

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA
Facoltà di Scienze Statistiche
Corso di Laurea in Scienze Statistiche e Tecnologie
Informatiche

TESI DI LAUREA

COSTRUZIONE DI UNA COORTE DI SOGGETTI
CARDIOPATICI PER STUDI DI EPIDEMIOLOGIA
AMBIENTALE UTILIZZANDO ARCHIVI
ELETTRONICI SANITARI

Relatore Ch.mo Prof. Lorenzo Simonato

Laureanda Paola Guarino

Matricola 491912

Anno Accademico 2006-2007

Indice

Premessa_____ p. 3

Capitolo 1: L'inquinamento e le malattie

- 1.1 Introduzione_____ p. 7
- 1.2 I principali inquinanti_____ p. 9
 - 1.2.1 Biossido di zolfo (SO₂)_____ p. 9
 - 1.2.2 Ossidi di azoto (NO_x)_____ p. 9
 - 1.2.3 Ozono (O₃)_____ p. 10
 - 1.2.4 Monossido di carbonio (CO)_____ p. 11
 - 1.2.5 Particolato sospeso (PM)_____ p. 11
- 1.3 Gli effetti delle polveri sottili sull'uomo (PM₁₀ e PM_{2,5})___ p. 13
- 1.4 Le malattie studiate_____ p. 15
 - 1.4.1 L'asma_____ p. 15
 - 1.4.2 La cardiopatia_____ p. 16
- 1.5 Base scientifica: esempi di studi recenti_____ p. 18

Capitolo 2: Lo studio PRIN

- 2.1 Introduzione_____ p. 23
- 2.2 Materiali e metodi_____ p. 26
 - 2.2.1 Selezione della coorte_____ p. 26
 - 2.2.2 Disegno dello studio_____ p. 30
 - 2.2.2.1 Il campionatore individuale_____ p. 33
 - 2.2.2.2 Esami cardiologici_____ p. 34
 - 2.2.2.3 Prove di funzionalità respiratoria_____ p. 38
 - 2.2.3 Metodi statistici_____ p. 40
 - 2.2.3.1 Selezione del campione_____ p. 40
 - 2.2.3.2 Variabili in analisi_____ p. 40
 - 2.2.3.3 Analisi statistica_____ p. 46

Capitolo 3: Costruzione della coorte di cardiopatici

- 3.1 Selezione del campione_____ p. 49
 - 3.1.1 Incrocio con archivio prescrizioni farmaceutiche_p. 50
 - 3.1.2 Selezione per fasce di età_____ p. 54

Capitolo 4: Risultati descrittivi del questionario e visita 1

- 4.1 Questionario_____ p. 57
 - 4.1.1 Dati anagrafici e personali_____ p. 57
 - 4.1.2 Storia clinica_____ p. 63
 - 4.1.3 Storia di allergia_____ p. 64
- 4.2 Visita 1_____ p. 65
 - 4.2.1 Farmaci_____ p. 65
 - 4.2.2 Esami clinici_____ p. 66
 - 4.2.3 Associazioni con farmaci_____ p. 69
- 4.3 Inquinanti_____ p. 71
 - 4.3.1 Associazioni con inquinanti_____ p. 72

Conclusioni_____ p. 76

Bibliografia_____ p. 81

Premessa

Numerosi studi epidemiologici hanno mostrato che l'inquinamento da polveri fini (PM) è associato, in tutte le aree urbane del mondo, ad un aumento della mortalità e della morbilità per malattie cardiopolmonari¹.

Il progetto PRIN è stato realizzato in collaborazione con la Clinica Cardiologia dell'Università di Padova, con l'ambulatorio di Fisiopatologia respiratoria del Dipartimento di Medicina Ambientale e Sanità Pubblica dell'Ospedale Giustiniano di Padova e con l'Istituto di Igiene dell'Università di Padova. Lo studio ha avuto inizio a Luglio 2006 e si propone di studiare individualmente un panel rappresentativo di soggetti infartuati

¹ Ibalde Mulli A, Timonen KL, Peters A, Heinrich J, Wolke G, Lanki T, Buzorius G, Kreyling WG, de Hartog J, Hoek G, ten Brink HM, Pekkanen J. *Effects of particulate air pollution on blood pressure and heart rate in subjects with cardiovascular disease: a multicenter approach*. Environ Health Perspect 2004 Mar

Koken PJ, Piver WT, Ye F, Elixhauser A, Olsen LM, Portier CJ. *Temperature, air pollution, and hospitalization for cardiovascular diseases among elderly people in Denver*. Environ Health Perspect 2003 Aug

J.J. de Hartog, G. Hoek, A. Peters, K.L. Timonen, A. Ibalde Mulli, B. Brunekreef, J. Heinrich, P. Tiittanen, J.H. van Wijnen, W. Kreyling, M. Kulmala, J. Pekkanen, "Effects of fine particles on cardiorespiratory symptoms in elderly subjects with coronary heart disease: the Ultra Study". *American Journal of Epidemiology*, vol. 157, No.7

Pekkanen J, Peters A, Hoek G, Tiittanen P, Brunekreef B, de Hartog J, Heinrich J, Ibalde Mulli A, Kreyling WG, Lanki T, Timonen KL, Vanni E. *Particulate air pollution and risk of ST-segment depression during repeated submaximal exercise test among subjects with coronary heart disease: the Exposure and Risk Assessment for Fine and Ultrafine Particles in Ambient Air study*. Circulation 2002 Aug

residenti nel comune di Padova per cercare di individuare correlazioni tra esposizione a polveri fini e malattia coronaria.

Il PRIN è uno studio longitudinale in quanto i soggetti sono sottoposti a 3 visite nel corso di un anno in corrispondenti a livelli diversi di inquinamento atmosferico. Il PRIN presenta degli aspetti innovativi per quanto riguarda la misurazione dell'inquinamento, infatti in questo studio oltre ai dati delle polveri individuali, sono presenti anche le frazioni del PM.

La tesi si suddivide in 4 capitoli.

Nel capitolo 1 è presentato un background dell'inquinamento atmosferico, specificando gli inquinanti presi in esame nel progetto PRIN (biossido di zolfo, ossidi di azoto, ozono, monossido di carbonio e PM), è presentata una panoramica degli effetti delle polveri sottili sull'uomo, e sono definite le malattie di interesse in questo studio (cardiopatia e asma). In conclusione sono introdotti alcuni esempi di studi recenti da cui sono nate le basi scientifiche per il PRIN.

Nel capitolo 2 sono esposti i materiali e metodi dello studio. In primo luogo sono presentate le modalità di costruzione della coorte e di raccolta dei dati per mezzo delle visite che si svolgono alla Clinica Cardiologia e l'ambulatorio di Fisiopatologia respiratoria del Dipartimento di Medicina Ambientale e Sanità Pubblica. Sono definite le variabili in analisi relative a parametri clinici, fattori espositivi e confondenti, e sono presentati i metodi statistici che verranno utilizzati per analizzare i dati.

Nel capitolo 3 sono presentati in dettaglio i risultati della costruzione della coorte di cardiopatici e dei soggetti che sono stati inclusi nel panel.

Nell'ultimo capitolo sono illustrati i risultati descrittivi del panel selezionato; in particolar modo concentrandoci sui parametri cardiologici che verranno utilizzati come endpoint clinici in relazione all'inquinamento atmosferico. Le conclusioni sono il capitolo di chiusura della tesi.

Capitolo 1

L'INQUINAMENTO E LE MALATTIE

1.1 Introduzione

Il fenomeno dell'inquinamento atmosferico è in gran parte connesso al nostro modello di sviluppo economico e sociale. Le diverse tipologie di combustione utilizzate per autotrazione, per attività domestiche e per la produzione industriale, danno luogo ad una serie di inquinanti allo stato gassoso, particelle o vapore, che possono presentare un notevole impatto sulla salute umana e destano preoccupazione anche a causa del notevole numero di esposti che si vengono a determinare in aree nelle quali si accentrano le attività ed è alta la densità abitativa. L'inquinamento urbano rappresenta oggi il problema principale sia dal punto di vista ambientale che sanitario, considerato che circa l'80% della

popolazione vive nelle aree urbane ed in esse si contano la gran parte delle attività potenzialmente inquinanti².

A seguito della trasformazione degli impianti di riscaldamento domestici, delle innovazioni motoristiche, del contenimento delle emissioni applicando le migliori tecniche disponibili e del miglioramento della qualità dei combustibili, si è registrata una riduzione nelle concentrazioni in aria di alcuni dei principali inquinanti tradizionali. Nel corso degli anni però la tipologia dell'inquinamento è cambiata e attualmente la maggiore attenzione è rivolta ai problemi posti dalle polveri fini (termine che sta a indicare le polveri PM₁₀), stagionalmente all'ozono e, limitatamente ad alcune aree, al biossido di azoto.

Tra i vari fattori a rischio ambientale le polveri fini si presentano a livello mondiale come gli inquinanti più problematici, sia per le loro caratteristiche di inquinanti secondari (in parte si formano da composti precursori per effetto di reazioni chimiche che avvengono nell'atmosfera), sia perché spesso collegati a fattori meteorologici sui quali è difficile se non impossibile agire.

Livelli di inquinamento atmosferico elevati, oltre ad essere rischiosi per la salute umana, appesantiscono in modo rilevante i bilanci delle collettività a livello sia locale che nazionale. Gli effetti sulla salute devono, infatti, essere computati fra le numerose voci di spesa inerenti la sanità, la mobilità, l'assenza dal lavoro o da scuola e, non ultimo, il monitoraggio e il recupero ambientale delle realtà stesse.

² Forestiere, *Gli effetti dell'inquinamento atmosferico sulla salute*, Epidemiologia e prevenzione, 2005

1.2 I principali inquinanti³

1.2.1 Biossido di zolfo (SO₂)

Il biossido di zolfo è un gas incolore e inodore alle concentrazioni ambientali. Il 50% della quantità presente in atmosfera deriva da fonti naturali, principalmente da attività vulcanica. Le fonti antropiche sono costituite da centrali termoelettriche a carbone o olio combustibile (17%), da industrie (17%), dal riscaldamento domestico e dal traffico stradale. I valori naturali sono inferiori a 5µg/m³, quelli rurali a 25µg/m³, quelli urbani a 100µg/m³. A causa della sua elevata solubilità in H₂O (per formare H₂SO₄, uno dei componenti responsabili delle piogge acide), il biossido di zolfo viene facilmente assorbito dalle mucose nasali e dalle vie aeree superiori. Fra gli effetti acuti causati da questo gas si riscontrano l'edema delle mucose, con aumento delle secrezioni, e il broncospasmo. Asmatici, bronchitici cronici, bambini ed anziani in genere presentano una maggiore suscettibilità agli effetti di questo gas.

1.2.2 Ossidi di azoto (NO_x)

Gli ossidi dell'azoto comprendono il monossido di azoto (NO) e il biossido di azoto (NO₂). Il monossido d'azoto è un gas incolore ed inodore che costituisce il principale componente degli NO_x e viene gradualmente ossidato nell'atmosfera a NO₂.

L'NO₂ ha un colore rosso-bruno ed un odore pungente e soffocante. Le principali fonti sono dovute all'utilizzo dei combustibili fossili, in quanto le elevate temperature e pressioni

³Cfr. "International Society Doctors for the Environment", Impatto sanitario da traffico auto-veicolare

favoriscono la reazione fra ossigeno e azoto. Le emissioni sono così ripartite: autoveicoli (50%) equamente divise fra benzina e diesel, centrali termoelettriche (17%). I livelli naturali variano da 0.4 a 9.4 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ mentre quelli urbani variano da 20 a 850 $\mu\text{g}/\text{m}^3$, con picchi orari in relazione al traffico. L' NO_2 è circa quattro volte più tossico del NO, reagisce rapidamente con H_2O per formare H_2NO_3 (acido nitrico) sia a livello delle mucose respiratorie che dell'ambiente dove contribuisce alla formazione di piogge acide.

Gli NO_x aumentano la suscettibilità alle infezioni virali e batteriche. La sovraesposizione ad un picco di 0,8 ppm di NO_2 (come accade in un qualsiasi giorno invernale) aumenta la suscettibilità dei topi alle polmoniti batteriche. La categoria degli asmatici è particolarmente sensibile a questi inquinanti.

1.2.3 Ozono (O_3)

L'ozono è un gas bluastro, dall'odore pungente. Una fonte naturale dell'ozono è rappresentata dal trasporto nell'atmosfera dell' O_3 stratosferico da parte di correnti d'aria verticali. L'ozono non viene emesso come tale dalle attività umane, ma è un inquinante secondario che si forma per ossidazione fotochimica da parte della radiazione solare degli inquinanti primari (NO_x e idrocarburi) derivanti dai processi di combustione. La concentrazione di ozono nell'aria aumenta nei mesi caldi. Tipicamente la quantità di ozono nell'aria tende ad essere più elevata nelle aree suburbane, nei giorni seguenti a quelli di traffico intenso, poiché è necessario un certo tempo dalla causa scatenante perché il gas si formi. Questo gas ha effetti simili a quelli dell' NO_2 ; causa infiammazione delle mucose respiratorie e oculari.

1.2.4 Monossido di Carbonio (CO)

Il monossido di carbonio è un gas incolore e inodore prodotto per la combustione incompleta di sostanze contenenti carbonio.

Le fonti naturali sono i processi di ossidazione del metano, gli incendi boschivi, i gas di palude e le piogge (in quanto contenuto nelle nuvole). Le fonti antropiche sono le auto a benzina (63%) seguite da inceneritori, raffinerie e fonderie (30%). I valori naturali oscillano fra 0,01 e 0,23mg/m³. Le concentrazioni urbane variano fra 20 e 60mg/m³ con picchi mattina-sera corrispondenti alle ore di punta del traffico. A causa della sua scarsa idrosolubilità, raggiunge gli alveoli polmonari dove compete con l'ossigeno per legarsi all'emoglobina. La carbossiemoglobina è 250 volte più stabile dell'ossiemoglobina, viene pertanto ridotta la capacità di portare ossigeno ai tessuti con conseguente ipossia. I sintomi sono tutti legati a ridotta ossigenazione: diminuita capacità di concentrazione, ipertensione, tachicardia e angina. Gli individui affetti da cardiopatie, malattie polmonari, anemie e le donne in gravidanza sono i più sensibili.

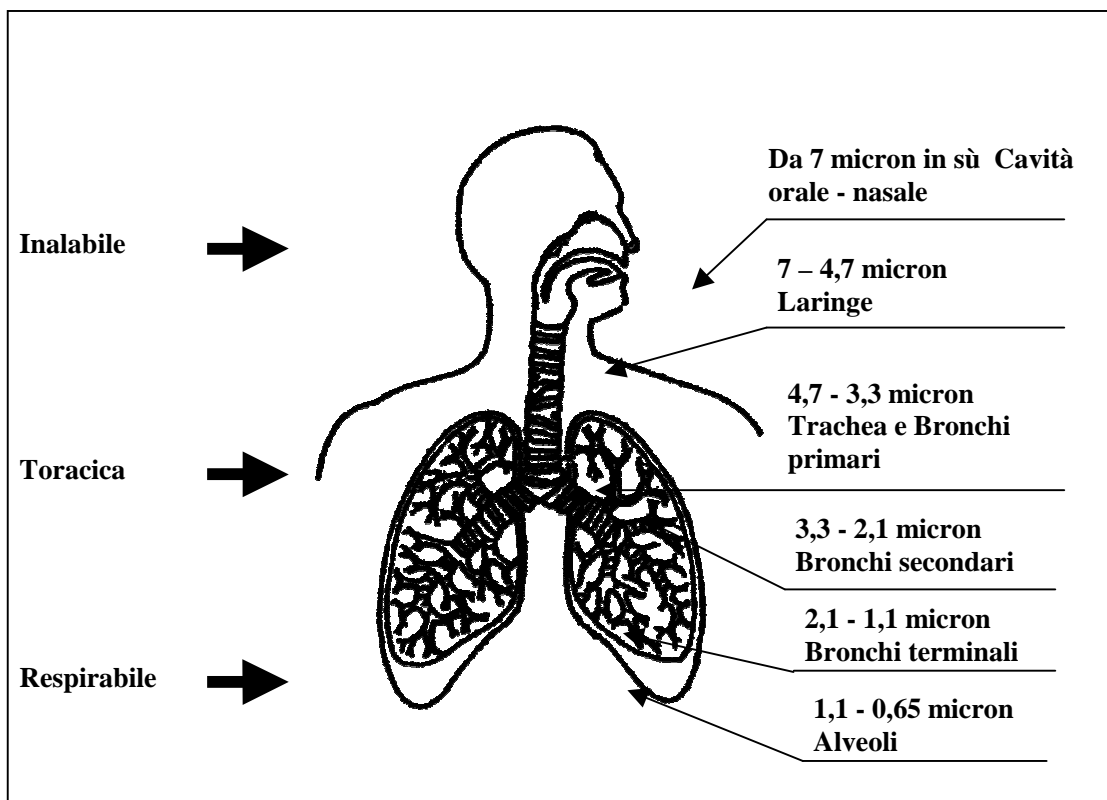
1.2.5 Particolato sospeso (PM)

Con il termine “particolato sospeso” sono indicate tutte le particelle solide e liquide disperse nell'atmosfera; queste particelle vengono prodotte dal traffico, dagli impianti di riscaldamento, da impianti industriali (acciaierie, cementifici, inceneritori, etc...) e più in generale da qualsiasi processo di combustione. Le polveri derivano sia da fenomeni di abrasione superficiale e di erosione (dei manti stradali, dei pneumatici ecc.) che dai processi di combustione dei motori. Gli spostamenti d'aria atmosferici muovono con le polveri grandi quantità di inquinanti; gli animali terrestri vengono a contatto con questi inquinanti assimilandoli

per via respiratoria, cutanea e oculare. Le condizioni meteorologiche come la temperatura, il vento, la pioggia e i fenomeni di inversione termica, hanno una grande influenza sulla distribuzione e la chimica delle polveri. Il traffico contribuisce alla movimentazione di queste polveri le cui particelle più piccole, nel periodo freddo in cui si verificano fenomeni di inversione termica, possono rimanere in sospensione aerea per molte settimane. Le PM_{10} rappresentano circa il 60% delle polveri totali sospese (PTS); tra queste le più pericolose per la salute hanno dimensioni inferiori a $2,5\mu m$; in numerose città europee e statunitensi viene posta particolare attenzione ai $PM_{2,5}$ ed ai PM_1 .

