

## PROTOCOLLI DI STUDIO

# Effetto dei PUFA n-3 su alternanza dell'onda T e indici non invasivi di rischio aritmico in pazienti con infarto miocardico acuto e disfunzione ventricolare sinistra

G Ital Aritmol Cardioslim 2004;1:60-67

## Sperimentatori

Ospedale di Alessandria (AL): **P.L. Ravazzi**  
Ospedale di Agusta (SR): **G. Chiarandà**  
Ospedale di Busto Arsizio (VA): M. Onofri,  
E. Petrucci  
'Spedali Riuniti, Università degli Studi – Brescia:  
L. Dei Cas, S. Nodari  
Ospedale S. Anna – Como: G. Ferrari, GL Botto  
Ospedale di Crema (CR): **F. Inama**, M. Nanetti  
Ospedale Careggi, Università degli Studi – Firenze:  
G.F. Gensini, A. Michelucci  
Ospedale Umberto I – Mestre (VE): A. Raviele, **Rossillo**  
Ospedale S. Paolo, Università degli Studi – Milano:  
C. Fiorentini, F. Lombardi, S. Potenza  
IRCCS Fondazione Salvatore Maugeri – Montescano (PV):  
F. Cobelli, M.T. La Rovere  
Università Federico II – Napoli: G. Chiariello,  
M. Santomauro  
Ospedale di Novara, Università degli Studi - Novara:  
C. Vassanelli, E. Occhetta  
IRCCS Policlinico S. Matteo, Università degli  
Studi -Pavia: P.J. Schwartz, **E. Vanoli**,  
**G.M. De Ferrari**  
IRCCS Fondazione Salvatore Maugeri – Pavia:  
R. Tramarin, **Perotti**  
Ospedale S. Filippo Neri – Roma: M. Santini,  
F. Colivicchi  
Ospedale di Saronno (VA): A. Croce, P.L. Pittana  
Ospedale Molinette, Università degli Studi – Torino: **Trevi**,  
L. Libero  
IRCCS Fondazione Salvatore Maugeri – Tradate (VA) – R.F.E.  
Pedretti, S. Sarzi Braga, R. Vaninetti  
Ospedale Galmarini – Tradate (VA): G.L. Poggio,  
D. Barbieri  
Ospedale di Circolo, Università dell'Insubria –Varese:  
J.A. Salerno-Uriarte, R. De Ponti

## Comitato di coordinamento

M.G. Bongiorno, G.L. Botto, G. Chiarandà, G. Inama,  
F. Lombardi, R.F.E. Pedretti (coordinatore),  
A. Raviele, J.A. Salerno-Uriarte, M. Santini

## Sponsor

SPA-Società Prodotti Antibiotici S.p.A.  
Via Biella, 8 – 20143 Milano – Italy

## Evidenze sperimentali e cliniche sugli acidi grassi poliinsaturi della serie n-3

### Introduzione

L'acido eicosapentaenoico (EPA) e l'acido docosae-saenoico (DHA) sono acidi grassi poliinsaturi della serie n-3 (PUFA n-3).

L'interesse verso gli acidi grassi poliinsaturi risale a circa 20 anni fa quando alcuni studi epidemiologici suggerirono che le elevate concentrazioni di n-3 PUFA presenti nella dieta degli esquimesi della Groenlandia fossero responsabili della bassa mortalità cardiovascolare di questa popolazione.<sup>1</sup> Questa osservazione ha stimolato lo studio del ruolo degli acidi marini nella prevenzione della malattia coronarica, e fra i molti effetti biochimici e fisiologici di tali sostanze è emersa anche una consistente attività di tipo antiaritmico.

### Dati sperimentali

Nel ratto sottoposto a una dieta ad alto contenuto di acidi grassi saturi o monoinsaturi, la legatura di un ramo coronarico si associava a un'elevata incidenza di fibrillazione ventricolare<sup>2</sup> che si riduceva del 70% e del 100% rispettivamente quando la dieta veniva arricchita di oli vegetali e di olio di tonno.

