

Dipartimento Tutela della Salute
e Politiche Sanitarie

**AZIENDA SANITARIA PROVINCIALE
CROTONE**



REGIONE CALABRIA

DELIBERA DEL DIRETTORE GENERALE

Delibera n. 054

OGGETTO: autorizzazione Studio no-profit CISAS: Valutazione dei biomarcatori cardiovascolari nelle aree dei siti inquinati di Crotone - P.O. Crotone (Dr A.Sulla e la Dr.ssa T.Lamprinoudi)

STRUTTURA PROPONENTE: Segreteria Aziendale Comitato Etico Regionale - Area Centro - Data di presentazione della proposta 30/01/2018

In data 01 FEB. 2018, nella Sede Legale dell'ASP, sita in Crotone via Mario Nicoletta Centro Direzionale "Il Granaio", il Direttore Generale Dr. Sergio ARENA, adotta la seguente delibera sulla base della proposta di seguito riportata.

Su conforme proposta del responsabile del procedimento designato nonché della espressa dichiarazione di regolarità e legittimità e di conformità dell'atto alla normativa vigente resa dal Referente Aziendale del Comitato Etico Regionale

PREMESSO che con Delibera del Commissario Straordinario n.79 del 01/3/2016 è stato preso atto del DPGR-CA n.2 del 13 gennaio 2014 "Adempimenti D.L. 13 settembre 2012 n.158, convertito, con modificazioni, dalla Legge 8 novembre 2012, n.189: Riorganizzazione Comitati Etici";

PRESO ATTO che, in adempimento al DPGR-CA n.2/2014 il Comitato Etico Regionale - Sezione Area Centro, con ubicazione presso l'Azienda Ospedaliero-Universitaria "Mater Domini" di Catanzaro comprende, tra le altre, anche l'ASP di Crotone;

VISTA la delibera n.58 del 07 luglio 2017 avente ad oggetto: approvazione rapporto di collaborazione con l'Istituto di Fisiologia Clinica del CNR di Pisa e l'ASP di Crotone per progetto CISAS ed autorizzazione preliminare alla realizzazione dello studio no-profit "CISAS: Valutazione dei biomarcatori cardiovascolari nelle aree dei siti inquinati di Crotone";

PRESO ATTO che lo studio sarà condotto sotto la diretta responsabilità del Dr Antonio Sulla e della Dr.ssa Theodora Lamprinoudi, rispettivamente dell'U.O. di Cardiologia e del Servizio di Angiologia del P.O. di Crotone, in qualità di Sperimentatori Responsabili;

PRESO ATTO, altresì, che parteciperanno allo studio in qualità di co-sperimentatori:

- 1) Dr Alessandro F.Colombo, dirigente medico nefrologo
- 2) Dr.ssa Rosita Lucà, dirigente medico nefrologo
- 3) Sig.ra Angela Colacino, Infermiere Coordinatore
- 4) Sig. Gennaro Prestinice, Infermiere
- 5) Dr.ssa Tommasina Nicoletta, dirigente medico laboratorista

VISTA la rinnovata bozza di convenzione economica che allegata alla presente delibera ne costituisce parte integrante e sostanziale;

VISTA la copia del verbale della riunione del Comitato Etico Regionale Area Centro del 20 luglio 2017, Registro protocollo n.174, che viene allegata alla presente delibera e ne costituisce parte integrante e sostanziale;

PRESO ATTO che il Comitato Etico Regionale Area Centro per questo studio ha espresso parere favorevole;

CONSIDERATO che non sono previsti oneri per l'Azienda

PROPONE

per quanto in narrativa che qui si intende integralmente ripetuto e confermato di:

PRENDERE ATTO del parere favorevole espresso dal Comitato Etico Regionale Area Centro nella seduta del 20 luglio 2017 Registro protocollo n.174, che viene allegata alla presente delibera e ne costituisce parte integrante e sostanziale;

AUTORIZZARE il Dr Antonio Sulla e la Dr.ssa Theodora Lamprinoudi, rispettivamente dell'U.O. di Cardiologia e del Servizio di Angiologia del P.O. di Crotone, nel rispetto di quanto previsto dalla normativa vigente, a partecipare, in qualità di Sperimentatori Responsabili, allo Studio no-profit "CISAS: Valutazione dei biomarcatori cardiovascolari nelle aree dei siti inquinati di Crotone";

AUTORIZZARE, altresì, a parteciperanno allo studio in qualità di co-sperimentatori:

- 1) Dr Alessandro F.Colombo, dirigente medico nefrologo
- 2) Dr.ssa Rosita Lucà, dirigente medico nefrologo
- 3) Sig.ra Angela Colacino, Infermiere Coordinatore
- 4) Sig. Gennaro Prestinice, Infermiere

5) Dr.ssa Tommasina Nicoletta, dirigente medico laboratorista

APPROVARE la rinnovata bozza di convenzione economica che allegata alla presente delibera ne costituisce parte integrante e sostanziale;

PROCEDERE successivamente alla sottoscrizione della convenzione tra l'Istituto di Fisiologia Clinica del CNR di Pisa e l'Azienda Sanitaria Provinciale di Crotone nelle persone del Direttore Generale Dr Sergio Arena e dei Responsabili dello Studio Dr Antonio Sulla e la Dr.ssa Theodora Lamprinoudi;

STABILIRE sin d'ora, che le somme direttamente versate all'azienda a copertura dell'impegno della struttura, saranno destinati prioritariamente a sostenere i costi degli esami e/o procedure esplicitamente previsti nel Protocollo di studio: Prelievo ematico, Analisi di laboratorio, Esami strumentali e di imaging, Ecografia carotidea, Analisi ECG, etc...;

CHE le somme rimanenti, al netto dei costi di cui sopra, saranno così ripartite come da delibera n.195 del 14 dicembre 2010:

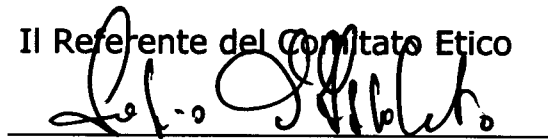
- 60%, comprensivo degli oneri a carico dell'Azienda, allo sperimentatore e alla sua équipe;
- 10% all'Unità Operativa presso la quale viene svolta l'attività di sperimentazione/studio osservazionale. Tale somma sarà utilizzata per l'acquisto di attrezzature sanitarie ovvero per l'organizzazione di congressi e corsi di aggiornamento per il personale;
- 10% all'Azienda Sanitaria Provinciale di Crotone;
- 10% alla Segreteria Aziendale del Comitato Etico (delibera n.79/2016);
- 5% alla Farmacia Ospedaliera e/o Territoriale da destinare come compenso per il personale dipendente coinvolto nella gestione e monitoraggio dei farmaci ovvero per l'acquisto di attrezzature da destinare all'attività farmaceutica. Nel caso lo studio non preveda l'uso di farmaci questa quota andrà ad incrementare la quota del 60% destinata allo sperimentato ed alla sua équipe;
- 5% destinato al fondo di perequazione previsto nell'ambito dei fondi dell'attività libero professionale.

TRASMETTERE, per i rispettivi adempimenti di competenza, copia del presente atto a:

- Ufficio Segreteria Generale;
- Comitato Etico Regione Calabria Sezione Area Centro – A.O.U. Mater Domini, via Tommaso Campanella n.115 Catanzaro;

- CNR – Istituto di Fisiologia Clinica, via G.Moruzzi, 1 – 56124 Pisa;
- Dr Antonio Sulla e la Dr.ssa Theodora Lamprinoudi, Sperimentatori Responsabili;
- Dr Alessandro F.Colombo, Dr.ssa Rosita Lucà, Sig.ra Angela Colacino, Sig. Gennaro Prestinice, Dr.ssa Tommasina Nicoletta, Co-sperimentatori;
- Dr Gaetano Mauro, Direttore Dipartimento AFO medica;
- Dr Enrico Ciliberto, Direttore Dipartimento AFO Servizi Sanitari di Supporto;
- Direttore Sanitario P.O.;
- Ufficio Gestione Risorse Economiche e Finanziarie

Il Referente del Comitato Etico



Con il parere favorevole del Direttore Amministrativo e del Direttore Sanitario

IL DIRETTORE GENERALE

Vista la proposta di deliberazione che precede e che s'intende qui di seguito integralmente riportata e trascritta.

Visti i pareri favorevoli espressi dal Direttore Amministrativo e dal Direttore Sanitario.

Ritenuto di condividerne il contenuto.

DELIBERA

di approvare la superiore proposta che qui s'intende integralmente riportata e trascritta per come sopra formulata dal Direttore della struttura proponente.

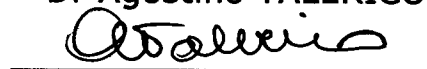
Il Direttore Amministrativo

Dott. Giuseppe FICO



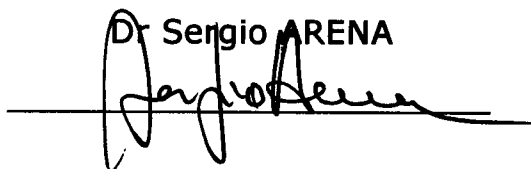
Il Direttore Sanitario

Dr Agostino TALERICO



Il Direttore Generale

Dr Sergio ARENA



UFFICIO AFFARI GENERALI

SEGRETERIA GENERALE

CERTIFICATO DI PUBBLICAZIONE

Si certifica che la presente delibera è stata pubblicata nelle forme di legge

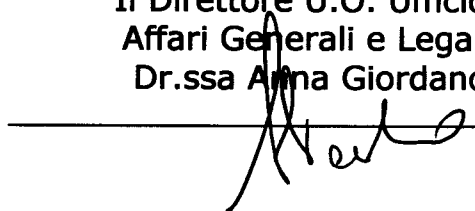
all'Albo pretorio dell'Azienda in data 01 FEB. 2018 con protocollo

n. 015

Il Responsabile del procedimento

.....

