

Titolo del progetto: Determinanti emodinamiche e non emodinamiche del danno d'organo associato all'ipertensione arteriosa: lo studio PAMELA 3.

Nominativo del ricercatore responsabile del progetto: Prof. Giuseppe Mancia

Lista dei co-autori e dei centri partecipanti: Dr. Bombelli Michele¹, Dr. Segà Roberto², Prof.ssa Giannattasio Cristina¹, Dr.ssa Dell'Oro Raffaella¹, Dr.ssa Quarti Trevano Fosca¹, Prof. Grassi Guido¹

¹Dipartimento di Clinica Medica, Università degli Studi di Milano-Bicocca, AO San Gerardo, Monza (MB)

²Dipartimento di Medicina Interna, Ospedale di Vimercate (MB)

Razionale e scopi della ricerca

Il PAMELA (Pressioni Arteriose Monitorate E Loro Associazioni) è uno studio epidemiologico in cui sono stati ottenuti i valori di pressione arteriosa mediante diverse metodologie di misurazione (tradizionale sfigmomanometrica, domiciliare, monitoraggio ambulatoriale delle 24 ore) su un ampio campione della popolazione generale di Monza selezionato nei primi anni '90. In ogni soggetto è stato inoltre effettuato uno studio del danno d'organo cardiaco mediante misurazione ecocardiografica della massa ventricolare sinistra. Le misurazioni sono state effettuate una prima volta nel 1990/91 e una seconda volta nel 2000/1. Sono stati ottenuti importanti risultati su diversi aspetti clinici ed epidemiologici riguardanti l'ipertensione arteriosa e il danno d'organo cardiovascolare. Successivamente sono stati sistematicamente raccolti gli eventi mortali totali e cardiovascolari mortali e non durante un follow up di dodici anni, fra i più lunghi quindi della storia della ricerca epidemiologica cardiovascolare. Il vantaggio rilevante di questi dati è quello di essere stati ottenuti su una popolazione generale casualmente selezionata, offrendo di conseguenza informazioni sulla distribuzione reale dei diversi parametri misurati. In particolare:

- sono stati definiti i valori di normalità delle misurazioni di pressione arteriosa cosiddette "complementari", ossia della auto misurazione domiciliare e del monitoraggio ambulatoriale della pressione arteriosa nelle 24 ore;
- è stata studiata la correlazione fra massa ventricolare sinistra ecocardiograficamente determinata e valori di pressione arteriosa ottenuti mediante i diversi metodi di misurazione, sia nella frazione di popolazione non trattata per ipertensione, sia nei soggetti trattati e, fra questi, quelli adeguatamente e non adeguatamente trattati;
- sono stati ottenuti importanti dati riguardanti il valore prognostico della variabilità della pressione arteriosa, attraverso lo studio della correlazione con il danno d'organo cardiaco, e con la mortalità totale e cardiovascolare;
- sono state caratterizzate e studiate nella loro prevalenza e significato prognostico le condizioni di incremento selettivo della pressione arteriosa clinica e delle pressioni arteriose complementari;
- è stata possibile una valutazione completa dello stato di controllo terapeutico dell'ipertensione arteriosa, giudicato nel suo complesso, specificatamente per le diverse metodiche di misurazione della pressione arteriosa, e separatamente per pressione arteriosa sistolica e diastolica.
- La disponibilità dei dati di glicemia, profilo lipidico e variabili antropometriche sia nel primo che nel secondo survey ha permesso di studiare la prevalenza, il danno d'organo e la prognosi dei soggetti affetti da sindrome metabolica, oltre che le variabili predittive dell'insorgenza di nuovi casi di diabete mellito, ipertensione arteriosa e danno d'organo cardiaco.

Nell'ultimo decennio, la ricerca ha fornito nuove possibilità di studio del danno d'organo subclinico cardiaco, vascolare e renale, correlato all'ipertensione arteriosa. Le ultime linee guida dell'ipertensione arteriosa, redatte congiuntamente dalla European Society of Hypertension e dalla European Society of Cardiology hanno rinforzato l'indicazione sullo studio multi distrettuale del danno d'organo al fine di definire il livello di rischio cardiovascolare globale del soggetto e, conseguentemente, stabilire l'atteggiamento terapeutico più adeguato.