Analoghi risultati sono stati ottenuti quando l'efficacia dei PUFA n-3 veniva testata nel classico modello per lo studio della morte improvvisa in cui cani con pregresso infarto miocardico anteriore vengono sottoposti all'induzione di ischemia miocardica nel contesto di un'iperattività simpatica indotta dall'esercizio fisico. In 10 di 13 animali suscettibili a sviluppare fibrillazione ventricolare un'emulsione di PUFA n-3 concentrata che veniva somministrata per via venosa appena prima di un secondo test di esercizio e ischemia era in grado di prevenire lo sviluppo di fibrillazione ventricolare.<sup>3</sup>

I meccanismi dell'effetto antiaritmico dei PUFA n-3 sono stati studiati in diversi modelli sperimentali i quali suggeriscono come il dissolvimento dei PUFA nella membrana fosfolipidica sia in grado di prevenire aritmie ventricolari letali attraverso effetti elettrofisiologici sui miociti cardiaci.<sup>4,5</sup> Essi aumentano di circa il 50% la soglia necessaria per indurre un potenziale d'azione

e di più di 3 volte la durata del periodo refrattario relativo. Questi due effetti possono rendere conto dell'aumentata stabilità elettrica del cuore alle aritmie letali e sono attribuibili alla capacità dei PUFA di modulare la conduttanza dei canali ionici delle cellule cardiache, in particolare alla capacità di inibire la corrente al sodio voltaggio-dipendente (INa).<sup>6</sup>

### Evidenze cliniche

Evidenze cliniche propongono gli n-3 PUFA come trattamento promettente nella prevenzione della morte cardiaca improvvisa. Tali farmaci sono stati infatti inseriti dalla Task Force sulla morte improvvisa della Società Europea di Cardiologia tra gli interventi terapeutici utili nella prevenzione delle tachiaritmie ventricolari maligne dopo un infarto miocardico.<sup>7</sup> Il livello di evidenza al momento disponibile ha fatto sì che la Task Force li collocasse in classe II.

Nello studio DART (*Death and Reinfarction Trial*), in 1015 soggetti di sesso maschile con un pregresso infarto miocardico venne prescritta una dieta con almeno due pasti di pesce alla settimana o con un modesto supplemento di olio di pesce, a differenza che negli altri 1018 inclusi nello studio.<sup>8</sup> Al termine di un follow-up di 2 anni si osservò una riduzione del 29% della mortalità totale attribuibile a una riduzione della mortalità cardiovascolare, in assenza però di una riduzione significativa dell'incidenza di nuovi eventi coronarici. Ciò suggeriva che la riduzione degli eventi potesse essere attribuibile a una riduzione della morte improvvisa.

Uno studio successivo confrontò gli effetti di una dieta ricca di acido alfa-linolenico con la dieta convenzionalmente in uso dopo un infarto miocardico.<sup>9</sup> I 302 soggetti del gruppo che ricevette acido alfa-linolenico mostrarono una riduzione del 70% della mortalità, inclusa quella improvvisa.

In uno studio retrospettivo caso controllo venne rilevata una riduzione del 50% del rischio di arresto cardiaco in occasione di un primo evento coronarico acuto in associazione a una dieta ad elevato contenuto di PUFA n-3.<sup>10</sup>

L'apporto alimentare di n-3 PUFA è risultato inoltre inversamente correlato al rischio di morte cardiaca improvvisa nell'US Physicians' Health Study, uno studio prospettico in cui è stato eseguito un follow-up di 11 anni su 20.551 soggetti che all'arruolamento presenta-

vano un'anamnesi negativa per infarto miocardico, malattia cerebrovascolare e cancro.<sup>11</sup>

I dati del GISSI-Prevenzione hanno infine fornito un'evidenza fondamentale sull'efficacia dei PUFA n-3 nella prevenzione secondaria della morte improvvisa in pazienti con recente infarto miocardico.<sup>12</sup> In accordo con i risultati dello studio DART,<sup>8</sup> la riduzione di mortalità osservata nello studio GISSI-Prevenzione (20% per la mortalità totale, 30% per la mortalità cardiovascolare e 45% per la mortalità improvvisa) non si associava a una riduzione dell'incidenza di nuovi eventi cardiovascolari non fatali.

Ulteriori studi sono tuttavia auspicabili al fine di confermare non solo l'efficacia clinica dei PUFA n-3, ma anche di chiarirne il meccanismo d'azione, soprattutto nei pazienti ad alto rischio ancora poco rappresentati negli studi clinici al momento disponibili. Nello studio GISSI-Prevenzione, infatti, solo il 14% dei soggetti arruolati presentava una frazione di eiezione del ventricolo sinistro (FEVS) <40%.

### **Effetto dei PUFA n-3 sui marker clinici di instabilità elettrica**

Alcuni studi hanno verificato l'esistenza di correlazioni positive fra l'effetto dei PUFA n-3 e il comportamento di alcuni indici non invasivi di rischio aritmico.