Il Direttore U.O. Ufficio
Affari Generali e Legali
Dr.ssa Anna Giordano



Registro Protocollo n. 174 del 20 Luglio 2017

Oggetto: Verbale Studio Osservazionale "Valutazione di biomarcatori cardiovascolari nelle aree dei siti inquinati di Crotone".

Responsabile dello Studio: Responsabile U.O. di Cardiologia P.O. "San Giovanni di Dio" ASP Crotone **Dott. Antonio Sulla**.

Dirigente Medico Servizio di Angiologia P.O. "San Giovanni di Dio" ASP Crotone **Dr.ssa Theodora Laamprinoudi**

Documenti Esaminati:

1. Lettera d'intenti;
2. Lettera di dichiarazione dello sperimentatore locale (All. B) e lettera di dichiarazione del Direttore dell'U.O. (ALL.C);
3. Protocollo di Studio;
4. Sinossi;
5. Foglio informativo per il paziente;
6. Modulo per il consenso informato;
7. Testo della lettera da inviare al Medico Curante;
8. Dichiarazione di Studio No Profit (ALL. H);
9. Scheda analisi costi (per studi no profit);
10. Autocertificazione esenzione accensione polizza assicurativa;
11. Modulistica per la raccolta dati (CRF);
12. Copia delle schede e/o questionari;
13. Investigator's Bouchure;
14. Bozza convezione economica;
15. CV Sperimentatori responsabili

Verificato:

il numero legale (come da elenco allegato) e che i Componenti del C.E. per i quali sussiste un conflitto di interesse di tipo diretto e indiretto si astengano nel pronunciare un parere.

Il giorno 20.07.2017 il Comitato Etico Regione Calabria Sezione Area Centro con sede presso l'A.O.U. Mater Domini in Via Tommaso Campanella, 115 Catanzaro, **esprime parere favorevole allo Studio Osservazionale di cui all'oggetto.**

Il C.E. è un organismo indipendente, senza rapporti di subordinazione gerarchica nei confronti della struttura in cui opera.

Esso effettua la valutazione degli aspetti etici della ricerca Biologica e clinica, nel rispetto del Decreto Legislativo n. 211 del 2003, della dichiarazione di Helsinki nella sua versione più aggiornata, della convenzione di Oviedo, delle norme di buona pratica clinica di cui all'allegato 1 al D.M. 15 luglio 1997, delle linee guida aggiornate dall'Agenzia europea per la valutazione dei medicinali in tema di valutazione dell'efficacia delle sperimentazioni cliniche e delle raccomandazioni del Comitato Nazionale di bioetica, formulando raccomandazioni, suggerimenti e pareri (questi ultimi in presenza di formale richiesta) su fondamentali e specifiche problematiche di natura etica.

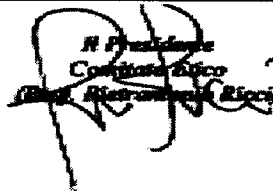
L'organizzazione ed il funzionamento sono quelli previsti dal D.M. dell'08 Febbraio 2013

Si trasmette la presente per gli adempimenti del caso, secondo le rispettive competenze.

Resp. Segreteria Tecnico-Scientifica
Comitato Etico
(Dott. J. M. Mancuso)



R. Presidente
Comitato Etico
(Dott. Michelangelo Rossano)



**CONVENZIONE TRA
"AZIENDA SANITARIA PROVINCIALE DI CROTONE"**

E

**ISTITUTO DI FISILOGIA CLINICA DEL CNR DI PISA
CONCERNENTE CONDIZIONI E MODALITA' PER L'ESECUZIONE DELLO STUDIO
"Centro Internazionale di Studi avanzati su Ambiente e Salute umana" - CISAS
CODICE E NOME DELLO STUDIO**

" CISAS-Crotone - Valutazione di biomarcatori cardiovascolari nelle aree dei siti inquinati di Crotone

PRESSO l'Ospedale "San Giovanni di Dio" di Crotone

Premesso:

- che con istanza in data 07/07/2017 l'Azienda Sanitaria Provinciale di Crotone, con sede legale in Crotone, C.F./P.I. 01997410798 ha richiesto la pertinente autorizzazione ad effettuare lo studio dal titolo "Valutazione di biomarcatori cardiovascolari nelle aree dei siti inquinati di Crotone." Protocollo n. 64141 (di seguito lo "Studio")
- che il competente Comitato Etico Regione Calabria ha espresso il proprio parere favorevole al rilascio dell'autorizzazione, in conformità al D.Lgs n. 211 del 24.06.2003, e alle altre norme vigenti in materia, nella seduta del 20/07/2017 con verbale n° 174;
- che con Delibera CIPE n. 105/2015 del 23 dicembre 2015 è stato approvato l'accordo di collaborazione tra il Ministero dell'Istruzione, dell'Università e della Ricerca ed il Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR) per il trasferimento delle risorse finalizzate alla realizzazione del progetto "Centro Internazionale di Studi avanzati su Ambiente ed impatti su ecosistema e Salute umana", CISAS, che avrà sede presso l'ex complesso monumentale Roosevelt di Palermo, sede del Polo di eccellenza del Mar Mediterraneo;
- che nell'ambito di CISAS saranno realizzate ricerche per la comprensione dei fenomeni dell'inquinamento e del loro impatto sull'ecosistema e sulla salute umana partendo dai casi studio dei tre Siti di Bonifica di Interesse Nazionale (SIN) di Augusta/Priolo, Milazzo e Crotone;
- che nel SIN di Crotone ed in un'area limitrofa (di riferimento) CISAS si propone di investigare l'impatto dell'esposizione a metalli pesanti sul rischio cardiovascolare su soggetti in prevenzione primaria;
- che l'Istituto di Fisiologia Clinica del CNR di Pisa e l'Azienda Sanitaria Provinciale di Crotone instaurano con la presente convenzione un accordo di collaborazione scientifica per la migliore realizzazione dello studio CISAS;
- che lo studio potrà essere avviato solo qualora la Autorità Competente non abbia comunicato, entro i termini di legge, obiezioni motivate;
- che lo studio sui donatori nell'ambito di tutte le strutture dell'Azienda Sanitaria Provinciale di Crotone potrà essere realizzato solo nel pieno rispetto della dignità dell'uomo e dei suoi diritti fondamentali così come dettato dal "Trattato di Helsinki" e successivi eventuali emendamenti, dalle norme di "Good Clinical Practice" (GCP) emanate dalla Comunità Europea (così come recepiti dal Governo Italiano ed in accordo con le Linee Guida emanate dagli stessi organismi), in attuazione di quanto prevede inoltre la Convenzione del Consiglio d'Europa per la protezione dei diritti dell'uomo e della dignità dell'essere umano nell'applicazione della biologia e della medicina fatta ad Oviedo il 4 aprile del 1997 e, infine, secondo i contenuti dei codici italiani di deontologia medica delle professioni sanitarie e dei Regolamenti vigenti in materia.

TRA

l'Azienda Sanitaria Provinciale di Crotone (di seguito per brevità "Azienda") con sede in Crotone, via Mario Nicoletta, Centro Direzionale "Il Granaio" C.F./P.I. 01997410798, nella persona del Direttore Generale Dr Sergio Arena

E

Il CNR – Istituto di Fisiologia Clinica. (di seguito per brevità "Promotore") con sede legale in Via Moruzzi 1, P.I. 02118311006 e C.F. n. 80054330586 in persona del Legale Rappresentante Dr. Giorgio Iervasi

SI CONVIENE E SI STIPULA QUANTO SEGUE

ART. 1 - Premesse

Le premesse ed il Protocollo di studio "Analisi di fattori di rischio e biomarcatori metabolici di danno epatico nell'area Augusta-Priolo" (Allegato PROTOCOLLO) costituiscono parte integrante della presente convenzione.

Le premesse e gli eventuali allegati costituiscono parte integrante della presente convenzione.

Art. 2 - Referenti dello studio

L'Azienda nomina quali Responsabili dello Studio richiamato in premessa, a seguito di formale accettazione, il Dott. Antonio Sulla e la Dott.ssa Theodora Lamprinouidi in servizio, rispettivamente, presso la U.O. di Cardiologia e il Servizio di Angiologia dell'Ospedale di Crotone, in qualità di Sperimentatori Principali.

Il referente tecnico scientifico dello Studio per conto del Promotore sarà il Dr. Francesco Faita il quale potrà nominare un responsabile di progetto ed avere contatti con i sanitari incaricati di programmare e di eseguire lo Studio nel rispetto di quanto previsto dalla normativa richiamata in premessa.

ART. 3 – Inizio Studio e numero donatori

Lo Studio avrà inizio dopo l'ottenimento delle necessarie autorizzazioni ai sensi della normativa vigente e dei regolamenti interni.

Presso il centro sperimentale dell'Azienda saranno arruolati circa 300 donatori entro il 30/11/2018 (data stimata).