I PM_{10} e le sue frazioni riescono a superare la laringe e penetrano in profondità nel sistema respiratorio; la loro tossicità è dovuta alle sostanze chimiche sulle particelle stesse che provocano broncocostrizione, fenomeni allergici e irritazione diretta delle mucose respiratorie; a livello alveolare polmonare, a seguito dell'ossidazione delle membrane cellulari, si verifica un aumento della permeabilità. Gli effetti cardiovascolari sono dovuti soprattutto alla capacità vasocostrittrice delle polveri; questi effetti sono aggravati dalla concomitante presenza di CO; l'aumentato livello di fibrinogeno plasmatico indotto dagli inquinanti sembra costituire un rischio per eventi cardiovascolari acuti: infarti miocardici e ictus.

Il limite imposto dalla Legislazione attuale per le PM nell'ambiente è di $40\mu g/m^3$, ma è previsto dalla CE il suo abbattimento a $20\mu g/m^3$ entro il 2010; le limitazioni del traffico vengono imposte quando un valore di $50\mu gr/m^3$ o superiore viene registrato per 7 giorni consecutivi. Le variazioni delle concentrazioni di PM_{10} sono state messe in relazione all'aumento di ricoveri ospedalieri per patologie cardiovascolari.



In figura: livello di penetrazione delle diverse granulometrie di particolato nell'apparato respiratorio

1.3 Gli effetti delle polveri sottili sull'uomo (PM_{10} e $PM_{2,5}$)

Gli effetti dannosi del PM_{10} sono legati alle sue caratteristiche chimiche e fisiche. Il particolato contiene infatti una serie di sostanze con effetti tossicologici importanti (aerosol acidi, metalli, idrocarburi ed altri composti organici, endotossine); inoltre alcune delle sostanze adsorbite sulle particelle possono reagire tra loro dando origine ad altre specie chimiche con effetti tossici maggiori di quelle di partenza.

Gli effetti sulla salute sono legati anche alle dimensioni delle particelle: minori sono le dimensioni, maggiore è la superficie disponibile ad adsorbire sostanze biologicamente attive e la capacità di penetrare in profondità nell'apparato respiratorio. Praticamente tutti i giorni si rafforza la tesi che le emissioni inquinanti aumentino il rischio di morte per malattie

cardiovascolari come infarto del miocardio ed ictus e che queste ultime costituiscano i due terzi delle morti totali⁴; a questo si devono aggiungere le morti per malattie polmonari, la mortalità infantile, il peggioramento di patologie preesistenti, ricoveri e perdita di giornate lavorative per le malattie cardiopolmonari già presenti in precedenza e probabilmente diverse altre affezioni come la nuova insorgenza di diabete. Questi fattori di rischio diventano critici in anziani e bambini, ma soprattutto in cardiopatici, diabetici e fumatori⁵.

Tra i principali effetti acuti documentati vi sono:

- aumento della mortalità giornaliera per tutte le cause e in particolare per cause cardiovascolari;
- aumento dei ricoveri per asma e malattia polmonare ostruttiva cronica;
- aumento dei ricoveri per malattie cardiovascolari;
- diminuzione della funzionalità polmonare e aumento dei sintomi respiratori acuti in bambini e adulti.

Effetti a lungo termine

Esposizioni sul lungo termine alle concentrazioni di PM attualmente riscontrabili in Europa possono portare a significative riduzioni della speranza di vita: tale riduzione è da attribuire soprattutto all'aumento delle affezioni cardiopolmonari e ai tumori polmonari.

Gli effetti a lungo termine sono causa di una serie di sintomatologie respiratorie e della diminuzione della funzione

⁴ Health Aspects of Air Pollution with Particulate Matter, Ozone and Nitrogen Dioxide
Health effects of transport-related air pollution
(<http://www.euro.who.int/document/e86650.pdf>)
Health Impacts of Ultrafine Particles, Australian Government Department of environment and heritage 2004

⁵ Scientific statement dell'AHA, Circulation 2004;109:2655

polmonare nei bambini, nonché di malattie polmonari cronic-
ostruttive e della diminuzione della funzione polmonare negli
adulti.

Effetti a breve termine

Lo studio di serie storiche giornaliere ha mostrato che, per
quanto riguarda le esposizioni a breve termine, gli effetti
osservabili a pochi giorni di distanza dai picchi di inquinamento
hanno rilevato l'insorgenza o aggravamento di patologie
cardiovascolari e respiratorie, irritazione delle vie aeree e un
aumento della mortalità.

1.4 Le malattie studiate

1.4.1 L'asma⁶

L'asma è una malattia infiammatoria delle vie aeree
caratterizzata da broncoostruzione reversibile spontaneamente o
dopo trattamento ed associata ad ipersensibilità bronchiale.
Diverse condizioni possono influenzare il decorso della malattia
quali il trattamento, le virosi respiratorie, l'esposizione a fattori
scatenanti quali il fumo di sigaretta, allergeni o l'inquinamento
indoor e outdoor. Oltre al parametro mortalità, gli indicatori del
decorso dell'asma sono la frequenza e gravità dei sintomi
respiratori, il numero di riacutizzazioni e il grado di
compromissione della funzionalità respiratoria.

⁶ <http://www.pneumologia.org>

1.4.2 La cardiopatia⁷

La cardiopatia ischemica è una malattia determinata da un ridotto apporto di sangue al cuore, causato dall'ostruzione o dal restringimento dei vasi che nutrono il muscolo cardiaco, il miocardio. Questi vasi, chiamati arterie coronarie, sono soggetti, come altre arterie di vari distretti corporei, ad un processo di irrigidimento e di deposizione di grassi sulle pareti, fenomeno comunemente noto con il nome di arteriosclerosi, che si sviluppa abitualmente con il trascorrere degli anni. Esiste una differenza fra le due forme principali di tale malattia: l'angina pectoris e l'infarto del miocardio.

L'angina pectoris è determinata da una "transitoria" riduzione del flusso di sangue arterioso al cuore, cioè da un apporto di sangue insufficiente alle richieste di quel preciso momento; ciò comporta uno stato di scarsa ossigenazione del territorio di miocardio irrorato dalle coronarie, noto come ischemia miocardica. Nella grande maggioranza dei casi tale evenienza si manifesta quando un vaso è parzialmente occluso da lesioni arterosclerotiche; in condizioni di riposo esse possono non ostacolare il normale funzionamento cardiaco, ma sotto sforzo o stress impediscono di soddisfare completamente le richieste di ossigeno del muscolo cardiaco.

Nell'infarto miocardico si ha invece la totale chiusura dell'arteria coronarica, quindi un danno irreversibile della porzione di cuore interessata, con morte del tessuto corrispondente. La cardiopatia ischemica è la più comune causa di morte nei paesi industrializzati ed è per tale motivo che è importante conoscerne le cause per poterla prevenire.

⁷ <http://www.cardiologia.net>

Vi sono dei fattori di rischio che predispongono all'insorgenza di questa malattia: valori di colesterolo superiori alla norma, l'ipertensione arteriosa, il fumo di sigaretta, il diabete, lo stress e la vita sedentaria che sono modificabili da terapie medico-dietetiche e da un più regolare stile di vita. Anche la presenza della malattia nella propria famiglia, il progredire dell'età ed il sesso maschile sono considerati importanti fattori di rischio, sui quali ovviamente non è possibile agire. Tra i fattori compare anche l'inquinamento atmosferico: molti studi epidemiologici sostengono che l'aumento di polveri inquinanti, in particolare del PM_{2,5}, e del NO₂, è associato ad un incremento dell'incidenza di infarto al miocardio, aritmia cardiaca e mortalità per cause cardiache in popolazioni sensibili.

Le malattie cardiovascolari ed in particolare la cardiopatia ischemica hanno assunto in Italia, come negli altri paesi industrializzati, un profilo epidemiologico che le mette al primo posto fra le cause di morte e le indica come causa frequente di morbosità ed invalidità precoce. Nei dati sulla mortalità in Italia nell'anno 1988 per le persone con età inferiori a 75 anni, più rilevanti in termini di sanità pubblica, circa 1/3 dei decessi in entrambi i sessi era causato da malattie cardiovascolari e di queste la cardiopatia ischemica era responsabile della metà delle morti nei maschi e di circa 1/3 nelle femmine. Nei maschi la mortalità per cardiopatia ischemica inizia a comparire in modo significativo nella quarta decade di vita e circa 10 anni dopo, nella quinta decade, nelle donne, con una successiva, rapida e parallela crescita con l'avanzare dell'età.

1.5 Base scientifica: esempi di studi recenti⁸

Numerosi studi di coorte hanno evidenziato un'associazione tra inquinamento da PM ed aumento della mortalità per tutte le malattie cardiopolmonari e per tumore al polmone⁹. Due principali studi, uno americano e l'altro europeo, hanno analizzato la mortalità ed i ricoveri ospedalieri nei giorni successivi all'incremento della concentrazione di polveri fini nell'aria urbana, riportando risultati simili. Ad ogni incremento di 10 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ di PM_{10} corrispondeva un aumento pari al 0.5-0.6% della mortalità per tutte le cause ed un aumento compreso tra 0.68% e 0.74% della mortalità per malattie cardiopolmonari¹⁰. Per lo stesso aumento di PM_{10} il numero di ricoveri ospedalieri per malattie polmonari aumentava tra 1% e 5% e per malattie cardiovascolari tra 0.5% e 1.1%¹¹. Mortalità e morbilità includono, per le malattie polmonari, l'asma e la bronchite cronica e, per le malattie cardiache, aritmie, scompenso cardiaco e complicazioni ischemiche acute. Gli incrementi percentuali di queste patologie sono piccoli e molto simili per ognuna; in uno studio sui ricoveri ospedalieri per patologie cardiache, ad esempio, l'incremento dei ricoveri per scompenso cardiaco corrispondeva allo 0.8% e quello per ischemia allo 0.7%.

Un aspetto non ancora sufficientemente chiarito, e come tale ritenuto una assoluta priorità della ricerca¹², riguarda l'esistenza di popolazioni particolarmente suscettibili agli effetti del PM; in

⁸ Protocollo di ricerca studio PRIN. Esposizione a breve termine a polveri fini e malattie cardiopolmonari. Ricerca di correlazioni dose-effetti e dose-risposta a livello individuale

⁹ Dockery et al. 1993, Pope et al. 1995, Abbey et al. 1999, Pope 2000, Green et al. 2002, Phalen 2002, McClellan 2002, Brunekreef e Holgate 2002, Brook et al. 2004, Englert 2004

¹⁰ Zanobetti et al. 2003, Katsouyanni et al. 2001, Samet et al. 2000

¹¹ Zanobetti et al. 2000, Katsouyanni et al. 2001, Atkinson et al. 2001, Le Tertre et al. 2002

¹² National Research Council 1998

uno studio canadese¹³, ad esempio, la mortalità giornaliera è stata osservata crescere in modo lineare all'aumentare dell'inquinamento da particolato in pazienti con infezioni acute del tratto basso, con malattia coronaria cronica (specialmente negli anziani) o con scompenso cardiaco congestizio; nello stesso studio, al contrario, la mortalità non risultò aumentata in pazienti con affezioni croniche del tratto respiratorio alto, malattie delle vie respiratorie, malattie cerebrovascolari, malattie coronariche acute ed ipertensione. Uno studio sui ricoveri ospedalieri ha riportato che i soggetti con asma, infezioni respiratorie acute e disturbi del ritmo cardiaco sono maggiormente a rischio per gli effetti delle polveri fini¹⁴. In soggetti apparentemente sani non è stata invece riscontrata alcuna associazione tra gli indicatori giornalieri di inquinamento ed arresti cardiaci avvenuti al di fuori dell'ospedale¹⁵. Infine, la malattia diabetica sembra conferire un'aumentata suscettibilità agli effetti cardiovascolari del PM₁₀¹⁶, mentre, nel caso dell'asma, la gravità della malattia non sembra influenzare l'effetto delle polveri fini¹⁷.

Sulla base dei maggiori studi epidemiologici, test statistici hanno evidenziato che la scelta del modello lineare sembra la più appropriata per la valutazione delle relazioni dose-risposta; in base a questo modello risulta una correlazione lineare tra PM₁₀, PM_{2,5} ed effetti sulla salute. Anche se, apparentemente, non esiste un limite al di sotto del quale non si osservano gli effetti¹⁸, l'insieme dell'evidenza disponibile non prova né confuta l'esistenza di un limite per gli effetti delle polveri fini. L'insieme degli studi

¹³ Goldberg et al 2001

¹⁴ Zanobetti et al. 2000

¹⁵ Levy et al. 2001

¹⁶ Zanobetti e Schwartz 2002

¹⁷ Hiltermann et al. 1998

¹⁸ EPA 2003

inoltre non soddisfa tutti i criteri di casualità¹⁹ che abitualmente si applicano ai risultati delle indagini epidemiologiche: le associazioni non sono specifiche per un particolare componente dell'inquinamento, la loro forza è, come già detto, modesta, e la plausibilità biologica risulta vaga in assenza di dati clinici e sperimentali di supporto; i risultati negativi non sono riportati così frequentemente come quelli positivi, alcuni studi sono positivi per il PM₁₀, altri per il PM_{2,5}, altri ancora per il particolato totale; alcuni studi correlano gli effetti con i valori medi del PM dei tre giorni precedenti, mentre altri con i cinque giorni precedenti; spesso, infine, non sono stati considerati i numerosi fattori di confondimento, quali le variazioni stagionali, il giorno della settimana, le variabili metereologiche, la qualità e gli usi dei combustibili, gli stili di vita e le diverse attività svolte dagli individui nell'arco del tempo considerato.

Poco numerosi sono gli studi caratterizzati da un approccio fisiopatologico che hanno analizzato le funzioni respiratorie e cardiache ed i relativi fattori di rischio in rapporto all'inquinamento da PM. Gli studi che hanno valutato le associazioni tra sintomatologia respiratoria giornaliera e/o funzionalità polmonare ed inquinamento da polveri fini sono stati in larga parte riassunti da Pope (2000); alcuni di questi sono stati effettuati su soggetti asmatici, altri hanno osservato soggetti sani e valutato in termini generali eventuali variazioni delle condizioni respiratorie. Piccole associazioni, spesso significative, sono state riscontrate tra concentrazioni ambientali di polveri fini e sintomi riferibili al tratto respiratorio alto, mentre associazioni più consistenti sono state trovate con i sintomi riferibili al tratto respiratorio basso e con la tosse. Associazioni significative sono

¹⁹ Hill 1964

state anche osservate tra inquinamento da polveri fini ed esacerbazione dell'asma, sulla base della sintomatologia, della frequenza degli attacchi asmatici e/o dell'aumento dell'uso di broncodilatatori²⁰. Altri studi hanno riportato misure ripetute della funzionalità polmonare in gruppi di bambini e/o adulti²¹ ed hanno tipicamente osservato riduzioni molto piccole, spesso statisticamente significative, della funzionalità polmonare nei giorni successivi all'aumento della concentrazione di polveri fini. Recentemente Schaumann et al. (2004) hanno studiato in soggetti sani gli effetti di una instillazione endobronchiale di una sospensione di PM_{2,5} raccolto da due diverse città (un'area industriale di fonderie e un'area rurale controllata). La sospensione di PM_{2,5} di ambedue le città ha indotto un incremento del numero di cellule totale nel lavaggio broncoalveolare, ma solo l'installazione di PM_{2,5} proveniente dalla zona industriale ha determinato un selettivo reclutamento di un'elevata produzione di radicali ossidanti; la più alta concentrazione di metalli di transizione del PM_{2,5} di provenienza industriale potrebbe essere responsabile dell'aumento di questi parametri di infiammazione.