Per quanto riguarda le aritmie ventricolari rilevabili in elettrocardiografia dinamica, in pazienti con pregresso infarto miocardico è stato osservato un miglioramento (per quanto non significativo) del pattern aritmico nei soggetti trattati con olio di pesce rispetto ai soggetti trattati con olio di mais.<sup>13</sup> In un altro gruppo di soggetti con aritmie ventricolari frequenti anche in assenza di cardiopatia ischemica, l'aggiunta alla dieta di una dose moderata di olio di pesce induceva una riduzione del numero di battiti ectopici in circa la metà dei soggetti trattati.<sup>14</sup>

Dati ulteriori emergono dall'analisi della variabilità della frequenza cardiaca. Una prima segnalazione riguarda un gruppo di 55 soggetti con pregresso infarto miocardico e depressa funzione ventricolare sinistra (FEVS <40%) con età <75 anni, che sono stati randomizzati a ricevere olio di pesce oppure olio di oliva per 12 settimane. I pazienti in trattamento hanno mostrato un incremento dell'intervallo RR medio (da 807 a 825

ms) e della sua deviazione standard (DS) (da 115 a 124 ms,  $p = 0,04$ ), mentre nel gruppo di controllo non si è verificata alcuna variazione significativa (RR da 823 a 825 ms, DS da 115 a 105 ms). L'incremento della DS era inoltre correlato positivamente con il contenuto di acido docosaesanoico (DHA) nelle piastrine.<sup>15</sup> Gli stessi autori hanno esteso l'osservazione ad altre popolazioni di pazienti<sup>16</sup> e a soggetti normali<sup>17</sup> nei quali ulteriormente si conferma non solo un effetto dose-dipendente delle variazioni dei parametri autonomici, ma anche una correlazione significativa tra contenuto lipidico delle membrane cellulari di piastrine e granulociti e indici di variabilità ( $r = 0,05$ ,  $p < 0,01$ ).

I dati presentati dal gruppo danese meritano alcuni commenti:

- i pazienti studiati, per quanto venga riportata una FEVS <40% come criterio di inclusione, presentano tutti una variabilità RR normale (DS media 115), nonostante ciò e malgrado un'elevata percentuale di pazienti fosse in trattamento beta-bloccante, è possibile comunque osservare un incremento significativo della DS;
- è presente un non significativo effetto bradicardizzante; gli autori tuttavia non riportano se le modificazioni della DS persistano anche dopo correzione per l'incremento dell'intervallo RR (esprimendo la variabilità RR non come DS ma come coefficiente di variazione).

Sulla scorta di quanto sopra, appare certamente di interesse approfondire l'effetto dei PUFA n-3 sull'attività ectopica ventricolare e sull'equilibrio neurovegetativo cardiaco in un sottogruppo di pazienti a rischio elevato e di particolare interesse clinico quale quello rappresentato da soggetti con disfunzione sistolica del ventricolo sinistro dopo un recente infarto miocardico.

### **Razionale dello studio**

Come precedentemente descritto, sono al momento disponibili limitate informazioni sugli effetti dei PUFA n-3 sulla frequenza di battiti ectopici ventricolari e sulla variabilità del ciclo RR all'ECG dinamico; non sono tuttavia disponibili dati circa l'effetto dei PUFA n-3 su altri predittori di rischio aritmico e in particolare sull'alternanza dell'onda T (TWA). L'analisi della TWA rappresenta uno degli ultimi test diagnostici introdotti nella pratica clinica tra quelli atti allo studio della ripro-

larizzazione ventricolare. L'interesse della comunità scientifica per lo studio di questo parametro è consistente, come si evidenzia dalle numerose recenti pubblicazioni a riguardo.<sup>19-32</sup>

La TWA viene misurata utilizzando elettrodi specifici in grado di trasmettere un segnale ad "alta risoluzione" e di ottimizzare il rapporto segnale-rumore durante una tachicardia indotta da una prova da sforzo, da farmaci o da elettrostimolazione atriale. Il segnale viene quindi amplificato ed elaborato da una stazione di registrazione con appositi software.

La TWA, in estrema sintesi, rappresenta il valore, misurato in  $\mu$ Volt, delle variazioni d'ampiezza dell'onda T da battito a battito. È stato dimostrato che quando questo fenomeno supera il valore di 2  $\mu$ Volt, originandosi a una frequenza <110 battiti al minuto e mantenendosi nel tempo incrementando linearmente con l'aumento della frequenza cardiaca (alternanza sostenuta), il rischio di morte improvvisa aumenta in modo significativo. Ciò è stato dimostrato in diverse categorie di pazienti ad elevato rischio di morte improvvisa (portatori di defibrillatore impiantabile [ICD], soggetti avviati all'esecuzione di studio elettrofisiologico endocavitario per sincope e/o tachiaritmie ventricolari maligne, pazienti affetti da scompenso cardiaco congestizio o sopravvissuti a un recente infarto). A riprova di ciò, la microVolt TWA è l'unico test non invasivo di rischio aritmico approvato dall'FDA per l'identificazione dei pazienti a rischio di morte improvvisa e quindi candidati all'impianto di un ICD.

