

1222 • 2022  
**800**  
ANNI



UNIVERSITÀ  
DEGLI STUDI  
DI PADOVA



**DIPARTIMENTO DI INGEGNERIA DELL'INFORMAZIONE**

**CORSO DI LAUREA IN INGEGNERIA BIOMEDICA**

## **PULSE WAVE VELOCITY**

**Relatrice:** Prof.ssa Francesca Maria Susin

**Laureanda:** Beatrice Rossi

**ANNO ACCADEMICO 2021 - 2022**

**23 settembre 2022**



# Indice

|          |   |           |
|----------|---|-----------|
| <b>1</b> | <b>ANALISI DELL'ONDA</b>  | <b>2</b>  |
| 1.1      | Cos'è un'onda . . . . .   | 2         |
| 1.2      | Separazione dell'onda . . . . .                                     | 3         |
| 1.3      | Impedenza caratteristica . . . . .                                  | 4         |
| 1.4      | PWV regionale e locale a confronto . . . . .                        | 5         |
| <b>2</b> | <b>METODI DI MISURAZIONE</b>  | <b>7</b>  |
| 2.1      | Dispositivi attuali . . . . .                                       | 7         |
| 2.1.1    | PulsePen <sup>®</sup> . . . . .                                     | 8         |
| 2.1.2    | Complior <sup>®</sup> . . . . .                                     | 10        |
| 2.1.3    | SphygmoCor <sup>®</sup> . . . . .                                   | 11        |
| 2.1.4    | Arteriograph <sup>®</sup> . . . . .                                 | 12        |
| 2.1.5    | Fotopletismografia . . . . .  | 13        |
| 2.1.6    | Ultrasuoni . . . . .  | 13        |
| 2.1.7    | Risonanza magnetica . . . . .                                       | 14        |
| 2.1.8    | Misurazione invasiva . . . . .                                      | 15        |
| 2.2      | Confronto degli attuali metodi . . . . .                            | 15        |
| 2.3      | Dispositivi non commerciali: prototipi di nuove soluzioni . . . . . | 16        |
| <b>3</b> | <b>VALORI DELLA PWV IN DIVERSI STUDI</b>                            | <b>18</b> |
| 3.1      | Studio 1 . . . . .  | 18        |
| 3.1.1    | Popolazione dello studio . . . . .                                  | 18        |
| 3.1.2    | Considerazioni metodologiche per misurare la PWV . . . . .          | 19        |
| 3.1.3    | Risultati . . . . .   | 20        |
| 3.1.4    | Discussione . . . . .   | 20        |
| 3.2      | Studio 2 . . . . .  | 21        |
| 3.2.1    | Popolazione dello studio . . . . .                                  | 21        |

|       |  |    |
|-------|--|----|
| 3.2.2 | Considerazioni metodologiche per misurare la PWV . . . . . | 22 |
| 3.2.3 | Risultati . . . . .  | 23 |
| 3.2.4 | Discussione . . . . .                                      | 26 |
| 3.3   | Studio 3 . . . . .   | 26 |
| 3.3.1 | Popolazione dello studio . . . . .                         | 26 |
| 3.3.2 | Considerazioni metodologiche per misurare la PWV . . . . . | 27 |
| 3.3.3 | Risultati . . . . .  | 28 |
| 3.3.4 | Discussione . . . . .                                      | 29 |
| 3.4   | Studio 4 . . . . .   | 30 |
| 3.4.1 | Popolazione dello studio . . . . .                         | 30 |
| 3.4.2 | Considerazioni metodologiche per misurare la PWV . . . . . | 31 |
| 3.4.3 | Risultati . . . . .  | 31 |
| 3.4.4 | Discussione . . . . .                                      | 31 |
| 3.5   | Considerazioni dei valori della PWV . . . . .              | 32 |

|                    |  |           |
|--------------------|--|-----------|
| <b>Conclusione</b> |  | <b>35</b> |
|--------------------|--|-----------|

# Introduzione

La grande incidenza delle malattie cardiovascolari nel mondo spinge alla ricerca di nuove soluzioni che permettano di individuare precocemente i processi patologici e forniscano una diagnosi più precisa basata su valutazioni multiparametriche. Uno di questi parametri è la *pulse wave velocity* o velocità di propagazione dell'onda di impulso che viene definita come la velocità alla quale l'onda di pressione, generata dalla contrazione sistolica del cuore, si propaga lungo l'albero delle arterie.

La *pulse wave velocity* (PWV) è considerata uno dei più importanti parametri clinici per valutare i rischi cardiovascolari, l'adattamento vascolare e l'efficacia terapeutica. In particolare, è diventata un metodo consolidato per caratterizzare la rigidità aortica, un indice che permette di prevedere la mortalità cardiovascolare e che è inoltre di grande rilevanza nella costruzione di modelli matematici o fisici dei flussi cardiovascolari.

La grande sfida è quella di esplorare nuove soluzioni strumentali e metodologiche che permettano un minor numero di approssimazioni per una valutazione accurata e tecniche relativamente poco costose che possano essere utilizzate nella routine clinica.

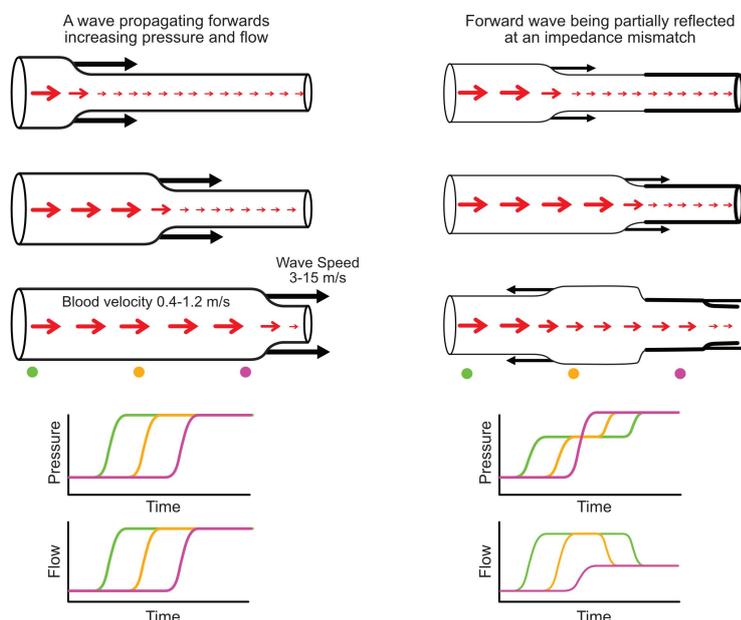
In questo lavoro di tesi si approfondiscono lo studio dell'onda di pressione e i suoi metodi di misura. Vengono inoltre analizzati alcuni studi su popolazioni di diverse età, aree geografiche e sesso riguardanti i valori quantitativi e i rispettivi significati fisiologici della *pulse wave velocity* in soggetti sani, cercando di trarre delle conclusioni sui fattori che la influenzano maggiormente.

# Capitolo 1

## ANALISI DELL'ONDA

### 1.1 Cos'è un'onda

Per capire cosa è la propagazione dell'onda di impulso, conosciuta come *pulse wave velocity* (PWV), si devono introdurre i concetti di onda e di analisi dell'onda. Al termine "onda" vengono attribuiti diversi significati a seconda dell'ambito in cui viene usato, in questa tesi si definisce l'onda come un cambiamento di pressione e di flusso che si propaga in un vaso sanguigno (Figura 1.1).



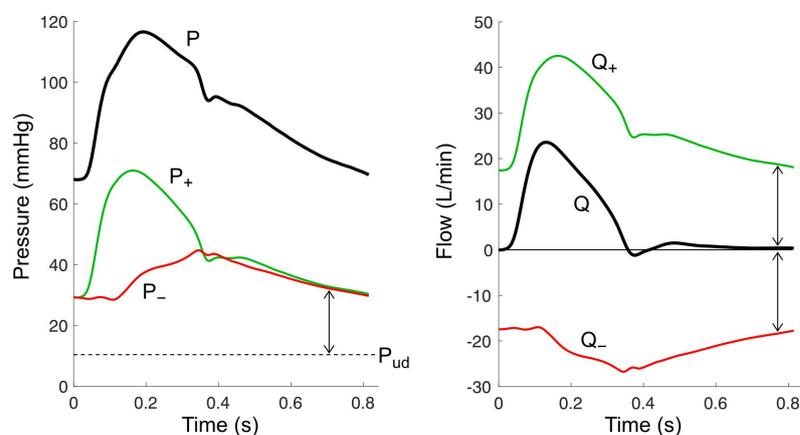
**Figura 1.1:** (Sinistra) Illustrazione di un'onda che si propaga in avanti aumentando pressione e flusso. (Destra) Un'onda che propagandosi in avanti incontra una impedenza disallineata (la rigidità del vaso, indicata da muri più spessi, aumenta) ed è parzialmente trasmessa e parzialmente riflessa. I grafici nel tempo indicano l'evoluzione della pressione e del flusso lungo il vaso.

Il termine "forma d'onda", invece, si riferisce al segnale di impulso della pressione o del flusso che può essere misurato in una determinata regione vascolare. Le onde viaggiano ad una velocità, conosciuta come velocità dell'onda (PWV locale) o velocità dell'onda di impulso (PWV regionale). Tutte le onde hanno un effetto sia sulla pressione che sul flusso e questi effetti sono intrinsecamente legati dall'impedenza caratteristica dei vasi. Quando un'onda incontra un cambiamento nell'impedenza caratteristica, una parte dell'energia dell'onda viene riflessa e una parte viene trasmessa (Figura 1.1). Le forme dell'onda di pressione e di flusso sono il risultato di una serie di onde che attraversano la posizione della misurazione: ciascuna onda causa un incremento o un decremento.

L'obiettivo dell'analisi dell'onda è quello di estrarre informazioni riguardanti le onde che producono le forme dell'onda d'impulso e di fare deduzioni sulle loro origini. La maggior parte delle analisi dell'onda richiedono una forma dell'onda di pressione e una forma dell'onda di flusso di velocità [6].

## 1.2 Separazione dell'onda

La separazione dell'onda è considerato il metodo migliore per identificare i fenomeni legati all'onda. Le informazioni sulle onde dirette (incidenti) e inverse (riflesse) vengono quantificate in modo specifico attraverso la decomposizione della forma d'onda della pressione ( $P$ ) in due segnali separati usando i principi della fluidodinamica in tubi conformi. La componente incidente della pressione ( $P_+$ ) rappresenta il contributo delle onde incidenti alla pressione misurata, mentre la componente riflessa ( $P_-$ ) rappresenta il contributo dell'onda riflessa (Figura 1.2).



**Figura 1.2:** Analisi della separazione dell'onda per i segnali di pressione ( $P$ ) e di flusso ( $Q$ ). Sono riportate le componenti incidenti ( $P_+$  e  $Q_+$ ) e le componenti riflesse ( $P_-$  e  $Q_-$ ).

La separazione dell'onda di pressione avviene quando  $P$  è in relazione con la forma dell'onda del flusso  $Q$  attraverso l'equazione

$$P_{\pm} = \frac{1}{2}(P - P_{ud} \pm Z_c Q) \quad (1.1)$$

dove  $P_{ud}$  è la pressione indisturbata che dà un significato fisico al valore assoluto di  $P_{\pm}$ , mentre,  $Z_c$  è l'impedenza caratteristica. Quest'ultima ha un importante significato fisico spiegato dall'equazione della fluidodinamica chiamata "colpo di ariete". Questa equazione afferma che le variazioni di pressione e flusso derivate dalle onde incidenti  $dP_+$  e  $dQ_+$  sono legate tra loro tramite

$$dP_+ = Z_c dQ_+ \quad (1.2)$$

Questo significa che un'onda di pressione (una variazione di pressione che si propaga) è sempre accompagnata da una corrispondente onda di flusso (una variazione di flusso che si propaga) e viceversa. Nei grandi vasi l'impedenza caratteristica è determinata dalla velocità dell'onda ( $c$ , ossia, la PWV locale) e dall'area trasversale ( $A$ ) attraverso

$$Z_c = \frac{\rho c}{A} \quad (1.3)$$

dove  $\rho$  è la densità del sangue. Considerando l'equazione (1.1), si vede che una crescita della rigidità dei vasi (che aumenta la velocità dell'onda  $c$ ) o una decrescita nell'area dei vasi causa una maggiore variazione della pressione per una data variazione del flusso. Questo ha delle implicazioni cruciali per spiegare i cambiamenti nella pressione sanguigna con l'avanzamento dell'età. Per esempio, ad una triplicazione della velocità dell'onda nell'aorta ascendente ci si aspetta corrisponda una triplicazione nella componente inversa della pressione (da 30 a 90 mmHg), a parità di tutti gli altri fattori. Tuttavia, è importante notare che anche l'area trasversale dell'aorta aumenta con l'età, compensando l'effetto dell'aumento della velocità dell'onda.