Le Parti prendono atto che un eventuale aumento del numero di donatori da arruolare presso il centro sperimentale dell'Azienda, dovrà essere preventivamente concordato per scritto tra lo Sperimentatore ed il Promotore. Lo Sperimentatore ha la responsabilità della notifica dell'ampliamento al Comitato Etico. Resta inteso che l'aumento della casistica, effettuato alle suddette condizioni, non richiede la stipula di un atto integrativo alla presente Convenzione; le condizioni economiche per donatore pattuite nella stessa si applicheranno a tutti i donatori aggiuntivi.

Il Promotore comunicherà tempestivamente per scritto allo Sperimentatore la data di chiusura degli arruolamenti, o per raggiungimento del numero di donatori complessivamente richiesto a livello internazionale o per scadenza dei tempi previsti, e lo Sperimentatore sarà quindi tenuto a svolgere lo Studio solo su quei donatori già arruolati alla data di detta

comunicazione.

Il Promotore non avrà alcuna responsabilità e non riconoscerà alcun compenso per i donatori arruolati dallo Sperimentatore, su sua iniziativa, oltre il numero massimo concordato o in data successiva a quella della comunicazione di interruzione dell'arruolamento

ART. 4 - Obbligazioni delle parti

4.1 Il Promotore si impegna a corrispondere all'Azienda quanto segue:

a) Oneri fissi per costi del Comitato Etico per la sottomissione dello studio: secondo quanto stabilito con D.A. n. 30 del 17 gennaio 2014 - GURS n. 5 del 31 gennaio 2014 (vedi richiesta allegato H: Si richiede secondo l'art.2 del D.M. del 17/12/2004 l'esenzione al versamento della tariffa del Comitato Etico per la Sperimentazione in oggetto);

b) Il compenso massimo a donatore completato e valutabile sarà di € 60,59. Tale importo include i costi degli esami e/o procedure esplicitamente previsti nel Protocollo di studio. Tale importo include i costi degli esami e del personale per un massimo di € 18.177,00 (diciottomilacentosettantasette/00), pari a 300 soggetti.

Per eventuali donatori arruolati ed usciti dallo Studio prima della conclusione dello stesso, verrà erogato un compenso proporzionale al numero di visite effettivamente eseguite e documentate.

Non vi sarà compenso, ad eccezione degli oneri fissi del Comitato Etico, per violazione dei criteri di inclusione e, comunque nel caso di non corretta e completa osservanza del protocollo.

Gli importi per visita/donatore del presente articolo, saranno corrisposti all'Azienda a fronte di emissione di regolare nota debito da parte della stessa, sulla base di rendiconto presentato dall'Azienda ed approvato dal Promotore da inviare al seguente indirizzo:

Istituto di Fisiologia Clinica CNR - Segreteria Amministrativa

Via Moruzzi, 1 – 56124 Pisa

c) Il Promotore riconosce allo Sperimentatore un ammontare complessivo per lo svolgimento delle attività previste nell'allegato protocollo pari a 60,59 (sessanta/59) euro per partecipante-donatore, fino ad un massimo di 18.177,00 (diciottomilacentosettantasette/00) euro più € 2.000 aggiuntivi.

Il pagamento sarà effettuato dal Promotore allo Sperimentatore secondo la seguente articolazione:

- una prima tranche pari al 20% dell'ammontare massimo, dopo l'individuazione dei soggetti da reclutare e dietro presentazione ed approvazione della relazione sull'attività svolta;
- una seconda tranche pari al 30% dell'ammontare massimo a metà del reclutamento e analisi, dietro presentazione ed approvazione della relazione sullo stato di avanzamento delle attività;
- la quota rimanente alla fine del reclutamento e analisi, dietro presentazione ed approvazione della relazione sul completamento delle attività.

Il pagamento sarà effettuato mediante bonifico bancario ai seguenti riferimenti:

- o IBAN: IT311010052200000000218500
- o Banca d'appoggio: BNL – GRUPPO PARIBAS
- o Beneficiario: AZIENDA SANITARIA DI CROTONE VIA M. NICOLETTA – 88900 CROTONE
- o P.iva 01997410798

d) Il Promotore e l'Azienda concordemente e coerentemente con quanto indicato nel Protocollo metteranno a disposizione la strumentazione necessaria alle indagini strumentali. Il Promotore inoltre provvederà alla formazione degli operatori per l'esecuzione degli esami strumentali.

e) Il Promotore provvederà al trasporto dei campioni e dei risultati degli esami strumentali nei

tempi e con le modalità concordate con lo Sperimentatore.

f) Il Promotore e l'Azienda dichiarano che le prestazioni rese per la realizzazione delle attività oggetto della presente convenzione non sono rese nell'esercizio di impresa e che, pertanto le stesse non rientrano nell'ambito di applicazione del D.P.R. 26 ottobre 1972, n. 633 e successive modifiche e integrazioni recante istituzione e disciplina dell'Imposta sul Valore Aggiunto.

4.2 L'Azienda si impegna a mettere a disposizione il personale tecnicamente qualificato, la strumentazione ed i locali necessari allo svolgimento dello Studio.

4.3 L'Azienda si impegna inoltre a fornire al Promotore copia digitale del consenso informato firmato da ciascun donatore arruolato e copia digitale dei risultati delle analisi e degli esami strumentali in forma anonimizzata.

4.4 L'Azienda e lo Sperimentatore si impegnano ad osservare tutte le istruzioni, le direttive e le raccomandazioni precisate nel parere del Comitato Etico. Lo Sperimentatore inoltre, terrà informato il Promotore e il Comitato Etico sull'andamento dello Studio e sarà tenuto a comunicare l'eventuale verificarsi, nel corso dello Studio, di eventi avversi e reazioni avverse serie in accordo al D.Lgs 211/2003, art. 16 e 17. La documentazione inerente allo Studio che rimarrà in possesso dell'Azienda, dovrà essere conservata per il periodo previsto dalla normativa vigente. Il Promotore ha l'obbligo di comunicare all'Azienda il termine dell'obbligo della conservazione.

ART. 5 - Responsabilità in ordine al trattamento di dati personali dei donatori

Ai sensi e a tutti gli effetti del D.Lgs 196/2003 "Codice in materia di protezione dei dati personali", nonché della Deliberazione del Garante (Del. 52 del 24/7/2008) l'Azienda e il Promotore sono, ciascuno per gli ambiti di propria competenza, Titolari autonomi delle operazioni di trattamento di dati correlate all'effettuazione dello Studio oggetto della presente convenzione.

Responsabile del trattamento dei dati dei quali l'Azienda è Titolare è il Responsabile dello Studio o Sperimentatore di cui al precedente art. 2.

Il Responsabile dello Studio, prima di iniziare lo Studio, deve acquisire dal donatore il prescritto documento di consenso informato scritto che dovrà essere prestato anche ai sensi e per gli effetti del D. Lgs 196/03. L'Azienda sarà responsabile della conservazione di tale documento.

ART. 6 - Dati personali delle Parti

Le Parti prendono atto che il Decreto Legge n.201 del 6/12/2011 convertito con modificazioni dalla Legge 22/12/2011 n.214, all'art. 40, riformula le definizioni di "dato personale" e di "interessato" contenute nel Codice Privacy stabilendo che non sono dati personali quelli di "persone giuridiche, enti ed associazioni" e che questi ultimi non vanno considerati quali "interessati" ai fini dell'applicazione del Codice.

ART. 7 – Segretezza, Politica di pubblicazione dei dati, Proprietà dei dati e dei Risultati

Salvo quanto disposto da presente articolo 7, l'Azienda, anche ai sensi degli artt. 1.16 e 1.21 delle GCP recepite con DM 15.07.1997, s'impegna a mantenere segreti tutti i dati, le notizie e le informazioni fornite dal Promotore per l'esecuzione dello Studio e a non rivelare a chicchessia, se non previo consenso scritto del Promotore, impegnandosi altresì a non usare le stesse ad altro scopo che esuli da quello inerente allo Studio.

L'Azienda s'impegna altresì ad estendere tale obbligo agli sperimentatori e a qualunque altra

persona che, per qualsiasi motivo, dovesse venire a conoscenza di tali dati, notizie e informazioni.

Fermo restando quanto sopra, è autorizzata la divulgazione delle informazioni:

- ai componenti del Comitato Etico;
- alle Autorità Regolatorie;
- qualora le informazioni debbano essere rese pubbliche ai sensi di una disposizione normativa imperativa o per ordine di una pubblica autorità, purché l'Azienda ne dia tempestivamente comunicazione al Promotore.

Poiché il fine ultimo dello studio è il miglioramento delle conoscenze scientifiche sulle interazioni fra ambiente e salute, le parti concordano sulla necessità di garantire la più ampia diffusione e divulgazione dei risultati in modo coerente e responsabile, di concerto con le competenti autorità sanitarie per il territorio.

La raccolta, l'analisi, la diffusione e la pubblicazione dei dati e dei risultati dello studio è sotto la responsabilità del Promotore, in collaborazione con lo Sperimentatore.

La titolarità dei diritti sui risultati dello studio spetta in via esclusiva al Promotore che ne acquisisce tutti i relativi diritti di proprietà e sfruttamento scientifico.

ART. 8. - Copertura assicurativa

Si dà atto che, poiché le procedure del protocollo di progetto non modificano in alcun modo le ordinarie attività relative alla quotidiana pratica clinica delle UO e non introducono elementi aggiuntivi di rischio, non viene stipulata alcuna polizza assicurativa per lo studio.