## Obiettivi dello studio

L'obiettivo principale di questo studio è la valutazione degli effetti del trattamento con esteri etilici di EPA e DHA sulla TWA valutata con metodo spettrale in pazienti con recente infarto miocardico acuto, FEVS  $\leq 40\%$  e classe NYHA I-III.

Obiettivi secondari sono quelli di valutare l'effetto dei PUFA n-3 su ulteriori indicatori non invasivi di rischio aritmico, quali la variabilità della frequenza cardiaca, la frequenza oraria di depolarizzazioni ventricolari premature e l'attività ectopica ventricolare ripetitiva (coppie ventricolari, tachicardie ventricolari) a un ECG dinamico di 24 ore, l'intervallo QT e la sua dispersione a un ECG a 12 derivazioni.

Sarà inoltre valutato il potere predittivo del test di TWA, eseguito alla visita basale, nei confronti di mortalità ed eventi aritmici non fatali a un contatto telefonico di follow-up eseguito a 18 mesi dall'arruolamento.

Sarà utilizzato lo stesso schema posologico adottato in una precedente sperimentazione di vaste dimensioni, lo studio GISSI-Prevenzione.

La finalità dello studio è di ottenere maggiori informazioni sull'effetto antiaritmico del farmaco con possibile notevole rilevanza per la prognosi dei pazienti con infarto miocardico acuto recente.

## Popolazione in studio

Pazienti maschi o femmine con infarto miocardico acuto da 2 a 6 mesi, con FEVS ecocardiografica (metodo area-lunghezza)  $\leq 40\%$ , classe NYHA I-III, clinicamente stabili da almeno due settimane e che soddisfino i criteri di inclusione/esclusione.

## Via di somministrazione, dosaggio, schema posologico e durata del trattamento

Il prodotto sarà somministrato per via orale con posologia di 1 capsula da 1 g al giorno corrispondente a 0,85-0,88 g di acido eicosapentaenoico (EPA) e acido docosaesaenoico (DHA) come esteri etilici, con un rapporto EPA/DHA di 0,9-1,5. I pazienti saranno trattati per un periodo complessivo di 24 settimane (6 mesi).

## Criteri di inclusione dei pazienti

Saranno considerati per l'inclusione nello studio pazienti di sesso maschile e femminile, che soddisfino i seguenti criteri:

- consenso informato scritto alla partecipazione;
- età compresa tra 19 e 80 anni;
- infarto miocardico acuto entro 2-6 mesi;
- FEVS ecocardiografica (metodo area-lunghezza)  $\leq 40\%$ ;
- classe NYHA I-III;
- terapia orale ottimizzata (ACE-inibitore, beta-bloccante, se non controindicati) stabile da almeno 2 settimane.

## Criteri di esclusione dei pazienti

La presenza di uno dei seguenti criteri determinerà l'esclusione del paziente:

- soggetti in classe NYHA IV;
- soggetti con fibrillazione atriale cronica;
- soggetti con ritmo cardiaco stabilmente elettroindotto per presenza di PM definitivo;
- soggetti sottoposti a trattamento antiaritmico con farmaci della classe III;
- soggetti con ischemia miocardica residua non controllata dalla terapia medica o in attesa di successivo intervento di rivascularizzazione;
- intervento di rivascularizzazione eseguito nei 3 mesi precedenti, ad eccezione di una procedura di PTCA primaria o rescue;
- diabete mellito insulino-dipendente;
- concomitanti cardiopatie aritmogene (cardiomiopatia ipertrofica, cardiomiopatia aritmogena del ventricolo destro, sindrome del QT lungo, sindrome di Brugada);
- concomitante valvulopatia (ad esclusione di disfunzione valvolare secondaria all'evento infartuato);
- presenza di altre malattie concomitanti gravi che pregiudichino la possibilità del paziente a partecipare allo studio;
- dati di laboratorio che suggeriscano la presenza di malattie gravi;
- ipersensibilità nota o sospetta agli acidi grassi polinsaturi n-3;
- terapia con esteri etilici di EPA e DHA in atto;
- storia di abuso di alcool e/o droghe e/o farmaci;
- incapacità fisica o mentale a partecipare allo studio;
- partecipazione ad altri studi clinici nel mese precedente.