### 1.3 Impedenza caratteristica

Come discusso in precedenza, l'impedenza caratteristica ( $Z_c$ ) rappresenta la relazione intrinseca tra la pressione e il flusso quando le onde stanno viaggiando solo in una direzione. Essa può essere stimata dalla misurazione dei segnali di pressione e di flusso, che sono ottenuti nel dominio delle frequenze attraverso la trasformata di Fourier, in un certo intervallo. È stato proposto un metodo più semplice nel dominio del tempo nel quale si calcola

il rapporto dei cambiamenti nella pressione e nel flusso durante l'inizio della sistole.

L'impedenza caratteristica in un segmento vascolare con pareti non soggette a perdite è determinata da tre fattori, l'inerzia del sangue ( $L$ ), la capacitanza del vaso ( $C$ ), e la resistenza al flusso causata dalla viscosità del sangue ( $R$ ), come segue

$$Z_c = \sqrt{\frac{R + j\omega L}{j\omega C}} \quad (1.4)$$

dove  $\omega$  è una frequenza angolare e  $j = \sqrt{-1}$ .

In fisiologia la *compliance* o capacitanza ( $C$ ), è la grandezza che esprime la capacità che hanno i vasi sanguigni di dilatarsi elasticamente sotto l'effetto di una pressione sanguigna crescente, per poi restringersi restituendo il volume di sangue accumulato sotto l'effetto di una pressione sanguigna decrescente. La capacitanza  $C$  di un vaso sanguigno è direttamente proporzionale all'elasticità delle sue pareti e costituisce una misura dei rapporti tra le variazioni di pressione e le variazioni di volume. Viene definita come

$$C = \frac{\Delta V}{\Delta P} \quad (1.5)$$

dove  $\Delta V$  è la variazione di volume e  $\Delta P$  è la variazione di pressione, ovvero la differenza tra la pressione intravasale e la pressione esterna al vaso. La capacitanza può anche essere definita come il prodotto della distensibilità di un vaso per il volume [2].

Nelle grandi arterie come l'aorta, la resistenza al flusso è trascurabile, pertanto l'equazione (1.4) si riduce a  $Z_c = \sqrt{L/C}$ . Notando che  $L = \rho l/A$  e  $C = Al/(\rho c^2)$ , dove  $\rho$  è la densità del sangue,  $l$  la lunghezza,  $A$  l'area della sezione trasversale, e  $c$  è la PWV locale, si può dimostrare che  $Z_c = \rho c/A$  come menzionato prima. Tuttavia, dal momento che la resistenza è inversamente proporzionale alla potenza quarta del raggio (legge di Poiseuille), la resistenza viscosa diventa il principale determinante dell'impedenza caratteristica nei vasi piccoli [6].

## 1.4 PWV regionale e locale a confronto

Come  $Z_c$ , la velocità dell'onda ( $c$ ) può essere considerata una proprietà intrinseca di un vaso, essendo dipendente dalla rigidità del vaso (quindi dal modulo elastico), dallo spessore della parete e dal diametro. La velocità dell'onda differisce leggermente dalla PWV regionale; quest'ultima è calcolata come il tempo che serve ad un'onda per propagarsi da una posizione ad un'altra, mentre la velocità dell'onda è una quantità locale che è definita ad ogni punto lungo il vaso (simile al diametro) [6].

La valutazione della PWV regionale solitamente è fatta in due diverse arterie. I siti caratteristici per la valutazione del polso sono quelli dove la pulsazione si può percepire facilmente, come nell'arteria radiale, nella arteria comune carotidea, nelle arterie brachiale o femorale. La PWV regionale fornisce solo la PWV media su un lungo segmento composto di arterie con diverse caratteristiche meccaniche, di conseguenza le misurazioni regionali della PWV possono mascherare le variazioni iniziali delle proprietà arteriose e non è possibile valutare le proprietà meccaniche in un piccolo segmento, inoltre, non dà informazioni sulla posizione delle anomalie arteriose. Nello stadio iniziale della rigidità arteriosa, macchie fibrose di piccolo diametro sono sparse sulla parete arteriosa e, nello stadio finale, la parete arteriosa diventa omogeneamente dura. La misurazione della PWV locale è fatta su un piccolo segmento di un'arteria e rappresenta uno strumento di diagnosi precoce in grado di identificare la rigidità locale della parete arteriosa.

D'altra parte, la stima regionale è basata su una misurazione esterna della distanza tra il sito dove la forma dell'onda di impulso è acquisita. Questa approssimazione grossolana della distanza tra i punti di test costituisce un importante svantaggio nella valutazione della PWV. La PWV carotidea-femorale è accettata come misura 'gold-standard' della rigidità arteriosa e viene usata per prevedere gli eventi cardiovascolari, valutare ipertesi, diabetici e pazienti con insufficienza renale cronica e malattie coronariche. La misurazione della PWV locale è clinicamente importante nelle analisi locali delle proprietà delle pareti arteriose per fornire informazioni diagnostiche delle proprietà meccaniche per la parete arteriosa locale. Le caratteristiche meccaniche dei vasi arteriosi variano lungo l'albero arterioso e sono colpite in modo diverso dall'invecchiamento e dalle malattie. Nell'applicazione clinica, nello stadio iniziale della malattia arteriosclerotica, le proprietà elastiche saranno influenzate localmente e quindi le proprietà funzionali delle grandi arterie locali possono essere analizzate con una valutazione locale della PWV [7].

## Capitolo 2

# METODI DI MISURAZIONE

Uno dei principali obiettivi del percorso di rilevazione delle malattie cardiovascolari è identificare le persone che hanno delle patologie arteriose asintomatiche al fine di rallentare la progressione della malattia aterosclerotica e in particolare ridurre il rischio di manifestazioni cliniche. La rivoluzione nella tecnologia ha una chiara influenza nel processo decisionale della diagnostica di pazienti cardiovascolari, e può essere applicata nella rilevazione precoce della malattia in pazienti asintomatici. La misura non-invasiva della rigidità arteriosa di solito è eseguita tramite un set di dispositivi che misura la PWV e permette di eseguire l'analisi della forma dell'onda della pressione di impulso. La tecnica più comune per valutare la PWV non invasivamente è basata sull'acquisizione delle onde di impulso generate dall'eiezione sistolica in due posizioni distinte, separate da una distanza  $d$ , mediante la determinazione del ritardo nel tempo dovuto alla propagazione dell'onda di impulso lungo l'albero arterioso. Il parametro della PWV è poi facilmente calcolato come il rapporto lineare tra la distanza  $d$  e il ritardo temporale.

Alcune delle apparecchiature sono in grado di determinare la PWV regionale, altre, invece, determinano quella locale [7].

### 2.1 Dispositivi attuali

Per valutare non invasivamente il sistema cardiovascolare sono state sviluppate diverse tecniche. Alcuni dispositivi sono abitualmente utilizzati nei programmi di processo diagnostico nell'ambiente clinico, ma sono stati raramente utilizzati negli studi su popolazioni, come ad esempio le immagini di risonanza magnetica (MRI) o i sensori ultrasonori. Tuttavia, questi sono solitamente visti come delle tecniche costose e difficili da utilizza-

re. Più recentemente, sono diventate disponibili nuove tecniche per rilevare diversi nuovi parametri emodinamici. I sensori di pressione, come il tonometro, sono considerati il metodo "gold standard" per la misurazione della PWV, ma sono richieste alcune competenze operative per usare questo strumento che possono influenzare la misurazione. Pertanto, la tecnica della tonometria per la determinazione della PWV è solitamente utilizzata nella ricerca e in ambito clinico da operatori competenti, ma non è diffusa in ambito clinico o ambulatoriale (Tabella 2.1).

| Metodi       | Misurazioni   | Dispositivi             |
|--------------|---------------|-------------------------|
| Non invasivi | PWV regionale | PulsePen <sup>®</sup>   |
|              |               | Complior <sup>®</sup>   |
|              |               | Sphygmocor <sup>®</sup> |
|              |               | Ultrasuoni              |
|              | PWV locale    | Risonanza magnetica     |
|              |               | Ultrasuoni              |
| Invasivi     | PWV locale    | Angiografia             |

**Tabella 2.1:** Dispositivi e metodi utilizzati per determinare la rigidità arteriosa attraverso la misurazione della PWV

### 2.1.1 PulsePen<sup>®</sup>

La PulsePen<sup>®</sup> (DiaTecne s.r.l., Milano, Italia) è composta da un tonometro integrato con un elettrocardiogramma (ECG). La PulsePen è costituita da una sonda di pressione delle dimensioni e forma di una penna a sfera con incorporato uno strumento di acquisizione che serve alla rilevazione non invasiva della forma dell'onda di pressione ottenuta grazie alla tonometria di appianazione (Figura 2.1).

La sonda deve essere tenuta perpendicolare alla pelle nel sito dove l'arteria raggiunge la sua pulsazione massima. La pressione registrata è esattamente la stessa della pressione al centro dell'arteria. Questo tipo di esame, che è estremamente facile da eseguire, permette l'utilizzo di una tecnica non invasiva per valutare i siti in cui le arterie, essendo più superficiali, possono essere premute contro le strutture sottostanti. La sonda è collegata ad un ECG molto piccolo in dimensioni e peso che rileva il segnale elettrocardiografico (Figura 2.1) [7].



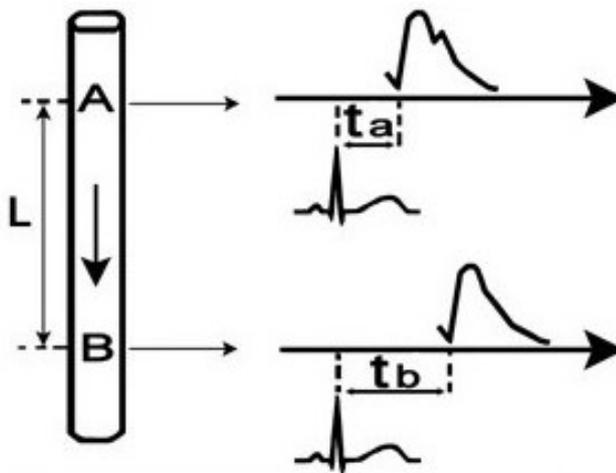
**Figura 2.1:** Rappresentazione del dispositivo PulsePen<sup>®</sup>. Da sinistra: due sonde tonometriche; memoria USB contenente PC Software, tutorial e manuale; unità ECG con il collegamento di soli due elettrodi.

La PulsePen determina la PWV regionale in due intervalli in una successione estremamente veloce. L'operatore inizia posizionando il rilevatore sull'arteria comune carotidea, il sito centrale della rilevazione, mentre simultaneamente si esegue l'ECG e la tonometria. La stessa procedura deve essere poi seguita per l'arteria femorale [12].

La PWV regionale aortica si definisce come

$$PWV = \frac{L}{t_b - t_a} \quad (2.1)$$

Dove  $L$  è la distanza tra i due siti di rilevamento,  $t_b$  è il ritardo di salita dell'onda di impulso femorale all'onda R del complesso qRs dell'elettrocardiografia e  $t_a$  è il ritardo di salita dell'onda di impulso carotideo all'onda R del complesso qRs dell'elettrocardiografia (Figura 2.2).



**Figura 2.2:** La PWV regionale è misurata dal dispositivo PulsePen<sup>®</sup> come rapporto tra la distanza ( $L$ ) tra i due siti di rilevazione e il tempo di transito dell'impulso ( $t_b - t_a$ ).