ART. 9. - Decorrenza della convenzione

Le Parti convengono che la presente scrittura avrà validità a decorrere dalla data di ultima sottoscrizione della stessa, e rimarrà in vigore fino alla chiusura del centro sperimentale presso l'Azienda.

La data di termine dello studio è prevista indicativamente entro il 30/09/2019.

ART. 10. - Recesso - Interruzione anticipata

Ciascuna delle parti della presente convenzione si riserva il diritto in qualunque momento, con preavviso scritto di 30 giorni, di recedere dalla convenzione stessa. Tale preavviso verrà inoltrato tramite lettera raccomandata a/r ed avrà effetto dal momento del ricevimento dell'altra parte.

Ciascuna delle parti della presente convenzione si riserva inoltre il diritto di interrompere immediatamente lo Studio per gravi e documentate inadempienze dell'altra parte e in qualunque momento nel caso si abbia motivo, valido e documentabile, di ritenere che la prosecuzione dello Studio possa rappresentare un rischio non accettabile per i donatori coinvolti. In tale caso, lo Sperimentatore e/o l'Azienda porteranno a termine tutte le attività non ancora concluse, operando per garantire la massima tutela del donatore.

Al verificarsi dell'interruzione anticipata dello Studio, il Promotore corrisponderà all'Azienda i rimborsi spese e i compensi effettivamente maturati fino a quel momento.

ART. 11. - Registrazione e bolli.

Il presente atto è soggetto a registrazione solo in caso di uso. Le spese di bollo sono a carico della parte richiedente.

ART. 12. – Foro competente e normativa applicabile

La normativa applicabile alla presente convenzione è quella dello Stato Italiano.

Per qualsiasi controversia derivante dall'applicazione ed interpretazione della presente convenzione, sarà competente in via esclusiva il Foro di Roma, con espressa esclusione di qualsiasi altro Foro, generale e facoltativo.

Art. 13. – Modifiche ed integrazioni

Eventuali modifiche alla presente Convenzione potranno essere effettuate, previo accordo fra le Parti, solo tramite stesura di apposite modifiche scritte.

Le parti si danno reciprocamente atto che la convenzione è stato negoziato in ogni sua parte e che non trovano pertanto applicazione le disposizioni di cui agli artt. 1341 e 1342, c.c.

Art. 14. – Prevenzione della Corruzione, Osservanza delle Leggi ed Obblighi delle Parti

Il Promotore e l'Azienda concordano che le previsioni di cui alla presente convenzione non costituiscono né possono costituire incentivo o corrispettivo per alcuna intenzione – passata, presente o futura – di prescrivere, gestire, consigliare, acquistare, pagare, rimborsare, autorizzare, approvare o fornire qualsiasi prodotto o servizio venduto o reso dal Promotore.

Le Parti concordano che, no pagheranno né prometteranno di pagare e/o autorizzare il pagamento, direttamente o indirettamente, di qualunque importo, né daranno o prometteranno di dare o di autorizzare la donazione di oggetti di valore, a qualsiasi pubblico ufficiale, medico o persona associata ad organizzazione sanitaria, al fine di ottenere o mantenere un'attività commerciale o di assicurare un vantaggio improprio per il Promotore.

L'Azienda dichiara e garantisce che rispetterà la normativa italiana applicabile in materia di anti-corruzione.

Letto, approvato e sottoscritto.

Li _____

Per l'Azienda
il Direttore Generale
Dr Sergio Arena

Data : _____ Firma : _____

Gli Sperimentatori:
Dr Antonio Sulla

Data : _____ Firma : _____

Dr.ssa Theodora Lamprinoudi

Data : _____ Firma : _____

Per il Promotore
il Direttore
Dott. Giorgio Iervasi.

Data : _____ Firma : _____

PROTOCOLLO DI STUDIO

Progetto CISAS

Centro Internazionale di Studi Avanzati su Ambiente, ecosistema e Salute umana

Valutazione di biomarcatori cardiovascolari nelle aree dei siti inquinati di Crotone

Codice identificativo (CISAS-Crotone)

Progetto cofinanziato da CIPE e CNR

Ente coordinatore:

Istituto di Fisiologia Clinica

Consiglio Nazionale delle Ricerche

Via Moruzzi, 1 – 56124 Pisa

Pisa,

05/05/2017

SINOSSI DELLO STUDIO

Titolo

Valutazione di biomarcatori cardiovascolari nelle aree dei siti inquinati di Crotone

Razionale dello studio

Recenti studi hanno evidenziato il legame tra esposizione a metalli pesanti e malattie cardiovascolari. L'area di Crotone è considerata ad alto rischio per la presenza di metalli pesanti nell'ambiente.

Partecipanti

Istituto di Fisiologia Clinica – Consiglio Nazionale delle Ricerche (IFC-CNR), Pisa
Istituto di Fisiologia Clinica – Consiglio Nazionale delle Ricerche (IFC-CNR), Reggio Calabria
Azienda Sanitaria Provinciale (ASP), Crotone

Disegno dello Studio

Studio osservazione monocentrico cross-sectional campionario, basato su misura di marcatori biologici e indicatori di rischio.

Lo studio per ciascun soggetto reclutato prevede:

- un'intervista tramite questionario finalizzata alla raccolta di dati antropometrici, storia residenziale, condizioni socioeconomiche, esposizioni ambientali e occupazionali, stile di vita, dieta, percezione del rischio e accesso all'informazione;
- un prelievo di sangue;
- indagini strumentali e di imaging

Obiettivo

Valutare l'impatto dell'esposizione a metalli pesanti sul rischio cardiovascolare su pazienti in prevenzione primaria

Criteri di selezione delle Aree

Soggetti residenti in area SIN di Crotone (area esposta) e soggetti residenti in un'area di riferimento (area non esposta)

Criteri di inclusione dei soggetti

Pazienti in prevenzione primaria con età 40-70 anni

Durata del progetto

17 ottobre 2016-16 ottobre 2019

Periodo di studio

Settembre 2017-Settembre 2019

N. Soggetti partecipanti

3 (IFC-CNR, sedi di Pisa e Reggio Calabria, ASP di Crotone)

Casistica

150 soggetti reclutati nel SIN di Crotone e 150 reclutati nell'area di riferimento, con randomizzazione stratificata per sesso ed età. Fonte di campionamento: elenco degli assistiti della ASP di Crotone.

Principal Investigator

Dr. Francesco Faïta (responsabile del task 4.4.1 del Progetto CISAS-CNR)

Coordinamento biomedico e clinico

IFC-CNR, Reggio Calabria

PERSONALE LOCALE COINVOLTO

Sede di Pisa

Silvia Baldacci, Serena Del Turco, Alessandro Pingitore, Michele Santoro, Cristina Vassalle

Sede di Reggio Calabria

Davide Bolignano, Graziella D'Arrigo, Patrizia Pizzini, Claudia Torino, Giovanni Tripepi

Sperimentatore locale

Antonio Sulla, Theodora Lamprinou, Alessandro F. Colombo, Rosita Lucà, Tommasina Nicoletta, Angela Colacino, G. Prestinice

PRESENTAZIONE DELLO STUDIO CISAS

Il Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR) promuove la realizzazione del "Centro Internazionale di Studi avanzati su Ambiente ed impatti su ecosistema e Salute umana", CISAS, che avrà sede presso l'ex complesso monumentale Roosevelt di Palermo, sede del Polo di eccellenza del Mar Mediterraneo.

Il progetto CISAS vede coinvolti quattro Istituti del CNR, coordinati dal Dipartimento Scienze del Sistema Terra e Tecnologie per l'Ambiente, in sinergia con alcuni dei più importanti enti di ricerca pubblici della Regione Sicilia e Calabria per lo sviluppo di una complessa azione di ricerca scientifica volta alla comprensione dei fenomeni di inquinamento ambientale e del loro impatto sull'ecosistema e la salute umana. La ricerca si sviluppa prendendo in considerazione i tre Siti di Bonifica di Interesse Nazionale (SIN) di Augusta/Priolo, Milazzo e Crotone. Con lo studio CISAS saranno ulteriormente sviluppate le conoscenze sull'associazione tra l'esposizione a contaminanti ambientali e rischi per la salute, nell'ottica della prevenzione primaria e del contrasto degli effetti avversi dell'inquinamento. Le nuove conoscenze contribuiranno alla costruzione di sistemi innovativi di sorveglianza epidemiologica, con l'obiettivo di fornire una corretta misura dei rischi e dare indicazioni per gli interventi di bonifica nelle aree ad alto rischio.