## Disegno dello studio

Il trial è disegnato come studio multicentrico di fase III, controllato, randomizzato a gruppi paralleli in doppio cieco verso placebo. Sono previsti un periodo di arruolamento di 9 mesi e un periodo di trattamento di 24 settimane. A 18 mesi dall'arruolamento (pazienti con test di TWA positivo e negativo) o dalla valutazione iniziale (pazienti con test di TWA indeterminata) tutti i pazienti saranno contattati per conoscerne lo stato di salute e definirne la prognosi.

### Visita di screening (VS)

A tutti i pazienti che si presenteranno all'attenzione dello sperimentatore e che rispetteranno i criteri di inclusione ed esclusione verrà proposto di partecipare allo studio. Coloro che avranno dato il loro consenso scritto, saranno sottoposti ai seguenti accertamenti:

- Anamnesi, inclusa specifica storia cardiologica ed esame obiettivo.

### Visita basale (V0)

Eseguita la visita di screening, i pazienti saranno sottoposti a:

- Prelievo ematico per i convenzionali esami ematochimici, includendo determinazione dei livelli di PUFA n-3 nel plasma e nelle membrane dei globuli rossi.
- ECG a 12 derivazioni per una valutazione dell'intervallo QT e della sua dispersione.
- Test di TWA a riposo e durante test ergometrico, sottomassimale. Il test ergometrico sarà eseguito al cicloergometro, con protocollo incrementale di 25 watt ogni 2 minuti. Qualora il test di TWA risulti non determinabile, è data la possibilità al ricercatore di ripetere il test ergometrico, strettamente submassimale, da eseguire subito dopo il test precedente, se non si ravvedono controindicazioni e il primo test ergometrico non abbia presentato complicanze. In alternativa, o nei pazienti che non siano in grado di eseguire un test ergometrico per ragioni non cardiologiche, potrà essere eseguita una valutazione della TWA durante infusione con dobutamina; nel caso in cui il test con dobutamina sia successivo a una precedente prova da sforzo, il test farmacologico dovrà essere eseguito in un giorno successivo. Il test per la valutazione della TWA sarà eseguito utilizzando il metodo dell'analisi spettrale disponibile su un elettromedicale commerciale (CH 2000 o Heartwave, Cambridge Heart, Inc, Cambridge, MA). Il test di TWA sarà definito positivo, negativo o non determinabile secondo quanto riportato negli studi clinici sino ad ora disponibili<sup>19-32</sup> e secondo l'interpretazione automatica del test e si provvederà alla misurazione del voltaggio della TWA (Valt) nell'"enhanced Vector Magnitude" (eVM) e nella derivazione precordiale V2-V4 con l'alternanza di maggiore ampiezza-

za. Il parametro Valt sarà rilevato in corrispondenza della frequenza cardiaca massima raggiunta e in corrispondenza della frequenza cardiaca massima comune ai test eseguiti alla Visita 0 (basale) e alla Visita 6 (fine trattamento). Nei pazienti con test TWA positivo sarà anche registrata la frequenza cardiaca soglia per la comparsa di TWA. Successivamente al test di TWA ogni paziente eseguirà inoltre:

- ECG dinamico di 24 ore per consentire l'acquisizione degli ulteriori indicatori di rischio aritmico non invasivi, con particolare riguardo alla definizione del profilo aritmico e della variabilità della frequenza cardiaca.

### Randomizzazione (VR)

Ai pazienti con TWA determinabile, verrà assegnato, entro una settimana dall'esecuzione dei test su indicati, il previsto trattamento sulla scorta di quanto previsto dalla procedura di randomizzazione. Per assicurare una distribuzione bilanciata dei pazienti con test di TWA positivo e test negativo, i pazienti eleggibili saranno randomizzati in 2 gruppi di trattamento in accordo con 2 separate liste di randomizzazione 1:1 a blocchi di 4. In ciascuna lista sono previsti 33 blocchi di 4 pazienti ciascuno, per un totale di 132 pazienti. I pazienti con TWA non determinabile verranno esclusi dalla randomizzazione.

### Visita finale (V6)

Alla visita finale (dopo 24 settimane di trattamento) sarà eseguito un prelievo ematico per la valutazione degli stessi parametri specificati alla Visita basale e saranno ricontrattati il test di TWA, con la metodologia utilizzata inizialmente, unitamente all'ECG a 12 derivazioni e l'ECG dinamico di 24 ore. Si prevede inoltre l'esecuzione di un ecocardiogramma finalizzato a un controllo della FEVS e dei volumi del ventricolo sinistro da parte di ogni singolo centro.

