

## VITATOPS - STUDIO SULLE VITAMINE PER LA PREVENZIONE DELL'ICTUS

### OBIETTIVO

L'obiettivo primario dello VITATOPS è verificare se l'aggiunta di supplementi vitaminici (folato 2mg., B<sub>6</sub> 25mg., B<sub>12</sub> 500µg) alla migliore gestione medico/chirurgica riduce l'incidenza combinata di ictus, infarto del miocardio e decesso vascolare, in pazienti colpiti di recente da ictus o attacco ischemico transitorio (TIA).

Gli obiettivi secondari sono rappresentati dalla comparsa di TIA, demenza e depressione.

### PRESUPPOSTI

#### L' ictus è uno dei principali problemi di sanità pubblica

L' ictus rappresenta un onere consistente per il paziente, per chi se ne prende cura e per la società. È al terzo posto tra le cause più comuni di decesso e costituisce nei paesi sviluppati la causa più frequente di disabilità fisica a lungo termine. Le strategie più efficaci per la prevenzione dell' ictus sono quelle che modificano con successo i fattori di rischio per l' ictus stesso. Queste includono il controllo della pressione arteriosa e del colesterolo, la cessazione dell'uso di sigarette assieme ad altre strategie quali la terapia antitrombotica e, in pazienti selezionati, l'intervento chirurgico alla carotide. Tuttavia, coloro che sopravvivono all' ictus, anche se assistiti con la migliore gestione medica e chirurgica, rimangono più a rischio di recidive di ictus e di altre affezioni vascolari (1).

Le attuali strategie per la prevenzione secondaria dell' ictus non risultano totalmente efficaci perché non trattano tutte le cause di ictus. A tutt'oggi solo i due terzi circa degli ictus che si verificano nei paesi sviluppati possono essere attribuiti a fattori di rischio genetici od ambientali noti (2). Negli ultimi tempi si sono accumulate evidenze in merito al fatto che l' omocisteina plasmatica (tHcy) rappresenta uno dei fattori rischio non ancora trattati per quanto concerne l' ictus.

#### L'evidenza epidemiologica

Sin dal 1969 fenomeni di aterotrombosi vascolare sono stati collegati ad alti livelli di tHcy in pazienti affetti da forme diverse di omocistinuria, ma solo nel 1976 uno studio controllato ha riscontrato una chiara associazione tra un livello moderatamente elevato di tHcy e la malattia aterosclerotica (3).

##### *Ictus cerebrale*

Una revisione pubblicata nel 1995 (4) ha identificato dieci studi osservazionali coinvolgenti 850 pazienti colpiti da ictus (ischemico o emorragico) o da attacco ischemico transitorio (TIA). Un' analisi combinata di detti studi ha indicato che il rischio relativo conferito da un incremento di 5µmol/l di tHcy è di 1,5 (95% CI: da 1,3 a 1,9).

Sin dalla pubblicazione di questa metaanalisi si sono effettuati numerosi altri studi che hanno preso in esame il ruolo del tHcy nell' ictus e nelle malattie vascolari. Successivi studi di coorte, come il British Regional Heart Study, hanno riportato una forte e significativa associazione lineare fra il tHcy e l' ictus dopo aver corretto per età, classe sociale e fattori rischio convenzionali (5).

Studi di verifica, come quello dell' European Concerted Action Project (6) che ha coinvolto 750 pazienti con malattie arteriovascolari e 800 soggetti di controllo, hanno evidenziato una relazione tra il tHcy e le malattie cerebrovascolari che è indipendente da altri già accettati fattori di rischio per l'ictus.

##### *Malattia cardio-coronarica*

La più recente analisi sistematica del tHcy e del rischio di malattia cardio-coronarica, che ha coinvolto un totale di 1.000 casi, ha riportato un OR di 1,3 (1,1-1,5) per 5µmol/L di omocisteina (7).

#### **Diminuire la concentrazione dell' omocisteina plasmatica con l'uso dei multivitaminici**

Il trattamento per abbassare il livello di omocisteina agisce sia attraverso l' intensificazione dell' l'eliminazione dell' omocisteina per mezzo della transulfurazione, che attraverso l' incremento della rimetilazione dell' omocisteina in metionina. Sulla base di una metanalisi di 12 studi, l'Homocysteine Lowering Trialists' Collaboration (HLTC) ha riportato che 0,5mg.-5,0mg. di folato e 0,5mg. di B<sub>12</sub> al giorno determinerebbero una riduzione, da un quarto a un terzo circa, dei livelli di omocisteina nel sangue indipendentemente dal livello di

base (8). Data una concentrazione media del tHcy prima del trattamento di 11,8  $\mu\text{mol/L}$ , l'integrazione con vitamine diminuirebbe il livello del tHcy nel sangue di 3,0-3,5  $\mu\text{mol/L}$ . Dalla metanalisi di studi condotti da Boushey et al (4) basati sull'osservazione del tHcy e del rischio di malattie vascolari, ciò porterebbe ad una riduzione del 30-40% del rischio.