Per studiare la relazione tra ambiente e salute nell'area di Milazzo, CISAS propone due studi.

a) Uno studio epidemiologico trasversale campionario, basato su misura di biomarcatori cardiovascolari, prendendo in esame un campione di 300 volontari in comuni dell'area a diversa esposizione ad inquinanti ambientali. Lo studio nell'area di Crotone è proposto e coordinato dall'Istituto di Fisiologia Clinica (IFC), istituto biomedico di ricerca a indirizzo clinico del CNR. Le attività sanitarie specialistiche precedentemente svolte da IFC sono state ulteriormente sviluppate dalla Fondazione Gabriele Monasterio, un centro di alta specialità per le malattie cardiopolmonari, l'endocrinologia e le malattie del metabolismo.

b) Uno studio epidemiologico longitudinale basato su una coorte dei nati. Le coorti di nascita sono uno dei metodi utilizzati in epidemiologia ambientale per identificare possibili fattori di rischio che, a partire dalla gravidanza e in seguito dopo la nascita, possono essere associati ad alcune patologie del bambino (quali i disturbi dello sviluppo e del comportamento) e ad altre condizioni e malattie più rare. Lo studio sulla coorte dei nati è proposto e coordinato dall'Istituto di Biomedicina ed Immunologia Molecolare (IBIM) del CNR – con sede a Palermo – che svolge attività diagnostica e terapeutica delle patologie broncopolmonari (asma bronchiale, broncopneumopatia cronica ostruttiva, ecc), dei disturbi cardiorespiratori durante il sonno, delle patologie allergiche e dei disturbi della nutrizione. Parallelamente alle attività cliniche, l'IBIM svolge attività di ricerca biomedica ed epidemiologica nel campo dei rapporti tra qualità dell'ambiente e salute dell'uomo

PROTOCOLLO DELLO STUDIO

1. Introduzione e razionale

Crotone è stato individuato come un Sito di Interesse Nazionale per le Bonifiche (SIN) a causa del rischio ecologico e sanitario determinato dall'elevata presenza di attività industriali. In tale sito è stata documentata la presenza di alte concentrazioni di metalli pesanti [1,2,3] e alcuni studi epidemiologici con disegno ecologico hanno mostrato una maggiore incidenza di eventi cardiovascolari in questa zona. Lo studio SENTIERI (Studio Epidemiologico Nazionale Territori ed Insediamenti Esposti a Rischio da Inquinamento) sulla mortalità relativa al periodo 1995-2002, ha mostrato un eccesso di malattie circolatorie tra i maschi adulti (13%) [2]. In uno studio relativo ai comuni di Crotone e Cassano-Cerchiara, relativo al periodo 2006-2012, è stato osservato un eccesso della mortalità per tumori renali nei maschi e nelle femmine (+ 105% e + 37%, rispettivamente), e nelle donne per le malattie dell'apparato genito urinario (+49%) e per insufficienza renale (+43%). Inoltre, il tasso di ricovero ospedaliero è risultato in eccesso negli uomini e nelle donne per: cardiopatia ischemica (+21% in entrambi i generi), malattie ischemiche acute (+42% negli uomini, +46% nelle donne), nefrite, di sindrome nefrosica e nefrosi (+45%, +68%), mentre un tasso superiore di tumori renali è emerso tra i maschi (+49%) [3].

Negli ultimi anni, è stata posta grande attenzione sul tema della esposizione a metalli pesanti come arsenico, piombo, cadmio e mercurio, e il rapporto con le malattie cardiovascolari (CVD) [4]. Infatti, sia elevati livelli di piombo nel sangue e nelle ossa [5], sia elevati livelli di cadmio nelle urine [6] sono stati associati ad un aumento della mortalità cardiovascolare. Inoltre, un recente studio prospettico di coorte ha dimostrato che l'esposizione a livelli di arsenico da bassi a moderati rappresenta un fattore determinante per l'incidenza di CVD e l'aumento del rischio cardiovascolare [7]. In aggiunta, la disfunzione endoteliale può svolgere un ruolo chiave, come primo segno di aterosclerosi, nei meccanismi di danno cardiovascolare indotti da contaminazione. In questo contesto, l'infiammazione e la vulnerabilità alla trombosi del sangue possono svolgere un ruolo fisiopatologico nel favorire eventi cardiovascolari indotti dall'inquinamento ambientale; tuttavia i meccanismi e le fonti di suscettibilità sono ancora poco chiari [4, 8]. Inoltre, dati recenti hanno dimostrato che il metabolismo osseo alterato è associato ad un aumentato rischio cardiovascolare [9, 10]. Infine, è interessante notare che diversi metalli pesanti sono inquinanti capaci di influenzare in modo critico la massa ossea, anche se l'influenza dell'inquinamento ambientale sulla salute delle ossa e la presenza di osteoporosi è ancora un fatto non del tutto chiaro se non controverso.

La potenziale associazione tra esposizione a metalli pesanti e CVD ha una serie di implicazioni cliniche, principalmente dovute a un aumento dello stress ossidativo e dello stato infiammatorio [11, 12]. Studi precedenti hanno evidenziato come tra gli effetti della tossicità del mercurio ci siano l'ipertensione [13], la riduzione della variabilità della frequenza cardiaca [14] e l'aumento dello spessore medio-intimale carotideo [15]. Risultati simili sono stati riportati per l'esposizione ad alti livelli di arsenico [16, 17]. Inoltre, uno studio recente sull'animale ha dimostrato come l'esposizione cronica a cadmio possa portare ad un aumento della rigidità arteriosa [18]. In tal senso, la rigidità arteriosa si è anche dimostrata essere un biomarker efficace e sensibile dell'esposizione ad un'area caratterizzata da inquinamento atmosferico elevato [19]. Inoltre, è stata trovata in pazienti in emodialisi, che risultano ad alto rischio per esposizione ad eccesso di oligoelementi tossici [20], una significativa correlazione negativa tra i livelli di cadmio e la funzione endoteliale. Tuttavia, la maggior parte di queste ricerche sono relative all'esposizione ad un singolo elemento e manca in letteratura una caratterizzazione completa delle alterazioni cardiovascolari.

Inoltre, vi è una crescente evidenza in letteratura che l'inquinamento ambientale possa essere un fattore eziologico di primaria importanza nella patogenesi della malattia renale cronica di origine multifattoriale o da causa indefinita. Numerosi studi meccanicistici e sperimentali hanno definito il ruolo degli ioni, dei metalli pesanti e del fluoro come determinanti del danno glomerulare e tubulare precoce che comunemente precede l'insorgenza del danno renale conclamato che conduce all'insufficienza renale terminale [21,22]. Nonostante le evidenze finora accumulate, nessuno studio epidemiologico ha finora formalmente indagato i rapporti tra esposizione a diversi gradi di inquinamento ambientale e il danno renale glomerulare e tubulare precoce nell'area di Crotone.

Questo progetto ha lo scopo di valutare l'alterazione precoce dei biomarcatori cardiovascolari in soggetti esposti a diversi livelli di inquinamento ambientale multi-elemento. La completa caratterizzazione cardiovascolare proposta, compresa la valutazione anatomica e funzionale del sistema vascolare, nonché la valutazione delle possibili alterazioni della frequenza cardiaca, è utile per implementare programmi di prevenzione e sviluppare nuove strategie volte a ridurre gli effetti negativi dell'inquinamento atmosferico sul sistema cardiovascolare.

Scopo secondario di questo progetto è l'analisi dei rapporti tra entità dell'inquinamento ambientale e una serie di indicatori funzionali ed urinari di danno renale oltre a specifici biomarcatori urinari di danno tubulare opportunamente indicizzati per l'escrezione urinaria di creatinina. Tutte le misurazioni di laboratorio saranno effettuate con metodi disponibili in commercio e ben standardizzati e validati. Dai risultati ci si attende di giungere a una stratificazione integrata del grado di rischio cardiovascolare e renale che possa fare da guida per azioni di salute pubblica.