### Follow-up

Per tutti i pazienti, sia quelli con test di TWA determinabile sia quelli con test di TWA indeterminabile, è previsto un contatto telefonico di follow-up a 18 mesi. In caso di mancata risposta, si procederà all'invio di un questionario e se necessario a una verifica presso l'anagrafe del comune di residenza.

Gli end-point considerati al follow-up saranno:

- mortalità per ogni causa;
- mortalità cardiaca;
- mortalità cardiaca improvvisa (decesso correlato a cause cardiache, caratterizzato da improvvisa perdita della coscienza entro un'ora dall'inizio dei sintomi);
- eventi coronarici acuti non fatali;
- arresto cardiaco resuscitato;
- fibrillazione ventricolare o tachicardia ventricolare sostenuta (ritmo ventricolare di durata >30 secondi o richiedente cardioversione di emergenza per collasso emodinamico);
- interventi appropriati del defibrillatore nei pazienti portatori di ICD.

## Valutazione dell'efficacia

### Parametri primari di efficacia saranno:

dati acquisiti mediante test di TWA: riduzione dell'ampiezza della TWA alla frequenza cardiaca massima raggiunta e alla frequenza cardiaca massima comune al test eseguito alla Visita basale e alla Visita finale nella eVM e nella derivazione precordiale V2-V4 con alternanza di maggiore ampiezza.

Ulteriori parametri di efficacia saranno:

- prevalenza dei pazienti positivi al test di TWA al termine del trattamento;
- variazione della frequenza soglia della TWA;
- dati acquisiti mediante ECG dinamico 24 ore: analisi della variabilità della frequenza cardiaca nel lungo periodo e del pattern aritmico;
- dati acquisiti mediante ECG a 12 derivazioni: analisi dell'intervallo QT e della sua dispersione.

## Analisi statistica

### Dimensione campionaria

Non esistono dati in letteratura circa l'effetto dei PUFA n-3 sulla TWA, quindi la stima del numero di soggetti da arruolare, necessariamente approssimata, è basata su un'ipotesi di efficacia antiaritmica dei PUFA derivabile dalle esperienze cliniche citate nel rationale del presente studio e su dati di uno studio epidemiolo-

gico in pazienti infartuati "studio 1"<sup>29</sup> e di uno studio comparativo sull'efficacia farmacologica di due beta-bloccanti in pazienti aritmici "studio 2".<sup>30</sup>

Il parametro di efficacia dello studio su cui si è provveduto a definire la dimensione campionaria è il Valt. Nella popolazione di infartuati "studio 1" il parametro presentava una media di  $4,9 \pm 4,8$   $\mu$ Volt. Nello "studio 2", dopo trattamento con metoprololo, si è osservata una riduzione del Valt del 35% (da  $7,9 \pm 6$  a  $4,9 \pm 4,2$   $\mu$ Volt) e del 38% dopo sotalolo (da  $8,6 \pm 6,8$  a  $4,4 \pm 2,3$   $\mu$ Volt). È plausibile che anche in pazienti infartuati la deviazione standard diminuisca dopo trattamento farmacologico. Per interpolazione si è utilizzato per il calcolo della dimensione del campione un valore di deviazione standard di 4  $\mu$ Volt.

Si ritiene clinicamente rilevante l'evidenziazione di una riduzione del Valt del 30% dopo trattamento con PUFA n-3 (da 4,90 a 3,43, delta 1,47  $\mu$ Volt), ipotizzando l'assenza di modificazioni del parametro dopo placebo.

Assumendo un errore alfa pari al 5% con un test a due code, una potenza pari all'80% e una differenza fra PUFA n-3 e placebo di  $1,47 \pm 4$   $\mu$ Volt, sono necessari 118 pazienti per gruppo. Calcolando una percentuale non superiore al 10% di drop-out e tenendo conto dei blocchi di randomizzazione (blocchi di 4), per selezionare 240 pazienti valutabili dovrebbero essere arruolati 264 pazienti (132 con test di TWA basale positivo e 132 con test negativo). Ipotizzando che il 13% dei test di TWA eseguiti alla visita basale possa risultare indeterminabile, occorrerà arruolare 304 pazienti per poter randomizzare al trattamento 264 pazienti.

### Criteria di efficacia

L'analisi statistica sarà effettuata utilizzando il package SAS versione 8.2. Una differenza sarà considerata statisticamente significativa se il livello di significatività per un test a due code sarà  $\leq 5\%$ .