A questo riguardo una nuova, ampia indagine epidemiologica fornirebbe importanti informazioni su diversi aspetti su cui non sono ad oggi disponibili dati affidabili. In particolare:

- prevalenze e legami con altri fattori delle diverse tipologie di danno subclinico;
- valutazione più accurata della funzionalità diastolica;
- studio di variabili elettrocardiografiche;
- distribuzione della pressione centrale e di altre variabili emodinamiche nella popolazione;
- studio della correlazione fra parametri emodinamici, alterazioni subcliniche degli organi bersaglio e stato infiammatorio

Crono programma di esecuzione del progetto

- Reclutamento: giugno 2011 – ottobre 2011
- Procedure di studio: novembre 2011- novembre 2013

Metodiche con preciso riferimento alle apparecchiature già disponibili;

Ciascun soggetto verrà sottoposto ad una serie di procedure di cui segue descrizione ordinata e dettagliata.

- a. Visita medica generale** (effettuata da medici dedicati): raccolta dell'anamnesi con particolare riferimento a:
 - anamnesi familiare relativa ai fattori di rischio cardiovascolare, diabete mellito, malattie cardiovascolari;
 - anamnesi personale relativa alla raccolta degli elementi anagrafici, alla presenza di fattori di rischio cardiovascolare, precedenti malattie cardiovascolari conclamate, diabete mellito, insufficienza renale, terapie farmacologiche in corso (molecole, dose, durata del trattamento dei farmaci antiipertensivi, dei farmaci ipolipemizzanti, antiinfiammatori non steroidei);
 - misura delle variabili antropometriche (peso, altezza, circonferenza vita) ed esame obiettivo completo.
- b. Elettrocardiogramma** a 12 derivazioni, per il calcolo del Cornell voltage-duration product e del Sokolow-Lyon voltage.
- c. Misurazione della pressione arteriosa clinica** (effettuata da medici dedicati, precedentemente sottoposti ad adeguato training): media di tre misurazioni effettuate mediante sfigmomanometro. Il livello di precisione del valore di pressione arteriosa sistolica e diastolica sarà di 2 mmHg. L'ultima cifra del valore di pressione arteriosa sistolica e diastolica potrà essere pertanto 0,2,4,6,8. Al fine dell'analisi sulla qualità dei dati, durante il corso dello studio, mensilmente, verrà effettuata l'analisi della digit preference.

- d. Prelievo di campione ematico da vena anticubitale e del campione di urine:** dosaggio di glicemia, creatininemia, sodio, potassio, colesterolemia totale, HDL-colesterolemia, trigliceridemia, proteina C reattiva, interleukina-6, monocyte/macrophage colony stimulating factor, microalbuminuria (determinazione quantitativa su campione urinario spot), noradrenalina e adrenalina plasmatica, renina, aldosterone, insulina plasmatica (o peptide C, nei soggetti in terapia insulinica), leptina.
- e. Monitoraggio ambulatorio della pressione arteriosa delle 24 ore:** apparecchio programmato per effettuare una misurazione automatica della pressione arteriosa mediante metodo oscillo metrico, ogni 20 minuti per 24 ore. Le misurazioni automatiche verranno testate mediante multiple contemporanee misurazioni cliniche effettuate collegando il medesimo manicotto dell'apparecchio ad uno sfigmomanometro mediante un tubo a T. Durante le 24 ore di monitoraggio, il soggetto compirà le normali attività quotidiane, con l'accorgimento di mantenere l'arto superiore fermo e rilasciato durante le misurazioni oscillometriche della pressione arteriosa. Il soggetto terrà un diario scritto delle attività quotidiane: verrà richiesta particolare precisione nel riportare l'ora in cui il soggetto si corica la sera e quella in cui si alza al mattino. Al termine delle 24 ore di monitoraggio, il soggetto ritornerà presso l'ambulatorio dedicato e, prima della rimozione dell'apparecchio, verrà effettuato un nuovo set di misurazioni di controllo mediante tubo a T. La memoria del misuratore automatico verrà letta mediante apposito software.
- f. Misurazione domiciliare della pressione arteriosa:** i soggetti verranno forniti anche di un apparecchio semiautomatico oscillometrico per la misurazione domiciliare della pressione arteriosa. Tali auto misurazioni verranno effettuate rispettivamente intorno alle ore 12, 18, 21 del giorno della visita medica e al mattino del giorno seguente intorno alle ore 7. In ognuna di queste occasioni i soggetti effettueranno 3 misurazioni, che rimarranno nella memoria dell'automisuratore. Il giorno successivo a quello della visita, i soggetti si ripresenteranno presso l'ambulatorio dedicato e si procederà alla lettura della memoria dell'automisuratore: i valori delle auto misurazioni di pressione arteriosa verranno riportate nel database.
- g. Valutazione strutturale e funzionale cardiaca.** Ogni soggetto verrà sottoposto ad ecocardiogramma. color Doppler: per questa ultima analisi verrà utilizzato un ecografo ad alta performance e una sonda piezoelettrica di 3.5 MHz. Verranno utilizzate la proiezione parasternale sinistra (M-MODE) asse lungo e corto e la proiezione apicale 4, 2, e 3 camere (B-MODE+ analisi color Doppler), secondo le linee-guida della Società Americana di Ecocardiografia. Nella proiezione 4 camere il flusso diastolico attraverso la valvola mitrale viene registrato tramite Doppler pulsato posizionato a lievello dell'apice dei foglietti mitralici. L'analisi verrà inoltre implementata con la valutazione tissue Doppler (TDI) pulsato dell'anulus mitralico laterale, sempre valutato nella proiezione apicale 4 camere. Le variabili ecocardiografiche che verranno considerate sono le seguenti.
- le dimensioni e l'area dell'atrio sinistro (LA)
 - il diametro telediastolico del ventricolo sinistro (LVEDD)
 - lo spessore del setto interventricolare e della parete posteriore del ventricolo sinistro (rispettivamente IVS e PWT)
 - il rapporto spessore /diametro(h/r)
 - la massa cardiaca indicizzata per superficie corporea (BSA) e per altezza ($h^{2.7}$)
 - la frazione d'eiezione del ventricolo sinistro (LVEF)
 - il picco precoce (E) e tardivo (A) della velocità di flusso transmitralico, l' E/A ratio (riempimento ventricolare precoce/tardivo), ed il tempo di decelerazione (DEc Time), cioè il tempo di equalizzazione delle pressioni tra atrio e ventricolo in