Alcuni studi hanno dimostrato come l'esposizione a PM induca modificazioni significative dell'attività neurovegetativa a livello cardiaco²². In uno studio su volontari sani l'esposizione per due ore a PM_{2,5} (150 µg/m³) ed ozono (120 ppb) causò una significativa costrizione dell'arteria brachiale senza però produrre immediatamente alterazioni vasomotorie endotelio-dipendenti ed indipendenti. Altri studi hanno preso in considerazione vari parametri ECG-grafici a riposo²³ e dopo sforzo²⁴; ad esempio in un

²⁰ Desqueyroux et al. 2002, Delfino et al. 2002

²¹ Penttinen et al 2001, Just et al. 2002

²² Gong et al. 2004, Liao et al 2004

²³ Zareba et al. 2001

gruppo di volontari anziani è stata studiata la funzione di autonomia cardiaca in rapporto alle concentrazioni di PM_{2,5}²⁵; è stata riscontrata una correlazione inversa tra la componente ad alta frequenza della variabilità della frequenza cardiaca e la concentrazione di PM_{2,5}: un aumento di 10 µg/m³ di PM_{2,5} era associato con una variazione del 5% della componente ad alta frequenza e l'effetto era più marcato in pazienti ipertesi.

La maggior parte degli studi sinora riportati ha valutato l'esposizione usando campionamenti di tipo fisso situati in alcuni punti delle aree urbane; per questo la stima dell'esposizione individuale rimane incerta, infatti le correlazioni tra livelli ambientali di PM e l'esposizione personale sono assenti o deboli²⁶. Questo avviene anche perché nell'esposizione a PM è rilevante non solo l'inquinamento outdoor ma anche il contributo fornito dall'ambiente indoor²⁷, a causa del passaggio di particolato dall'esterno verso l'interno e per la presenza di fonti di inquinamento legate ad attività umane²⁸.

²⁴ Pekkanen et al. 2002

²⁵ Holguin et al. 2003

²⁶ Spengler et al 1985, Linn et al. 1996, Ozkaynak et al. 1996, Clayton et al. 1993

²⁷ Rojas-Bracho L., Suh HH, Koutrakis P., *Relationship among personal, indoor, and outdoor fine and coarse particle concentrations for individuals with COPD*, Journal Expo Anal Environments Epidemiology, 2000, Vol. 10, pag 294-306

S. Gauvin, P. Reungoat, S. Cassadou, J. Déchenaux, I. Momas, J. Just, D. Zmirou, *Contribution of indoor and outdoor environments to PM 2.5 personal exposure of children – VESTA study*, The Science of the Total Environment, 2002, Vol. 297, pag 175-181

A.H. Janssen, Gerard Hoek, Bert Brunekreef, Hendrik Harssema, Iwan Mensink, Arjan Zuidhof, *Personal sampling of Particles in Adults: Relation among Personal, Indoor and outdoor air concentration*, American Journal of Epidemiology, 1998, Vol. 147, pag 537-547

²⁸ Abt et al. 2000, Monn et al. 1997, Monn 2001, Thatcher e Layton 1995

Capitolo 2

LO STUDIO PRIN

2.1 Introduzione

Prima di intraprendere uno studio epidemiologico occorre esplicitare il problema in esame e porsi chiaramente gli obiettivi, definire il disegno dello studio, identificare la base di popolazione a cui si fa riferimento, specificare gli eventi (casi di malattia o altri eventi sanitari) che si intendono studiare, verificare le fonti informative, dimensionare lo studio stesso, considerare i costi anche in rapporto ad altre possibili soluzioni del problema. Si tratta quindi di compiere una serie di fasi che permettano di iniziare in maniera sicura lo studio, cercando di prevedere a priori tutte le casistiche ed i problemi che si possono verificare in corso d'opera, così da avere già a disposizione gli strumenti per affrontarli e risolverli. Questo complesso insieme di procedure prende il nome di *disegno di studio*.

Lo studio PRIN è uno studio di tipo analitico in quanto mira allo stabilire l'esistenza di un'associazione tra l'inquinamento,

ovvero il fattore di esposizione, e gli eventi sanitari considerati, cioè la cardiopatia. I risultati di questo tipo di studi servono all'inferenza, ovvero sono estesi a tutta la popolazione da cui si è estratto il campione studiato.

Il PRIN è uno studio longitudinale in quanto i soggetti sono sottoposti a misurazioni ripetute per un anno: le misurazioni cliniche su di essi effettuate saranno messe in relazione con le rilevazioni compiute dall'ARPAV delle sostanze inquinanti PM₁₀, PM_{2,5}, NO₂, SO₂, CO e O₃.

Va chiarito poi un altro punto: in ambito epidemiologico non si parla di correlazione; il rapporto causale tra due caratteri prende il nome di *associazione*. L'analisi consiste nello stabilire l'esistenza o meno di una relazione positiva o negativa tra la frequenza di un'esposizione (nel nostro caso l'esposizione agli inquinanti atmosferici) ed il verificarsi degli eventi in studio (riacutizzazione della cardiopatia). Nel caso in cui i dati raccolti confermino l'associazione tra le due variabili, il fattore di esposizione prende il nome di *determinante* dell'evento studiato.

Una volta determinata la popolazione di riferimento nei contenuti, nel tempo e nello spazio, l'epidemiologo deve stabilire, con un certo margine di discrezionalità, ma sempre e comunque tenendo conto di quanto il background indica, i criteri, ovvero le regole, secondo le quali selezionare dalla popolazione gli individui che saranno oggetto di studio. La numerosità ottimale della popolazione oggetto di studio viene stabilita tenendo in considerazione una molteplicità di fattori quali il costo fisso e per osservazione, la presenza di molte variabili da rilevare, l'errore campionario che si intende tollerare e la varianza del fenomeno osservato. È proprio da quest'ultimo valore che, con procedure adeguate di calcolo, si determina la cosiddetta "numerosità

campionaria”; dal momento che la variabilità dei fenomeni in studio non è nota a priori, è necessario ricavare queste informazioni da studi pilota oppure da studi simili – per scopi e per popolazione di riferimento – effettuati precedentemente. Le operazioni compiute per la determinazione del numero di soggetti da sottoporre allo studio verranno specificate in seguito.

Tutte le informazioni necessarie per comprendere l’organizzazione del progetto sono contenute nel *protocollo di ricerca*²⁹ cioè in quel documento che fornisce tutte le fasi operative di uno studio, descrivendole accuratamente anche a livello tecnico. Per lo studio PRIN i protocolli di ricerca sono due: un primo generico steso dall’ARPAV e l’altro specifico per lo studio dei pazienti cardiopatici.

Lo scopo del protocollo generale è quello di presentare il disegno scientifico dello studio con relativa pianificazione per lo svolgimento e sviluppo della fase esecutiva del progetto e con una valorizzazione dei costi. Il secondo documento invece entra nello specifico dello studio per quanto riguarda gli effetti dell’inquinamento atmosferico nel gruppo di cardiopatici.

²⁹ Protocollo di ricerca studio PRIN. Esposizione a breve termine a polveri fini e malattie cardiopolmonari. Ricerca di correlazioni dose-effetti e dose-risposta a livello individuale

2.2 Materiali e metodi

2.2.1 Selezione della coorte

Il gruppo di soggetti da seguire per l'anno di durata dello studio PRIN sono persone affette da patologie cardiache. Per la determinazione della numerosità del gruppo è prima necessario stabilire i criteri di eleggibilità degli individui: solo se rispondenti a caratteristiche predeterminate i pazienti possono essere inseriti nel progetto di studio.

Sono stati considerati criteri di esclusione:

- non compliance,
- lavoro fuori dal Comune di Padova,
- malattie concomitanti che interferiscano con la malattia di base e con lo svolgimento dello studio.

Una volta decisi questi criteri, è stato selezionato un campione di 40 soggetti della coorte da sottoporre allo studio.

Per la selezione della coorte sono stati identificati i soggetti residenti nel comune di Padova con almeno un infarto del miocardio avvenuto tra il 1999 e il 2005; per fare questo sono state prese in considerazione le SDO (Schede di Dimissione Ospedaliera).

Tutti i dati su cui si è effettuata la selezione, le schede di dimissione ospedaliera e le prescrizioni farmaceutiche, sono stati forniti dall'ULSS n°16 di Padova, in particolare dal suo C.E.D. (Centro Elaborazione Dati).

I codici per i soggetti che presentano malattie del sistema circolatorio sono:

CODICE

(ICD IX) MALATTIE DEL SISTEMA CIRCOLATORIO

390---392	REUMATISMO ARTICOLARE ACUTO
393---398	CARDIOPATIE REUMATICHE CRONICHE
401---405	IPERTENSIONE ARTERIOSA
<u>410---414</u>	<u>MALATTIE ISCHEMICHE DEL CUORE</u>
415---417	MALATTIE DEL CIRCOLO POLMONARE
420---429	ALTRE MALATTIE DEL CUORE
430---438	MALATTIE CEREBROVASCOLARI
440---448	MALATTIE DELLE ARTERIE, ARTERIOLE E CAPILLARI MALATTIE DELLE VENE E DEI VASI LINFATICI ED ALTRE
451---459	MALATTIE DEL SISTEMA CIRCOLATORIO

Tra tutti gli appartenenti a questa categoria si è preso in considerazione il sottogruppo di “Malattie ischemiche del cuore” per trovare il codice relativo agli individui infartuati.

CODICE

(ICD IX) MALATTIE ISCHEMICHE DEL CUORE

410 Infarto miocardico acuto

411	Altre forme acute e subacute di cardiopatia ischemica
412	Infarto miocardio pregresso
413	Angina pectoris
414	Altre forme di cardiopatia ischemica cronica

Si è cercato di verificare quanti di questi soggetti infartuati avessero sofferto in precedenza di patologie cardiache; per fare questo si è partiti dalle prescrizioni di farmaci e da qui si è individuato un gruppo di soggetti che avessero ricevuto per ogni anno (dal 2001 al giugno 2005) almeno una prescrizione di medicinali per cardiopatici.

La classificazione dei farmaci è denominata ATC ovvero Classificazione Anatomica Terapeutica Chimica. Si tratta di un sistema d'identificazione dei farmaci curato dal Nordic Council on Medicine e dal WHO/OMS Collaborating Centre for Drug Statistics

Methodology di Uppsala (Svezia). Nel sistema ATC i farmaci sono suddivisi in diversi gruppi in rapporto all'organo bersaglio, al meccanismo d'azione e alle caratteristiche chimiche e terapeutiche del principio attivo che essi contengono; ciascun gruppo principale è suddiviso in 5 livelli gerarchici secondo lo schema sotto proposto:

Tabella 2.1: Classificazione farmaci

LIVELLO	CATEGORIA	contraddistinta da...
I	Gruppo anatomico principale	una lettera dell'alfabeto
II	Gruppo terapeutico principale	un numero di 2 cifre
III	Sottogruppo terapeutico	una lettera dell'alfabeto
IV	Sottogruppo chimico/terapeutico	una lettera dell'alfabeto
V	Sottogruppo chimico	un numero di 2 cifre specifico per ogni singola sostanza chimica

I 14 gruppi anatomici principali sono i seguenti:

- A apparato gastrointestinale e metabolismo
- B sangue ed organi emopoietici
- C sistema cardiovascolare
- D dermatologici
- G sistema genito-urinario ed ormoni sessuali
- H preparati ormonali sistemici, esclusi gli ormoni sessuali
- J antimicrobici generali per uso sistemico
- L farmaci antineoplastici ed immunosoppressori
- M sistema muscolo-scheletrico
- N sistema nervoso centrale
- P farmaci antiparassitari
- R sistema respiratorio
- S organi di senso
- V vari

I farmaci presi in considerazione per i malati di patologie cardiache appartengono al gruppo anatomico principale contraddistinto dalla lettera C (farmaci per sistema cardiovascolare). I gruppi terapeutici principali appartenenti a questa categoria sono i seguenti:

- C01 terapia cardiaca
- C02 antipertensivi
- C03 diuretici
- C04 vasodilatatori periferici
- C05 vasoprotettori
- C07 betabloccanti
- C08 calcioagonisti
- C09 sostanze ad azione sul sistema renina-angiotensina

Volendo studiare l'effetto dell'inquinamento atmosferico in particolare nei cardiopatici ischemici, i medicinali su cui fare la selezione sono i nitroderivati di codice C01DA. Tra tutti gli appartenenti a questa categoria si è preso in considerazione il sottogruppo chimico/terapeutico dei vasodilatatori e, tra questi, il sottogruppo chimico dei nitrati organici.

C01D vasodilatatori usati nelle malattie cardiache

C01DA nitrati organici

C01DA02 nitroglicerina

C01DA05 pentaeritritile tetranitrato

C01DA08 isosorbide dinitrato

C01DA13 eritritile tetranitrato

C01DA14 isosorbide mononitrato

C01DA38 tenitramina

Per ogni anno, dal 2001 a giugno 2005, era a disposizione un database contenente due tipologie di informazioni:

- dati anagrafici degli assistiti: codice sanitario, codice fiscale, sesso, data di nascita, residenza (attuale e precedente se diversa) di ogni soggetto;

- dati delle prescrizioni ricevute: codice della struttura erogante il farmaco (farmacia), codice del medico prescrivente, data di vendita per ogni prescrizione, ATC del farmaco prescritto (codice del farmaco), descrizione del farmaco (ovvero il suo nome completo), numero di confezioni per ogni prescrizione.

Naturalmente non tutte queste informazioni sono risultate utili per le analisi descrittive dei soggetti.

Il codice del farmaco preso in considerazione è il C01DA08 (isosorbide dinitrato) ed è stato suggerito di considerare come farmaco per la selezione dei soggetti il Carvasin 50 in compresse sublinguali da 5 mg; tramite l'archivio elettronico sono stati selezionati i soggetti che corrispondevano alle caratteristiche richieste.

2.2.2 Disegno dello studio

Il protocollo PRIN prevede lo svolgimento di 3 visite mediche da effettuarsi presso la Clinica Cardiologia dell'Università di Padova e presso l'ambulatorio di Fisiopatologia respiratoria del Dipartimento di Medicina Ambientale e Sanità Pubblica dell'Ospedale Giustiniano di Padova.

La prima visita si è svolta nei mesi di giugno-luglio 2006. La seconda visita è nei mesi di gennaio e febbraio, la terza visita sarà di mesi di aprile e maggio. I periodi dell'anno individuati per l'effettuazione delle visite sono corrispondenti a livelli diversi di inquinamento atmosferico. Da studi effettuati si sono rilevati 3

momenti nell'anno in cui i livelli di inquinamento da polveri (PM₁₀ e PM_{2,5}) cambiano comportamento: nel periodo invernale di gennaio-febbraio l'aria è caratterizzata da un alto livello di particolato ed un basso livello di ozono; in estate, nel bimestre giugno-luglio, avviene il contrario; nel periodo primaverile ed autunnale si presenta una situazione intermedia.

Per analizzare quindi gli effetti dell'inquinamento sulla patologia cardiaca si è pensato di visitare i pazienti in questi periodi dell'anno al fine di studiare la differenza presente nei diversi periodi nonché il diverso effetto delle polveri.

Visite

Ai soggetti che hanno aderito alla fase di reclutamento, e sono stati quindi segnalati come partecipanti allo studio, è stato fissato l'appuntamento per la prima delle visite previste dal protocollo PRIN presso la Clinica Cardiologia dell'Università di Padova. La visita è suddivisa in due giorni. La prima volta che si presentano essi sono informati sullo svolgimento della ricerca ed è chiesto loro di firmare il consenso informato, poi sono state rilevate la seguente serie di informazioni attraverso un questionario faccia a faccia:

- dati anagrafici;
- dati personali: fumo attivo e passivo, abitazione, attività professionale e storia dell'attività lavorativa, mezzo di trasporto abitualmente utilizzato, attività sportiva e hobby, dati sugli animali domestici. Studi precedenti hanno rilevato l'importanza della conoscenza di informazioni riguardanti le abitudini di vita dei soggetti per poter svolgere analisi più approfondite e complete; nello studio

PRIN questi dati saranno utili ai medici per avere un quadro clinico completo dei pazienti;

- storia clinica e anamnesi, ovvero informazioni su pregressi problemi ai diversi apparati/sistemi/organi del corpo;
- storie di allergia e asma.

Per ognuna delle 3 visite sono applicati a ciascun paziente 3 apparecchi per la rilevazione dell'inquinamento individuale (campionatore individuale) e un ECG dinamico secondo Holter, cioè un elettrocardiogramma portatile che il paziente deve tenere con se 24 ore. Il giorno successivo, sempre presso la Clinica Cardiologia, dopo che al soggetto sono state smontate le apparecchiature si richiede la compilazione di un foglio per venire a conoscenza della terapia in atto (diario clinico) e poi si procede con la visita che comprende i seguenti esami:

- ecocardiogramma;
- misurazione della pressione da disteso e da seduto;
- ecodoppler carotideo.