Bibliografia

- [1] Troisi S, Straface S, Migliari E. " La contaminazione dei metalli pesanti dei suoli e delle acque sotterranee dell'area industriale di Crotone. Applicazione di una procedura di validazione dei modelli di previsione." In Progetto IRIS - Proposte di linee guida per la caratterizzazione, il controllo e la bonifica di siti inquinati. 3., Troisi S., Del Re G., Giura R. (a cura di), : Ed. Bios, 2002, Quaderno IRIS Vol. n. 7, pp. 91-107.
- [2] Pirastu R, Iavarone I, Pasetto R, Zona A, Comba P. SENTIERI Project – Mortality study of residents in Italian polluted sites. *Epidemiol Prev.* 2011;35(5-6). Suppl 4:1-204
- [3] Comba P, Pitimada M (Ed.). Studio epidemiologico dei siti contaminati della Calabria: obiettivi, metodologia, fattibilità. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2016. (Rapporti ISTISAN 16/9).
- [4] Solenkova NV, Newman JD, Berger JS, Thurston G, Hochman JS, Lamas GA. Metal pollutants and cardiovascular disease: mechanisms and consequences of exposure. *Am Heart J.* 2014 Dec;168(6):812-22.
- [5] Navas-Acien A, Selvin E, Sharrett AR, Calderon-Aranda E, Silbergeld E, Guallar E. Lead, cadmium, smoking, and increased risk of peripheral arterial disease. *Circulation.* 2004 Jun 29;109(25):3196-201.
- [6] Tellez-Plaza M, Guallar E, Fabsitz RR, Howard BV, Umans JG, Francesconi KA, Goessler W, Devereux RB, Navas-Acien A. Cadmium exposure and incident peripheral arterial disease. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes.* 2013 Nov;6(6):626-33.
- [7] Moon KA, Guallar E, Umans JG, Devereux RB, Best LG, Francesconi KA, Goessler W, Pollak J, Silbergeld EK, Howard BV, Navas-Acien A. Association between exposure to low to moderate arsenic levels and incident cardiovascular disease. A prospective cohort study. *Ann Intern Med.* 2013 Nov 19;159(10):649-59.
- [8] Cosselman KE, Navas-Acien A, Kaufman JD. Environmental factors in cardiovascular disease. *Nat Rev Cardiol.* 2015 Nov;12(11):627-42.
- [9] Vassalle C, Mazzone A. Bone loss and vascular calcification: A bi-directional interplay? *Vascul Pharmacol.* 2016; 86:77-86.
- [10] Vassalle C, Iervasi G. Cathepsin K - A classical bone biomarker in cardiovascular disease: The heart is not alone anymore. *Atherosclerosis.* 2013; 228:36-7.
- [11] Houston MC. Role of mercury toxicity in hypertension, cardiovascular disease, and stroke. *J Clin Hypertens (Greenwich).* 2011 Aug;13(8):621-7.
- [12] Alissa EM, Ferns GA. Heavy metal poisoning and cardiovascular disease. *J Toxicol.* 2011; 2011:870125.
- [13] Valera B, Dewailly E, Poirier P. Environmental mercury exposure and blood pressure among Nunavik Inuit adults. *Hypertension.* 2009 Nov;54(5):981-6.
- [14] Valera B, Dewailly E, Poirier P. Cardiac autonomic activity and blood pressure among Nunavik Inuit adults exposed to environmental mercury: a cross-sectional study. *Environ Health.* 2008 Jun 6;7:29.
- [15] Choi AL, Weihe P, Budtz-Jørgensen E, Jørgensen PJ, Salonen JT, Tuomainen TP, Murata K, Nielsen HP, Petersen MS, Askham J, Grandjean P. Methylmercury exposure and adverse cardiovascular effects in Faroese whaling men. *Environ Health Perspect.* 2009 Mar;117(3):367-72.
- [16] Stea F, Bianchi F, Cori L, Sicari R. Cardiovascular effects of arsenic: clinical and epidemiological findings. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2014 Jan;21(1):244-51.
- [17] Stea F, Faita F, Borghini A, Faita F, Bianchi F, Bustaffa E, Minichilli F, Andreassi MG, Sicari R. Arsenic and subclinical vascular damage in a sample of Italian young adults: a cross-sectional analysis. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2016 Oct;23(20):20307-20314.
- [18] Sangartit W, Kukongviriyapan U, Donpunha W, Pakdeechote P, Kukongviriyapan V, Surawattanawan P, Greenwald SE. Tetrahydrocurcumin protects against cadmium-induced hypertension, raised arterial stiffness and vascular remodeling in mice. *PLoS One.* 2014 Dec 11;9(12):e114908.
- [19] Lundbäck M, Mills NL, Lucking A, Barath S, Donaldson K, Newby DE, Sandström T, Blomberg A. Experimental exposure to diesel exhaust increases arterial stiffness in man. *Part Fibre Toxicol.* 2009 Mar 13; 6:7.

- [20] Kaya Y, Ari E, Demir H, Gecit I, Bey, Kaspar C. Serum cadmium levels are independently associated with endothelial function in hemodialysis patients. *Int Urol Nephrol.* 2012 Oct;44(5):1487-92.
- [21] Lunyera J, Mohottige D, Von Isenburg M, Jeuland M, Patel UD, Stanifer JW. CKD of Uncertain Etiology: A Systematic Review. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2016 Mar 7;11(3):379-85.
- [22] Buser MC, Ingber SZ, Raines N, Fowler DA, Scinicariello F. Urinary and blood cadmium and lead and kidney function: NHANES 2007-2012. *Int J Hyg Environ Health.* 2016 May;219(3):261-7.

2. Obiettivi

Obiettivo primario: impatto dell'esposizione a metalli pesanti (lista) sul rischio cardiovascolare su pazienti in prevenzione primaria

Tale obiettivo verrà perseguito tramite la misura e analisi dei seguenti biomarkers:

- Disfunzione endoteliale e cardiaca
- Rigidità arteriosa
- Heart Rate Variability
- Infiammazione e stress ossidativo
- Metabolismo dell'osso

Obiettivo secondario: studio pilota sull'impatto dell'esposizione a metalli pesanti sul danno glomerulare e tubulare

Tale obiettivo verrà perseguito tramite la misura e analisi dei seguenti biomarkers:

- Indicatori funzionali di danno renale
- Indicatori plasmatici di danno renale
- Indicatori urinari di danno renale
- Indicatori urinari di danno tubulare

3. Disegno dello studio

Studio osservazionale monocentrico cross-sectional campionario.

3.1 Campionamento

Trecento soggetti in prevenzione primaria cardiovascolare, range di età 40-70 anni, residenti da almeno 5 anni nelle aree in studio, senza storia di eventi cardiovascolari, saranno arruolati utilizzando come fonte l'elenco degli assistiti della ASP. I criteri di esclusione prevedono: malattie sistemiche, eventi cardiovascolari precedenti e/o storia di nefropatia, instabilità clinica di qualsiasi natura, indisponibilità a firmare il consenso informato. I soggetti arruolati saranno divisi in base alla residenza in due aree: comune di Crotone quale area ricadente nel SIN (di seguito definita come area "esposta") e un'area limitrofa considerata come riferimento (di seguito definita come area "non esposta").

Per la conduzione dello studio è prevista la selezione di un campione finale composto da 300 soggetti: 150 nel SIN di Crotone e 150 nell'area di riferimento. Il campione sarà costituito a partire da una popolazione di 600 candidati estratti in maniera casuale dall'anagrafe assistiti opportunamente stratificati per sesso e 3 classi di età decennale (40-49; 50-59; 60-70). Al termine di questa prima estrazione si avranno quindi 12 categorie (esposizione x sesso x classi età) ognuna costituita da 50 candidati. Per ogni categoria, i soggetti saranno estratti in maniera random e convocati per verificare l'assenza di criteri di esclusione e per richiedere il consenso alla partecipazione allo studio. I primi 25 individui selezionati, che hanno aderito allo studio, costituiranno la popolazione in studio per quella categoria. Poiché lo studio pilota secondario sul danno renale è basato su un campione dimezzato rispetto allo studio principale, per i 25 candidati estratti in ciascuna categoria, verrà verificata la possibilità e richiesta la disponibilità per l'inclusione nello studio sul danno renale. In questo caso l'arruolamento si conclude quando, per ogni categoria, saranno stati individuati i primi 13 soggetti che hanno aderito allo studio secondario.

Per il calcolo della potenza dello studio, è stato preso in considerazione il biomcatore che tra quelli di imaging e segnali presenta le caratteristiche di accuratezza e precisione minori (esprese come deviazione standard della misura attesa). Tale biomcatore è il valore della rigidità arteriosa globale. Relativamente a tale biomcatore, ipotizzando una differenza tra popolazione esposta e non esposta dell'8% e una deviazione standard per la misura del 20%, considerando un campione di 150 individui

in ciascun gruppo di esposizione, assumendo un errore di primo tipo del 5% per test bilaterale, si ottiene una potenza del 90%.

3.2 Esposizione ambientale

L'esposizione ambientale è definita sulla base della residenza in: area del SIN (comune di Crotone), e in un'area limitrofa identificata come riferimento (Comuni di Cutro e di Isola di Capo Rizzuto).

Una migliore caratterizzazione delle aree sarà effettuata sulla base delle:

- informazioni ottenute dal questionario somministrato attraverso intervista individuale;
- misure di biomarcatori di esposizione, pre-definiti sulla base degli inquinanti indice caratteristici dell'area, misurati in campioni biologici prelevati e conservati secondo specifiche.

3.3 Analisi statistica

L'utilizzo combinato delle informazioni relative all'esposizione, analizzati attraverso adeguati modelli multivariati, costituisce una potenzialità notevole per il raffinamento della stima di esposizione e rappresenta quindi una caratteristica originale del presente progetto.

Il confronto tra i livelli di esposizione a metalli pesanti e i biomarcatori precoci di rischio cardiovascolare e di danno renale investigati nello studio, sarà effettuato attraverso analisi statistiche univariate e multivariate, utilizzando tecniche statistiche parametriche e non parametriche, scelte a valle di verifica della normalità della distribuzione delle variabili dipendenti di volta in volta considerate. Nei modelli multivariati saranno presi in considerazione i vari fattori di confondimento e di modificazione di effetto noti in letteratura (fumo, obesità, ipertensione arteriosa, diabete, ecc.)

3.4 Intervista e questionario

Ai soggetti reclutati per lo studio verrà somministrato un questionario sullo stile di vita e atto alla valutazione di alcuni parametri psico-sociali (vedi Allegato).

Le informazioni contenute nel questionario saranno utilizzate per la valutazione statistica del rischio cardiovascolare e del danno renale come variabili aggiuntive, covariate e/o confondenti a seconda della tipologia di analisi (vedi sezione 3.2).

3.4.1 Contenuti del questionario

Il questionario è diviso in sezioni. Le informazioni richieste riguardano: dati personali generali, attività sportiva, abitudine al fumo e alcol, storia medica e condizioni cliniche, anamnesi familiare, disturbi del sonno, eventi di vita avversi, fattori primari di rischio cardiovascolare, patologie cardiovascolari pregresse e attuali, patologie non cardiovascolari pregresse e attuali, condizioni ambientali e socio-economiche, attività lavorativa, esposizione ad agenti chimici e fisici, abitudini alimentari e dieta, storia riproduttiva, percezione di pericoli e rischi.

Integrando le informazioni contenute nel questionario con alcuni dati strumentali, sarà possibile valutare il rischio cardiovascolare con alcuni score attualmente validati (Framingham, Euroscore, InterHeart).