diastole indici indiretti di distensibilità del ventricolo sinistro e quindi della funzione diastolica del ventricolo sinistro, e parimenti le stesse variabili oltre agli indici di funzione sistolica applicate al tessuto miocardico mediante TDI (Em/Am, DEC Time e Sm) in modo da poter ottenere misure meno influenzate dal precarico e più indicative della effettiva pressione telediastolica del ventricolo sinistro

- h. Valutazione funzionale e strutturale arteriosa:** i soggetti verranno sottoposti a misurazione dell'intima-media thickness carotidea con metodica ultrasonografica. La misurazione verrà effettuata su una immagine M-Mode identificata mediante approccio B-Mode. Si otterrà inoltre la Pulse Wave velocity, ossia la misurazione diretta della velocità dell'onda di polso, valutata mediante registrazione simultanea, con due sonde doppler, delle onde sfigmiche sull'arteria carotide e femorale, dividendo la distanza nota fra i due siti di registrazione per il tempo di ritardo delle 2 onde di polso (**Complior® SP**). Si otterrà inoltre la misura della Pressione Centrale mediante metodo Sphygmocor.
- i. Microneurografia:** verrà effettuata la registrazione del traffico nervoso simpatico mediante microneurografia; la metodica implica l'inserimento di un microelettrodo a livello del nervo peroneale, posteriormente alla testa fibulare. Il segnale nervoso viene amplificato per 70.000, processato attraverso un filtro a banda (da 700 a 2000 Hertz) ed integrato con un sistema di analisi del traffico nervoso "ad hoc" (Bioengineering Department, University of Iowa, Iowa City). L'attività nervosa integrata viene monitorata attraverso un altoparlante, visualizzata su un oscilloscopio a memoria (modello 511A, Tektronix; Beaverton, Oregon, USA) e registrata su un poligrafo a inchiostro (Gould 3800, Gould Instruments) insieme alla pressione arteriosa e alla frequenza cardiaca. L'analisi del tracciato microneurografico prevede l'identificazione delle singole scariche simpatiche post-ganglionari, il calcolo della loro frequenza nell'unità di tempo (minuto) e del loro numero corretto per la frequenza cardiaca e la valutazione della loro ampiezza.
- j. Esame del fundus oculi:** si effettuerà su ogni soggetto l'esame del fundus oculi mediante retinografo non midriatico TopCon TRC NW200 con telecamera CCD integrata, che consente l'acquisizione di immagini del circolo microvascolare retinico di alta qualità (3.1 MegaPixel). L'esecuzione viene eseguita in assenza di misure invasive, quali l'induzione farmacologica di midriasi; mediante un software integrato (Topcon IMAGEnet TM 2000 Lite) le immagini acquisite vengono elaborate e valutate prendendo come parametri di analisi la misurazione del diametro delle arteriole e delle venule retiniche e il relativo calcolo del rapporto artero/venoso (AVR) retinico.

Le attrezzature necessarie per l'esecuzione del progetto sono disponibili presso la nostra struttura.