Terminati gli esami cardiologici, i pazienti si dirigono presso il Dipartimento di Medicina Ambientale e Sanità Pubblica per sottoporsi ad un'altra visita per valutare i parametri respiratori ed altri parametri chiesti agli asmatici:

- prove di funzionalità respiratoria (FVC, FEV1);
- raccolta del condensato (pH, LTB4, analisi dei metalli presenti);
- raccolta NO espirato;
- analisi dell'espettorato;
- analisi del sangue (per vedere lo stato infiammatorio).

2.2.2.1 Il campionatore individuale³⁰

Un elemento importante di questo studio, rispetto a precedenti studi effettuati sugli effetti dell'inquinamento atmosferico, è la misurazione individuale dei principali inquinanti. Il giorno prima delle visite ogni soggetto si presenta nella sede prestabilita per ritirare 3 strumenti necessari alla rilevazione del particolato PM₁₀, PM_{2,5} e le loro frazioni presenti nell'aria degli ambienti in cui il soggetto vive una giornata tipo.

Per la valutazione dell'esposizione individuale a PM₁₀ e PM_{2,5} nella coorte di soggetti cardiopatici sono stati scelti rispettivamente degli impattori a singolo stadio, "Personal Environmental Monitor" (PEM) della SKC da collegare a pompe aspiranti a batteria e funzionanti ad un flusso di 2L/min o 4 L/min, e degli impattori multi-stadio a cascata "Personal cascade impactor sampler-Sioutas" (PCIS) della SKC, da collegare a pompe funzionanti ad un flusso di 9 L/min. Il PCIS è in grado di raccogliere il particolato di differenti classi granulometriche nel seguente range di diametro aerodinamico: <0.25, 0.25-0.5, 0.5-1, 1-2.5, 2.5-10 µm e permette inoltre di conoscere la concentrazione di PM₁₀ e PM_{2,5} come sommatoria delle frazioni <10 e <2.5 µm.

Preliminarmente alle campagne di monitoraggio è stato condotto uno studio di validazione dei PEM e dei PCIS mediante un confronto con i sistemi di prelievo utilizzati da ARPAV per la misura dell'inquinamento ambientale a PM. L'analisi statistica dei dati secondo Bland and Altman³¹ ha evidenziato come i PEM tendano a fornire una modesta sovrastima della concentrazione di

³⁰ Scapellato ML, Tessari R, Bonfiglio E, Benassi A, Tieppo P, De Bortoli A, Serraino S, Carrieri M, Maccà I, Gori G, Bartolucci GB. Studio di validazione dei selettori per il campionamento personale di PM₁₀ e PM_{2,5}: confronto fra selettori PEM e teste di prelievo CEN-ARPAV. *G Ital Med Lav Erg*, 27 (3): 362-366, 2005.

³¹ Lancet, 1995

PM raccolta; le differenze riscontrate tra i due metodi appaiono tuttavia accettabili se si considera che i campionamenti sono stati effettuati con due sistemi di prelievo diversi e le pesate dei filtri effettuate presso due laboratori diversi.

Il reparto di Medicina del Lavoro si è occupato del campionamento, dell'analisi ponderale del particolato. I filtri di raccolta sono stati sottoposti ad analisi al fine di effettuare l'analisi morfologica e chimica delle particelle e delle eventuali fibre presenti.

La valutazione clinica dei pazienti è stata effettuata il giorno dopo il monitoraggio dell'esposizione individuale.

Il decorso della malattia coronarica è stato valutato, presso la Clinica Cardiologica dell'Università di Padova, dal peggioramento o dalla recidiva della sintomatologia anginosa e dall'incidenza di eventi aritmici maggiori quali tachicardie ventricolari sostenute e non sostenute.

I fattori interferenti sono stati valutati con diario clinico e questionario oltre che con analisi chimico cliniche specifiche. La valutazione degli eventi coronarici è stata effettuata studiando la modificazione della funzione endoteliale con due metodiche: Flow mediated vasodilation e Laser Doppler Fluometry. Sono state anche considerate le modificazioni dell'attività neurovegetativa diretta al sistema cardiovascolare.

2.2.2.2 Esami cardiologici

Valutazione della funzione endoteliale

Flow Mediated Vasodilation

Questo parametro è espressione della produzione di ossido nitrico (NO) da parte dell'endotelio del vaso arterioso studiato. In

caso di vasodilatazione ridotta o assente si riconosce una disfunzione endoteliale. La dilatazione indotta dal flusso si misura in genere sulla arteria brachiale, vaso di conduttanza facilmente accessibile.

Sono molteplici i fattori che possono influenzare la reattività vascolare mediata dal flusso; sono inclusi la temperatura, il cibo, i farmaci ed altro ancora. Per tale motivo lo studio è stato eseguito in pazienti a digiuno da almeno 8-12 ore e condotto in un ambiente tranquillo, con una temperatura compresa tra i 20 e i 24°C.

Il paziente veniva posto in una posizione confortevole, supino, con il braccio perpendicolare rispetto al corpo. L'ischemia veniva indotta posizionando la cuffia di uno sfigmomanometro a livello dell'avambraccio per 5 minuti. Sono state effettuate almeno tre misurazioni, del calibro dell'arteria prima e dopo l'aumento del flusso. Dalla media delle misurazioni prima e dopo l'aumento del flusso si calcola la percentuale di vasodilatazione indotta; si riprende poi la registrazione dopo 4 minuti dal momento in cui si è gonfiata la cuffia e allo scadere dei 5 minuti vanno registrati altri 60 secondi.

Per poter analizzare la vasodilatazione endotelio-indipendente sono stati fatti trascorrere non meno di 5 minuti dalla precedente prova ed è stata somministrata della nitroglicerina (0,3 mg) per via sublinguale. La massima risposta si otteneva dopo 3-4 minuti (va eseguita una registrazione continua). Anche in questo caso veniva considerata la variazione percentuale del diametro del vaso.

Laser Doppler Flowmetry

Il Laser Doppler Flowmetry è un metodo non invasivo utilizzato per lo studio del microcircolo cutaneo. Si utilizza una luce laser rossa che viene in parte assorbita e in parte riflessa dalla cute. L'intensità del segnale, captato dalla sonda, dipende dalla velocità e dalla concentrazione dei globuli rossi.

L'iperemia reattiva post-occlusione così valutata permette di studiare ulteriormente la vasodilatazione endotelio-dipendente, esplorando in questo caso i capillari e le arteriole. Come nel Flow Mediated Vasodilation vanno ricreate tutte quelle condizioni che riducono al minimo l'influenza di fattori esterni sulla reattività vascolare; l'area cutanea considerata viene generalmente scelta a livello dell'avambraccio, a 5-10 cm dal polso. Utilizzando la cuffia di uno sfigmomanometro si crea una pressione per 5 minuti a livello del braccio. Nel laboratorio di cardiologia si hanno a disposizione due apparecchi per la rilevazione di tali dati: il Periscan e il Perimed.

Utilizzando il Periscan è stata eseguita una misurazione prima di gonfiare la cuffia, dopo 4 minuti dall'inizio dell'ischemia, al momento in cui si sgonfia la cuffia (al 5° minuto), e allo scadere del 6° minuto. Ciò ha permesso di valutare la variazione percentuale del flusso rispetto ad un valore di base. Utilizzando l'apparecchio "Perimed" è stata invece eseguita una registrazione continua della variazione delle unità di perfusione nel tempo, per un massimo di 10 minuti. In questo caso è stato valutato il picco di iperemia raggiunto, il tempo impiegato per raggiungerlo e il tempo impiegato per tornare ad un valore che fosse pari alla metà dell'iperemia ottenuta.

Valutazione dell'attività neurovegetativa

Lo studio prevede l'analisi dell'attività neurovegetativa condotta nel dominio del tempo.

Questa analisi viene ottenuta mediante l'applicazione di un Holter; questo apparecchio consiste in un semplice registratore portatile delle dimensioni di circa 10 cm per 5 cm per 3 cm. L'apparecchio, legato in vita da una cintura, è collegato alla pelle del paziente attraverso dei sottili cavi connessi ad elettrodi adesivi. Subito dopo l'applicazione lo strumento inizia la registrazione che può avvenire su una normale cassetta per registratore o su una memoria elettronica all'interno dell'apparecchio. Il paziente può tornare alle proprie occupazioni portando con se l'apparecchiatura e può così svolgere le sue abituali attività.

La registrazione avviene ininterrottamente durante tutto il giorno e tutta la notte fino al quando, col ritorno del paziente all'ambulatorio, lo strumento viene rimosso. Al paziente viene in genere fornito un diario su cui annotare l'orario delle principali attività svolte o degli eventuali sintomi; in questo modo sarà possibile al medico che valuta l'esame verificare l'aspetto dell'elettrocardiogramma durante le manifestazioni dei sintomi e correlare eventuali alterazioni elettrocardiografiche con i sintomi stessi o con quello che il paziente stava facendo.

Le registrazioni, la raccolta dati e la loro elaborazione sono eseguite in accordo con i suggerimenti espressi nelle linee guida della Task Force della "European Society of Cardiology" e della "North American Society of Pacing and Electrophysiology".

Valutazione degli eventi aritmici

La valutazione degli eventi aritmici viene effettuata con l'analisi di registrazioni Holter 24h, sulla base di informazioni riportate nel diario clinico e su eventuali referti elettrocardiografici raccolti nel periodo di follow-up.

2.2.2.3 Prove di funzionalità respiratoria

Valutazione dell'indice di ostruzione (test di funzionalità respiratoria)

I volumi polmonari mobilizzabili sono stati misurati secondo le direttive dell'E.R.S. (European Respiratory Society) mediante spirometro a secco (PFT Horizon 9005, Sensor Medics, Milano). Sono stati utilizzati i migliori valori di capacità vitale forzata (FVC) e volume espiratorio massimo in un secondo (VEMS), ottenuti da 3 prove effettuate da ogni soggetto. I valori della CVF e del VEMS sono stati espressi come percentuale del valore teorico di riferimento utilizzando come valori normali predetti per la spirometria quelli della Comunità Europea di Carbon et de l'Acier (CECA 71). In accordo con i criteri stabiliti dall'American Thoracic Society il rapporto $VEMS/FVC < 70\%$ è stato valutato come indice di ostruzione. La misurazione del VEMS è stata eseguita per ogni paziente sempre nelle medesime condizioni; laddove tali condizioni non sono state rispettate il valore del VEMS è stato eliminato.

Valutazione dell'infiammazione (misura dell'ossido nitrico esalato (NO))

La misura dell'NO esalato è stata eseguita in singolo respiro attraverso un analizzatore a chemiluminescenza (NIOX version

2.0, Aerocrine AB, Solna, Svezia), in grado di registrare in tempo reale i valori dell'NO esalato che venivano riprodotti in forma di grafico concentrazione/tempo su un monitor collegato all'analizzatore. L'NO esalato viene calcolato automaticamente dal software dell'analizzatore e viene espresso come concentrazione di NO esalato frazionato (FeNO) misurato in parti per bilione (ppb), una misura di concentrazione equivalente a nl/litro. È stata utilizzata la procedura suggerita dall'American Thoracic Society, con il paziente seduto senza l'uso di uno stringinaso. Dopo una espirazione massimale i soggetti inspirano, fino a capacità polmonare totale, aria priva di NO attraverso un boccaglio collegato tramite un tubo di teflon, all'analizzatore. L'espirazione successiva dura 12 secondi e viene condotta contro una pressione positiva per chiudere il palato molle ed escludere così il contributo delle cavità nasali all'aria espirata. La pressione di espirazione veniva mantenuta costante dal paziente grazie ad un indicatore di pressione che compare sul monitor durante l'esecuzione della misura; questo permetteva di mantenere un flusso espiratorio costante di 50 ml/sec per tutta la durata della prova.

Per ogni paziente è stata calcolata la media di tre misure della concentrazione di monossido d'azoto (NO) espressa in ppb.

Valutazione degli effetti dell'inquinamento (misurazione del pH nel condensato dell'aria espirata)

La raccolta del condensato è eseguita facendo respirare il paziente a volume corrente tramite una valvola a due vie, utilizzata come boccaglio, e collegata per mezzo di tubi al sistema di refrigerazione costituito da una provetta di polietilene (Falcon da 50 ml monouso) munita di tappo, con via di entrata e di uscita per il flusso respiratorio. La provetta viene posta nella camera di

condensazione costituita da un contenitore termico contenente un sacchetto di gel refrigerante precedentemente congelato a -80°C . Dal condensato totale è stata raccolta un'aliquota di 200 μl per la misura, eseguita grazie ad un pHmetro, del pH. Ogni misurazione è stata effettuata in doppio.

2.2.3 Metodi statistici

2.2.3.1 Selezione del campione

In linea generale la numerosità di un qualsiasi campione da studiare va determinata secondo formule matematiche che necessitano della conoscenza della variabilità della popolazione di riferimento o perché direttamente calcolata con un'indagine pilota (ovvero una sorta di pre-indagine che simula lo studio stesso al fine di perfezionarlo e di correggerne eventuali errori prima del suo inizio definitivo) oppure perché presa da studi precedenti, sul medesimo tema, trovati in letteratura.

La numerosità del campione è stata calcolata in base alla variazione attesa dei parametri primari. Un numero di 32 pazienti risulta sufficiente per respingere l'ipotesi nulla con una potenza del 90% e livello di significatività del 5%. Poiché si prevede di perdere durante il follow-up circa il 20% della casistica, vengono reclutati per lo studio 40 soggetti.

2.2.3.2 Variabili in analisi

Nelle tabelle successive sono riportate, con a lato una breve descrizione, le variabili considerate per le analisi, suddivise in variabili dipendenti, variabili confondenti, variabili espositive. Come variabili dipendenti vengono considerate ai fini dell'analisi, le variabili del sistema neurovegetativo, le variabili dell'esame

cardiologico, le prove di funzionalità respiratoria e NO; come fattori di confondimento vengono presi in considerazione la terapia, il fumo e i fenomeni atmosferici; infine come variabili espositive abbiamo a disposizione i dati degli inquinanti atmosferici del campionamento individuale e arriveranno i dati dell'ARPAV.

Tabelle 2.2: Variabili dipendenti

- SISTEMA NEUROVEGETATIVO

Nome	Significato
<i>Numero B.E.V. isolati</i>	battiti ectopici ventricolari, cioè battiti prematuri ventricolari dovuti a un focus elettrico prematuro del ventricolo. A meno che non siano estremamente frequenti, i BEV isolati causano poche alterazioni emodinamiche e sono solitamente asintomatici.
<i>Numero coppie V</i>	numero coppie battiti prematuri ventricolari (BPV).
<i>SDNN 24h</i>	Standard Deviation Normal beat to Normal beat. Media delle deviazioni standard ottenute in registrazioni di 5 minuti, misurata in 24 ore
<i>RMSSD 24h</i>	radice quadrata della media delle differenze al quadrato tra intervalli RR (da battito a battito) normali adiacenti in 24 ore
<i>SDANN 24h</i>	deviazione standard della media di 5 minuti degli RR (da battito a battito) normali misurata in 24 ore
<i>pNN50</i>	è calcolato come percentuale degli eventi atriali spontanei il cui periodo differisce dal precedente di almeno 50 ms.
<i>HF</i>	High frequency
<i>LF</i>	Low frequency

- ESAMI CARDIOLOGICI

Nome	Significato
<i>Indice gamba braccio</i>	Rapporto tra la pressione sistolica alla gamba e quella al braccio in clinostatismo
<i>Picco sistolico di velocità post occlusione</i>	Massima velocità del flusso nei primi 15 sec di iperemia
<i>Variazione picco sistolico</i>	Differenza in cm/sec della velocità del flusso prima e dopo l'occlusione
<i>Variazione diametro arteria brachiale</i>	Differenza in % tra il diametro pre e post somministrazione nitrati
<i>Peak flow</i>	Picco di flusso all'iperemia
<i>Time to max</i>	Tempo impiegato per arrivare al Massimo (peak flow)

- PROVE DI FUNZIONALITÀ RESPIRATORIA

Nome	Significato
<i>FEV1 oss / teorico</i>	Volume espiratorio massimo in 1 secondo
<i>Ostruzione bronchiale</i>	FEV1/FVC < 87% del valore teorico

- RACCOLTA NO

Nome	Significato
<i>No medio</i>	Ossido nitrico espirato

- ESPETTORATO

Nome	Significato
<i>Eosinofili</i>	Globuli bianchi aventi il compito principale di difendere l'organismo da alcuni tipi di parassiti. Gli eosinofili aumentano anche nelle malattie allergiche (asma bronchiale, rinite allergica, orticaria ecc.) e possono essere responsabili di alcuni sintomi caratteristici di queste malattie.
<i>Macrofagi</i>	Sono fagociti che inglobano antigeni, cellule infette, danneggiate o vecchie e si stabiliscono nei tessuti avvertendo le cellule T helper e le cellule B della presenza di un particolare antigene. Intervengono quando è in corso un'inflammatione, nella risposta immunitaria, sia cellulo-mediata sia anticorpale.
<i>Neutrofili</i>	Globuli bianchi aventi il compito principale di difendere l'organismo dalle infezioni, specie se causate da batteri. Contengono diverse proteine e sostanze in grado di danneggiare irreversibilmente le membrane (strutture che delimitano le cellule) dei microrganismi patogeni (cioè responsabili delle malattie).
<i>Linfociti</i>	Globuli bianchi comprendenti diversi sottotipi, di cui i principali sono i linfociti B, i linfociti T e le cosiddette cellule Natural Killer. I linfociti B producono anticorpi, importanti nella difesa dell'organismo dalle infezioni. I linfociti T non producono anticorpi, ma altre sostanze importanti nella difesa dalle infezioni, soprattutto quelle causate da virus. Sono in grado di riconoscere cellule estranee e svolgono un ruolo essenziale nella difesa dell'organismo dai tumori e nel rigetto dei trapianti.