3.5 Prelievo ematico

Il prelievo ematico dovrà essere effettuato a digiuno. Attenzione: alcune provette di sangue dovranno essere mantenute in ghiaccio (vedi tabella sezione 3.6.1) durante la procedura di prelievo, centrifugare e aliquotare prima possibile.

Tutte le aliquote verranno conservate in box dedicati a -80°C.

3.6 Analisi di laboratorio

Agli individui reclutati, tra i rispondenti ai criteri di inclusione, verrà prelevata una quantità complessiva di sangue pari a 56 ml, per consentire le diverse analisi incluse nel protocollo, secondo lo schema dettagliato che segue.

Sintesi su prelievi di sangue

Esami di base: effettuati presso il Presidio Ospedaliero di Crotone

Prelievi per esami specialistici da effettuare nei laboratori IFC_FTGM di Pisa:

-Provetta siero (tappo rosso): 3 aliquote 0.5 ml

-Provetta siero in ghiaccio (tappo rosso): 3 aliquote 0.5 ml

-Provetta citrato (tappo blu): 3 aliquote da 220 µL (microparticles, t-PA)

-Provetta EDTA (tappo viola): 2 aliquote da 220 µL (CD40 L)

-Provetta EDTA in ghiaccio (tappo viola): 1 aliquota 1.5 ml (oppure 2 da 0.75 ml)

Studio pilota focalizzato sul danno renale

- Prelievo ematico (20 ml in totale)
- 1 provetta K2-EDTA da 10 ml
- 2 provette siero da 5 ml
- Centrifugare e stoccare in:
 - 5 aliquote plasma (circa 1 ml)
 - 4 aliquote siero (circa 2 ml)
- Urine a fresco 20 ml in totale da suddividere in 9 aliquote da circa 2 ml;
- Urine 24h 20 ml in totale da suddividere in 9 aliquote da circa 2 ml.

Biobanca per metalli pesanti (Cd, Pb)

- Prelievo ematico per siero da 6 ml;
- 10 ml Urine 24h;

In totale:

prelievo ematico	56 ml
quantità urine 24h	30 ml
quantità urine a fresco	20 ml

Codice prelievo (da riportare sulle provette e sul questionario individuale)

Il numero progressivo di reclutamento del soggetto e la data dovranno essere indicati su ogni prelievo e rispettive aliquote.

UO di Laboratorio, responsabile, indirizzo e contatti:

Per Crotone:

D.ssa Tommasina Nicoletta
Laboratorio Analisi del P.O. san Giovanni di Dio di Crotone
Largo Bologna
88900 Crotone

Per Pisa:

Dr.ssa Serena Del Turco
Laboratorio di Biologia Vascolare, IFC- CNR
Via Moruzzi, 1
56124 PISA

Per Reggio Calabria:

Dr.ssa Patrizia Pizzini
Laboratorio di Biochimica Clinica, IFC- CNR, U.O. di Reggio Calabria
Ospedali Riuniti 6° piano
Via Vallone Petrarà
89124 REGGIO CALABRIA

Trasporto

I campioni precedentemente conservati a -20° verranno inviati in ghiaccio secco mediante corriere all'Istituto di Fisiologia di Clinica di Pisa (4 spedizioni circa).

3.6.1 Sinossi degli esami di laboratorio

Esame	Quantità totale prelievo (ml)	Tipo provetta e colore tappo	Volume di plasma e numero di aliquote	Trattamento	Conservazione	note
Esami di base: presso il Laboratorio Analisi del PO	3 ml	Provetta in				

di Crotone		EDTA				
Emocromo						
Chimica clinica:	3ml	EPARINA				
TOT colesterolo, HDL, trigliceridi, LDL urea, creatinina, ALT, AST, GGT, proteina C reattiva	3 ml	KF + Na ₂ EDTA (tappo grigio) SIERO				
- glicemia	3 ml					
-TSH	3 ml	CITRATO				
-fibrinogeno						
Microparticelle	3 ml	1 provetta citrato	2 aliquote da 500 µL	Prima centrifugazione: 1550g per 15 min a Tamb. Seconda centrifugazione: min. Congelare subito il surnatante.	-80°C	§ campioni da inviare a Pisa
Attivatore tissutale del plasminogeno (t-PA)	Stessa provetta citrato delle microparticelle		1 aliquota da 500 µL	Centrifugazione a 1550g per 15 minuti	-80°C	§ campioni da inviare a Pisa
CD40 L	3 m	1 provetta tappo viola	2 aliquote da 500	Stessa procedura Microparticelle	-80°C	§ campioni da inviare a Pisa
vitamina D, osteocalcina	3 ml	Siero	3 aliquote 0.5 ml	Centrifugazione a 1550g per 15 minuti	-80°C	§ campioni da inviare a Pisa
IL6, idroperossidi e capacità antiossidante totale	3 ml	Siero in ghiaccio	3 aliquote 0.5 ml	Centrifugazione a 1550g per 15 minuti	-80°C	§ campioni da inviare a Pisa
NTproBNP galattina-3	3 ml	EDTA IN GHIACCIO	1 aliquota 1.5 ml (oppure 2 da 0.75 ml)	Centrifugazione a 1550g per 15 minuti	-80°C	§ campioni da inviare a Pisa
Cd, Pb	6 ml	Plasma in litio eparina??			-20°C	§ campioni da inviare a Pisa
* Cistatina-C	10 ml	2 provette Siero	1 di 4 aliquote da 1 ml *	Centrifugazione a 3000 rpm per 15 minuti	-80°C	**campioni da inviare a Reggio Calabria
* Urinary β2-	10 ml	Urine a	1 di 5	Centrifugare a 1500	-80°C	**campioni da

microglobulin	(da dividere in 5 aliquote)	fresco	aliquote da 2 ml *	rpm per 15 minuti		inviare a Reggio Calabria
* N-acetyl- β -d-glucosaminidase	Stessa provetta di urine a fresco	Urine a fresco	1 di 5 aliquote da 2 ml	Centrifugare a 1500 rpm per 15 minuti	-80°C	**campioni da inviare a Reggio Calabria
* Kidney injury molecule-1	Stessa provetta di urine a fresco	Urine a fresco	1 di 5 aliquote da 2 ml	Centrifugare a 1500 rpm per 15 minuti	-80°C	**campioni da inviare a Reggio Calabria
* Neutrophil Gelatinase Associated Lipocalin	Stessa provetta di urine a fresco	Urine a fresco	1 di 5 aliquote da 2 ml	Centrifugare a 1500 rpm per 15 minuti	-80°C	**campioni da inviare a Reggio Calabria
* Liver-type fatty acid binding protein	Stessa provetta di urine a fresco	Urine a fresco	1 di 5 aliquote da 2 ml	Centrifugare a 1500 rpm per 15 minuti	-80°C	**campioni da inviare a Reggio Calabria
Biobanca RC	1 provetta K2-EDTA da 10 ml	Plasma	5 aliquote plasma da 1 ml	Centrifugazione a 3000 rpm per 15 minuti	-80°C	**campioni da inviare a Reggio Calabria
*Albuminuria2 4h e proteinuria 24h	10 ml (da dividere in 5 aliquote)	Urine 24h	2 di 5 aliquote da 2 ml	Centrifugare a 1500 rpm per 15 minuti	-80°C	**campioni da inviare a Reggio Calabria nell'eventualità che il dosaggio non possa essere eseguito in loco.
Cd, Pb	10 ml	Urine 24 h			-20°C	§ campioni da inviare a Pisa

* Dosaggi da eseguire nelle aliquote comprese nella banca di plasma/siero/urine dello studio pilota focalizzato sul danno renale

** Aliquote da inviare in ghiaccio secco a Reggio Calabria

§ Aliquote da inviare in ghiaccio secco a Pisa

3.7 Esami strumentali e di imaging

3.7.1 Rigidità arteriosa e pressione centrale

La velocità dell'onda di polso carotide-femorale (PWVcf) sarà valutata come marker surrogato della rigidità arteriosa regionale. A questo scopo, sarà impiegato un tonometro ad appianazione (PulsePen, Diatecne, Milano, Italia) per acquisire la forma d'onda della pressione sanguigna a livello della carotide e dell'arteria femorale, ottenendo quindi la PWVcf a seguito di una procedura standard descritta da Laurent e colleghi (2006). Le curve di pressione sanguigna carotidea saranno elaborate con il metodo di rescaling utilizzando i valori di pressione brachiale al fine di stimare la pressione arteriosa centrale (Pc) e l'augmentation index (AIx). La velocità dell'onda di polso aortica (PWVao), la pressione centrale e l'augmentation index saranno anche valutati con il metodo oscillometrico tramite il dispositivo Arteriograph (Tensiomed, Budapest, Hungary). Tramite il dispositivo BodyCardio (Withings, France), costituito da una particolare bilancia dotata di sensori, sarà inoltre valutata la Pulse Wave Velocity globale dei soggetti, ottenendo così un terzo parametro di rigidità arteriosa. In tal modo, globalmente, si potrà caratterizzare i soggetti in studio in termini di rigidità arteriosa a livello locale, regionale e globale.