Il ritardo dell'onda di impulso può essere determinato calcolando il tempo trascorso dal

picco dell'onda R e il "piede" del profilo dell'impulso di pressione. La distanza ( $L$ ) si valuta come la distanza tra l'incavo soprasternale e l'arteria femorale meno la distanza tra l'arteria carotidea e l'incavo soprasternale [11].

La PulsePen presenta diversi vantaggi tra cui l'elevata maneggevolezza data dalle dimensioni ridotte e la possibilità di essere utilizzata da un'unica persona grazie al suo design ergonomico [12].

### 2.1.2 Complior<sup>®</sup>

Il Complior<sup>®</sup> (Colson, Francia) usa due appositi meccanotrasduttori piezoelettrici di pressione applicati direttamente sulla pelle per la misurazione simultanea degli impulsi di pressione (Figura 2.3). Quando l'operatore osserva una forma dell'onda di impulso di una qualità sufficiente, la digitalizzazione viene sospesa e si inizia il calcolo dell'intervallo di tempo tra le due forme dell'onda di pressione.



**Figura 2.3:** Rappresentazione del dispositivo Complior<sup>®</sup>. (*Sinistra*) dispositivo in commercio fino al 2011. (*Destra*) ultima versione del dispositivo.

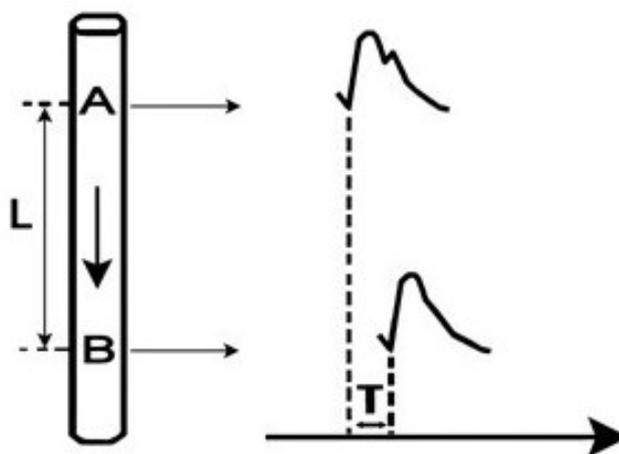
Il primo operatore inizia posizionando una sonda sull'arteria carotidea, il sito centrale di rilevamento, mentre un secondo operatore posiziona una seconda sonda sul sito dell'arteria femorale [8].

La PWV regionale viene calcolata come

$$PWV = \frac{L}{T} \quad (2.2)$$

Dove  $L$  è la distanza tra i due siti di rilevazione e  $T$  è il ritardo temporale tra i piedi delle due forme delle onde ad ogni sito (Figura 2.4).

La distanza percorsa viene misurata direttamente sulla superficie del corpo. È possibile determinare la PWV regionale su diversi percorsi come quello carotideo-femorale,

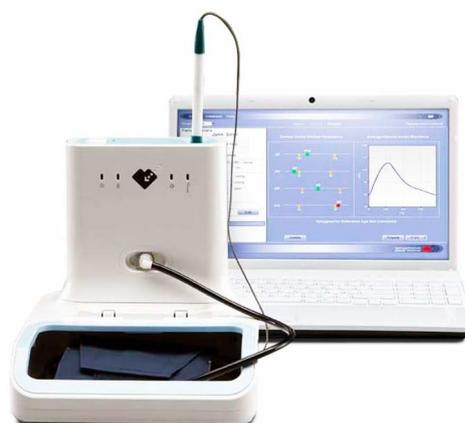


**Figura 2.4:** La PWV regionale è misurata dal dispositivo Complior<sup>®</sup> come il rapporto tra la distanza ( $L$ ) e il ritardo nel tempo ( $T$ ).

carotideo-brachiale o femorale-dorsale del piede, senza la necessità delle registrazioni elettrocardiografiche [11].

### 2.1.3 SphygmoCor<sup>®</sup>

Lo SphygmoCor<sup>®</sup> (AtCor Medical, Sydney, Australia) usa un trasduttore tonometrico per analizzare l'onda di impulso delle arterie carotidea e femorale, stimando il ritardo rispetto all'onda dell'ECG e calcolando la PWV regionale (Figura 2.5).



**Figura 2.5:** Rappresentazione del dispositivo SphygmoCor<sup>®</sup>

SphygmoCor<sup>®</sup> offre la possibilità di misurare la PWV carotidea-femorale in due passaggi. Nel primo passo si rileva simultaneamente l'onda di impulso carotidea e l'ECG, mentre il secondo passaggio consiste nella rilevazione dell'onda di impulso femorale e l'ECG. La rilevazione dell'ECG durante le misurazione è necessaria per la sincronizzazione dei tempi dell'onda di impulso carotidea e femorale.

La PWV è calcolata in base alle misurazioni del tempo di transito dell'impulso e della distanza percorsa dall'onda di impulso. Il metodo più frequentemente utilizzato per determinare la distanza percorsa prevede la misurazione di due distanze sulla superficie corporea, ovvero dall'incavo sternale al sito femorale e dall'incavo sternale al sito carotideo [8].

### 2.1.4 Arteriograph<sup>®</sup>

L'Arteriograph<sup>®</sup> (TensioMed, Budapest, Ungheria) utilizza un bracciale simile allo sfigmomanometro e può essere applicata in un modo completamente automatico (Figura 2.6).



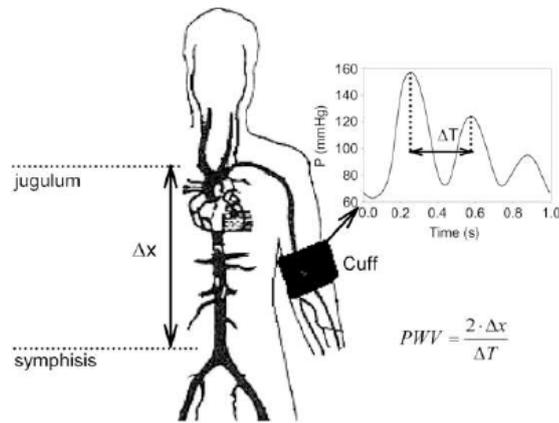
**Figura 2.6:** Rappresentazione del dispositivo Arteriograph<sup>®</sup>

Il principio fondamentale della stima della PWV dietro al dispositivo Arteriograph<sup>®</sup> è quello di registrare curve di pressione oscillometriche basate sulla pletismografia (test che misura la quantità totale di aria contenuta nel torace) e registrare le variazioni di pressione pulsatile in un'arteria della parte superiore del braccio. La PWV è calcolata come

$$PWV = \frac{2\Delta x}{\Delta T} \quad (2.3)$$

dove  $\Delta x$  è la distanza dall'arco aortico alla biforcazione iliaca, che può essere approssimata dalla misurazione della distanza dal giugulo sternale alla sinfisi;  $\Delta T$ , invece, è la differenza temporale tra il primo picco e il secondo picco del grafico delle fluttuazioni di pressione rispetto al tempo.

In particolare il primo picco è quello sistolico, corrispondente all'eiezione del sangue dal ventricolo sinistro nell'aorta, mentre il secondo picco si suppone abbia origine dalla riflessione della prima onda di pressione nella parte inferiore del corpo (Figura 2.7) [8].



**Figura 2.7:** Illustrazione del principio di funzionamento dell'Arteriograph®

### 2.1.5 Fotopletismografia

La fotopletismografia è un altro metodo non invasivo per il rilevamento delle onde di pressione propagate nel corpo umano. Il fotopletismografo ha due sensori infrarossi che emettono basse intensità.

I vantaggi di questo metodo consistono nella riduzione degli artefatti da movimento e nella capacità di esplorare in profondità le arterie. Quest'ultima caratteristica è molto interessante per la valutazione della PWV nelle popolazioni sovrappeso. Tuttavia questa tecnica può essere applicata solo a siti periferici del corpo. L'onda di pressione del sangue subisce variazioni nell'albero arterioso, per cui le onde ottenute con questo metodo non forniscono informazioni attendibili di un sistema centrale. Le tecniche di immagine sono una soluzione commerciale per acquisire i segnali quando il deposito di grasso impedisce l'acquisizione degli altri metodi [7].

### 2.1.6 Ultrasuoni

Per stimare la rigidità arteriosa vengono utilizzate diverse tecniche ultrasonografiche basate sulla valutazione della velocità Doppler. La PWV aortica può essere misurata con l'ecografia Doppler, utilizzando diversi approcci. Con la "tecnica simultanea", sono posizionati due microfoni, rispettivamente, nel lato sinistro del collo (per individuare l'arteria succlavia sinistra) e sull'addome (per individuare l'aorta addominale al di sopra della biforcazione) e registrare simultaneamente l'onda di pressione. Una tecnica più recente per misurare la PWV aortica è basata sulla stima del ritardo tra le forme d'onda Doppler registrate nell'arco aortico distale e nell'arteria iliaca esterna, con una sonda a ultrasuoni che campiona in sequenza i due siti. Poiché la registrazione non è simultanea, è necessa-

ria una acquisizione ECG. La PWV carotidea-femorale, invece, può essere misurata con una sonda ecografica Doppler pulsata a livello dell'arteria carotidea e, successivamente, a livello dell'arteria femorale (è necessaria un'acquisizione ECG per sincronizzare le onde di impulso). La lunghezza del percorso è misurata superficialmente come distanza tra le due sonde. La PWV aortica misurata con l'ecografia Doppler è considerata un fattore predittivo di mortalità nel diabete e nella popolazione affetta da malattia renale terminale [5].

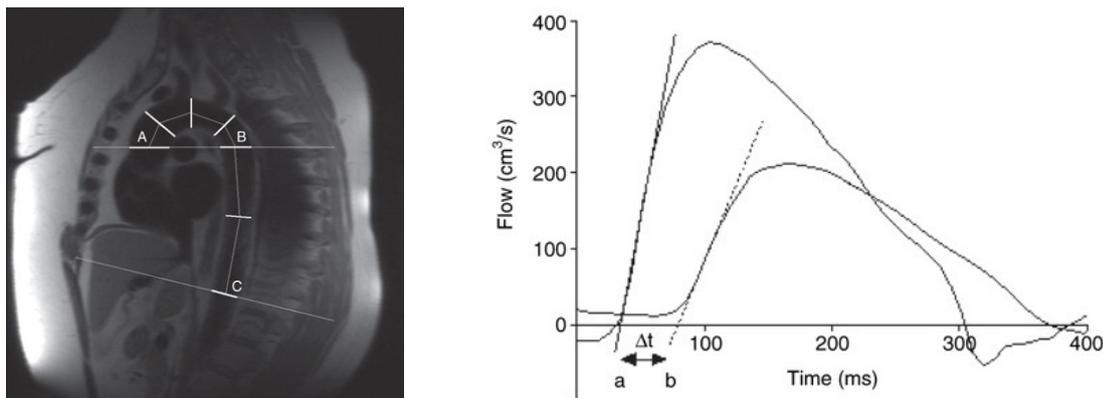
### 2.1.7 Risonanza magnetica

La risonanza magnetica è una tecnica non invasiva che permette di ottenere un'immagine diretta dell'aorta toracica e addominale senza dover ricorrere ad assunzioni geometriche. L'accuratezza e la misura diretta della lunghezza del percorso delle onde di impulso nell'aorta distale e prossimale, anche in presenza di un vaso tortuoso, sono un vantaggio importante rispetto alle altre tecniche [5].

La PWV aortica locale è calcolata come

$$PWV = \frac{\Delta x}{\Delta t} \quad (2.4)$$

dove  $\Delta x$  è la lunghezza del percorso aortico tra i due livelli di imaging e  $\Delta t$  è il ritardo temporale tra l'arrivo del piede dell'onda di impulso a questi livelli (Figura 2.8).



**Figura 2.8:** (Sinistra) Calcolo di  $\Delta x$  per calcolare la PWV locale. (Destra) Calcolo di  $\Delta t$  per calcolare la PWV locale.