- SANGUE

Nome	Significato
<i>Dose PCR sierica</i>	Proteina C Reattiva Sierica, Esame di laboratorio eseguito per valutare la presenza di uno stato infiammatorio

Tabelle 2.3: Variabili confondenti

- TERAPIA

Nome	Significato
<i>Aspirina</i>	Farmaco che modifica il microcircolo
<i>Nitrati</i>	Farmaci vasodilatatori che riducono la vasodilatazione della brachiale ottenuta con l'iperemia e il nitrato sublinguale.
<i>ACE inibitori</i>	Farmaci che dovrebbero migliorare la funzione endoteliale.
<i>Sartani</i>	Farmaci che dovrebbero migliorare la funzione endoteliale.
<i>Beta Bloccanti</i>	Farmaci che agiscono inibendo i recettori beta del sistema nervoso simpatico presenti nel cuore, nei vasi periferici, nei bronchi, nel pancreas e nel fegato. Agiscono nel sistema cardiovascolare con diminuzione della frequenza cardiaca, riduzione della pressione arteriosa e stabilizzazione della membrana cellulare
<i>Statine</i>	Farmaci che dovrebbero migliorare la funzione endoteliale.

- FARMACI ASMA

Nome	Significato
<i>Classificazione terapia³²</i>	<p>0 = non uso di cortisonici inalatori</p> <p>1 = cortisonici a basso dosaggio (fino a 0.4 mg/die budesonide equivalenti)</p> <p>2 = cortisonici a medio dosaggio (0.4 - 0.8 mg/die budesonide equivalenti)</p> <p>3 = cortisonici ad alto dosaggio (> 0.8 mg/die budesonide equivalenti o corticosteroidi sistemici)</p>

- FUMO

Nome	Significato
<i>Fumo attivo</i>	<p>0 = non fumatore o ex fumatore</p> <p>1 = fumatore</p>

- FENOMENI ATMOSFERICI

Nome	Significato
<i>Temperatura</i>	Media giornaliera dai dati dell'ARPAV (centraline Mandria, Arcella)
<i>Umidità relativa</i>	Media giornaliera dai dati dell'ARPAV (centraline Mandria, Arcella)
<i>Pressione atmosferica</i>	Media giornaliera dai dati dell'ARPAV (centraline Mandria)

³²GINA Guidelines 2004

Tabella 2.4: Variabili espositive

- ESPOSIZIONE AMBIENTALE

Nome	Significato
PM_{10}	Campionamento individuale
$PM_{2,5}$	Campionamento individuale
$PM_{10}-PM_{2,5}$	Campionamento individuale
$PM_{2,5}-PM_1$	Campionamento individuale
$PM_1-PM_{0,5}$	Campionamento individuale
$PM_{0,5}-PM_{0,25}$	Campionamento individuale
$PM_{0,25}-PM_0$	Campionamento individuale
PM_{10}	Media giornaliera dai dati dell'ARPAV (centraline Mandria, Arcella)
$PM_{2,5}$	Media giornaliera dai dati dell'ARPAV (centraline Mandria)
O_3	Massimo della media mobile dai dati dell'ARPAV (centraline Mandria, Arcella)
NO_2	Media giornaliera dai dati dell'ARPAV (centraline Mandria, Arcella)
SO_2	Media giornaliera dai dati dell'ARPAV (centraline Mandria, Arcella)
CO	Massimo della media mobile dai dati dell'ARPAV (centraline Mandria, Arcella)

2.2.3.3 Analisi statistica

Per verificare le associazioni tra le variabili dipendenti e le variabili espositive, ovviamente tenendo conto delle variabili confondenti, viene utilizzato il programma statistico SAS/STAT versione 8.2 e STATA Special Edition 8.0, che permette di fare un'analisi basandoci sulle equazioni di stima generalizzate (GEE). Questo comando si adatta bene ai dati che provengono da un disegno longitudinale con misure ripetute.

I modelli lineari generalizzati (GLM) sono il metodo standard usato per adattare modelli di regressione per dati che seguono una distribuzione appartenente alla famiglia esponenziale. Spesso i ricercatori sono interessati all'analisi di dati che provengono da un

disegno longitudinale, da dati con misure ripetute o da un disegno cluster, dove esistono correlazioni tra le osservazioni di un dato soggetto. Le equazioni di stima generalizzate (GEE) sono state sviluppate per estendere i GLM ai dati correlati.

McCullagh and Nelder (1989) introdussero i GLM per dati provenienti dalla famiglia esponenziale con la forma:

$$f Y(y, \theta, \phi) = \exp \{ (y\theta - b(\theta)) / a(\phi) + c(y, \phi) \}$$

dove $a(\cdot)$, $b(\cdot)$ e $c(\cdot)$ sono noti, θ è il parametro canonico e ϕ è il parametro di dispersione. Il modello lineare generalizzato è quindi dato da:

$$g(\mu_i) = g(E[Y_i]) = x_i^T \beta$$

dove x_i è un vettore $p \times 1$ di covariate per l' i -esimo soggetto e β è un vettore $p \times 1$ dei parametri di regressione. Una delle proprietà dei GLM è che permettono di adattare sia i modelli lineari che i modelli non lineari sotto una sola struttura. È possibile adattare modelli per i quali i dati sottostanti provengono da una distribuzione normale, Gaussiana inversa, gamma, Poisson, binomiale, geometrica e binomiale negativa con opportuna scelta della funzione di legame $g(\cdot)$.

Liang e Zeger (1986) introdussero le equazioni di stima generalizzate (GEE) per tener conto delle correlazioni tra le osservazioni nei modelli lineari generalizzati e per far fronte ad assunzioni inappropriate sulla varianza. Le GEE sono usate per caratterizzare la probabilità marginale di un insieme di variabili risposta come funzione di un insieme di variabili in studio. Supponiamo Y_{ij} con $i = 1, \dots, n$ e $j = 1, \dots, t$ essere la variabile risposta per l' i -esimo soggetto al tempo j -esimo assumendo che le osservazioni in soggetti differenti siano indipendenti; tuttavia riconosciamo l'esistenza di associazione tra le variabili risposta osservate nel medesimo soggetto. Nell'impostazione dei modelli

GEE non si assume che le Y_{ij} siano un membro della famiglia esponenziale, ma assumiamo invece che la media e la varianza siano caratterizzate come nei GLM. Il modello di regressione marginale è:

$$g (E[Y_{ij}]) = x_{ij}^T \beta$$

dove x_{ij} è un vettore $p \times 1$ delle variabili in studio (covariate) per l' i -esimo soggetto al tempo j -esimo, β sono i p parametri di regressione e $g(\cdot)$ è la funzione di legame. Le scelte più comuni per la funzione di legame sono: $g(a) = a$ per dati quantitativi come le misure (legame identità), $g(a) = \log(a)$ per i conteggi (legame logaritmico) o $g(a) = \log (a / (1-a))$ per dati binari (legame logit). La varianza è definita come funzione della media, cioè:

$$Var(Y_{ij}) = \phi V(\mu_{ij})$$

dove $V(\mu_{ij})$ è una funzione nota della varianza e ϕ è un parametro di scala noto o stimato.

L'associazione tra inquinanti atmosferici e outcomes sanitari verrà esaminata utilizzando regressioni logistiche marginali per gli outcomes binari e modelli lineari marginali per le variabili continue, basate sulle equazioni di stima generalizzate (GEE).

Capitolo 3

COSTRUZIONE DELLA COORTE DI CARDIOPATICI

3.1 Selezione della coorte

Per la selezione della coorte sono stati identificati i soggetti residenti nel comune di Padova con almeno un infarto del miocardio avvenuto tra il 1999 e il 2005; per fare questo sono state prese in considerazione le SDO (Schede di Dimissione Ospedaliera).

In totale le SDO con codice ICD IV 410 nella diagnosi principale nei 5 anni in considerazioni sono state 3030 così suddivise per anno (tab. 3.1).

Tabella 3.1. Suddivisione per anni delle SDO e calcolo dei soggetti presenti

Codice ICD IX 410 solamente nella diagnosi principale

Anno SDO (riferito a data ammissione)	SDO Totali	SDO Totali con Codice Fiscale	Soggetti
1999 ³³	28	28	28
2000	522	513	464
2001	493	485	433
2002	543	536	476
2003	502	488	436
2004	520	515	464
2005	422	415	382
Totale	3030	2980 (98.3 %)	2520

Tra tutte sono state eliminate quelle in cui non era presente il codice fiscale per riallinearle, sempre con il codice fiscale, fino ad ottenere un gruppo di 2520 soggetti.

3.1.1 Incrocio con archivio prescrizioni farmaceutiche

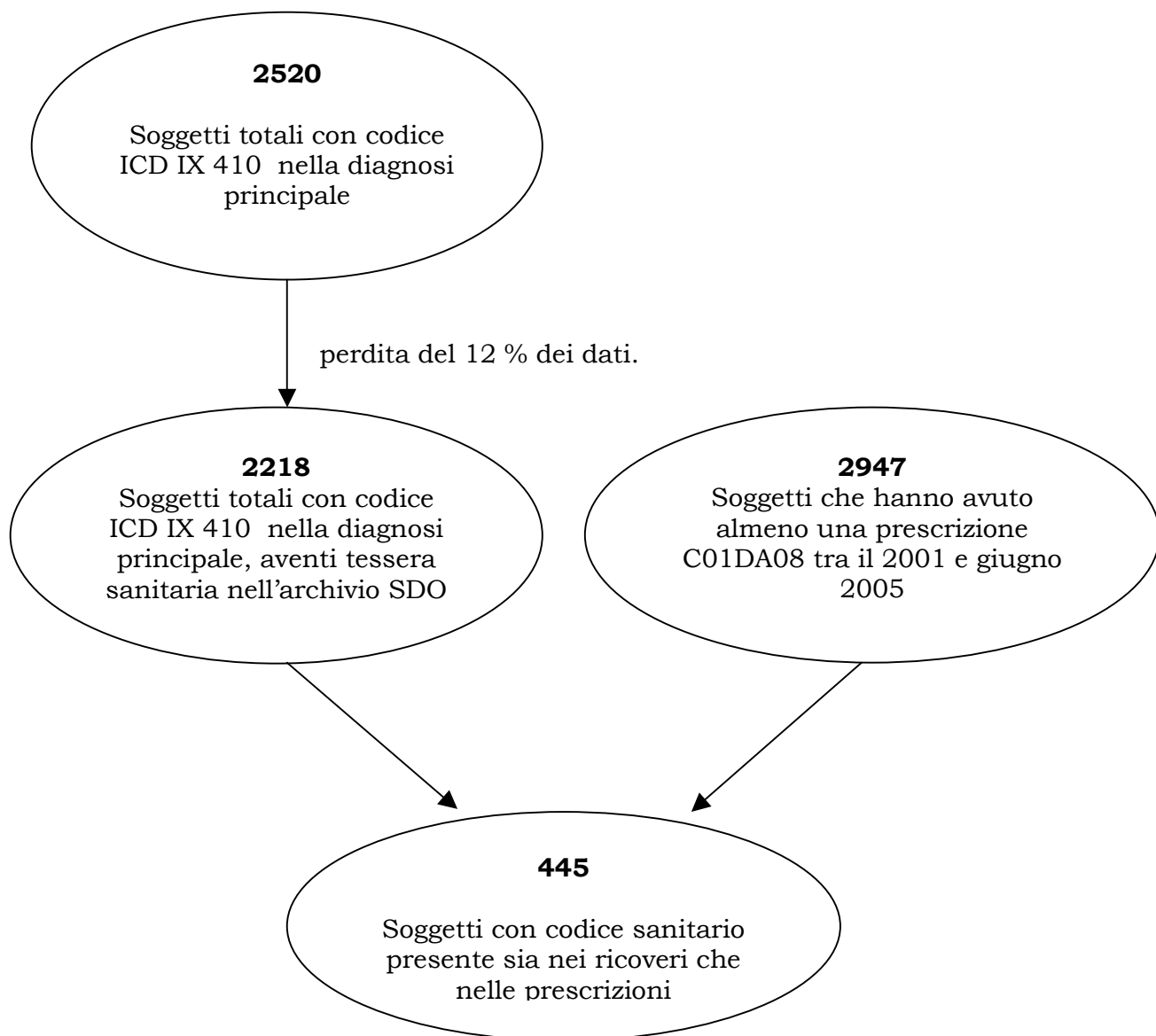
Si è cercato di vedere quanti di questi 2520 soggetti infartuati avevano sofferto in precedenza di patologie cardiache; per fare questo si è partiti dalle prescrizioni di farmaci e da qui si è individuato un gruppo di soggetti che avessero ricevuto per ogni anno (dal 2001 al giugno 2005) almeno una prescrizione di medicinali per problemi cardiaci.

Il farmaco preso in considerazione per la selezione dei soggetti è il Carvasin 50 in compresse sublinguali da 5 mg che fa parte della categoria dei nitroderivati. Tramite l'archivio elettronico sono stati selezionati 2947 soggetti che corrispondevano alle caratteristiche richieste.

³³ Anno non completo

Dovendo incrociare i 2520 soggetti con l'archivio dei farmaci tramite la tessera sanitaria, in quanto i codici fiscali non erano disponibili, si sono dovuti selezionare i soggetti con codice sanitario presente, ottenendo una perdita del 12 % dei dati. I soggetti infartuati che hanno assunto farmaci nitroderivati C01DA08 sono risultati 455.

Grafico 3.1. Riepilogo flusso dei soggetti cardiopatici incrociati con la prescrizione di C01DA08:



I grafici e le tabelle seguenti ci illustrano come questo gruppo di 455 soggetti è ripartito (sia per sesso che per età).

Grafico 3.2: Percentuale di persone infartuate che assumono farmaci CO1DA08

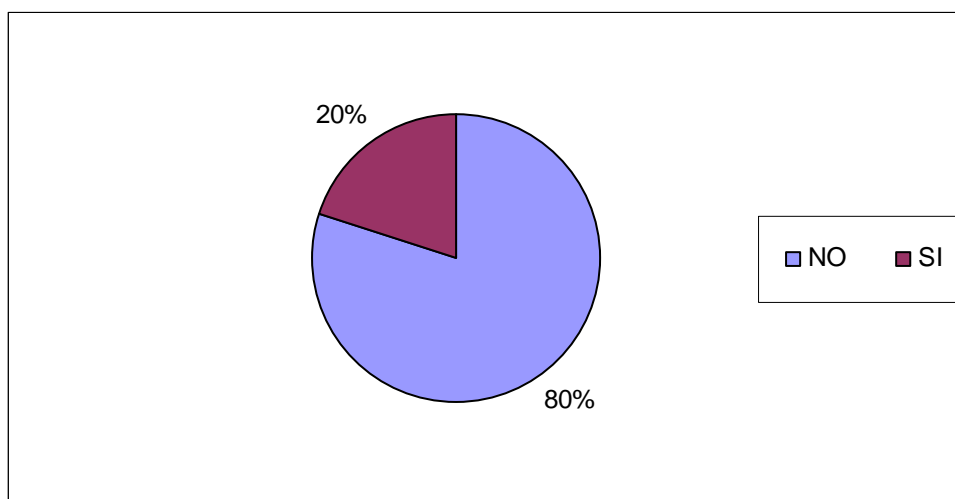


Tabella 3.2. Uso di farmaci CO1DA08 (si/no) diviso per sesso

Frequenze assolute
Frequenze relative

Farmaci	No	Si	TOT
Maschi	945 77.3%	277 22.7%	1222 100%
Femmine	828 83.1%	168 16.9%	996 100%
TOT	1773 79.9%	445 20.1%	2218 100%

($\chi^2=11.5112$, $p<0.0007$)

Si può notare una differenza significativa del consumo di farmaci tra i maschi e le femmine. Il 22.7% degli uomini infartuati hanno preso almeno un farmaco nel periodo considerato, contro il 16.9% delle donne.

Tabella 3.3: Uso di farmaci C01DA08 (si/no) diviso per classi di età (calcolata al primo ricovero)

	No	Si	TOT
0-44	41 80.4%	10 19.6%	51 100%
45-64	299 76.7%	91 23.3%	390 100%
65-79	688 77.1%	204 22.9%	892 100%
80+	745 84.2%	140 15.8%	885 100%
TOT	1773 79.9%	445 20.1%	2218 100%

($\chi^2=16.9277$, $p<0.0007$)

Si possono notare delle differenze significative nel consumo di farmaci nelle diverse fasce di età. In particolare le classi di età intermedie (45-65 e 65-79) presentano un numero maggiore di soggetti con almeno una prescrizione di Carvasin nel periodo considerato.

