotein fractions: its measurement and stability. *Clin Chem.* 1956; 2: 145-159.
- Blackburn H, Keys A, Simonson E, Rautaharju P, Punsar S. The electrocardiogram in population studies. A classification system, *Circulation.* 1960; 21: 116-01175.
- Keys A, (ed) Blackburn H, Menotti A, Buzina R, Mohacek I, Karvonen MJ, et al. Coronary heart disease in seven countries. *Circulation.* 1970; 41 (Suppl. 1): 1-211.
- WHO International Classification of Diseases. Eight Revision, Geneva: World Health Organization, 1965.
- WEB Site. Verbal Autopsy Standards. The 2012 WHO Verbal Autopsy Instruments. Release Candidate 1, WHO, Geneva, February 2015 (Visited).
- Keys A, Menotti A, Karvonen MJ, Aravanis C, Blackburn H, Buzina R, et al. The diet and 15-year death rate in the Seven Countries Study. *Am J Epidemiol.* 1986; 124: 903-15. REPRINTED as Historic Article *Am J Epidemiol.* 2017; 185: 1130-42.
- Pett KD, Kahn J, Willett WC, Katz DL. Ancel Keys and the Seven Countries Study. An evidence-based Response to Revisionist Histories. White Paper commissioned by the True Health Initiative, with emphasis on primary source material, historical records and review/critique of Seven Countries Study investigators. August 1<sup>st</sup> 2017. <http://w.w.truehealthinitiative.org>.
- Keys A (ed), Aravanis C, Blackburn H, Van Buchem FSP, Buzina R, Djordjevic BS, Dontas AS, et al. Seven Countries Study. A multivariate analysis of death and coronary heart disease. Harvard Univ Press, Cambridge Mass. 1980; 1-381.
- Keys A, Aravanis C, Blackburn H, Van Buchem FSP, Buzina R, Djordjevic BS, et al. Probability of middle-aged men developing coronary heart disease in five years. *Circulation.* 1972; 45: 815-28.
- Den Hartog C, Buzina K, Fidanza F, Keys A, Roine P. Dietary studies and epidemiology of heart diseases. The Hague, Voeding. 1968; 1-157.
- Keys A, Aravanis C, van Buchem FSP, Blackburn H, Buzina R, Djordjevic BS, et al. The diet and all-causes death rate in the Seven Countries Study. *Lancet.* 1981; 11: 58-61.
- Keys A, Keys M. How to eat well and stay well, The Mediterranean way. 1975 Garden City NY Doubleday & co. 1-488.
- Ferro-Luzzi A, Strazzullo P, Scaccini C, Siani A, Sette S, Mariani MA, et al. Changing the Mediterranean diet: effects on blood lipids. *Am J Clin Nutr.* 1984; 40: 1027-37.
- Kromhout D, Menotti A, Alberti-Fidanza A, Puddu PE, Hollman P, Kafatos A, et al. Comparative ecologic relationships of saturated fat, sucrose, food groups and a Mediterranean food pattern score to 50-year coronary heart disease mortality rates among 16 cohorts of the Seven Countries Study. *Eur J Clin Nutr.* 2018; 72: 1102-10.
- Menotti A, Kromhout D, Puddu PE, Alberti-Fidanza A, Hollman P, Kafatos A, et al. Baseline fatty acids, food groups, a diet score and 50-year all-cause mortality rates. An ecological analysis of the Seven Countries Study. *Ann Med.* 2017; 49: 718-27.
- Menotti A, Puddu PE, Kromhout D, Kafatos A, Tolonen H. Coronary heart disease mortality trends during 50 years as explained by risk factor changes. The European cohorts of the Seven Countries Study. *Eur J Prev Cardiol.* 2020; 27: 988-98.
- Menotti A, Puddu PE, Adachi H, Kafatos A, Tolonen H, Kromhout D. The strength of the multivariable associations of major risk factors predicting coronary heart disease mortality is homogeneous across different areas of the Seven Countries Study during 50-year follow-up. *Acta Cardiol.* 2018; 73: 148-54.
- Menotti A, Puddu PE, Tolonen H, Adachi H, Kafatos A, Kromhout D. Age at death of major cardiovascular diseases in 13 cohorts. The Seven Countries Study of cardiovascular diseases 45-year follow-up, *Acta Cardiol.* 2019; 74: 66-72.
- Puddu PE, Menotti A, Tolonen H, Nedeljkovic

- S, Kafatos AG. Determinants of 40-year all-cause mortality in the European cohorts of the Seven Countries Study. *Eur J Epidemiol.* 2011; 26: 595-608.
23. Menotti A, Puddu PE, Adachi H, Kafatos A, Tolonen H, Kromhout D. The strength of the multivariable associations of major risk factors predicting coronary heart disease mortality is homogeneous across different areas of the Seven Countries Study during 50-year follow-up. *Acta Cardiol.* 2017; 73: 148-54.