Selezione e caratteristiche della popolazione in esame

Il disegno dello studio verrà sottoposto all'approvazione del Comitato Etico dell'Ospedale San Gerardo. Un campione di popolazione generale residente a Monza dai 25 ai 74 anni, verrà casualmente selezionato dai registri comunali. Il campione sarà costituito da 3500 soggetti e sarà randomizzato per sesso e decenni di età, secondo i criteri MONICA-OMS. Ogni soggetto verrà contattato telefonicamente e convocato presso un ambulatorio dedicato dell'Ospedale San Gerardo di Monza per essere sottoposto ad una serie di procedure, dopo aver ottenuto dal medesimo un consenso informato scritto.

Metodi di valutazione statistica dei dati

I risultati dei dati verranno mostrati solamente in maniera aggregata.

Dopo una iniziale “pulizia” dei dati per l’eventuale presenza di outlier, verrà fatta una descrizione di tutte le informazioni raccolte attraverso medie, deviazioni ed errori standard, mediane, interquartili e prevalenze(per le variabili categoriche).

Le prevalenze ed i gradi delle varie tipologie di danno d’organo subclinico nella popolazione generale verranno valutati attraverso un’analisi trasversale. La loro relazione con i valori di pressione e le variabili metaboliche (glicemia, lipidi plasmatici, body mass index, circonferenza addominale) verrà valutata applicando modelli di regressione logistica.

La correlazione fra fenomeni emodinamici quali pressione arteriosa, alterazioni subcliniche degli organi bersaglio e stato infiammatorio, sarà valutata calcolando indici di correlazione lineare di Pearson (se le variabili saranno distribuite normalmente) oppure di Spearman (se non lo sono). Successivamente saranno costruiti modelli di regressione lineare per comprendere quali siano i fattori che più influenzano i fenomeni emodinamici. Saranno utilizzati diverse metodologie per la selezione delle variabili: backward, forward e stepwise.

Avendo a disposizione i dati raccolti dal primo survey PAMELA, sarà possibile fare un confronto della prevalenza e del livello dei fattori di rischio cardiovascolare, della sindrome metabolica e del loro controllo terapeutico a distanza di tempo. Per far ciò si ricorrerà al chi-quadro test e all’analisi della varianza (ANOVA) sia bivariata che multivariata.

Risultati attesi

- prevalenza e grado delle varie tipologie di danno d’organo subclinico nella popolazione generale: lo studio epidemiologico trasversale consentirebbe di valutare contemporaneamente i diversi tipi di danno d’organo, i valori di pressione misurati con metodica tradizionale e complementare, e variabili metaboliche quali glicemia, lipidi plasmatici, body mass index, circonferenza addominale;
- lo studio del danno d’organo cardiaco sarà integrato da una valutazione più accurata ed affidabile della funzione diastolica cardiaca, resa oggi possibile grazie ai frutti dell’evoluzione tecnologica in campo ecocardiografico. Questo offrirà la possibilità di valutare su un ampio campione di popolazione generale l’importanza prognostica di questo parametro in relazione alle diverse misurazioni di pressione arteriosa e agli altri fattori di rischio cardiovascolare:
- studio delle variabili elettrocardiografiche indicative di ipertrofia ventricolare sinistra (Cornell voltage-duration product e Sokolow-Lyon voltage criteria) su un ampio campione di popolazione generale: confronto con i dati ecocardiografici, analisi comparata del valore prognostico in relazione ai fattori di rischio cardiovascolare e ai dati antropometrici;
- distribuzione nella popolazione generale di variabili emodinamiche di più recente definizione, quali la pressione centrale;
- correlazione fra fenomeni emodinamici quali pressione arteriosa, alterazioni subcliniche degli organi bersaglio e stato infiammatorio, valutabile mediante, dosaggio della proteina C reattiva plasmatica ultrasensibile, interleukina-6, monocyte/macrophage colony stimulating factor: i dati di letteratura disponibili sull’argomento infatti, sebbene promettenti, non permettono ancora di trarre conclusioni definitive;
- la raccolta dei dati su due campioni di popolazione indipendenti a distanza di tempo, renderà possibile la valutazione dell’andamento, rispetto a quanto osservato durante il primo

Riferimenti bibliografici attestanti l'attività scientifica dei proponenti nell'area di ricerca proposta