Tabella 3.4: consumo di farmaci prima e dopo il ricovero

p: Soggetti che hanno prescrizioni farmaceutiche C01DA08 prima del ricovero in ospedale

d: Soggetti che hanno prescrizioni farmaceutiche C01DA08 dopo il ricovero in ospedale

	Frequenze assolute	Frequenze Relative
D	277	62.25
P	168	37.75
TOT	445	100

Nell'ultima tabella vediamo come il consumo di farmaci sia maggiore dopo il ricovero in ospedale per infarto.

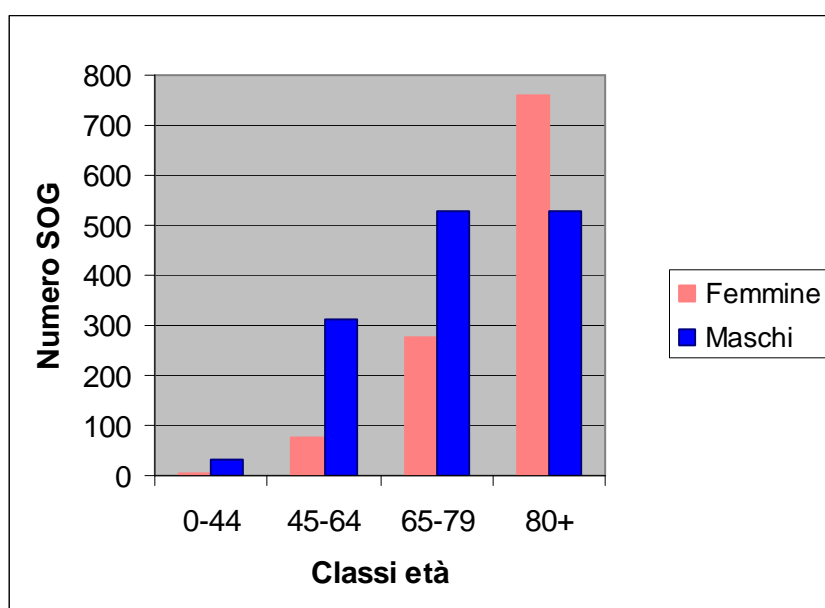
3.1.2 Selezione per fasce di età

I 2520 soggetti presenti nelle SDO con una diagnosi di infarto sono stati divisi per sesso e per età calcolata al 1/01/2006.

Tabella 3.5: Distribuzioni per sesso e per età (calcolata al 1/01/2006) dei soggetti:

		Sesso		
		M	F	TOT
Classi età	0-44	32 2.3	5 0.4	37 1.5
	45-64	313 22.3	75 6.7	388 15.4
	65-79	529 37.7	277 24.8	806 32.0
	80+	528 32.7	761 68.1	1289 51.2
	TOT	1402 100	1118 100	2520 100

Grafico 3.3: Soggetti con almeno un infarto tra il 2000-2005 per classi di età (età calcolata al 1 gennaio 2006)



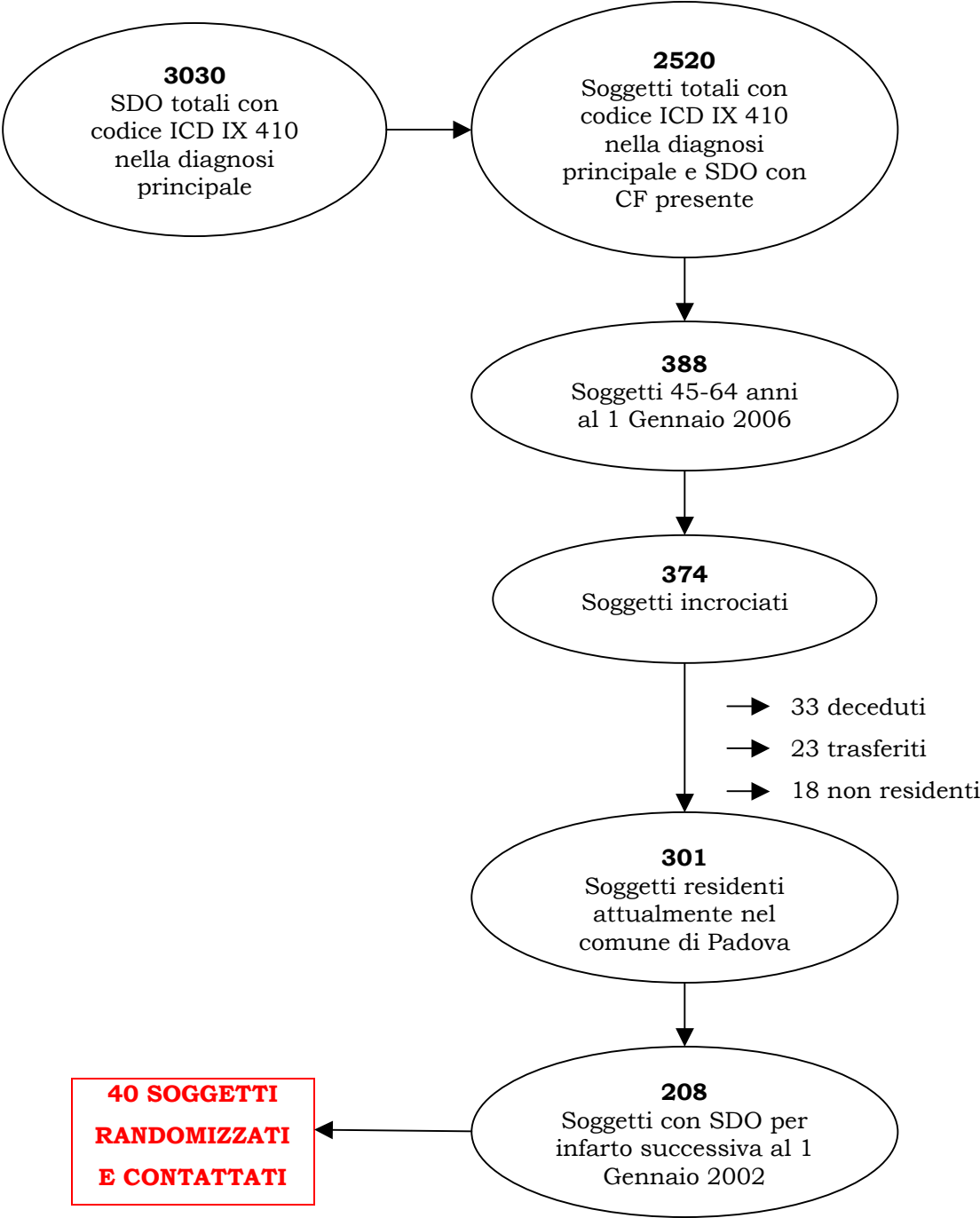
Per lo studio PRIN è stato deciso di considerare i soggetti di età compresa tra i 45 e i 64 anni, anche in vista di possibili problemi di compliance per uno studio che indagava i parametri clinici e l'esposizione individuale con metodiche alquanto invasive.

I 388 soggetti individuati sono stati incrociati con l'anagrafe assistiti dall'ULSS 16 di Padova con una perdita di 14 soggetti. Dei rimanenti 374 sono stati eliminati 18 soggetti che non risultavano più residenti nel comune, 33 che erano deceduti e 22 trasferiti. Successivamente si è deciso di non considerare i soggetti che avevano avuto un infarto del miocardio nel 2000 e 2001. Questo ha portato alla definizione di un gruppo formato da 208 soggetti da cui è stato scelto il campione di 40 individui utilizzando una procedura di stratificazione implicita. Le unità sono state ordinate dentro gli strati selezionati (sesso ed età) secondo il valore assunto ed è stato selezionato il campione con criterio sistematico. Il reclutamento dei soggetti cardiopatici è stato preceduto da un'attività di sensibilizzazione della popolazione, a mezzo di conferenza stampa/comunicato stampa, e di informazione ai Medici di Medicina Generale ed ai Cardiologi operanti nelle strutture distrettuali.

Sono state spedite lettere informative ai soggetti selezionati in numero almeno doppio rispetto alla numerosità del campione voluta; successivamente i soggetti sono stati contattati telefonicamente per richiedere l'adesione preliminare allo studio e per concordare l'appuntamento per la visita 0.

Nel grafico sottostante riportato il flusso riepilogativo della selezione del campione.

Grafico 3.4: Riepilogo flusso per la scelta della coorte dei cardiopatici:



Capitolo 4

RISULTATI DESCRITTIVI DEL QUESTIONARIO E VISITA 1

Nelle tabelle che verranno illustrate sono presentati i risultati descrittivi relativi al questionario iniziale e alla visita 1 dei soggetti cardiopatici. Sono presentate le informazioni relative ai dati anagrafici e personali e ai dati di natura clinica inerenti alle patologie presenti e pregresse.

4.1 Questionario:

4.1.1 Dati anagrafici e personali

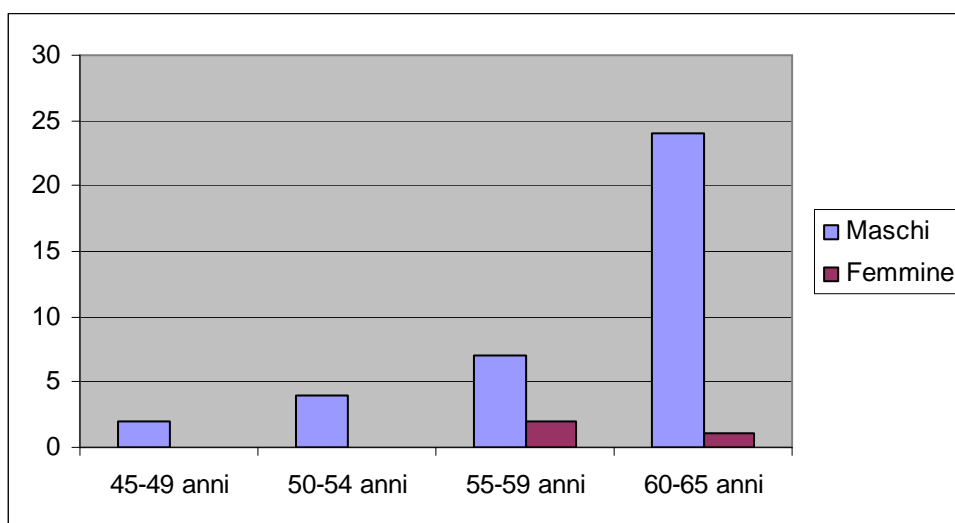
Tabella 4.1: Distribuzione per sesso

Sesso	Frequenza	Percentuale
<i>Maschio</i>	37	92.5
<i>Femmina</i>	3	7.5

Tabella 4.2: Distribuzione per classi di età

Classi di età	Frequenza	Percentuale
45-49 anni	2	5
50-54 anni	4	10
55-59 anni	9	22.5
60-65 anni	25	62.5

Grafico 4.1: Distribuzioni per classi di età suddivise per sesso



Possiamo notare che il panel non risulta omogeneo nella distribuzione per sesso e per classe di età. È risaputo che l'infarto colpisce maggiormente gli uomini nella classe di età tra i 45 e i 65 anni; nella suddivisione in classi d'età, la più colpita è quella degli over 60, come si è visto nel capitolo 3.

Tabella 4.3: Distribuzione per abitudine al fumo

Fumo	Frequenza	Percentuale
Non fumatore	11	27.5
Ex fumatore	23	57.5
Fumatore	6	15

Tabella 4.4: Distribuzione numero pacchetti di sigarette tra gli ex fumatori

Pacchetto/anno in classi tra gli ex fumatori	Frequenza	Percentuale
<10	8	34.78
10-19	2	8.7
20-29	5	21.74
>30	8	34.78

Tabella 4.5: Distribuzione pacchetti di sigarette tra i fumatori

Pacchetto/anno in classi Tra i fumatori	Frequenza	Percentuale
<10	3	50
10-19	1	16.67
20-29	1	16.67
>30	1	16.67

Dalla tabella 4.3 si può notare che la percentuale di non fumatori o ex fumatori è molto maggiore di quella dei fumatori attuali, inoltre dalle tabelle 4.4 e 4.5 si riscontra che il numero dei pacchetti fumati in un anno dagli ex fumatori è più elevato rispetto a quello dei fumatori attuali: mentre nei primi il 34.78% di persone fumavano più di 30 pacchetti all'anno, questa percentuale è dimezzata (16.67%) nei fumatori attuali.

Quasi la metà degli ex fumatori ha smesso di fumare dopo l'infarto. La percentuale di fumatori prima dell'evento coronario acuto era pari a 40%, dato superiore alla percentuale di fumatori in Italia che si assesta al 22%³⁴. Dall'osservazione di questi risultati siamo portati a pensare che l'infarto possa portare i pazienti a cambiamenti nello stile di vita.

³⁴ <http://www.rainews24.rai.it/Notizia.asp?NewsID=59119>

Tabella 4.6: distribuzione per fumo passivo attuale in casa

Fumo passivo casa	Frequenza	Percentuale
<i>No</i>	34	85
<i>Si</i>	6	15

Tabella 4.7: distribuzione per fumo passivo attuale nel luogo di lavoro

Fumo passivo lavoro	Frequenza	Percentuale
<i>No</i>	40	100
<i>Si</i>	0	0

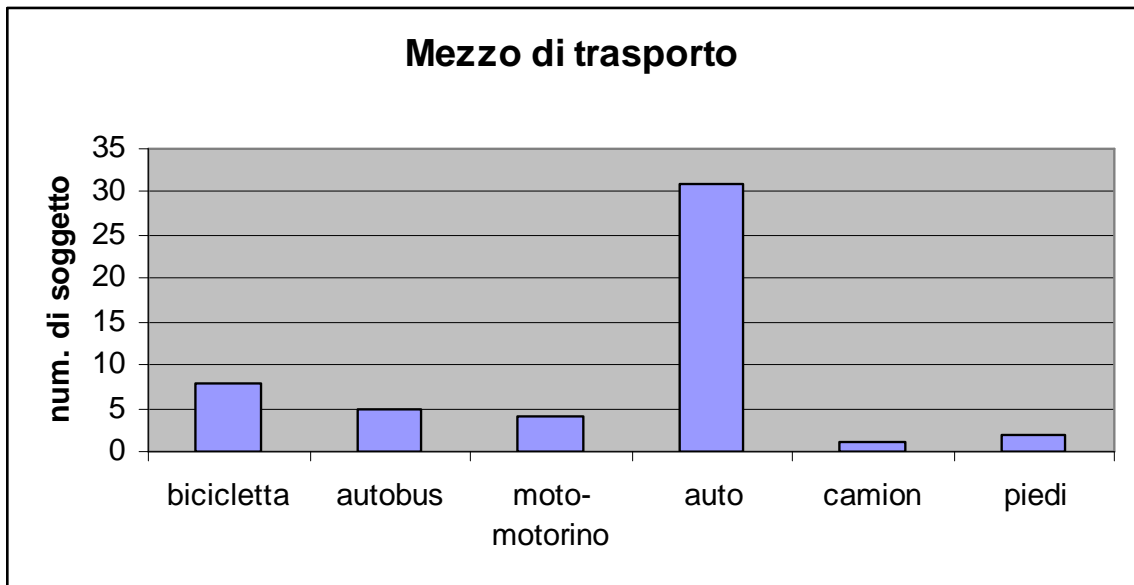
Nelle tabelle 4.6 e 4.7 si osserva che l'esposizione a fumo passivo è molto scarsa nell'ambiente domestico e nullo nell'ambiente lavorativo.

Tabella 4.8: Distribuzione per professione

Professione	Frequenza	Percentuale
<i>Lavoratore</i>	19	47.5
<i>Pensionato</i>	19	47.5
<i>Casalinga</i>	2	5
<i>Disoccupato</i>	0	0

Visto che più del 50% dei soggetti presenta età comprese tra i 60 ed i 65 anni, le percentuali di lavoratori e pensionati si eguagliano.

Grafico 4.2: Mezzo di trasporto utilizzato



Il mezzo di trasporto che i soggetti hanno dichiarato di utilizzare maggiormente è risultato l'automobile; questo può portare a pensare che uno stile di vita sedentario possa essere un fattore negativo per l'insorgenza dell'infarto.