Dalla Figura 2.8 si vede che la distanza  $\Delta x$  è la somma della distanza tra il punto A (aorta ascendente), il punto B (aorta discendente prossimale) e il punto C (aorta addominale); mentre  $\Delta t$  rappresenta il tempo (in ms) tra le intercette (da b ad a) delle tangenti alla

curva al punto semi-massimo del flusso nell'aorta ascendente (*a*) e nell'aorta addominale (*b*) [10].

### 2.1.8 Misurazione invasiva

Il miglior metodo per misurare la PWV locale nei vasi aortici è la cateterizzazione da un'arteria periferica durante una procedura angiografica. Tuttavia, la natura invasiva ha diversi svantaggi e l'utilizzo di questo metodo non può essere giustificato se non durante un esame diagnostico cardiaco o una procedura vascolare [7].

## 2.2 Confronto degli attuali metodi

I metodi attualmente utilizzati per la misurazione della PWV possono essere divisi in tre principali gruppi: metodi di imaging, non-imaging e ottici. Ciascun metodo ha vantaggi e svantaggi (riassunti nella Tabella 2.2), per questa ragione la stima della PWV rimane una sfida per gli ingegneri e i clinici.

| Metodi      | Vantaggi   | Svantaggi  |
|-------------|--|--|
| Imaging     | Misurazione diretta della lunghezza del percorso   | Tecnologia costosa   |
| Non-imaging | Più conveniente (meno costoso) e tecnologia validata   | Errore associato alla stima della distanza, distorsione nella acquisizione del segnale, problemi nel rilevare il segnale nelle persone obese, permette solo un rilevamento regionale |
| Ottici      | Tecnologia a basso costo, misurazioni senza contatto, capacità di acquisire il segnale nelle persone obese | Fase iniziale di validazione   |

**Tabella 2.2:** Vantaggi e svantaggi dei metodi di misurazione della PWV

I metodi di imaging, come ad esempio gli ultrasuoni e la risonanza magnetica, approfittano della misura diretta della lunghezza del percorso delle onde di impulso e evitano l'errore indotto da una stima grossolana della distanza tra le forme dell'onda della pressione d'impulso. Tuttavia questi metodi sono molto costosi e non sono utilizzati nella routine clinica. I metodi di non-imaging basati sui meccanotrasduttori di pressione sono più convenienti, studiati a fondo e validati in diverse popolazioni; ciò nonostante, questi metodi presentano problemi nell'acquisizione dei segnali nelle persone obese e errori associati alla stima della distanza tra le forme dell'onda, originati dalla pressione esercitata nel sito di misurazione. I metodi ottici nascono per superare le limitazioni dei precedenti metodi: presentano infatti un basso costo, permettono una misurazione senza contatto e la luce infrarossa permette il rilevamento nelle persone obese grazie alla sua capacità di penetrazione. Queste nuove soluzioni sono nella fase iniziale della validazione, ciò nonostante mostrano risultati molto incoraggianti [7].

## 2.3 Dispositivi non commerciali: prototipi di nuove soluzioni

L'applicazione clinica della nuova strumentazione non invasiva può superare le limitazioni pratiche e tecniche inerenti ai metodi attualmente utilizzati come la tonometria di applicazione arteriosa, gli ultrasuoni e la pletismografia che richiedono il contatto fisico della sonda con il paziente e di comprimere l'arteria durante un intero ciclo cardiaco.

Per permettere una previsione indipendente per gli eventi cardiovascolari, un metodo ideale per la valutazione della rigidità arteriosa deve essere in grado di misurare i parametri direttamente, senza nessun modello intermedio, fornendo informazioni accurate riguardo lo stato di salute del paziente. Inoltre, un metodo ideale deve essere semplice da usare nella pratica clinica di tutti i giorni, deve permettere una misurazione non invasiva e senza contatto e deve essere validato in molti studi con diversi gruppi di pazienti. I metodi ottici rappresentano la soluzione non invasiva a questo problema, infatti permettono di misurare la PWV senza contatto, preservando il segnale senza creare interferenze e valutando la PWV locale che è il più precoce biomarcatore per la valutazione della rigidità arteriosa. La combinazione di questo metodo con le tecniche del *machine learning* crea un sistema senza operatore, diminuendo il fattore di errore nel rilevamento del segnale e semplificando l'acquisizione.

Con lo sviluppo di queste nuove tecniche che sono diventate più semplici, meno costose e più efficienti, ci si aspetta che la misurazione della rigidità arteriosa diventi una parte importante della routine clinica [7].

## Capitolo 3

# VALORI DELLA PWV IN DIVERSI STUDI

In questo capitolo si vogliono trovare dei valori di riferimento della PWV e capire da quali fattori essa dipende. In particolare, vengono analizzati quattro diversi studi fatti su popolazioni di diversa nazionalità e di diverse fasce di età.

### 3.1 Studio 1

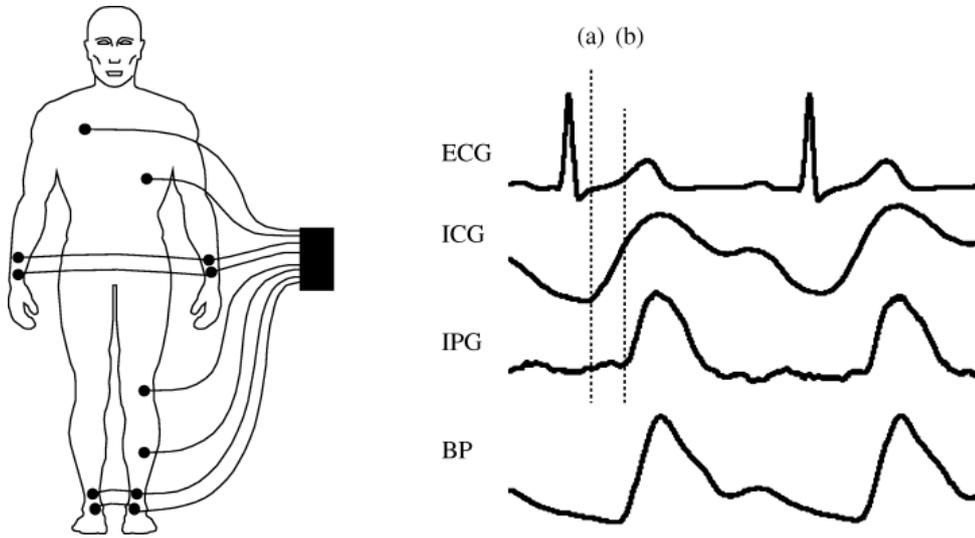
Lo scopo di questo studio è quello di stabilire un range di valori di riferimento della PWV in una popolazione adulta finlandese di età compresa tra i 26 e 75 anni attraverso la misurazione della PWV con il cardiogramma ad impedenza per tutto il corpo. I valori di riferimento per la PWV vengono presentati per un campione sano di soggetti con un basso carico di fattori di rischio cardiovascolari ( $n = 283$ ), e anche per un campione di soggetti senza alcun criterio di esclusione ( $n = 799$ ) [3].

#### 3.1.1 Popolazione dello studio

Per generare un campione sano di soggetti con basso carico di fattori di rischio cardiovascolare, sono stati esclusi i partecipanti per le ragioni seguenti: peso corporeo anormale; trattamento farmacologico per l'ipertensione; fumatori; diabete diagnosticato; malattie coronariche. L'esclusione viene basata su anamnesi medica, esame fisico, test biochimici e ECG. Dopo l'esclusione, rimangono 283 individui con dati della PWV disponibili che vengono utilizzati per stabilire un range di valori di riferimento della  $PWV_{ICG}$  per una popolazione apparentemente sana.

### 3.1.2 Considerazioni metodologiche per misurare la PWV

La PWV è calcolata usando il cardiogramma ad impedenza per tutto il corpo. Le misure dell'impedenza cardiografica su tutto il corpo sono eseguite da un dispositivo di monitoraggio commerciale CircMon™ (JR Medical Ltd, Estonia), che include due canali per la cardiografia ad impedenza e uno per l'ECG. Un paio di elettrodi di corrente collegati elettricamente sono posizionati sulle estremità in prossimità dei polsi e delle caviglie. Alcuni elettrodi di tensione vengono posizionati in prossimità degli elettrodi di corrente, con una distanza di 5 cm tra i centri. L'elettrodo attivo è posizionato nella parte laterale del ginocchio e l'elettrodo di riferimento sul polpaccio, la distanza tra gli elettrodi è di circa 20 cm (Figura 3.1).



**Figura 3.1:** (*Sinistra*) Illustrazione della posizione degli elettrodi nella cardiografia ad impedenza per tutto il corpo. (*Destra*) Registrazione sincrona dell'elettrocardiogramma (ECG), cardiogramma ad impedenze per tutto il corpo (ICG), pletismografia ad impedenza dell'arteria poplitea (IPG) e pressione sanguigna (BP).

La PWV viene calcolata come

$$PWV_{ICG} = \frac{D}{t_{(b)} - t_{(a)}} \quad (3.1)$$

dove  $D$  è la distanza tra l'arco aortico e l'arteria poplitea, mentre al denominatore si ha il tempo di transito dell'impulso dall'arco aortico all'arteria poplitea, che corrisponde alla differenza di tempo tra i piedi dell'onda del cardiogramma a impedenza per tutto il corpo (ICG) e dell'onda del pletismogramma a impedenza dell'arteria poplitea (IPG), rappresentate nella figura (3.1) con (a) e (b), rispettivamente.

### 3.1.3 Risultati

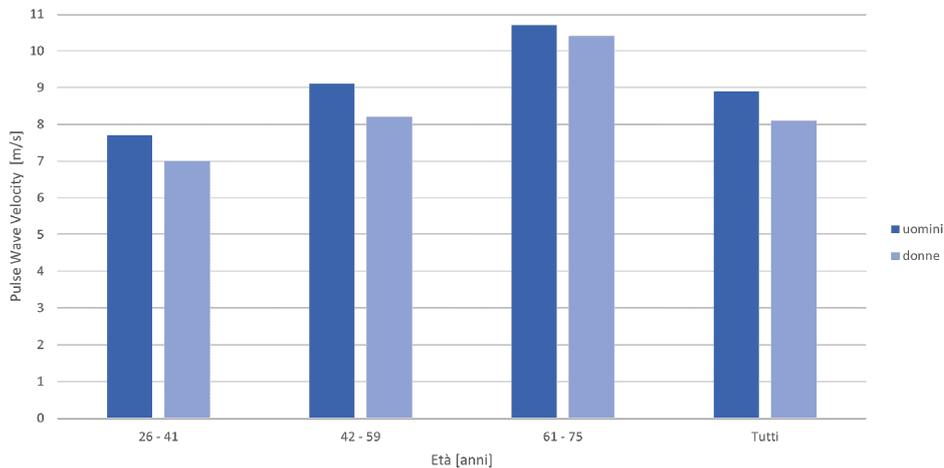
La popolazione sana comprende 130 maschi e 153 femmine (di età tra i 26 e i 75 anni). I risultati sono riportati nella tabella (3.1).

| Età [anni] | Maschi [PWV $\pm$ SD] | <i>n</i> | Femmine [PWV $\pm$ SD] | <i>n</i> |
|------------|-----------------------|----------|------------------------|----------|
| 26-41      | 7,7 $\pm$ 1,2         | 47       | 7,0 $\pm$ 1,0          | 71       |
| 42-59      | 9,1 $\pm$ 1,5         | 57       | 8,2 $\pm$ 1,6          | 59       |
| 60-75      | 10,7 $\pm$ 1,7        | 26       | 10,4 $\pm$ 2,9         | 23       |
| Tutti      | 8,9 $\pm$ 1,8         | 130      | 8,1 $\pm$ 2,0          | 153      |

**Tabella 3.1:** Valori della PWV in m/s secondo sesso e età in un campione di persone sane

Nella popolazione sana, i giovani uomini (di età  $<$  42 anni) hanno valori della PWV minori rispetto a quelli dei maschi più vecchi (di età  $\geq$  60 anni). Anche le giovani donne (di età  $<$  42 anni) presentano dei valori di PWV minori rispetto a quelli delle donne più vecchie (di età  $\geq$  60 anni).