1. Cesana G, De Vito G, Ferrario M, Libretti A, Mancia G, Mocarelli P, Sega R, Valagussa F, Zanchetti A. Ambulatory blood pressure normalcy: the PAMELA Study. *J Hypertens Suppl.* 1991 Dec;9(3):S17-23
2. Mancia G, Sega R, Bravi C, De Vito G, Valagussa F, Cesana G, Zanchetti A. Ambulatory blood pressure normality: results from the PAMELA study. *J Hypertens.* 1995 Dec;13(12 Pt 1):1377-90
3. Mancia G, Sega R, Milesi C, Cesana G, Zanchetti A. Blood-pressure control in the hypertensive population. *Lancet.* 1997 Feb 15;349(9050):454-7.
4. Grassi G, Esler M. How to assess sympathetic activity in humans. *J Hypertens* 1999;17:719-734.
5. Sega R, Trocino G, Lanzarotti A, Carugo S, Cesana G, Schiavina R, Valagussa F, Bombelli M, Giannattasio C, Zanchetti A, Mancia G. Alterations of cardiac structure in patients with isolated office, ambulatory, or home hypertension: Data from the general population (Pressione Arteriose Monitorate E Loro Associazioni [PAMELA] Study). *Circulation.* 2001 Sep 18;104(12):1385-92.
6. Mancia G, Carugo S, Grassi G, Lanzarotti A, Schiavina R, Cesana G, Sega R. Prevalence of left ventricular hypertrophy in hypertensive patients without and with blood pressure control: data from the PAMELA population. *Pressioni Arteriose Monitorate E Loro Associazioni. Hypertension.* 2002 Mar 1;39(3):744-9
7. Mancia G, Bombelli M, Lanzarotti A, Grassi G, Cesana G, Zanchetti A, Sega R. Systolic vs diastolic blood pressure control in the hypertensive patients of the PAMELA population. *Pressioni Arteriose Monitorate E Loro Associazioni. Arch Intern Med.* 2002 Mar 11;162(5):582-6.
8. Sega R, Corrao G, Bombelli M, Beltrame L, Facchetti R, Grassi G, Ferrario M, Mancia G. Blood pressure variability and organ damage in a general population: results from the PAMELA study (Pressioni Arteriose Monitorate E Loro Associazioni). *Hypertension.* 2002;39(2 Pt 2):710-4.
9. Sega R, Facchetti R, Bombelli M, Cesana G, Corrao G, Grassi G, Mancia G. Prognostic value of ambulatory and home blood pressures compared with office blood pressure in the general population: follow-up results from the Pressioni Arteriose Monitorate e Loro Associazioni (PAMELA) study. *Circulation.* 2005 Apr 12;111(14):1777-83
10. Mancia G, Facchetti R, Bombelli M, Grassi G, Sega R. Long-term risk of mortality associated with selective and combined elevation in office, home, and ambulatory blood pressure. *Hypertension.* 2006 May;47(5):846-53.
11. Mancia G, Bombelli M, Facchetti R, Madotto F, Corrao G, Trevano FQ, Grassi G, Sega R. Long-term prognostic value of blood pressure variability in the general population: results of the Pressioni Arteriose Monitorate e Loro Associazioni Study. *Hypertension.* 2007;49(6):1265-70.
12. Mancia G, Bombelli M, Corrao G, Facchetti R, Madotto F, Giannattasio C, Trevano FQ, Grassi G, Zanchetti A, Sega R. Metabolic syndrome in the Pressioni Arteriose Monitorate E Loro Associazioni (PAMELA) study: daily life blood pressure, cardiac damage, and prognosis. *Hypertension.* 2007 Jan;49(1):40-7.
13. Mancia G, De Backer G, Dominiczak A, Cifkova R, Fagard R, Germano G, Grassi G, Heagerty AM, Kjeldsen SE, Laurent S, Narkiewicz K, Ruilope L, Rynkiewicz A,

14. Mancia G, Bombelli M, Facchetti R, Madotto F, Corrao G, Trevano FQ, Giannattasio C, Grassi G, Sega R. Long-term risk of diabetes, hypertension and left ventricular hypertrophy associated with the metabolic syndrome in a general population. *J Hypertens.* 2008 Aug;26(8):1602-11.
15. Bombelli M, Facchetti R, Carugo S, Madotto F, Arenare F, Quarti-Trevano F, Capra A, Giannattasio C, Dell'Oro R, Grassi G, Sega R, Mancia G. Left ventricular hypertrophy increases cardiovascular risk independently of in-office and out-of-office blood pressure values. *J Hypertens.* 2009;27(12):2458-64.
16. Mancia G, Bombelli M, Facchetti R, Casati A, Ronchi I, Quarti-Trevano F, Arenare F, Grassi G, Sega R. Impact of different definitions of the metabolic syndrome on the prevalence of organ damage, cardiometabolic risk and cardiovascular events. *J Hypertens.* 2010;28(5):999-1006.