Il criterio principale di efficacia sarà la valutazione, al termine del periodo di trattamento, dell'entità della riduzione del Valt rispetto al basale. Il confronto fra i due gruppi sarà effettuato con l'analisi della covarianza (ANCOVA, procedura GLM del SAS) considerando nel modello i fattori Trattamento, Centro, interazione "Trattamento per Centro" e il valore basale di Valt come covariata.

Saranno inoltre valutati i seguenti parametri secondari di efficacia:

*Test di TWA.* Le proporzioni di pazienti dei due gruppi che, alla fine del trattamento, avranno evidenziato la negativizzazione del test TWA inizialmente positivo, saranno confrontate con il test del chi quadrato.

*ECG dinamico di 24 ore ed ECG a 12 derivazioni.* Per quanto concerne i parametri espressi su scale di misura di tipo continuo, le variazioni rispetto al basale indotte dai due trattamenti saranno confrontate mediante l'ANCOVA, inserendo nel modello il valore basale come covariata. Le variazioni dei parametri di tipo binario o categorico saranno analizzati con il test del chi quadrato. Le variazioni dei parametri espressi con conteggi saranno analizzate con il test di Wilcoxon per campioni indipendenti.

*Significato prognostico del test di TWA.* Si procederà a eseguire un'analisi di sopravvivenza (log-rank test) per gli end-point specificati tra i pazienti con TWA positiva, negativa e indeterminata. Qualora si riscontri una differenza statisticamente significativa, si procederà a valutare il significato prognostico indipendente del test di TWA mediante la costruzione di un modello di Cox, ossia inserendo come covariate frequenza dei battiti ectopici ventricolari all'ECG dinamico di 24 ore, tachicardia ventricolare non sostenuta all'ECG dinamico di 24 ore, frequenza cardiaca all'ECG a 12 derivazioni, variabilità RR all'ECG dinamico di 24 ore, ciclo RR medio all'ECG dinamico di 24 ore, età, sesso, FEVS.

## Bibliografia

1. Bang HO, Dyerberg J, Horne N: The composition of food consumed by Greenland Eskimos. *Acta Ned Scand* 1976;200:69-73.
2. Mc Lennan PL, Abeywardena MY, Charnock JS: Influence of dietary lipids on arrhythmias and infarction after coronary artery ligation in rats. *Can J Physiol Pharmacol* 1985;63:1411-1417.
3. Billman GE, Kang JX, Leaf A: Prevention of sudden cardiac death by dietary pure omega-3 polyunsaturated fatty acids in dogs. *Circulation* 1999;99:2452.
4. Thandroyen FT, Morris AC, Hagler HK, et al.: Intracellular calcium transients and arrhythmias in isolated heart cells. *Circ Res* 1991;56:231-241.
5. Leaf A, Kang JX: Prevention of sudden cardiac death by N-3 fatty acids: a review of the evidence. *J Intern Med* 1996;240:5-12.
6. Kang XJ, Xiao YF, Leaf A: Free long-chain polyunsaturated fatty acids reduce membrane electrical excitability in neonatal rat