Lo studio HLTC non ha riscontrato riduzioni ulteriori di tHcy con somministrazione di vitamina B<sub>6</sub> (dose media 16,5mg. al giorno) (8). Tuttavia il trattamento con la sola vitamina B<sub>6</sub> ha migliorato del 50% l'abilità di una parte dei pazienti affetti da malattie vascolari di sopportare un carico di metionina, ed il resto ha reagito dopo l'introduzione del folato (9). Altri studi hanno impiegato una dose di vitamina B<sub>6</sub> variabile da 10 a 250mg. al giorno, senza una chiara evidenza di maggior efficacia dell' alto dosaggio in questo campo (9-12).

Tenendo conto di tutte le evidenze, un regime ottimale per la diminuzione dell' omocisteina sembra consistere in una combinazione di folati, B<sub>6</sub> e B<sub>12</sub>. Nel nostro studio, allo scopo di massimizzare il potenziale di diminuzione dell' omocisteina, abbiamo stabilito di trattare i pazienti con una combinazione di folato 2mg., B<sub>6</sub> 25mg. e B<sub>12</sub> 500 $\mu\text{g}$ . al giorno. Si eviteranno dosi più elevate di B<sub>6</sub> in quanto sono stati riportati isolati casi di neuropatia con dosi basse quali 200mg. al giorno. Considerato che dall'1 al 3% di dose orale di B<sub>12</sub> viene assorbita semplicemente per diffusione (13), l'aggiunta di 500 $\mu\text{g}$ . al giorno di B<sub>12</sub> correggerà la maggioranza dei casi di deficienza subclinica di B<sub>12</sub> e conseguentemente diminuiranno i timori riguardanti la potenzialità del folato di mascherare l'insorgenza clinica di deficienza di B<sub>12</sub>.

## Sommario

Esiste una grande quantità di evidenze epidemiologiche che collega in maniera forte e consistente l'incremento di tHcy con l'incremento di rischio di malattia vascolare. Sebbene non vi sia completa coerenza tra gli studi, il quadro generale è chiaro, nonostante le differenze di strutturazione degli studi stessi, la capacità statistica e il gioco casuale delle probabilità. È possibile che la preponderanza degli studi pubblicati che mostrano un' associazione positiva rifletta un publication bias, ma la spiegazione più probabile delle incoerenze è che gli studi negativi sono in realtà erroneamente negativi, a causa della inadeguatezza dei loro programmi, della carenza di capacità statistica, o di effetti casuali. In conclusione, esiste una solida evidenza epidemiologica dell' esistenza di una associazione indipendente e coerente, tra livelli plasmatici di tHcy e morbosità e mortalità da malattie vascolari (ictus, infarto del miocardio e malattia vascolare periferica). Tuttavia, uno studio accurato (di tipo randomizzato come quello che noi ci proponiamo di intraprendere) dovrebbe potere valutare al meglio se l'associazione tra i livelli plasma di tHcy e lo sviluppo di malattie vascolari è il risultato di una relazione causale (8, 14). Fino a quando i risultati di uno studio di controllo randomizzato non saranno disponibili, il trattamento dei pazienti a rischio di malattie vascolari con la terapia multivitaminica non potrà essere considerato.

In vista del nostro obiettivo di ricerca, è statisticamente più efficace condurre un tale esperimento su un campione di popolazione ad alto rischio assoluto di ictus. È ben noto che, in comparazione con la popolazione in genere, coloro che sono sopravvissuti all' ictus rimangono ad altissimo rischio sia di affezioni coronariche che di nuovi eventi cerebrovascolari (1); di conseguenza questi costituiscono un gruppo eccezionalmente adatto per testare l'ipotesi di una correlazione tra tHcy e malattie vascolari. Poiché il livello di tHcy rappresenta un fattore di rischio **lineare** per le malattie vascolari, abbiamo deciso di sottoporre tutti i pazienti colpiti da ictus a trattamento randomizzato con vitamine o con placebo, indipendentemente dal loro livello di base del tHcy. Un così vasto approccio farà sì che i risultati dello studio siano ampiamente applicabili. Ci proponiamo di intraprendere test ML e misure dettagliate dei livelli di base e seriali di vitamine e di tHcy, nel sottogruppo di pazienti reclutati dal Royal Perth Hospital, Australia, allo scopo di determinare se dette analisi possono identificare sottogruppi di pazienti che con più probabilità trarranno beneficio dalla terapia multivitaminica.