Nella popolazione sana, la  $PWV_{ICG}$  è più alta negli uomini giovani e di mezza età rispetto alle donne delle stesse fasce di età (Figura 3.2).



**Figura 3.2:** Valori della PWV suddivisi per età e sesso

### 3.1.4 Discussione

La PWV misurata con la cardiografia a impedenza per tutto il corpo con canali di rilevamento della tensione complementari forniscono un mezzo pratico, affidabile, altamente

ripetibile e riproducibile per la determinazione della PWV. Il range di valori di riferimento può anche facilitare l'uso clinico della PWV nella valutazione del rischio di malattie cardiovascolari. Poiché la PWV è stata mostrata essere un indicatore della rigidità arteriosa e un marcatore di danno vascolare, e poiché è stata collegata a eventi vascolari, la sua misurazione potrebbe rivelarsi utile per prevedere il rischio e selezionare i soggetti per un intervento preventivo precoce.

Con l'aumentare dell'età, la parete aortica diventa più spessa e avviene una considerevole riduzione della distensibilità aortica. Queste alterazioni sono dovute alla diminuzione della quantità di tessuto elastico. I cambiamenti portano ad un aumento della PWV, come si può vedere dai risultati.

Poiché l'attuale sistema di misurazione ricava la PWV dalla regione dell'arco aortico fino all'arteria poplitea, i valori misurati potrebbero essere più alti rispetto a quelli misurati con l'ultrasuono di Doppler da arterie più centrali. La misurazione della PWV nelle arterie con differenti proprietà potrebbe essere considerata una limitazione metodologica.

## **3.2 Studio 2**

Gli obiettivi di questo studio sono quelli di stabilire dei valori "normali" della PWV carotidea-femorale in una popolazione senza fattori di rischio cardiovascolare e di proporre dei valori di riferimento in una popolazione con fattori di rischio, a seconda dell'età e delle categorie di pressione sanguigna (BP). Per raggiungere questo scopo, è necessario identificare i principali fattori della PWV e standardizzare l'espressione di essa [4].

### **3.2.1 Popolazione dello studio**

Una popolazione "normale" è definita da soggetti aventi valori di pressione arteriosa ottimale o normale e senza ulteriori fattori di rischio cardiovascolare. Invece, una popolazione di valori di riferimento è definita da soggetti o pazienti di entrambi i sessi, presentanti fattori di rischio cardiovascolare che hanno mostrato non avere influenza sui valori della PWV. Per i valori normali e di riferimento, la popolazione viene categorizzata secondo decenni di età (<30, 30-39, 40-49, 50-59, 60-69 e >70 anni) e categorie di pressione sanguigna (ottima <120/80; normale  $\geq$ 120/80 e <130/85; normale-alta  $\geq$ 130/85 e <140/90; I grado di ipertensione  $\geq$ 140/90 e <160/100; II/III grado di ipertensione  $\geq$ 160/100 mm-

Hg). La popolazione dei valori di riferimento è composta da 11 092 soggetti, mentre nella popolazione di valori normali sono presenti 1455 individui.

### 3.2.2 Considerazioni metodologiche per misurare la PWV

I valori della PWV dipendono dagli algoritmi utilizzati per il rilevamento del tempo di transito e la misurazione della lunghezza del percorso.

I tempi di transito sono valutati come differenza tra due punti caratteristici sulle forme d'onda carotidea e femorale. Questi punti sono dipendenti dal tipo di forma d'onda (flusso, pressione) e dall'algoritmo utilizzato per il loro rilevamento. I due algoritmi più utilizzati sono l'algoritmo della tangente intersecante e il punto di massima salita durante la sistole.

I diversi algoritmi applicati alla stessa forma d'onda possono portare ad una differenza nei valori della PWV del 5-15%. Dal momento che il punto di massima salita sottostima la PWV, soprattutto quando è lento, si sceglie di standardizzare il tempo di transito sull'algoritmo della tangente intersecante.

Per convertire i tempi di transito massimi di salita nell'algoritmo della tangente intersecante, si utilizza la relazione

$$\Delta t_{\text{tangente intersecante}} = \frac{\Delta t_{\text{massima salita}} - 14,96}{0,8486} [ms] \quad (3.2)$$

I valori della PWV sono anche marcatamente dipendenti dalla misurazione del percorso tra carotide e femore. Questo percorso può essere rappresentato dalla distanza diretta misurata tra il sito di misurazione carotideo e quello femorale, oppure dalla distanza ottenuta sottraendo la distanza tra il sito di misurazione carotideo e l'incavo sternale dalla distanza tra l'incavo sternale e il sito di misurazione femorale. Le differenze nella lunghezza del percorso possono portare a differenze nei valori della PWV fino al 30%. Le equazioni per convertire con buona precisione queste definizioni di lunghezza di percorso sono

$$x_{\text{diretta}} = 0,45x_{\text{sottratta}} + 0,21 \cdot \text{altezza} + 0,08[m] \quad (3.3)$$

$$x_{\text{sottratta}} = 1,04x_{\text{diretta}} - 0,11 \cdot \text{altezza} - 0,02[m] \quad (3.4)$$

Dal momento che i centri partecipanti hanno utilizzato dei metodi diversi per misurare la PWV, i valori della lunghezza del percorso devono essere standardizzati. L'uso della distanza diretta porta ad una sovrastima della PWV reale, cioè della PWV trovata usando misurazioni invasive o la risonanza magnetica (MRI); per questo si usa un fattore di scala

(0,8) per convertire la PWV ottenuta usando la distanza diretta nella PWV "reale"

$$PWV = 0,8 \cdot \frac{x_{diretta}}{\Delta t} \left[ \frac{m}{s} \right] \quad (3.5)$$

Per standardizzare i valori della PWV vengono utilizzati l'algoritmo della tangente intersecante e la lunghezza diretta del percorso dalla carotide al femore, in seguito, la PWV viene ridimensionata a quella reale usando l'equazione (3.5).

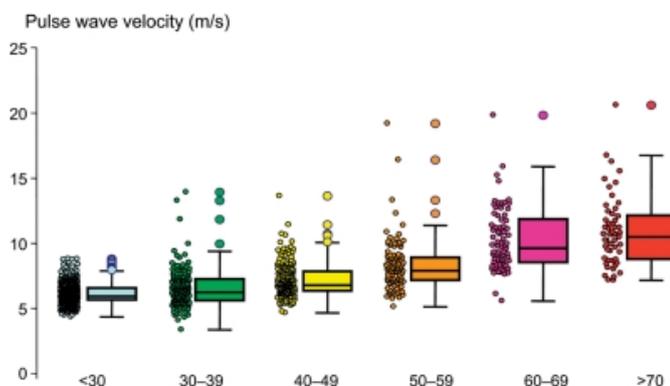
### 3.2.3 Risultati

I valori normali sono rappresentati nella tabella (3.2) e nella figura (3.3).

| Categoria di età [anni] | Media ( $\pm 2$ SD) | Mediana (10-90 pc) |
|-------------------------|---------------------|--------------------|
| < 30                    | 6,2 (4,7-7,6)       | 6,1 (5,3-7,1)      |
| 30 - 39                 | 6,5 (3,8-9,2)       | 6,4 (5,2-8,0)      |
| 40 - 49                 | 7,2 (4,6-9,8)       | 6,9 (5,9-8,6)      |
| 50 - 59                 | 8,3 (4,5-12,1)      | 8,1 (6,3-10,0)     |
| 60 - 69                 | 10,3 (5,5-15,0)     | 9,7 (7,9-13,1)     |
| > 70                    | 10,9 (5,5-16,3)     | 10,6 (8,0-14,6)    |

**Tabella 3.2:** Valori medi e mediani della PWV [m/s] secondo le categorie di età nella popolazione normale (1455 soggetti). SD: deviazione standard; 10 pc: limite superiore del decimo percentile; 90 pc: limite inferiore del 90-esimo percentile.

I soggetti con pressione sanguigna (BP) ottimale o normale e nessun fattore di rischio cardiovascolare aggiuntivo hanno valori della PWV più bassi e mostrano il più piccolo



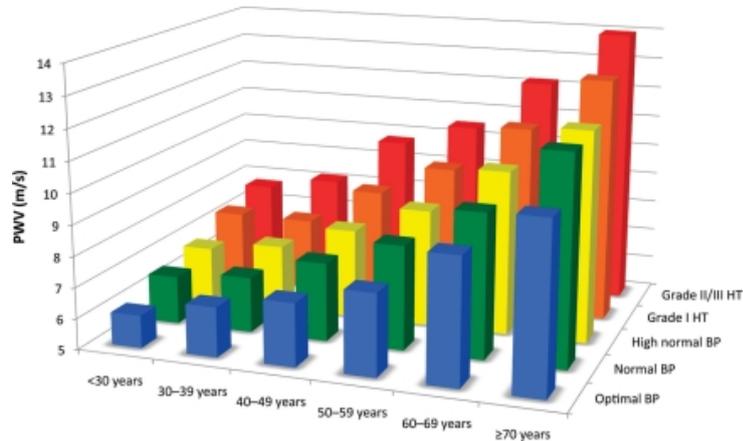
**Figura 3.3:** Valori normali della PWV media in base all'età. Le scatole contengono il 50% dei dati e le barre il resto; le linee orizzontali indicano le mediane e i cerchi i valori anormali.

incremento nella PWV con l'età. Si può notare dalla figura (3.4) e dalla tabella (3.3) che

i soggetti con valori normali della BP hanno già dei valori elevati di PWV, comparati con quelli dei soggetti con BP ottimale.

La dispersione dei dati è molto piccola per la prima categoria di età e aumenta con l'età. I valori anomali sono più frequenti in età avanzata (Figura 3.3).

I valori di riferimento per la PWV sono illustrati nella figura (3.4) con una rappresentazione grafica dei valori della PWV in funzione delle categorie di età e pressione sanguigna.



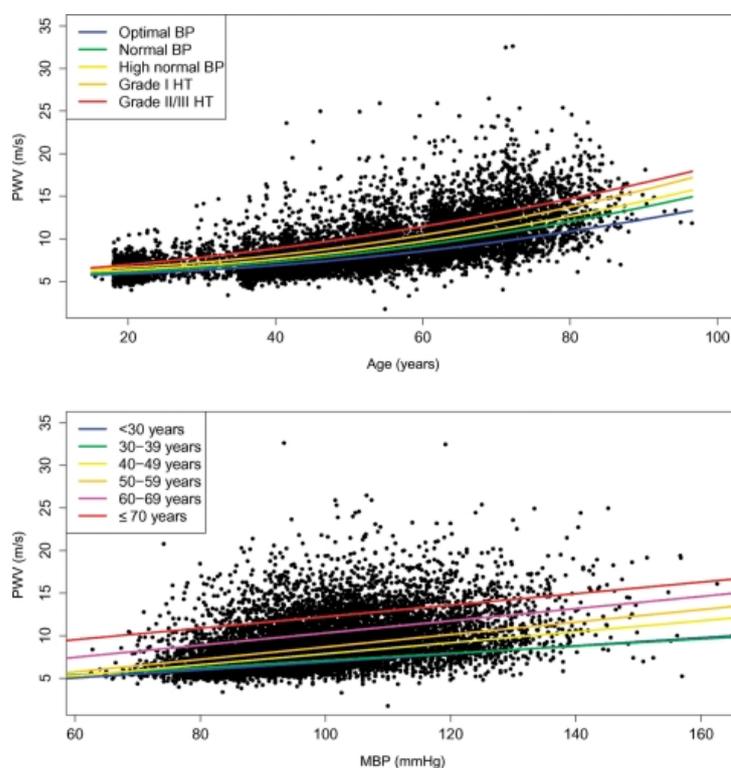
**Figura 3.4:** Valori medi di riferimento per la PWV secondo le categorie di età e pressione sanguigna (BP) (11 092 soggetti). HT ipertensione.