Grafico 4.3: Distribuzione per classi di altezza suddivisa per sesso

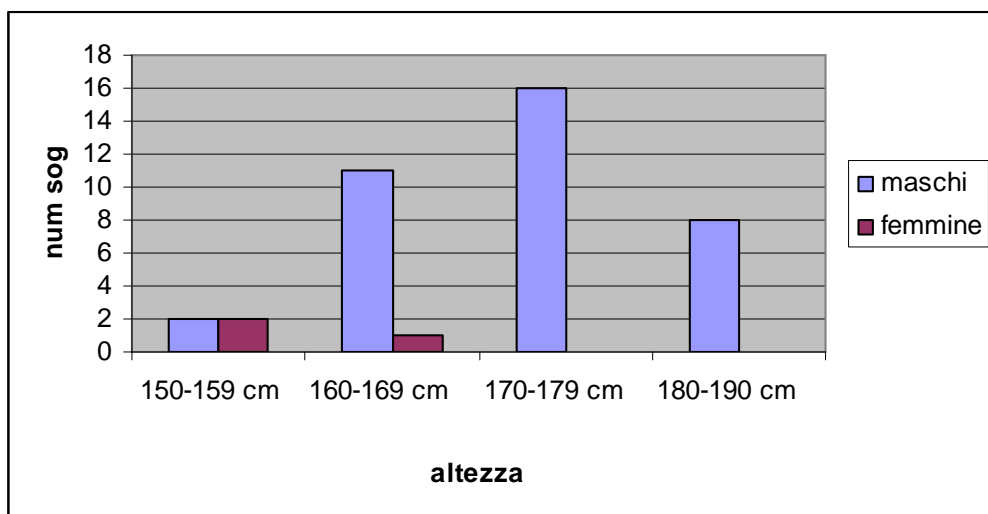


Grafico 4.4: Distribuzione per classi di peso suddivisa per sesso

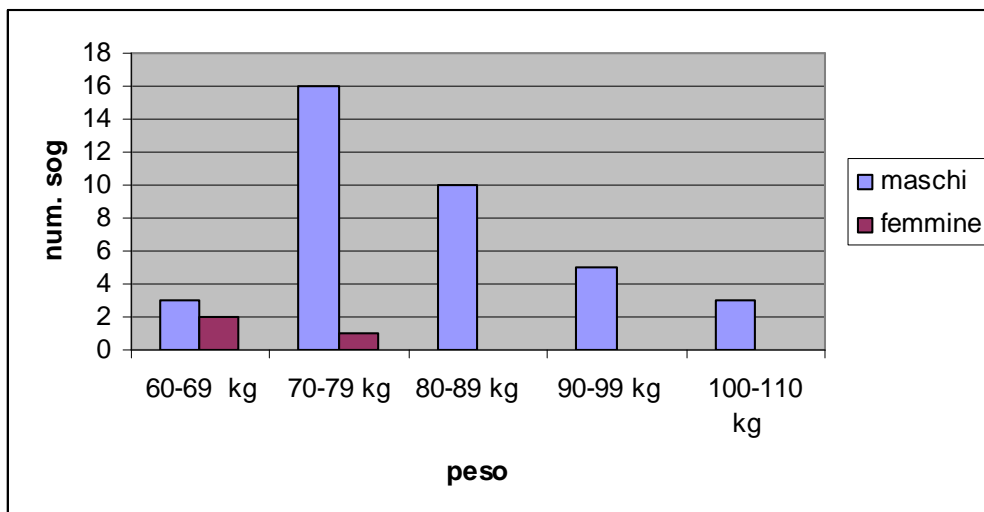


Tabella 4.9: Distribuzione Indice di massa corporea

BMI		Num soggetti	Percentuale
<i>Grave obeso</i>	>40	0	0
<i>Obeso</i>	30-40	12	30
<i>Sovrappeso</i>	25-30	16	40
<i>Normale</i>	18,5-25	12	30
<i>Magro</i>	<18.5	0	0
<i>TOT</i>		40	100

La relazione tra altezza e peso è definita dal BMI (Body Mass Index); questo indice esprime il rapporto esistente nel soggetto tra il peso in chilogrammi ed il quadrato dell'altezza espressa in metri. Il BMI è considerato un indice molto più attendibile del solo peso corporeo per definire le caratteristiche fisiche di una persona. Nella tabella 19 vediamo che il nostro panel mostra una tendenza al sovrappeso, infatti il 70% del nostro panel è sovrappeso o obeso.

4.1.2 Storia clinica

Tabella 4.10: Frequenza malattie

Malattie	Frequenza	Percentuale
<i>Iperteso</i>	23	57.5
<i>Ipercolesterolemia</i>	22	55
<i>Ipertrigliceridemia</i>	8	20
<i>Familiarità per CAD</i>	24	60
<i>Diabete di tipo Uno</i>	1	2.5
<i>Diabete di tipo Due</i>	7	17.5
<i>Intolleranza Glucidica</i>	3	7.5
<i>TIA</i>	0	0
<i>ICTUS</i>	0	0
<i>ANGINA</i>	9	22.5
INFARTO	39	97.5
<i>ByPass aorto-cor</i>	6	15
<i>PTCA</i>	26	65
<i>Vasculopatia Periferica</i>	2	5
<i>Chirurgia vascolare</i>	5	12.5
<i>TVP</i>	0	0
<i>Insufficienza renale</i>	0	0
<i>Neoplasia</i>	3	7.5
<i>Mal. Infiammatorie reumatiche</i>	4	10
<i>Mal. Infett o Osped ultime 6 settimane</i>	5	12.5
<i>Cardiomiopatia</i>	1	2.5
<i>Malattie endocrine</i>	7	17.5

La tabella 4.10 descrive le caratteristiche cliniche dei soggetti. Possiamo notare che un soggetto non è stato affetto da infarto e questo è dovuto ad un punto debole del sistema di selezione della coorte. Possiamo notare inoltre che le malattie a cui sono soggetti maggiormente i cardiopatici sono: ipertensione, ipercolestrerolemia e familiarità per CAD (cardiovasculopatia aterosclerotica). Il PTCA è la procedura di angioplastica; vi sono stati sottoposti più del 50% dei pazienti a causa dell'infarto e

consiste nel ripristino del diametro interno della coronaria malata mediante il gonfiaggio di un apposito palloncino.

4.1.3 Storia di allergia

Tabella 4.11: Distribuzione per presenza di allergia

Allergia	Frequenza	Percentuale
<i>Si</i>	6	15
<i>No</i>	34	85

Tabella 4.12: Distribuzione per presenza di rinite

Rinite	Frequenza	Percentuale
<i>Si</i>	5	12.5
<i>No</i>	35	87.5

Tabella 4.13: Distribuzione per presenza di asma

Asma	Frequenza	Percentuale
<i>Si</i>	1	2.5
<i>No</i>	39	97.5

Tabella 4.14: Distribuzione per presenza di bronchite cronica

Bronchite Cronica	Frequenza	Percentuale
<i>Si</i>	1	2.5
<i>No</i>	39	97.5

Le 4 tabelle precedenti indicano che nel panel di soggetti vi sono pochi soggetti allergici di cui solo 1 con l'asma. La rinite e la

bronchite cronica colpiscono solo in minima parte il nostro campione.

4.2 Visita 1

Qui di seguito sono illustrate le statistiche descrittive della visita 1. Vista la numerosità dei parametri presi in considerazione si è deciso di illustrare la parte cardiologica.

4.2.1 Farmaci

Tabella 4.15: Distribuzione farmaci cardiologici

Farmaci	Frequenza	Percentuale
<i>Aspirina</i>	35	87.5
<i>Nitrati</i>	12	30
<i>ACE inibitori</i>	24	60
<i>Spartani</i>	3	7.5
<i>Beta Bloccanti</i>	32	80
<i>Statine</i>	37	92.5

Nella tabella 4.15 è riportata la frequenza dei farmaci utilizzati regolarmente come terapia dopo l'infarto. I più usati sono le statine e l'aspirina.

4.2.2 Esami clinici

Tabella 4.16: Statistiche descrittive del sistema neurovegetativo

nome variabile	N	media	Sd	min	p25	mediana	p75	max
<i>Numero B.E.V. isolati</i>	40	223.62	536.1	0	4	25	106.5	2160
<i>Numero coppie V</i>	40	3.37	15.68	0	0	0	0	97
<i>SDNN 24h</i>	39	124.82	29.28	70	103.6	127.5	141.2	193.3
<i>RMSSD 24h</i>	39	31.72	13.61	14.1	21.1	28	39.2	77.6
<i>SDANN 24h</i>	39	111.83	29.51	56	93	114	127	189
<i>pNN50</i>	39	6.13	5.41	0.6	2.3	4.1	9.9	19.8
<i>HF</i>	35	10.29	7.84	1.62	3.96	8.83	14.92	39.39
<i>LF</i>	35	10.99	9.42	0.08	3.56	7.79	17.91	38.95

Tabella 4.17: Test di normalità variabili del sistema neurovegetativo

Variabile	Pr(Skewness)	Pr(Kurtosis)	Prob> χ^2
<i>Sdnn 24h</i>	0.404	0.946	0.6941
<i>rmssd 24h</i>	0.001	0.038	0.0030
<i>sdann 24h</i>	0.164	0.370	0.2291
<i>pNN50</i>	0.003	0.288	0.0141
<i>HF</i>	0.001	0.004	0.0005
<i>LF</i>	0.063	0.402	0.1170

Nella prima tabella vediamo riassunte le statistiche descrittive dei vari parametri del sistema neurovegetativo mentre nella seconda sono presentati i risultati del test χ^2 per verificare l'ipotesi di normalità per alcune variabili segnalateci dai cardiologi

come più rilevanti per le future analisi della relazione con l'inquinamento atmosferico. Si può notare che solo la metà di esse hanno una distribuzione normale (sdnn 24h, sdann 24h e LF).

Tabella 4.18: Statistiche descrittive delle variabili degli esami cardiologici

nome variabile	N	media	Sd	min	P25	mediana	p75	max
<i>Indice gamba braccio</i>	40	0.94	0.4	0	0.89	1	1.09	1.63
<i>Variazione picco sistolico</i>	40	2.29	3.98	-11.46	0.073	2.04	4.95	9.98
<i>Var picco sistolico di velocità post occlusione</i>	40	0.59	0.16	0.26	0.54	0.56	0.64	1.24
<i>Var. diametro arteria brachiale</i>	40	11.3	6.29	- 3.18	6.63	11.19	15.83	25.86
<i>Peak flow</i>	39	39.02	20.64	13.08	21.33	34.63	51.31	102.92
<i>Time to max</i>	39	34.44	56.6	2.73	9.83	20.33	36.42	347.62

Tabella 4.19: Test di normalità delle variabili degli esami cardiologici

Variabile	Pr(Skewness)	Pr(Kurtosis)	Prob> χ^2
<i>Variazione picco sistolico</i>	0.23	0.66	0.4173
<i>Variazione picco sistolico di vel post occlusione</i>	0	0	0
<i>Variaz. diametro arteria brachiale</i>	1	0.86	0.9845
<i>Peak flow</i>	0.01	0.17	0.024
<i>Time to max</i>	0	0	0

Anche in queste due tabelle vediamo riassunte le variabili degli esami cardiologici. In uno studio su un gruppo di 27 soggetti sani (15 maschi e 12 femmine) la media della variabile picco sistolico di velocità post occlusione nel gruppo di individui sani è risultata pari a 0.8 mentre nei pazienti coronarici è pari a 0.59. Il valore della t di student è risultato pari a 3.868 e il p-value è 0.0003. Il test di normalità fatto sulle variabili degli esami cardiologici mostra che soltanto due si distribuiscono in modo normale (variazione picco sistolico e variazione diametro arteria brachiale).

Tabella 4.20: Distribuzione frequenza indice gamba braccio

Indice gamba braccio	Frequenza	Percentuale
<0.8	8	20
0.8-1	16	40
>1	16	40

Nella tabella 4.20 abbiamo diviso in intervalli l'indice gamba braccio per avere una lettura più rapida. Se questo indice è <0.8 il soggetto non gode di buona salute mentre se è >1 il paziente sta bene. Sempre nello studio accennato sopra la media di tale indice nel gruppo di pazienti sani è risultata pari a 1.056. Il t test fatto sulla media del parametro nei due gruppi è 2.086 e il suo p-value pari a 0.0423, quindi siamo portati a pensare che c'è una differenza significativa tra le due medie.

4.2.3 Associazioni con farmaci

Tabella 4.21: Associazioni tra variabili degli esami cardiologici e nitrato

Variabile	Nitrato	N	media	sd	t- student	P- value
<i>Variazione picco sistolico</i>	No	28	85.24	37.56	1.3222	0.19
	Si	12	69.46	25.89		
<i>Variaz. diametro arteria brachiale</i>	No	28	13.51	5.04	3.9967	0.0003
	Si	12	6.14	6.02		

Nella tabella 4.21 sono presentate le medie della variazione del picco sistolico e del diametro in due gruppi di individui: quelli a cui sono stati prescritti i nitrati e quelli a cui non sono stati prescritti. Per quanto riguarda la variazione del picco sistolico non vi sono differenze tra i due gruppi, mentre è risultata altamente significativa la differenza nella variazione del diametro dell'arteria brachiale.

Tabella 4.22: Associazioni tra variabili del sistema neurovegetativo e beta bloccanti

Variabile	Beta Bloccanti	N	media	sd	t-student	P-value
<i>sdnn 24h</i>	No	8	119.81	19.85	-0.5	0.6183
	Si	32	125.8	31.88		
<i>rmssd 24h</i>	No	8	35.22	18.22	0.83	0.4139
	Si	32	30.67	12.55		
<i>sdann 24h</i>	No	8	108.96	19.27	-0.29	0.7759
	Si	32	112.42	32.37		
<i>pNN50</i>	No	8	5.04	3.28	-0.58	0.5637
	Si	32	6.31	5.92		
<i>HF</i>	No	8	8.04	6.93	-0.77	0.448
	Si	32	10.81	8.19		
<i>LF</i>	No	8	20.48	10.38	2.42	0.0215
	Si	32	12.1	7.11		

Nella tabella 4.22 sono riassunte le associazioni con alcune variabili del sistema neurovegetativo con i Beta Bloccanti. Solo la variabile LF (Low Frequency) risulta essere statisticamente significativa con un p-value pari a 0.0215.

4.3 Inquinanti

Tabella 4.23: Confronto tra concentrazioni di PM₁₀ e PM_{2,5} misurate con campionamento personale Sioutas e con campionamento fisso (misure effettive negli stessi giorni)

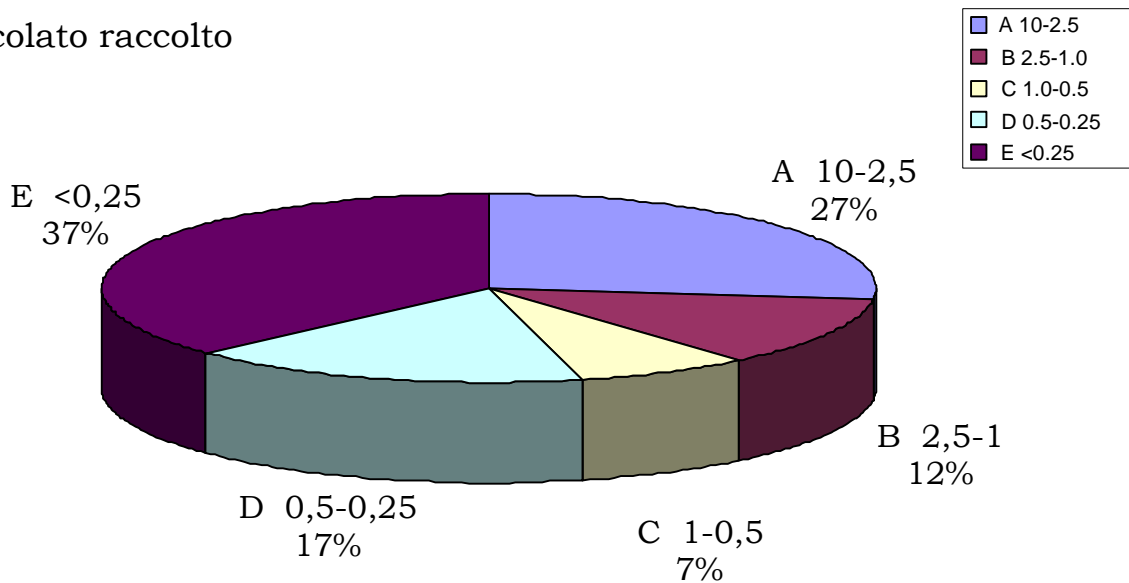
Campionamento stagionale	PM₁₀			PM_{2,5}		
	<i>media</i>	<i>mediana</i>	<i>range</i>	<i>media</i>	<i>mediana</i>	<i>range</i>
<i>Fisso (ARPAV) Estate 2006</i>	44	44	13-82	23	23	7-43
<i>Personale Estate 2006</i>	47	43	22-84	34	32	16-70

Nella tabella 4.23 è presentato il confronto tra i due metodi di campionamento utilizzati nello studio. Possiamo osservare che le differenze riscontrate tra i dati dello Sioutas e dell'ARPA sono molto basse in particolare per quanto riguarda il PM₁₀.

Tabella 4.24: Distribuzione del particolato per classi granulometriche (prelievo effettuato con impattore multistadio Sioutas)

Frazione	PM				
	10-2,5	2,5-1	1-0,5	0,5-0,25	<0.25
<i>Media</i>	13	5	3	8	18
<i>Mediana</i>	12	4	3	7	16
<i>Range</i>	4-32	2-14	2-5	3-22	8-42

Immagine 4.1: Percentuale di distribuzione delle diverse frazioni di particolato raccolto



Possiamo vedere le statistiche descrittive e le percentuali delle frazioni del PM. Le polveri più sottili (<0,25) sono presenti con una percentuale maggiore (37%), a seguire troviamo la frazione PM₁₀-PM_{2,5} con il 27%.