## PIANO DI RICERCA

Il VITATOPS è uno studio randomizzato in doppio cieco, versus placebo, per la prevenzione secondaria di eventi vascolari in pazienti che hanno subito un recente ictus o un attacco ischemico transitorio (TIA). I pazienti idonei vengono randomizzati nel modo suddetto allo scopo di essere trattati con una terapia multivitaminica (folato 2mg., B<sub>6</sub> 25mg., B<sub>12</sub> 500  $\mu\text{g}$ ) oppure con un placebo, in dose di una compressa al giorno.

Lo studio durerà cinque anni; i pazienti vi parteciperanno per un periodo variabile da uno a cinque anni.

Verranno inclusi 8000 pazienti nello studio e si prevede che 1250 pazienti saranno randomizzati durante il 2000, mentre 3000 pazienti dovrebbero essere inclusi entro la fine del 2001, 5000 entro il 2002 e 8000 entro il 2003.

Un comitato indipendente per il controllo dati condurrà analisi ad interim dopo che 1.500 pazienti e dopo che 3.000 pazienti saranno stati seguiti per almeno 12 mesi. Usando criteri statistici per deviazioni accettabili dall'ipotesi nulla, il comitato informerà gli sperimentatori se sarà possibile continuare il reclutamento oppure si dovrà interrompere lo studio.

### ***Reclutamento e randomizzazione***

Per questo studio sono idonei tutti quei pazienti che si presenteranno ad uno dei neurologi o internisti partecipanti, entro sette mesi dall'ictus o TIA (oculare o cerebrale). I criteri di esclusione comprendono: assunzione di acido folico o di vitamina B6 a seguito di prescrizione medica; l'uso di supplementi vitaminici contenenti folato, B<sub>6</sub> oppure B<sub>12</sub>; il trattamento con metotrexate qualunque ne sia la ragione; la gravidanza oppure il rischio di una gravidanza in donne con potenziale procreativo; una limitata aspettativa di vita.

#### *Farmaco in sperimentazione:*

Le compresse attive contengono folato 2mg., B<sub>6</sub> 25mg. e B<sub>12</sub> 500µg. Le compresse placebo hanno lo stesso aspetto, sapore e struttura della preparazione vitaminica.

#### *Randomizzazione e distribuzione del farmaco in sperimentazione*

Sono stati preparati codici di randomizzazione in funzione di blocchi permutati a caso, stratificati in base al centro. La randomizzazione ha luogo per mezzo di un servizio telefonico centrale continuato (24 ore) o tramite il sito web ([www.health.wa.gov.au/VITATOPS/](http://www.health.wa.gov.au/VITATOPS/)) che permette inoltre una verifica finale dei requisiti necessari prima della randomizzazione. Dopo che l'investigatore ha fornito i dati di base del paziente, il servizio di randomizzazione assegna al paziente un numero di randomizzazione per il farmaco in sperimentazione che deve essere riportato nella scheda di inclusione. Le successive forniture del farmaco in sperimentazione saranno consegnate durante ciascuno degli appuntamenti semestrali di controllo successivi. Il farmaco in sperimentazione verrà interrotto a richiesta del paziente o nel caso di insufficiente compliance; inoltre il farmaco in sperimentazione sarà interrotto nel caso in cui si verifichi un grave evento avverso.

#### **Follow-up** (Visite successive di controllo)

Il follow-up verrà effettuato a 3 e 6 mesi dall'inizio dello studio, seguito da successive visite semestrali di controllo. In ciascun follow-up si raccoglieranno dati sulle seguenti variabili: incidenza di eventi di rilievo, eventi avversi, uso delle vitamine e compliance rispetto al farmaco in sperimentazione, misure preventive in atto per recidive di ictus, e chirurgia cardiovascolare o angioplastica.

#### **Obiettivi**

L'obiettivo primario consiste nell'evento composito "ictus, infarto del miocardio, oppure decesso per cause vascolari", qualunque di questi si verifichi prima.

Obiettivi secondari sono rappresentati da TIA, demenza e depressione o amputazione dell'arto inferiore per vasculopatia periferica

Ciascun evento sarà esaminato da un diverso comitato ispettivo, in cieco rispetto al trattamento.

#### **Eventi avversi**

Si raccomandano test della vitamina B<sub>6</sub> e B<sub>12</sub> nel caso in cui esista un sospetto clinico di sviluppo di neuropatia. Il paziente verrà altrimenti gestito a discrezione dell'investigatore responsabile. Si interromperà il farmaco, oggetto dello studio, se si riterrà che lo stesso sia implicato nella insorgenza della neuropatia. Ciascun evento avverso sarà registrato su un modulo separato di registrazione degli eventi primari e avversi e inoltrato al competente ufficio di sperimentazione. Tutti gli eventi avversi saranno presi in esame dal comitato per la sicurezza non cieco, il quale riferirà al comitato esecutivo.