I valori della PWV e le distribuzioni in ogni categoria sono descritte nella Tabella 3.3.

| Categoria di età        | Ottimale       | Normale        | Normale -alta  | I grado HT     | II/III grado HT |
|-------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------|
| PWV media ( $\pm 2$ SD) |                |                |                |                |                 |
| <30                     | 6,1 $\pm$ 1,5  | 6,6 $\pm$ 1,7  | 6,8 $\pm$ 1,7  | 7,4 $\pm$ 2,8  | 7,7 $\pm$ 3,3   |
| 30-39                   | 6,6 $\pm$ 2,3  | 6,8 $\pm$ 2,6  | 7,1 $\pm$ 2,6  | 7,3 $\pm$ 3,4  | 8,2 $\pm$ 4,9   |
| 40-49                   | 7,0 $\pm$ 2,6  | 7,5 $\pm$ 2,5  | 7,9 $\pm$ 2,8  | 8,6 $\pm$ 3,5  | 9,8 $\pm$ 6,0   |
| 50-59                   | 7,6 $\pm$ 2,9  | 8,4 $\pm$ 3,3  | 8,8 $\pm$ 4,0  | 9,6 $\pm$ 4,7  | 10,5 $\pm$ 6,4  |
| 60-69                   | 9,1 $\pm$ 3,9  | 9,7 $\pm$ 4,0  | 10,3 $\pm$ 4,8 | 11,1 $\pm$ 5,1 | 12,2 $\pm$ 6,5  |
| $\geq 70$               | 10,4 $\pm$ 5,2 | 11,7 $\pm$ 5,8 | 11,8 $\pm$ 6,1 | 12,9 $\pm$ 6   | 14,0 $\pm$ 6,6  |

**Tabella 3.3:** Valori della PWV nella popolazione di riferimento (11 092 soggetti) secondo le categorie di età e pressione sanguigna HT: ipertensione; SD: deviazione standard.

La PWV aumenta sia con l'età che con i livelli di BP nella popolazione di riferimento. L'incremento nella PWV con l'età è più pronunciata quando i livelli di BP aumentano (Figura 3.5, in alto), infatti è meglio rappresentata da un'equazione quadratica completa ( $a + b \times age + c \times age^2$ ) rispetto all'andamento lineare. L'influenza dell'invecchiamento con una pressione sanguigna elevata è graduale: il coefficiente  $c$  per l'età al quadrato aumenta di 1,5 volte (il coefficiente lineare è trascurabile), e l'intercetta aumenta di 0,6 m/s tra la BP ottimale e il primo grado di ipertensione. Per il secondo e terzo grado di ipertensione, il termine lineare diventa evidente e l'effetto accelerato dell'età è visibile nella figura 3.5, in basso.



**Figura 3.5:** (*Sopra*) PWV in funzione dell'età nella popolazione di riferimento. Le linee denotano i risultati della regressione nel quadrato dell'età per le diverse categorie di pressione sanguigna (BP). (*Sotto*) PWV in funzione della media della pressione sanguigna (MBP) nella popolazione di riferimento. Le linee denotano i risultati della regressione lineare sulla media della pressione sanguigna per le diverse categorie di età. HT: ipertensione; BP: pressione sanguigna.

I modelli che includono tutti i termini di interazione mostrano che la BP media è significativamente associata alla PWV solo attraverso l'interazione con l'età e l'età quadrata nella popolazione di riferimento, mentre ha una piccola ma significativa associazione indipendente con la PWV nella popolazione normale.

### 3.2.4 Discussione

Il principale scopo dello studio è unificare la metodologia e proporre un appropriato modo per esprimere la PWV. Per i tempi di transito, si è scelto il rilevamento del piede della forma d'onda usando un algoritmo basato sulle tangenti intersecanti. Per le misurazioni della distanza, la scelta migliore è meno chiara. Combinando due misurazioni si aggiunge complessità, con maggiori inaccurately dovute alle imprecisioni nella misurazione (in genere con il metro a nastro o l'asta per bambini), per questo motivo, si decide di utilizzare la distanza diretta.

La PWV ad ogni età è correlata linearmente alla pressione sanguigna ed è dipendente, ad ogni livello di BP, dall'età quadratica. La dipendenza della relazione tra l'età (e MBP) e la PWV aumenta di 1,5 volte tra i giovani con una pressione più bassa e gli anziani con una pressione più alta. L'effetto dell'età è più evidente in presenza di un'alta BP. È significativo che la differenza interindividuale nella PWV per determinate età e valori di BP è molto più grande rispetto alla differenza inter-classe.

Questo studio è trasversale. Sebbene fornisca dei valori accurati della PWV in una grande popolazione europea aggregata, non fornisce informazioni sull'evoluzione della PWV nel tempo e non si può inserire un fenomeno di tracciamento delle prove.

In conclusione, questo studio fornisce i valori di riferimento per la PWV basati su una ampia popolazione europea, usando una metodologia standardizzata. I dati presentati nello studio permettono l'identificazione delle persone nelle quali la PWV è anormale e che potrebbero richiedere un monitoraggio più intensivo.

## 3.3 Studio 3

Lo scopo di questo studio è definire sia valori normali (BP normale) che di riferimento (BP alta) stratificati per categorie di sesso e di età per la PWV basata su risonanza magnetica cardiovascolare (CMR) in una popolazione senza malattie cardiovascolari [1].

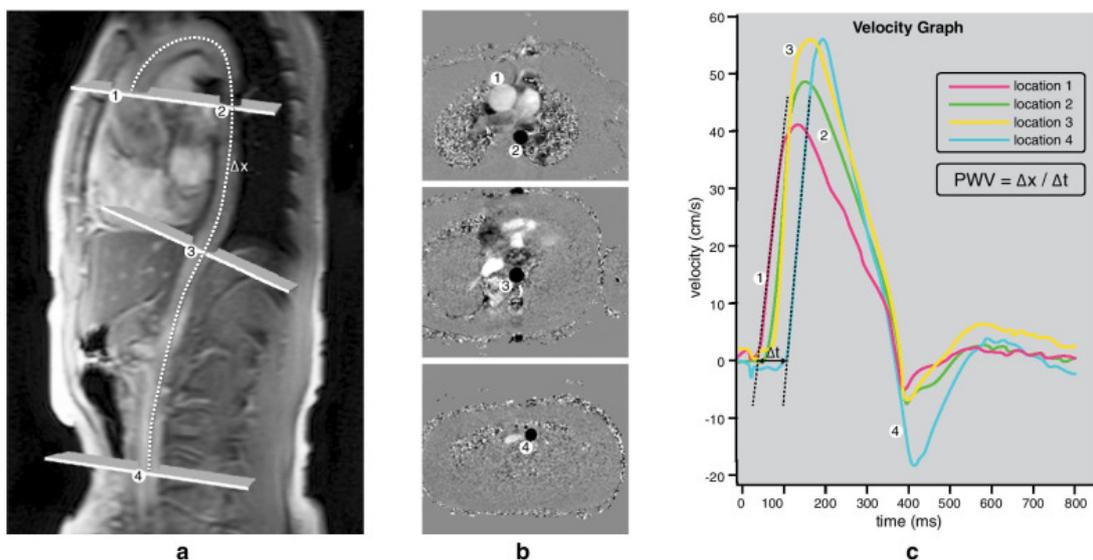
### 3.3.1 Popolazione dello studio

Il presente studio è trasversale. I partecipanti che manifestano malattie cardiovascolari, fumatori o partecipanti trattati per il diabete, ipertensione o dislipidemia vengono esclusi dal campione utilizzato, perché sono conosciuti per avere una PWV significativamente più alta. Dopo l'esclusione, la popolazione finale dello studio è composta da 1394 partecipanti

di età compresa tra i 45 e i 65 anni. Inoltre si forniscono i valori normali per il sottogruppo di BP normale, e i valori di riferimento per i sottogruppi di BP del primo e secondo stadio di ipertensione.

### 3.3.2 Considerazioni metodologiche per misurare la PWV

Per calcolare la PWV si utilizza la risonanza magnetica cardiovascolare, in particolare, si ottiene una vista di esplorazione dell'intera aorta. Durante la respirazione viene valutato il flusso; le misurazioni vengono fatte in un piano passante a livello del tronco polmonare che taglia sia l'aorta ascendente che quella discendente prossimale, appena sotto il diaframma perpendicolarmente all'aorta ascendente appena sopra la biforcazione dell'aorta addominale (Figura 3.6 a). Le curve velocità-tempo massime di ciascun campionamento forniscono il tempo di arrivo della pressione sistolica (Figura 3.6 c).



**Figura 3.6:** Valutazione della PWV aortica con CMR: **a** misurazioni del flusso passante al livello del tronco polmonare **b** immagini della velocità **c** rappresentazione delle forme d'onda della velocità rispetto al tempo.

Per calcolare la PWV la lunghezza del percorso aortico viene divisa per il tempo di transito tra l'arrivo del fronte d'onda sistolico nei siti. La PWV dell'intera aorta viene valutata come media pesata delle PWV campionate nei quattro siti di misurazione; l'aggiunta di punti di campionamento lungo l'aorta aumenta l'accuratezza delle misurazioni della PWV. La media pesata è calcolata facendo la media della PWV dei segmenti in proporzione alla loro lunghezza.

### 3.3.3 Risultati

I valori normali stratificati per età sono rappresentati nella tabella (3.4) e i valori normali divisi anche in base al sesso sono mostrati nella tabella (3.5).

| Età [anni] | Media [m/s] | Mediana [m/s] |
|------------|-------------|---------------|
| 45-<50     | 5,4         | 5,4           |
| 50-<55     | 5,8         | 5,6           |
| 55-<60     | 6,1         | 6,0           |
| 60-<65     | 6,8         | 6,8           |

**Tabella 3.4:** Valori normali della CMR-PWV in m/s stratificata per categorie di età, senza distinzione tra i sessi ( $n = 397$ )

La PWV aumenta con l'avanzare dell'età, in media di 0,9 m/s ogni 10 anni. La media della PWV normale per la fascia di età dai 45 ai 50 anni è di 5,4 m/s mentre per la fascia da 60 ai 65 anni è di 6,8 m/s (Tabella 3.4). Non c'è differenza tra la PWV degli uomini e delle donne.

Fino all'età di 60 anni, gli uomini hanno una PWV media leggermente più alta rispetto a quella delle donne, tuttavia, nel gruppo di età compreso tra i 60 e i 65 anni, le donne hanno una PWV leggermente più alta rispetto agli uomini (Tabella 3.5).

I valori di riferimento divisi per categorie di età e per sesso sono rappresentati nella tabella (3.5). Nelle popolazioni di riferimento con alta BP (stadio 1 e 2 di HT), la PWV aumenta leggermente più velocemente con l'avanzare dell'età rispetto ai valori normali; dove la PWV cresce in media 1,0 m/s ogni 10 anni per lo stadio 1 e 1,3 m/s per lo stadio 2 dei sottogruppi dell'ipertensione. I valori della PWV media sono sequenzialmente più alti con l'aumento di BP sia negli uomini che nelle donne (Tabella 3.5).

Al contrario della popolazione normale, nella popolazione di riferimento le donne hanno sempre una PWV leggermente più alta rispetto agli uomini (Tabella 3.5). Similmente alla popolazione normale non c'è differenza nella PWV tra i sessi per lo stadio 1 dell'ipertensione. Tuttavia, nella stadio 2 dell'ipertensione le donne hanno una PWV più alta rispetto agli uomini. Le donne mostrano un trend in continuo aumento per i valori della PWV con l'età, come si osserva anche nei valori normali.