4.3.1 Associazioni con inquinanti

In quest'ultimo capitolo sono presentate le associazioni tra le variabili del sistema neurovegetativo e degli esami cardiologici e l'esposizione personale a polveri sottili. Questi risultati sono solo la base per le analisi che verranno effettuate alla fine delle tre visite.

Per quanto riguarda il sistema neurovegetativo è stata definita come variabile confondente l'utilizzo di beta bloccanti, mentre per gli esami cardiologici al momento non sono stati individuati i farmaci specifici che verranno inseriti nel modello. Oltre ai farmaci, verranno inseriti nelle analisi finali la temperatura, umidità e pressione media (cfr. cap. 2.2.3.2). Sono

riportati i coefficienti delle regressioni lineari con i rispettivi p-value per ciascun parametro.

Tabella 4.25: Associazioni tra variabili del sistema neurovegetativo e inquinamento in presenza e assenza di Beta Bloccanti

Variabile	Beta Bloccanti	PM	β	Std error	P-value	PM	β	Std error	P-value
<i>sdu</i> 24h	No	10	-0.32	0.5	0.547	2,5	-1.12	0.59	0.106
	Si		0.95	0.35	0.011		1.25	0.43	0.007
<i>rmssd</i> 24h	No	10	0.45	0.44	0.347	2,5	0.29	0.68	0.684
	Si		0.24	0.15	0.119		0.36	0.18	0.054
<i>sdann</i> 24h	No	10	-0.4	0.47	0.425	2,5	-1.22	0.53	0.061
	Si		1.08	0.34	0.003		1.38	0.42	0.003
<i>pNN50</i>	No	10	0.01	0.08	0.913	2,5	-0.058	0.12	0.646
	Si		0.11	0.07	0.129		0.18	0.08	0.039
<i>HF</i>	No	10	0.41	0.13	0.034	2,5	0.61	0.13	0.01
	Si		0.2	0.08	0.024		0.29	0.1	0.008
<i>LF</i>	No	10	-0.44	0.29	0.199	2,5	-0.5	0.43	0.315
	Si		0.07	0.08	0.398		0.06	0.1	0.557

Tabella 4.25 (continua)

Variabile	Beta Bloccanti	PM	β	Std error	P-value	PM	β	Std error	P-value
<i>senn 24h</i>	No	1	-1.49	0.54	0.034	0- 0,25	-2.39	0.69	0.014
	Si		1.44	0.48	0.006		1.88	0.71	0.014
<i>rmssd 24h</i>	No	1	0.069	0.75	0.929	0- 0,25	-0.39	1.09	0.734
	Si		0.46	0.2	0.027		0.54	0.3	0.08
<i>sdann 24h</i>	No	1	-1.56	0.47	0.016	0- 0,25	-2.55	0.51	0.003
	Si		1.57	0.47	0.003		2.07	0.71	0.007
<i>pNN50</i>	No	1	-0.1	0.13	0.469	0- 0,25	-0.23	0.17	0.236
	Si		0.24	0.1	0.015		0.3	0.14	0.034
<i>HF</i>	No	1	0.7	0.13	0.007	0- 0,25	1.2	0.3	0.017
	Si		0.36	0.11	0.004		0.62	0.16	0.001
<i>LF</i>	No	1	-0.42	0.52	0.464	0- 0,25	-0.45	0.99	0.669
	Si		0.05	0.11	0.636		0.08	0.18	0.663

In questa prima tabella riassuntiva vediamo che i risultati nei gruppi di pazienti a cui sono stati prescritti i beta bloccanti e a quelli a cui non sono stati prescritti sono molto diversi. Eccetto che per la variabile LF che non risulta mai significativa per tutte e 4 le frazioni di PM considerate, le altre variabili risultano significative per quasi tutte le frazioni di PM nel caso in cui siano somministrati i beta bloccanti. In caso contrario le variabili *rmssd* e *pNN50* non hanno mostrato alcuna associazione con gli inquinanti, mentre le altre variabili sono risultate significative per valori di PM più bassi. La variabile HF ha mostrato un'associazione con le polveri in entrambi i gruppi di soggetti.

Nelle analisi future il consumo di beta bloccanti (sì/no) sarà incluso nel modello di analisi come confondente anziché effettuare analisi stratificate.

Tabella 4.26: Associazioni tra variabili degli esami cardiologici e inquinamento

Variabile	PM	ß	Std error	P-value	PM	ß	Std error	P-value
<i>Variaz. picco sistolico</i>	10	0.17	0.35	0.621	2,5	0.02	0.45	0.963
<i>Variaz. diam. arteria brachiale</i>	10	-0.02	0.06	0.754	2,5	-0.04	0.08	0.631
<i>Variaz. picco sistolico di vel post occlusione</i>	10	0.01	0.01	0.716	2,5	-0.01	0.01	0.885
<i>Peak flow</i>	10	0.32	0.2	0.125	2,5	0.42	0.26	0.115
<i>Time to max</i>	10	0.26	0.57	0.649	2,5	0.11	0.73	0.885

Tabella 4.26 (continua)

Variabile	PM	ß	Std error	P-value	PM	ß	Std error	P-value
<i>Variaz. picco sistolico</i>	1	0.02	0.51	0.964	0-0,25	0.21	0.76	0.782
<i>Variaz. diam. arteria brachiale</i>	1	-0.05	0.1	0.613	0-0,25	-0.07	0.14	0.633
<i>Variaz. picco sistolico di vel post occlusione</i>	1	-0.01	0.01	0.771	0-0,25	-0.01	0.01	0.722
<i>Peak flow</i>	1	0.4	0.3	0.185	0-0,25	0.41	0.45	0.361
<i>Time to max</i>	1	-0.05	0.82	0.953	0-0,25	-0.44	1.24	0.727

Per quanto riguarda le variabili degli esami cardiologici non sono state rilevate associazioni statisticamente significative con le frazioni di polveri sottili studiate.

CONCLUSIONI

Lo studio longitudinale PRIN presenta alcuni aspetti innovativi rispetto agli studi precedenti su questo tema: prima fra tutte sono state le misurazioni personali del particolato e la possibilità di conoscere il peso di ciascuna frazione. Questo è stato possibile grazie all'utilizzo di impattori multi-stadio a cascata "Personal cascade impactor sampler" (PCIS) della SKC, che sono in grado di raccogliere il particolato di differenti classi granulometriche nel seguente range di diametro aerodinamico: <0.25, 0.25-0.5, 0.5-1, 1-2.5, 2.5-10 μm e permettono inoltre di conoscere la concentrazione di PM_{10} e $\text{PM}_{2,5}$ come sommatoria delle frazioni <10 e <2.5 μm . Studi recenti hanno mostrato che la misurazione dell'inquinamento personale e quello rilevato dalle centraline esterne risultava differente; mentre le centraline fisse misurano l'inquinamento outdoor, il campionatore personale rileva un misto di esposizione indoor ed outdoor. Le concentrazioni di particolato rilevate in questo studio sono risultate leggermente più elevate di quelle misurate dalle centraline dell'ARPAV nelle stesse giornate di monitoraggio.

Un altro aspetto innovativo dello studio è l'utilizzo delle informazioni già esistenti provenienti dagli archivi elettronici sanitari del CED (Centro Elaborazione Dati) dell'ULSS di Padova ha permesso, in tempi brevi e a costi relativamente ridotti, la selezione di un panel di soggetti infartuati adatti all'inclusione nello studio.

Il panel di soggetti che è stato selezionato è prevalentemente di sesso maschile con tendenza al sovrappeso. Le malattie a cui

sono soggetti maggiormente sono ipertensione, ipercolesterolemia e familiarità per CAD.

I risultati preliminari dello studio ci permettono di fare alcune considerazioni generali sulla selezione del campione e sulle prime associazioni studiate tra i parametri cardiologici e l'esposizione individuale a polveri. Per quanto riguarda una prima analisi sugli effetti delle polveri, sono state analizzate tramite regressione lineare alcuni parametri clinici del sistema neurovegetativo (inserendo anche come variabile confondente l'utilizzo o meno di beta bloccanti) e degli esami cardiologici con l'esposizione individuale a particolato (PM₁₀, PM_{2,5}, PM₁, PM_{0-0,25}). Nel caso del sistema neurovegetativo è noto che l'assunzione di beta bloccanti tende a ridurre il grado di cambiamento degli indici considerati. Esaminando solamente il gruppo al quale non sono stati somministrati tali farmaci abbiamo osservato le variabili *sdnn* 24h, *sdann* 24h e *pNN50*; queste ci danno tutte indicazioni sulla variabilità del ritmo dei battiti cardiaci (Heart Rate Variability) che tende a ridursi all'aumentare dell'inquinamento. La HRV è in generale utilizzata per studiare l'influenza del sistema neurovegetativo sull'apparato cardiovascolare; su soggetti che sono stati colpiti da infarto del miocardio una diminuzione di questo valore indica un abbassamento della soglia di fibrillazione ventricolare che li rende a rischio di morte improvvisa.

Le variabili *rmssd* 24h, HF e LF, anch'esse indicative della variabilità del ritmo cardiaco, hanno mostrato, invece, risultati contraddittori, ma in questo caso la significatività statistica non è sempre presente.

Per le variabili degli esami cardiologici non sono state rilevate associazioni significative con i livelli di esposizione delle

frazioni di particolato considerate. Un fattore che può aver influito su queste ultime variabili è probabilmente la terapia farmacologica che dovrà essere considerata come confondente nelle analisi successive.

Questi risultati preliminari danno alcune prime indicazioni sulle variabili osservate e sulle loro relazioni con le frazioni di particolato considerate; un'analisi definitiva, tuttavia, potrà essere eseguita solo con il compimento delle rimanenti due visite e con l'effettiva chiusura dello studio.

BIBLIOGRAFIA

E. Buiatti, F. Carnevale, M. Geddes, G. Maciocco, *Trattato di sanità pubblica*, La Nuova Italia Scientifica, 1993, pp. 528-529, pp. 540-543, pp. 529-533.

L. Fabbris, *L'indagine campionaria. Metodi, disegni e tecniche di campionamento*, La Nuova Italia Scientifica, 1989, 2, p. 18

Stata Corp (2003), *Stata Statistical Software: Release 8.0*, College Station, TX: Stata Corporation

SAS Institute (2001), *SAS/STAT Software: Changes and Enhancements for Release 8.2*, Cary, NC: SAS Institute Inc

C. Agostinelli, S. Sartorelli, *Introduzione al linguaggio di SAS System*, Dispensa della Facoltà di Scienze Statistiche, Università degli Studi di Padova, 2002

K. Liang, S.L. Zeger, *Longitudinal data analysis using generalized linear models*, *Biometrika*, 1986, Vol. 73, pag. 45-51

L. Silvello, *Analisi degli effetti sanitari da inquinamento atmosferico: studio longitudinale di una corte di asmatici*, Tesi di laurea, A. A. 2005-2006.

Armitage P., Berry G. (1996), "*Statistica medica – metodi statistici per la ricerca in medicina*", ed. McGraw-Hill

J.J. de Hartog, G. Hoek, A. Peters, K.L. Timonen, A. Ibalde-Mulli, B. Brunekreef, J. Heinrich, P. Tiittanen, J.H. van Wijnen, W. Kreyling, M. Kulmala, J. Pekkanen, "Effects of fine particles on cardiorespiratory symptoms in elderly subjects with coronary heart disease: the Ultra Study". *American Journal of Epidemiology*, vol. 157, No.7

Studi Associati sa, *Gli effetti nocivi delle polveri fini sulla salute umana*, Rapporto finale-20.1.2005

Legambiente, *Smog e dintorni 2006*

Forestiere, *Gli effetti dell'inquinamento atmosferico sulla salute*, *Epidemiologia e prevenzione*, 2005

Protocollo di ricerca studio PRIN. *Esposizione a breve termine a polveri fini e malattie cardiopolmonari. Ricerca di correlazioni dose-effetti e dose-risposta a livello individuale*

Rojas-Bracho L., Suh HH, Koutrakis P., *Relationship among personal, indoor, and outdoor fine and coarse particle concentrations for individuals with COPD*, Journal Expo Anal Environments Epidemiology, 2000, Vol. 10, pag 294-306

S. Gauvin, P. Reungoat, S. Cassadou, J. Déchenaux, I. Momas, J. Just, D. Zmirou, *Contribution of indoor and outdoor environments to PM 2.5 personal exposure of children – VESTA study*, The Science of the Total Environment, 2002, Vol. 297, pag 175-181

A.H. Janssen, Gerard Hoek, Bert Brunekreef, Hendrik Harssema, Iwan Mensink, Arjan Zuidhof, *Personal sampling of Particles in Adults: Relation among Personal, Indoor and outdoor air concentration*, American Journal of Epidemiology, 1998, Vol. 147, pag 537-547

Delfino RJ, Zeiger RS, Seltzer JM, Street DH, McLaren CE, *Association of Asthma Symptoms with Peak Particulate Air Pollution and Effect Modification by Anti-inflammatory Medication Used*. Environ Health Perspect, Oct 2002, 110:A607-17

Desqueyroux, H., Pujet, J.C., Prosper, M., Squinazi, F., Momas, I. (2002). *Short-term effects of low-level air pollution on respiratory health of adults suffering from moderate to severe asthma*. Environ Res. 89:29-37

Just, J., Sègala, C., Sahraoui, F., Priol G., Grimfeld, A., Neukirch, F. (2002). *Short-term health effects of particulate and photochemical air pollution in asthmatic children*. Eur Respir J. 20 :899-906

Penttinen, P., Timonen, K.L., Tiittanen, P., Mirme, A., Ruuskanen, J., Pekkanen, J. (2001). *Number concentration and size of particles in urban air: effects on spirometric lung function in adult asthmatic subjects*. Environ Health Perspect. 109:319-323

Pope, C.A. III, and Dockery, D.W. (2006). *Health effects of fine particulate air pollution: lines that connect*. J Air & Waste Manage Assoc. 56:709-742

Pope, C.A. III, Hansen, M.L., Long, R.W., Nielsen, K.R., Eatough N.L., Wilson, W.E., Eatough d.J. (2004). *Ambient particulate air pollution, heart rate variability, and blood markers of inflammation in a panel of elderly subjects*. Environ Health Perspect. 112:339-345

Samet, J.M., Dominici F., Curriero, F.C., Coursac, I., Zeger, S.L. (2000). *Fine particulate air pollution and mortality in 20 U.S. cities, 1987-1994*. N Engl J Med. 343:1742-1749

Ibald- Mulli A, Timonen KL, Peters A, Heinrich J, Wolke G, Lanki T, Buzorius G, Kreyling WG, de Hartog J, Hoek G, ten Brink HM, Pekkanen J. *Effects of particulate air pollution on blood pressure and heart rate in subjects with cardiovascular disease: a multicenter approach*. Environ Health Perspect 2004 Mar

Koken PJ, Piver WT, Ye F, Elixhauser A, Olsen LM, Portier CJ. *Temperature, air pollution, and hospitalization for cardiovascular diseases among elderly people in Denver*. Environ Health Perspect 2003 Aug

J.J. de Hartog, G. Hoek, A. Peters, K.L. Timonen, A. Ibald- Mulli, B. Brunekreef, J. Heinrich, P. Tiittanen, J.H. van Wijnen, W. Kreyling, M. Kulmala, J. Pekkanen, “ Effects of fine particles on cardiorespiratory symptoms in elderly subjects with coronary heart disease: the Ultra Study”. America Journal of Epidemiology, vol. 157, No.7

Pekkanen J, Peters A, Hoek G, Tiittanen P, Brunekreef B, de Hartog J, Heinrich J, Ibald- Mulli A, Kreyling WG, Lanki T, Timonen KL, Vannien E. *Particulate air pollution and risk of ST-segment depression during repeated submaximal exercise test among subjects with coronary heart disease: the Exposure and Risk Assessment for Fine and Ultrafine Particles in Ambient Air study*. Circulation 2002 Aug

Scapellato ML, Tessari R, Bonfiglio E, Benassi A, Tieppo P, De Bortoli A, Serraino S, Carrieri M, Maccà I, Gori G, Bartolucci GB. *Studio di validazione dei selettori per il campionamento personale di PM₁₀ e PM_{2.5}: confronto fra selettori PEM e teste di prelievo CEN-ARPAV*. G Ital Med Lav Erg, 27 (3): 362-366, 2005.

<http://www.pneumologia.org>

<http://www.cardiologia.net>

<http://www.rainews24.rai.it/Notizia.asp?NewsID=59119>

Ringraziamenti

Ringrazio il prof. Simonato per la grande opportunità che mi ha dato con questo stage; grazie anche a Cristina e Roberta per l'aiuto e la pazienza che hanno avuto.

Ringrazio di cuore la mia famiglia che mi ha sostenuto sempre in tutti questi anni.

Un ringraziamento particolare a Daniele che ha saputo essere sempre presente al posto giusto e al momento giusto.

Grazie anche a Francesco per gli incoraggiamenti che non ha mai mancato di darmi.