## Considerazioni etiche

### *Dichiarazione di Helsinki*

L'esperimento verrà eseguito in accordo con la Dichiarazione di Helsinki.

### *Consenso informato*

Dopo la verifica dei criteri di inclusione o esclusione, ai pazienti verrà fatta richiesta di fornire per iscritto il proprio consenso informato secondo i requisiti del comitato etico locale presso ciascun centro partecipante.

### *Confidenzialità*

I particolari personali dei pazienti ed i risultati di tutte le analisi saranno confidenziali e verranno mantenuti segreti.

### *Cessazione del farmaco di sperimentazione*

La somministrazione del farmaco di sperimentazione sarà sospesa a richiesta del paziente. Inoltre il suddetto farmaco verrà sospeso all'insorgenza di un grave evento avverso. Tuttavia si dovrebbe continuare a tenere sotto controllo tutti i suddetti pazienti per accertare l'insorgere di eventi successivi decesso per una causa qualsiasi.

## Considerazioni statistiche

Come osservato in un recente studio multicentrico internazionale per la prevenzione dell'ictus secondario, il rischio annuale di ictus, infarto acuto del miocardio oppure decesso per qualsiasi causa vascolare tra i sopravvissuti a ictus è dell'8% circa (1).

Il nostro calcolo del campione è basato su una previsione di incidenza annuale dell'8% di eventi nel gruppo placebo, sul reclutamento dei pazienti per un periodo di 4 anni, su una randomizzazione 1/1, un follow-up minimo di un anno per l'ultimo paziente incluso, un errore di tipo I al 5% e un errore di tipo II al 20%. Assumendo un follow-up medio di 2 anni, ciascun gruppo dovrebbe essere formato da 3982 pazienti. Per questo si è deciso di includere 8000 pazienti.

## Analisi finale

L'analisi finale metterà a confronto tra i due gruppi, quello trattato con vitamine e quello trattato con placebo, l'incidenza del primo evento che si manifesta. Verranno adoperate due strategie analitiche: intention to treat e on treatment. L'analisi primaria sarà intention-to-treat. Gli eventi nell'analisi on-treatment saranno inclusi soltanto se si sono verificati durante il trattamento o entro 28 giorni dalla sospensione del farmaco. Si useranno le curve di Kaplan-Meier per la comparazione grafica della sopravvivenza senza ictus, infarto del miocardio o decesso per cause vascolari e le si paragoneranno usando un test di Mantel-Haenzel a due code. Per compensare le differenze nelle variabili prognostiche basali si userà il modello del rischio proporzionale di Cox.

Allo scopo di identificare un sottogruppo di pazienti con il rischio più alto di eventi vascolari ricorrenti, e quelli che ottengono il massimo beneficio dalla terapia di riduzione di Hcy, sono state pianificate la seguente analisi di sottogruppi (con l'obiettivo primario come variabile dipendente): età, sesso, etnia, patologia (TIA, ictus ischemico, ictus emorragico), patogenesi (aterotrombotico, da occlusione di piccoli vasi, embolico, emorragia intracerebrale primaria), gravità dell'ictus (Oxford Handicap Score  $\leq 2$ ,  $\geq 3$ ) e genotipo MTHFR.

I dati provenienti dal sottogruppo di pazienti reclutati tramite il Royal Perth Hospital, Australia, saranno esaminati allo scopo di determinare la relazione tra l'impatto del trattamento ed il livello di tHcy basale. Tuttavia tali studi dettagliati sono troppo costosi e complicati per giustificare che si possano intraprendere con tutti i pazienti presi in considerazione per il reclutamento con VITATOPS; la loro inclusione nel protocollo rappresenterebbe un forte disincentivo alla partecipazione allo studio (15), e usarli allo scopo di selezionare i pazienti all'inizio del trattamento limiterebbe la possibile generalizzazione di un risultato positivo dello studio.

L'ufficio per il progetto di studio è stato stabilito presso la Stroke Unit del Royal Perth Hospital, Australia. Una nota industria farmaceutica australiana ha provveduto alla fornitura delle compresse attive e del placebo di identico sapore e apparenza. Allo scopo di promuovere una chiara e uniforme comunicazione tra gli ospedali partecipanti e l'ufficio di sperimentazione, è stato nominato per ogni centro un singolo neurologo o internista responsabile dell'organizzazione dello studio VITATOPS.