La differenza tra uomini e donne è di conseguenza osservata solamente nel sottogruppo di

| Età [anni] | Valori normali |         | Stadio 1 HT |         | Stadio 2 HT |         |
|------------|----------------|---------|-------------|---------|-------------|---------|
|            | Media          | Mediana | Media       | Mediana | Media       | Mediana |
|            | [m/s]          | [m/s]   | [m/s]       | [m/s]   | [m/s]       | [m/s]   |
| Uomini     |                |         |             |         |             |         |
| 45-<50     | 5,6            | 5,5     | 5,6         | 5,4     | 6,0         | 6,0     |
| 50-<55     | 5,8            | 5,8     | 6,0         | 5,9     | 6,2         | 6,0     |
| 55-<60     | 6,2            | 6,1     | 6,7         | 6,3     | 7,0         | 6,8     |
| 60-<65     | 6,6            | 6,8     | 7,0         | 6,7     | 7,5         | 7,3     |
| Donne      |                |         |             |         |             |         |
| 45-<50     | 5,3            | 5,2     | 5,6         | 5,5     | 6,2         | 6,2     |
| 50-<55     | 5,7            | 5,6     | 6,3         | 6,1     | 6,6         | 6,5     |
| 55-<60     | 6,1            | 5,8     | 6,9         | 6,7     | 7,4         | 7,2     |
| 60-<65     | 6,8            | 6,8     | 7,3         | 7,0     | 8,5         | 7,9     |

**Tabella 3.5:** Valori normali e di riferimento per la CMR-PWV diviso per le categorie di età, sesso e BP. Valori normali: BP<130/80 mmHg, stadio 1: BP $\geq$ 130/80 e <140/90 mmHg, stadio 2: BP $\geq$ 140/90 mmHg

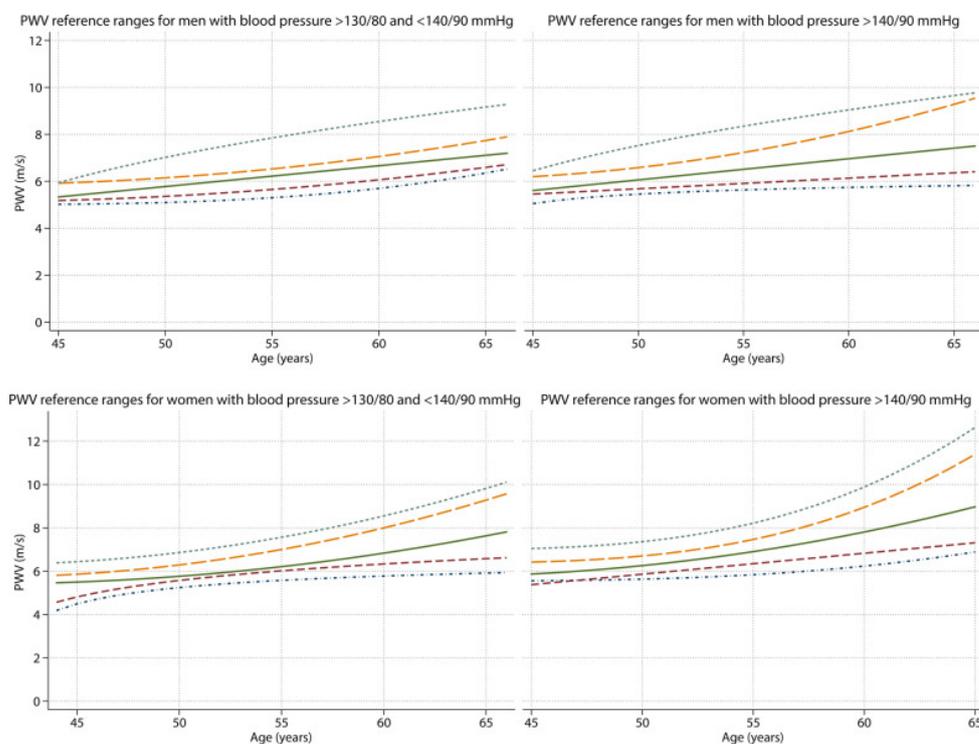
età tra i 60 e i 65 anni. Questi risultati sono illustrati nella Figura 3.7, dove sono mostrati i valori di riferimento della PWV in base all'età e al sesso.

### 3.3.4 Discussione

In questo studio basato su una popolazione di 1394 soggetti, sono stati stabiliti i range normali e di riferimento per la PWV basata sulla risonanza magnetica cardiovascolare in una popolazione senza malattie cardiovascolari e trattamenti per ipertensione, diabete e ipercolesterolemia. È uno degli studi più ampi a fornire valori normali (per PB normale <130/80 mmHg) e valori di riferimento (per lo stadio 1 BP  $\geq$ 130/80 ; <140/90 mmHg e per lo stadio 2 BP $\geq$ 140/90 mmHg dell'ipertensione) età e sesso specifici per la CMR-PWV. Definire i valori normali e di riferimento è essenziale per l'implementazione della CMR-PWV nella cura clinica.

Nella popolazione di questo studio non ci sono differenze tra maschi e femmine nei valori della CMR-PWV, tranne nel gruppo con età e BP più alti.

Data l'importanza delle variazioni legate all'età, al sesso e alla pressione sanguigna nel-



**Figura 3.7:** Distribuzione dei range di riferimento della CMR-PWV per categorie di BP per età. Dal basso: decimo, 25-esimo, mediano, 75-esimo e 90-esimo percentile.

l'influenzare la rigidezza aortica, specifici valori di riferimento sono indispensabili per l'identificazione di pazienti ad alto rischio con la CMR-PWV.

## 3.4 Studio 4

Questo studio vuole trovare i valori di riferimento della PWV in una popolazione costituita da bambini e adolescenti in età scolare di diverse nazionalità [9].

### 3.4.1 Popolazione dello studio

Tra il 2006 e il 2009 sono stati valutati un totale di 1008 bambini e adolescenti sani (di età compresa tra i 6,5 e i 19,9 anni). Nello studio sono stati inclusi solo i bambini senza una storia di malattie e senza farmaci che influenzano la BP.

Un totale di 450 bambini e adolescenti ungheresi sani, 455 bambini e adolescenti italiani sani e 103 bambini e adolescenti algerini sani hanno partecipato a questo studio.

### 3.4.2 Considerazioni metodologiche per misurare la PWV

La PWV viene misurata dalla tonometria di appianazione usando lo strumento PulsePen<sup>®</sup>.

Per la misurazione della PWV aortica si utilizza l'equazione (2.1).

Per evitare possibili pregiudizi metodologici, un unico ricercatore senior insegna il procedimento e supervisiona lo staff che esegue tutte le misure della PWV. Tutte le misurazioni vengono fatte due volte per confermare la riproducibilità; il valore della PWV risultante è costituito dalla media di entrambe le misurazioni.

### 3.4.3 Risultati

Non c'è una differenza significativa tra le PWV ottenute dalle differenti regioni nel rispettivo quartile di età. Le PWV dei maschi e delle femmine sono simili nei primi due quartili di età (6,55-13,27 anni). Al contrario, nel terzo e nel quarto quartile (13,28-16,63 anni e 16,64-19,99 anni), i ragazzi hanno una PWV leggermente più alta rispetto alle ragazze dal momento che a parità di età i ragazzi sono più alti. (Tabella 3.6).

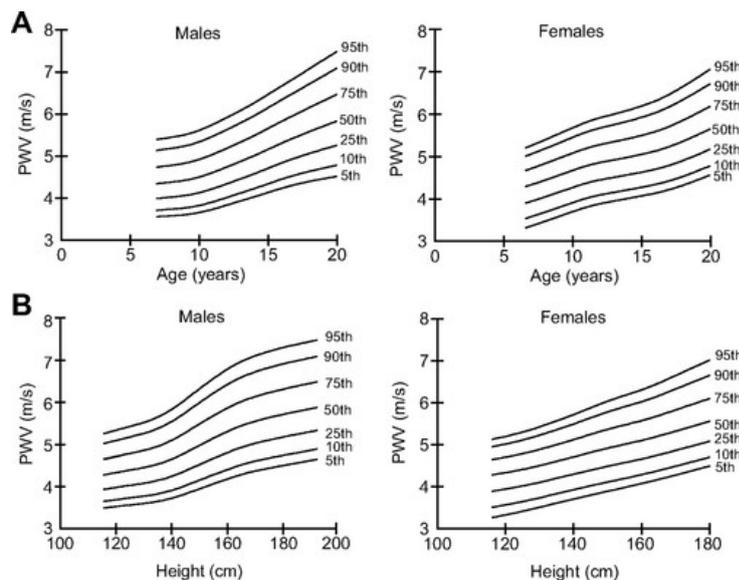
|            | Quartile 1 | Quartile 2 | Quartile 3  | Quartile 4  |
|------------|------------|------------|-------------|-------------|
| Età [anni] | 6,55-9,91  | 9,92-13,27 | 13,28-16,63 | 16,64-19,99 |
|            | PWV [m/s]  |            |             |             |
| Maschi     | 4,396      | 4,740      | 5,243       | 5,538       |
| Femmine    | 4,496      | 4,779      | 5,113       | 5,335       |

**Tabella 3.6:** Valori della PWV in base ai quartili di età

### 3.4.4 Discussione

Questo studio è il primo a fornire valori di riferimento nuovi e specifici per età e altezza per la PWV in bambini e adolescenti, rendendoli adatti alla valutazione e al follow-up di sottogruppi nella popolazione pediatrica che sono a rischio di malattie cardiovascolari a lungo termine. La PWV è un potente parametro della rigidità arteriosa molto utilizzato negli adulti, ma i dati nei bambini sono scarsi. Questa difficoltà dipende dall'età e dalle dimensioni del corpo, in particolare dall'altezza in quanto direttamente proporzionale alla PWV. La stretta relazione tra i valori della PWV per età e per altezza indica che bambini più bassi hanno valori di PWV più bassi, mentre i bambini più alti hanno valori di PWV

più alti in ciascun gruppo di età considerato (Figura 3.8).



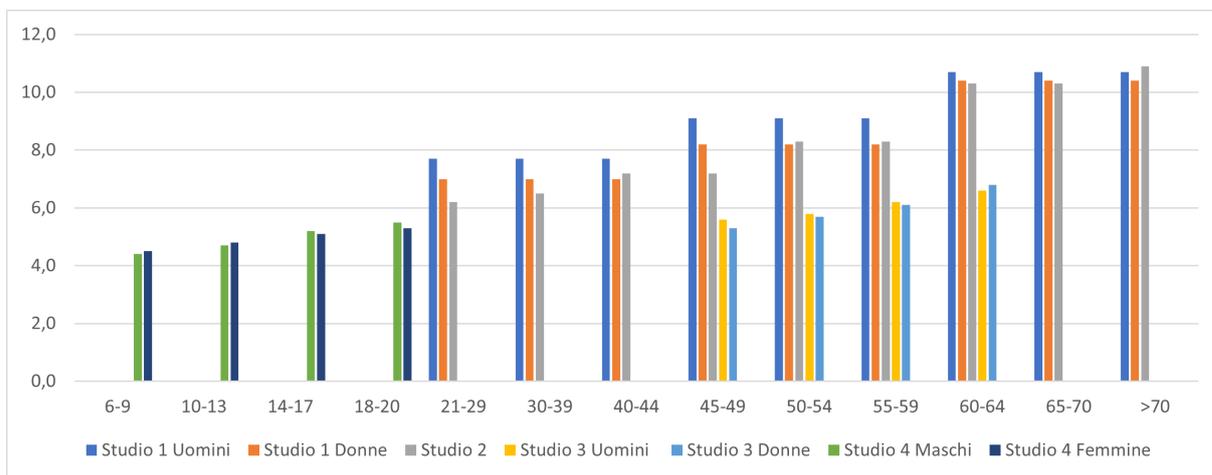
**Figura 3.8:** Curve della PWV percentile per età (A) e altezza (B)

La prova che le dimensioni e le proprietà elastiche dell'albero arterioso sono intimamente legate all'altezza inizialmente è stata fornita da studi morfologici. L'influenza fisiologica delle dimensioni corporee sulle proprietà della parete arteriosa mostra che c'è un progressivo aumento della capacità arteriosa nonostante una diminuzione dell'elasticità della parete arteriosa, portando alla conclusione che l'aumento delle dimensioni arteriose che accompagna l'incremento delle dimensioni corporee supera gli effetti dell'età sulle proprietà delle pareti arteriose.

### 3.5 Considerazioni dei valori della PWV

I valori della PWV dei quattro diversi studi sono riportati nella Figura 3.9.