Effetto dei PUFA n-3 su alternanza dell'onda T

- cardiac myocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92:11000-11004.
7. Priori SG, Aliot E, Blomstrom-Lundqvist C, et al.: Task Force on Sudden Cardiac Death of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 2001;22:1374-1450.
  8. Burr M, Gilbert Jf, Holliday RM, et al.: Effects of changes in fat, fish, and fibre intakes on death and myocardial infarction: diet and reinfarction trial (DART). *Lancet* 1989;334:757-761.
  9. De Logeril M, Renaud S, Mamelle N, et al.: Mediterranean alpha-linoleic acid rich diet in secondary prevention of coronary heart disease. *Lancet* 1994;343:1454-1459.
  10. Siscovick DS, Raghunathan TE, King I, et al.: Dietary intake and cell membrane levels of long-chain n-3 polyunsaturated fatty acids and the risk of primary cardiac arrest. *JAMA* 1995;274:1363-1367.
  11. Albert CM, Hennekens CH, O'Donnell CJ, et al.: Fish consumption and risk of sudden cardiac death. *JAMA* 1998;279:23-28.
  12. GISSI Prevenzione Investigators: Dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids and vitamin E after myocardial infarction: results of the GISSI-Prevenzione trial. *Lancet* 1999;354:447-455.
  13. Christensen JH, Gustenhoff P, Eilersen E, et al.: N-3 fatty acids and ventricular extrasystoles in patients with ventricular tachyarrhythmias. *Nutr Res* 1995;15:1-8.
  14. Sellamayer A, Witzgall H, Lorenz RL, Weber PC: Effects of dietary fish oil on ventricular premature complexes. *Am J Cardiol* 1995;76:974-977.
  15. Christensen JH, Korup E, Aaroe E, et al.: Fish consumption, n-3 fatty acids in cell membranes, and heart rate variability in survivors of myocardial infarction with left ventricular dysfunction. *Am J Cardiol* 1997;79:1670-1673.
  16. Christensen JH, Aaroe J, Knudsen N, et al.: Heart rate variability and n-3 fatty acids in patients with chronic heart failure – a pilot study. *Clin Nephrol* 1998;49:102-106.
  17. Christensen JH, Christensen SM, Dyeberg J, Schimdt EB: Heart rate variability and fatty acid content of blood cell membranes: a dose-response study with n-3 fatty acids. *Am J Clin Nutr* 1999;70:331-337.
  18. Food and Drug Administration, HHS. *Substances Affirmed as Generally Recognized as Safe: Menhaden Oil*. 30751-30757. Federal Register, June 5, 1997.
  19. Rosenbaum DS, Jackson LE, Smith JM, Garan H, Ruskin JN, Cohen RJ: Electrical alternans and vulnerability to ventricular arrhythmias. *N Engl J Med* 1994;330:235-241.
  20. Hohnloser SH, Klingenberg T, Zabel M, Li Y-G, Albrecht P, Cohen RJ: T-Wave alternans during exercise and atrial pacing in humans. *J Cardiovasc Electrophysiol* 1997;8:987-993.
  21. Estes NAM III, Michaud G, Zipes DP, et al.: Electrical alternans during rest and exercise as predictors of vulnerability to ventricular arrhythmias. *Am J Cardiol* 1997;80:1314-1318.
  22. Costantini O, Drabec C, Rosenbaum D: Can sudden cardiac death be predicted from T wave of the ECG? A critical examination of T wave alternans and QT interval dispersion. *PACE* 2000;23:1407-1416.
  23. Klingenberg T, Credner SC, Bonsignore M, Mauss O, Hohnloser SH: Long-term reproducibility of analysis of microvolt T wave alternans after myocardial infarction: results of a prospective study. *PACE* 1999;22:788.
  24. Pedretti RFE: *Published clinical data and clinical application of T-wave alternans. Cardiac arrhythmias: how to improve the reality in the third millennium?* Proceedings of the VII Southern Symposium on Cardiac Pacing: 280-94. Giardini Naxos Taormina, September 6-9, 2000.
  25. Caffarone A, Martinelli A, Valentini P, Vanoli E: T wave alternans detection during exercise stress test and during dobutamine stress. A comparative study in patients with a recent myocardial infarction. *It Heart J* 2001;2:265-270.
  26. Klingenberg T, D'Agostino RDB, Cohen RJ, Hohnloser SH: Predictive value of T-wave alternans for arrhythmic events in patients with congestive heart failure. *Lancet* 2000;356:651-652.
  27. Grimm W, Hoffman J, Menz V, Maisch B: Relation between microvolt level T wave alternans and other potential non-invasive predictors of arrhythmic risk in the Marburg cardiomyopathy study. *PACE* 2000;23(Pt II):1960-1964.
  28. Ikeda T, Saito H, Tanno K, et al.: T-Wave alternans as a predictor for sudden cardiac death after myocardial infarction. *Am J Cardiol* 2002;89:79-82.
  29. Ikeda T, Sakata T, Takami M, et al.: Combined assessment of T-wave alternans and late potentials used to predict arrhythmic events after myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2000;35:722-730.
  30. Klingenberg T, et al.: Effect of metoprolol and d,l-sotalol on microvolt-level T-wave alternans. *J Am Coll Cardiol* 2001;38:2013-2019.
  31. Hohnloser SH, Ikeda T, Bloomfield DM, Dabbous DM, Cohen RJ: T-wave alternans negative coronary patients with low ejection and benefit from defibrillator implantation. *Lancet* 2003;362:125-126.
  32. Sarzi Braga S, Vaninetti R, Laporta A, Picozzi A, Pedretti RFE: T wave alternans is a predictor of death in patients with congestive heart failure. *Int J Cardiol* 2004;93:31-38.

Indirizzo per la corrispondenza

Roberto F.E. Pedretti  
IRCCS Fondazione Salvatore Maugeri  
Divisione di Cardiologia  
Istituto Scientifico di Tradate  
Via Roncaccio, 16  
21049, Tradate (VA)  
Tel.: 0331-829111  
Fax: 0331-829303  
E-mail: rpedretti@fsm.it