  24. Menotti A, Lanti M, Kromhout D, Kafatos A, Nedeljkovic S, Nissinen A. Short- and long-term association of a single serum cholesterol measurement in middle-aged men in prediction of fatal coronary and other cardiovascular events: a cross-cultural comparison through Europe. *Eur J Epidemiol.* 2005; 20: 597-604.
  25. Menotti A, Puddu PE, Lanti M, Kromhout D, Tolonen H, Parapid B, et al. Epidemiology of typical coronary heart disease versus heart disease of uncertain etiology (atypical) fatalities and their relationships with classic coronary risk factors. *Int J Cardiol.* 2013; 168: 3963-7.
  26. Kromhout D, Menotti A, Bloemberg B, Aravanis C, Blackburn H, Buzina R, et al. Dietary saturated and trans fatty acids and cholesterol and 25-year mortality from coronary heart disease: the Seven Countries Study. *Prev Med.* 1995; 24: 308-15.
  27. Menotti A, Kromhout D, Blackburn H, Fidanza F, Buzina R, Nissinen A. Food intake patterns and 25-year mortality from coronary heart disease: cross-cultural correlations in the Seven Countries Study. *Eur J Epidemiol.* 1999; 15: 507-15.
  28. Fidanza F, Alberti A, Lanti M, Menotti A. Mediterranean Adequacy Index: correlation with 25-year mortality from coronary heart disease in the Seven Countries Study. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2004; 14: 254-8.
  29. Puddu PE, Shivappa N, Menotti A, Hébert JR, Tolonen H, Kafatos A, Adachi H. Energy-adjusted Dietary Inflammatory Index scores predict long-term cardiovascular disease mortality and other causes of death in an ecological analysis of the Seven Countries Study. *Eur J Prev Cardiol.* 2021; 28: 1342-50.
  30. Puddu PE, Piras P, Menotti A. Competing risks and lifetime coronary heart disease incidence during 50 years of follow-up. *Int J Cardiol.* 2016; 219: 79-83.
  31. Puddu PE, Piras P, Menotti A. Lifetime competing risks between coronary heart disease mortality and other causes of death during 50 years of follow-up. *Int J Cardiol.* 2017; 228: 359-63.
  32. Menotti A, Puddu PE, Tolonen H, Kafatos A. Age at death in cohorts of middle-aged men followed-up until nearly extinction: the European areas of the Seven Countries Study. *Ann Med.* 2018; 50: 620-33.
  33. Puddu PE, Menotti A, Jacobs DR Jr, Adachi H, Kafatos A, Tolonen H. Cardiovascular risk factors predict age at death in 60-year follow-up of the Seven Countries Study. *Aging Clin Exp Res.* 2022. doi.org/10.1007/s40520-022-02288-5.
  34. Menotti A, Puddu PE, Tolonen H, Kafatos A. Cardiovascular diseases mortality in northern and southern European cohorts of the seven countries study: a final comparison after 60 years of follow-up. *J Cardiovasc Med (Hagerstown).* 2023; 24: 96-104.
  35. Menotti A, Puddu PE, Kafatos A, Tolonen H, Adachi H, Jacobs DR Jr. Cardiovascular mortality in 10 cohorts of middle-aged men followed-up 60 years until extinction: the Seven Countries Study. *J Cardiovasc Develop Dis.* 2023 (in revision).
  36. Lessons for Science from the Seven Countries Study. H Toshima, Y Koga, H Blackburn eds. Springer-Verlag-Tokyo, 1994: 1-243.
  37. The Seven Countries Study. A scientific adventure in cardiovascular disease epidemiology. D Kromhout, A Menotti, H Blackburn eds. 1994 Marjan Nijssen-Kramer Studio, RIVM, Bilthoven, The Netherlands. 1994: 1-219.
  38. Kromhout D, Menotti A, Blackburn H. Prevention of coronary heart disease. Diet, lifestyle and risk factors in the Seven Countries Study. eds. Kluwer Publ. Norwell Ma, USA and Dordrecht, NL. 2002; 1-267.
  39. WEB site The Seven Countries Study <https://sevencountriesstudy.com>
  40. Bradford-Hill A. Hill's Criteria for Causality. *Encyclopedia of Biostatistics*, Online ©2005 John Wiley & Sons, Ltd.
  41. North Karelia Project. 20 year results and experiences. Puska P, Tuomilehto J, Nissinen A, Vartiainen E. eds. National Public Health Institute KTL, Helsinki. 1995: 1-363.
  42. Willett WC, Sacks F, Trichopoulou A, Drescher G, Ferro-Luzzi A, Helsing E, Trichopoulos D. Mediterranean diet pyramid: a cultural model for healthy eating. *Am J Clin Nutr.* 1995; 61: 1402S-1406S.
  43. Saule R, La Torre G. The Mediterranean Diet, recognized by UNESCO as a cultural heritage of humanity. *It J Public Health.* 2010; 8: 414-5.
  44. MONICA. Monograph and multimedia sourcebook. Tunstall-Pedoe H Ed, for the WHO MONICA Project. World Health Organization, Geneva. 2003; 1-244.