3.7.2 Ecografia carotidea

Verranno acquisite scansioni ad ultrasuoni (US) dell'arteria carotide comune su entrambi i lati del collo; tali immagini verranno elaborate al fine di valutare parametri anatomici e funzionali. In particolare, utilizzando un software di rilevamento dei bordi automatica (Carotid Studio, Quipu, Pisa, Italia) saranno stimati diametro medio, sistolico e diastolico oltre allo spessore medio-intimale (IMT). Per quanto riguarda le proprietà funzionali, l'arteria carotide sarà valutata in termini di rigidità carotidea (CS) combinando le informazioni anatomiche con la misura di pressione locale ottenuta con il dispositivo tonometrica (vedi punto 3.6.1).

Nel caso che venga individuata la presenza di placca carotidea durante la procedura ecografica (definita in accordo alle attuali linee guida), il soggetto coinvolto verrà sottoposto alla caratterizzazione della placca stessa in termini di vulnerabilità. In particolare, le immagini relative alla placca verranno elaborate per valutare parametri standard, come la lunghezza e l'area della lesione; la valutazione sarà completata con il calcolo di biomarker funzionali e da un'analisi delle texture al fine di ottenere informazioni sulla composizione della placca. Inoltre, saranno acquisite immagini Doppler al fine di fornire una caratterizzazione completa della placca compresa di informazioni anatomiche, funzionali ed emodinamiche.

3.7.3 Funzione endoteliale

La dilatazione flusso mediata dell'arteria brachiale (FMD) sarà utilizzata per valutare la funzione endoteliale; tale esame sarà eseguito seguendo la procedura standard come da linee guida. In breve, verranno registrate immagini ecografiche dell'arteria brachiale per 10 minuti (1 minuto basale, 5 minuti ischemia, 4 minuti valutazione variazioni di diametro indotte da iperemia reattiva) e le scansioni ecografiche verranno registrate e analizzate utilizzando un sistema di rilevamento automatico del bordo dei vasi (FMD Studio, Quipu, Pisa Italia). La FMD sarà calcolata come l'aumento percentuale massimo del diametro rispetto al suo valore basale ottenuto come media delle misure ricavate durante il primo minuto di analisi. La funzione endoteliale verrà valutata anche con un dispositivo biomedicale per la tonometria arteriosa (EndoPAT, Itamar Medical, Israele); tale dispositivo misura come parametro endpoint l'ampiezza del volume di flusso del polso arterioso a livello del dito (PVA). A partire dal suddetto parametro, l'indice di iperemia reattiva (RHI) e il suo logaritmo naturale (lnRHI) saranno valutati come rapporto tra PVA conseguente l'iperemia e la PVA basale, normalizzando per lo stesso rapporto ottenuto nel braccio controlaterale.

3.7.4 Analisi ECG

In tutti i partecipanti verrà eseguita una registrazione di ECG a 12 derivazioni. Da tale registrazione sarà calcolata automaticamente la frequenza cardiaca (HR), la durata dell'intervallo QRS e l'intervallo QT corretto (QTc). Tre criteri diagnostici di voltaggio del QRS (Sokolow-Lyon, voltaggio di Cornell, Prodotto di Cornell) saranno valutati per definire la presenza di ipertrofia ventricolare sinistra (LVH) secondo le raccomandazioni internazionali. La presenza di LVH è verificata quando uno o più dei suddetti criteri risulti soddisfatto. Tutti gli indici di HRV saranno derivati dal tracciato ECG. L'interpretazione e l'estrazione dei parametri HRV saranno eseguite automaticamente utilizzando un software personalizzato. Saranno valutati sia parametri nel dominio del tempo che nel dominio della frequenza.

3.8 Consenso informato, aspetti etici e diffusione dei risultati dello studio

Vedi documenti allegati

ALLEGATO H

DOMANDA PER L'AUTORIZZAZIONE DI SPERIMENTAZIONE CLINICA NO-PROFIT

(Secondo D.M. 17/12/2004)

I sottoscritti

- Dr Antonio Sulla, responsabile dell'U.O. di Cardiologia dell'Ospedale di Crotone
- e
- D.ssa Theodora Lamprinoudi, dirigente medico del servizio di Angiologia dello stesso Ospedale

Sede della Sperimentazione: Presidio Ospedaliero "San Giovanni di Dio" di Crotone

tel./fax: 0962/92 4378-4155 , 0962/92 4260-4434

Centralino:0962/924111

- **Chiede l'Autorizzazione alla Sperimentazione clinica No-Profit:**

Titolo: Valutazione di biomarcatori cardiovascolari nelle aree dei siti inquinati di Crotone
Codice EudraCT (solo per gli studi sperimentali): N/A
Farmaco/Prodotto in studio: nessuno

Informazione sulla tipologia di sperimentazione (allegato 1 D.M. 17/12/2004)

- ✓ Sperimentazioni finalizzate non a interesse privato o a fini di lucro ma per interesse pubblico
- ☐ 2. Sperimentazioni connotabili come rilevanti per il miglioramento della pratica clinica e, come tali, parte integrante dell'assistenza sanitaria
- ☐ 3. Sperimentazioni finalizzate non al medicinale in quanto tale o a suo sviluppo ma alle strategie terapeutiche (esempio):
 - definire il migliore regime terapeutico (rischio/beneficio) di farmaci approvati;
 - miglioramento dell'uso terapeutico dei farmaci (esempio stabilendo migliori protocolli terapeutici, individuando associazioni o usi sequenziali di farmaci o di farmaci più altri interventi-chirurgia, radioterapia più efficaci)
- ✓ 4. Sperimentazioni rilevanti per la salute pubblica con obiettivi:

- di evidente beneficio per i pazienti e/o per il rapporto costo/efficacia del sistema sanitario
- in grado di offrire opportunità aggiuntive alle prospettive terapeutiche e di salute ai pazienti
- in grado di ottimizzare la qualità delle prestazioni assistenziali

□ 5. Sperimentazioni in cui l'obiettivo di reale miglioramento della pratica clinica sia garantito da:

- la rilevanza del protocollo
- la particolarità della patologia del trattamento

- **Dichiara** che lo Studio in oggetto verrà condotta secondo il Protocollo allegato.
- di non detenere, a propria conoscenza, interessi diretti o indiretti nell'industria farmaceutica
- che per lo svolgimento della propria attività non riceverà alcun compenso e che il tipo di ricerca *non comporta/comporta* aggravio di costi per il Servizio Sanitario Nazionale
- che lo studio è finalizzato al miglioramento della pratica clinica e riconosciuto a tal fine come studio rilevante e, come tale, parte integrante dell'assistenza sanitaria, e non finalizzato a scopi commerciali relativi ai medicinali sperimentati.
- **Accetta** di condurre la Studio in conformità alle G.C.P. ed ai Regolamenti vigenti.
- **Evidenzia**, inoltre, per garantire una corretta verifica delle condizioni previste dall'articolo del DM 17/12/2004,(Allegato 1 punto C) barrando le sotto elencate dichiarazioni di interesse, che:

	<i>Proposta di sperimentazione di cui all'art.1 (D.M. 17/12/2004) finalizzata al miglioramento della pratica clinica</i>	<i>Proposta di sperimentazione art.6 (D.M. 17/12/2004) non finalizzata al miglioramento della pratica clinica ma rientrante nelle sperimentazioni no-profit</i>
A) Il promotore della sperimentazione è un'istituzione pubblica o ad essa equiparata o, nel caso di associazione o gruppi cooperativi privati, è chiaramente esplicitato nello statuto della struttura stessa la natura non a fini di lucro?		SI
B) E' previsto che la proprietà dei dati relativi alla sperimentazione, alla sua esecuzione, ai suoi risultati appartengano alla struttura di cui alla lettera a) che funge da promotore?		SI
C) e' previsto che i risultati della		

sperimentazione siano pubblicati per decisione autonoma del promotore di cui alla lettera a)?		SI
D) Il promotore della sperimentazione è il proprietario del brevetto del farmaco della sperimentazione o il titolare della autorizzazione all'emissione in commercio?		NO
E) La sperimentazione è finalizzata allo sviluppo industriale del farmaco o comunque a fini di lucro?		NO
F) La Sperimentazione è finalizzata al miglioramento della pratica clinica e riconosciuta a tal fine dal Comitato Etico competente come sperimentazione rilevante e come tale parte integrante dell'assistenza Sanitaria?		NO
Se SI, specificare schematicamente le caratteristiche che connotano la sperimentazione finalizzata al miglioramento della pratica clinica		
G) Per le sperimentazioni di cui ai punti precedenti è previsto l'utilizzo di fondi, attrezzature farmaci, materiale o servizi messi a disposizione da aziende farmaceutiche o comunque da terzi?		NO
Se viene barrato SI, sono indicati i servizi forniti e da chi?		
H) Il promotore della sperimentazione dichiara che eventuali supporti provenienti da privati, sono forniti senza preconstituire alcun diritto di proprietà dei dati o di veto alla pubblicazione degli stessi da parte del fornitore di detti		SI

supporti?		
I) Lo sperimentatore/promotore ha presentato il modulo di assenza di conflitto di interessi con le Aziende farmaceutiche responsabili dello sviluppo dei farmaci in studio?		N/A
L) La sperimentazione segue almeno tutti i tredici principi delle norme di buona pratica clinica di cui al paragrafo 2 dell'allegato 1 al D.M. 15/07/1997 ?		SI

- *Si richiede secondo l'art.2 del D.M. del 17/12/2004 l'esenzione al versamento della tariffa del Comitato Etico per la Sperimentazione in oggetto.*

- 3 LUG. 2017

Gli Sperimentatori richiedenti

Dr Antonio Sulla

 D.ssa Theodora Lamprinoudi