Tre dei quattro studi analizzati hanno l'obiettivo di determinare dei valori normali e/o di riferimento in una popolazione adulta. I principali fattori che differenziano questi studi sono il numero di soggetti presi in considerazione e il metodo utilizzato per misurare la PWV. Il primo studio presenta un campione molto piccolo ( $n = 283$ ) in confronto al terzo ( $n = 1394$ ) e ancora di più se paragonato al secondo ( $n = 12\,547$ ); vediamo però che la popolazione normale del primo e del terzo studio presentano una popolazione simile, rispettivamente costituita da 283 e 397 individui, mentre la popolazione normale del secondo studio presenta 1455 individui. La differenza nel numero di individui che partecipano agli studi può essere un fattore di limite dal momento che un campione piccolo è



**Figura 3.9:** Valori della PWV normale per ciascuno studio divisi per età e sesso

meno affidabile, mentre un campione numeroso può rispecchiare una popolazione reale. In tutti e tre gli studi si utilizzano dei metodi diversi di misurazione, ognuno di essi presenta dei vantaggi e degli svantaggi che rendono il metodo più o meno applicabile. Il primo studio utilizza un metodo pratico, affidabile, altamente ripetibile e riproducibile, che però sovrastima il valore della PWV rispetto alle misurazioni fatte con la risonanza magnetica, come si può vedere nei valori dello studio 3, perché le arterie su cui vengono fatte le misurazioni hanno proprietà diverse rispetto a quelle centrali considerate dalla MRI. Il secondo studio presenta un modo per standardizzare le misurazioni fatte con metodi diversi, per questo motivo può essere un metodo preciso per valutare i valori della PWV. Il terzo metodo è sicuramente il più preciso dal momento che la misurazione viene fatta con la risonanza magnetica che permette di avere visibilità dell'aorta e facilita il calcolo della distanza. Nonostante questo, è un metodo costoso e ingombrante e non tutte le strutture che vogliono valutare la PWV possono permetterselo. L'ultimo studio analizzato, a differenza degli altri, valuta la PWV in bambini e adolescenti. Per la misurazione della PWV si utilizza la PulsePen<sup>®</sup>, questo dispositivo è maneggevole e consente ad un'unica persona di studiare la PWV, inoltre la misurazione è facile da eseguire. Uno svantaggio nell'utilizzo di questo strumento è la necessità di uno staff istruito sul modo in cui fare le misurazioni, quindi il rischio di commettere errori posizionando le sonde è elevato nel caso in cui lo staff non sia preparato adeguatamente. Essendo i metodi utilizzati per la misurazione diversi tra loro è difficile fare un confronto tra i risultati ottenuti. Dalla figura 3.9 possiamo notare che per tutti e tre gli studi svolti su una popolazione adulta con l'aumentare dell'età la PWV aumenta, questo perché con l'invecchiamento si ha una diminuzione del tessuto elastico dei vasi, di conseguenza si

osserva una diminuzione dell'elasticità; questo fa sì che la distensibilità dei vasi risulti minore. Come abbiamo visto in precedenza, la capacitanza ( $C$ ) è direttamente proporzionale alla distensibilità, questo significa che si avrà anche una diminuzione della capacitanza che porta ad un aumento quadratico dell'impedenza caratteristica. Quest'ultima, a sua volta, è direttamente proporzionale alla PWV che quindi aumenta a sua volta il suo valore. In particolare si può notare che nel secondo e terzo studio la PWV aumenta maggiormente quando aumenta la pressione sanguigna. Nello studio fatto su adolescenti non si ha una differenza significativa tra le diverse fasce d'età: in 10 anni la PWV cresce di 1,142 m/s per i maschi e di 0,839 m/s.

La differenza nella PWV tra sessi è un argomento dibattuto dal momento che ci sono risultati contrastanti: come si può notare il primo studio presenta diversi valori di PWV tra uomini e donne in tutti gli intervalli di età, al contrario gli altri tre studi presentano differenze, quando riportate, trascurabili o non significative.

In conclusione sui valori trovati possiamo dire con certezza che la PWV è influenzata maggiormente dall'età e dalla pressione arteriosa.

# Conclusione

Il presente lavoro di tesi si è soffermato maggiormente sullo studio dell'analisi dell'onda, sui metodi di misurazione e sulla stima dei valori della *pulse wave velocity*.

Lo studio dell'analisi dell'onda mostra che c'è un legame intrinseco tra gli effetti delle onde sulla pressione e sulla velocità e l'impedenza caratteristica dei vasi. Quest'ultima nei grandi vasi è determinata dalla *pulse wave velocity* locale che è considerata una proprietà intrinseca dei vasi. Si possono misurare due tipi di PWV: locale e regionale che differiscono per il modo in cui vengono misurate. Nonostante la misurazione della PWV regionale sia meno precisa, viene utilizzata come misurazione "gold standard" della rigidità arteriosa. La PWV locale, invece, viene utilizzata nell'applicazione clinica per indagare le proprietà funzionali dei vasi.

Osservando i metodi di misurazione presentati si può capire che non è ancora stato trovato un metodo ideale riproducibile da tutti i centri, anzi, ciascun metodo presenta alcuni svantaggi che possono riguardare l'aspetto economico, ovvero i macchinari utilizzati sono troppo costosi, oppure riguardano l'aspetto metodologico, cioè si riscontrano errori associati alla stima della distanza o distorsioni nel segnale di acquisizione. Per eliminare queste criticità si sta cercando di sviluppare metodi ottici poco costosi le cui misurazioni siano senza contatto.

Il fatto che non esista un metodo di riferimento per la misurazione della PWV fa sì che i valori riportati dagli studi analizzati non possano essere messi a confronto dal punto di vista numerico, ma possono essere confrontati solo in funzione dell'età e della pressione sanguigna. Nonostante questo i quattro studi in esame concordano nell'affermare che la PWV dipende sia dall'età che dalla pressione sanguigna, quando presa in considerazione, ed è un importante parametro per valutare il rischio di malattie cardiovascolari.

In conclusione, con il presente lavoro di tesi, si vuole sottolineare l'importanza della PWV dal punto di vista clinico e soprattutto l'importanza dello sviluppo di nuove metodologie di misurazione.

# Bibliografia

- [1] M. J. van Hout, I. A. Dekker, J. J. Westenberg, M. J. Schaliij, R.L. Widya, R. de Mutsert. *Normal and reference values for cardiovascular magnetic resonance-based pulse wave velocity in the middle-aged general population*. 2021.
- [2] Rainer Klinke, Hans-Christian Pape, Armin Kurtz, Stefan Silbernagl. *Fisiologia*. 2012.
- [3] T. Koivistoinen, T. Kööbi, A. Jula, N. Hutri-Kähönen, O. T. Raitakari, S. Majahalme, K. Kukkonen-Harjula, T. Lehtimäi, A. Reunanen, J. Viikari, V. Turjanmaa, T. Nieminen, M. Kähönen. *Pulse wave velocity reference values in healthy adults aged 26-75 years*. 2007.
- [4] Francesco U.S. Mattace-Raso, Albert Hofman, Germaine C. Verwoert, Jacqueline C.M. Witteman, Ian Wilkinson, John Cockcroft, Carmel McEniery, Yasmin. *Determinants of pulse wave velocity in healthy people and in the presence of cardiovascular risk factors: 'establishing normal and reference values'*. 2010.
- [5] Alberto Milan, Gaia Zocaro, Dario Leone, Francesco Tosello, Irene Buraioli, Domènica Schiavone, Franco Veglio. *Current assessment of pulse wave velocity: comprehensive review of validation studies*. 2019.
- [6] Jonathan P. Mynard, Avinash Kondiboyina, Remi Kowalski, Michael M.H. Cheung, Joseph J. Smolich. *Measurement, Analysis and Interpretation of Pressure/Flow Waves in Blood Vessels*. 2020.
- [7] Tania Pereira, Carlos Correia, Joao Cardoso. *Novel Methods for Pulse Wave Velocity Measurement*. 2015.
- [8] Marek W. Rajzer, Wiktorja Wojciechowska, Marek Klocek, Ilona Palka. *Comparison of aortic pulse wave velocity measured by three techniques: Complior, SphygmoCor and Arteriograph*. 2008.

- [9] G. S. Reusz, O. Cseprekal, M. Temmar, E. Kis, A. Thaleb, A. Benetos, P. Salvi. *Reference Values of Pulse Wave Velocity in Healthy Children and Teenagers*. 2010.
- [10] Oliver J. Rider, Upasana Tayal, Jane M. Francis and Mohammed K. Ali, Monique R. Robinson. *The Effect of Obesity and Weight Loss on Aortic Pulse Wave Velocity as Assessed by Magnetic Resonance Imaging*. 2012.
- [11] P. Salvi, E. Magnani, F. Valbusa, D. Agnoletti, C. Alecu, L. Joly, A. Benetos. *Comparative study of methodologies for pulse wave velocity estimation*. 2008.
- [12] Paolo Salvi, Giuseppe Lio, Carlos Labat, Enrico Ricci, Bruno Pannier, Athanase Benetos. *Validation of a new non-invasive portable tonometer for determining arterial pressure wave and pulse wave velocity: the PulsePen device*. 2004.
- [13] P. Segers, J. Kips, B. Trachet, A. Swillens, S. Vermeersch. *Limitations and pitfalls of non-invasive measurement of arterial pressure wave reflections and pulse wave velocity*. 2009.

# Elenco Riferimenti immagini

## CAPITOLO 1

**Figura 1.1:** [https://www.frontiersin.org/files/Articles/564252/fphys-11-01085-HTML/image\\_m/fphys-11-01085-g001.jpg](https://www.frontiersin.org/files/Articles/564252/fphys-11-01085-HTML/image_m/fphys-11-01085-g001.jpg)

**Figura 1.2:** [https://www.frontiersin.org/files/Articles/564252/fphys-11-01085-HTML/image\\_m/fphys-11-01085-g004.jpg](https://www.frontiersin.org/files/Articles/564252/fphys-11-01085-HTML/image_m/fphys-11-01085-g004.jpg)

## CAPITOLO 2

**Figura 2.1:** <https://www.pulsepen.com/pulsepen.html>

**Figura 2.2:** <https://www.nature.com/articles/jhh200842/figures/1>

**Figura 2.3:** <http://www.complior.com/products>

**Figura 2.4:** <https://www.nature.com/articles/jhh200842/figures/1>

**Figura 2.5:** [http://www.vega-spa.com/p\\_atcor\\_xcel.php](http://www.vega-spa.com/p_atcor_xcel.php)

**Figura 2.6:** <https://www.medicalexpo.it/prod/tensiomed/product-77436-541335.html>

**Figura 2.7:** [https://www.researchgate.net/figure/Left-panel-illustration-of-the-working-principle-of-the-Arteriograph-Right-panel\\_fig1\\_248595426](https://www.researchgate.net/figure/Left-panel-illustration-of-the-working-principle-of-the-Arteriograph-Right-panel_fig1_248595426)

**Figura 2.8:** <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1038/oby.2010.64>

## CAPITOLO 3

**Figura 3.1:** [https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1475-097X.2007.00734.x?casa\\_token=jO9kahp9TUYAAAAA%3A8Ch7HS5QdtLw9dnqAKQM7DZlX7mfBzJn8Emv6Dz-1jKWMkYzrCIYRIifyZE3kh-MGjiSNL1bpFS8w2Yb](https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1475-097X.2007.00734.x?casa_token=jO9kahp9TUYAAAAA%3A8Ch7HS5QdtLw9dnqAKQM7DZlX7mfBzJn8Emv6Dz-1jKWMkYzrCIYRIifyZE3kh-MGjiSNL1bpFS8w2Yb)

**Figura 3.3:** <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20530030/#&gid=article-figures&pid=figure-2-uid-1>

**Figura 3.4:** <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20530030/#&gid=article-figures&pid=figure-3-uid-2>

**Figura 3.5:** <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20530030/#&gid=article-figures&pid=>

figure-3-uid-2

**Figura 3.6:** <https://jcmr-online.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12968-021-00739-y/figures/1>

**Figura 3.7:** <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33866975/#&gid=article-figures&pid=fig-4-uid-3>

**Figura 3.8:** [https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/HYPERTENSIONAHA.110.152686?url\\_ver=Z39.88-2003&rfr\\_id=ori:rid:crossref.org&rfr\\_dat=cr\\_pub%20%20pubmed](https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/HYPERTENSIONAHA.110.152686?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%20pubmed)