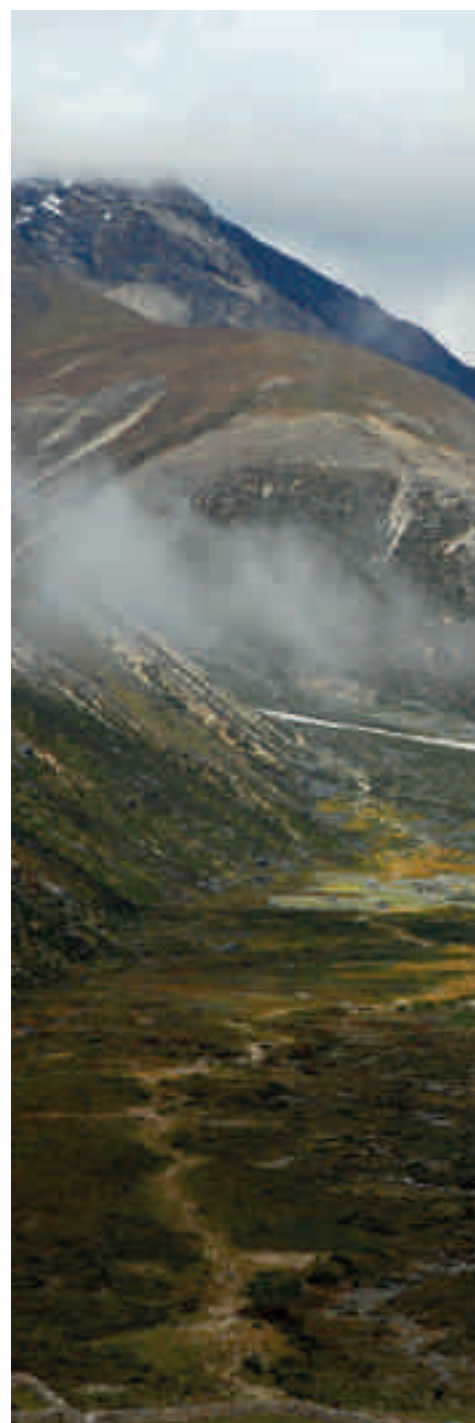


This book summarizes 11 years of scientific studies conducted at high altitude on the Alps, on the slopes of Mount Everest in the Himalayas and on the peruvian Andes, by the research groups of the Italian Auxology Institute of Milan and of the University of Milano-Bicocca (Italy), directed and coordinated by Prof. Gianfranco Parati, in the context of HIGHCARE (HIGH altitude Cardiovascular REsearch) Projects. The great amount of original data so collected has allowed not only to deepen our understanding of human body responses when exposed to hypobaric hypoxia at high altitude, but also to better understand the effects of reduced oxygen availability that often characterizes patients with chronic diseases, such as heart failure, chronic obstructive pulmonary disease or severe obesity, associated with respiratory insufficiency and sleep apnea. The studies described in this volume have also evaluated the effectiveness of a range of pharmacological and non-pharmacological therapeutic interventions in counteracting the cardiovascular and systemic effects of hypobaric hypoxia. This has provided valuable information not only for the treatment of acute or chronic mountain sickness, but also for the treatment of patients with chronic diseases characterized by a reduced oxygen availability for human body organs and tissues.

Questo libro riassume 11 anni di studi scientifici effettuati in alta quota, sulle Alpi, sulle pendici dell'Everest in Himalaya e sulle Ande peruviane, dai gruppi di ricerca dell'Istituto Auxologico Italiano di Milano e dell'Università di Milano-Bicocca nell'ambito dei Progetti HIGHCARE (HIGH altitude Cardiovascular REsearch), diretti e coordinati dal Prof. Gianfranco Parati. I numerosi ed originali dati raccolti hanno contribuito non solo ad approfondire le nostre conoscenze sulle risposte dell'organismo umano quando esposto all'ipossia ipobarica dell'alta quota, ma anche a comprendere meglio gli effetti di una ridotta disponibilità di ossigeno che spesso caratterizza pazienti con patologie croniche quali scompenso cardiaco, broncopneumopatie croniche ostruttive o obesità grave associata ad insufficienza respiratoria, e apnee nel sonno. Gli studi riassunti in questo volume hanno anche valutato l'efficacia di tutta una serie di interventi terapeutici, farmacologici e non farmacologici, nel contrastare gli effetti cardiovascolari e sistemici dell'ipossia ipobarica, offrendo interessanti indicazioni non solo per la terapia del male acuto o cronico di montagna, ma anche per la terapia di pazienti con malattie croniche caratterizzate da una ridotta disponibilità di ossigeno per organi e tessuti.



€ 24,00
(IVA inclusa)



HIGHCARE PROJECTS

HIGH ALTITUDE CARDIOVASCULAR RESEARCH

HIGHCARE PROJECTS

11 YEARS OF HIGH ALTITUDE RESEARCH
11 ANNI DI RICERCA IN ALTA QUOTA



Gianfranco Parati, Andrea Giuliano, Grzegorz Bilo, Camilla Torlasco
on behalf of the HIGHCARE investigators

“The only real voyage of discovery consists not in seeking
new landscapes , but in having new eyes”
“L'unico vero viaggio verso la scoperta non consiste nella ricerca
di nuovi paesaggi, ma nell'avere nuovi occhi”

(Marcel Proust)

“Every summit you reach is nothing but an intermediate step”
“Ogni cima che raggiungi non è altro che una tappa intermedia”

(Seneca)

“But those who are waiting for the Lord will have new strength;
they will get wings like eagles: running, they will not be tired,
and walking, they will have no weariness”
“Ma quelli che sperano nell'Eterno saliranno con ali come aquile.
Correranno e non si affaticheranno; cammineranno e non si stancheranno”

(Isaia, 40:31)

Never take your eyes off the goal...
Dalla meta mai non torcer gli occhi....

(Alessandro Manzoni)

HIGHCARE PROJECTS

11 YEARS OF HIGH ALTITUDE RESEARCH
11 ANNI DI RICERCA IN ALTA QUOTA



HIGHCARE PROJECTS

© Prof. Gianfranco Parati

First published December 2014 / Prima Edizione dicembre 2014

Published by OGM - Scientific Publishing, Services & Communication

P.zza San Camillo de Lellis, 1 - 20124 Milano - Tel. 02.20241664 (r.a.) - Fax 02.2043000

Authors / Autori:

Gianfranco Parati, Andrea Giuliano, Grzegorz Bilo, Camilla Torlasco

Art direction and graphic design / Art direction e progetto grafico:

Samuele Motta

Editorial coordination / Coordinamento editoriale:

Margherita Parati

Digital Postproduction / Postproduzione digitale:

Marcel Moonen

Photography / Fotografie

Grzegorz Bilo, Tiziano Colombo, Andrea Faini, Andrea Giuliano, Gianfranco Parati

Cover photo: The Khumbu valley

In copertina: La valle del Khumbu

www.highcareprojects.eu

ALL RIGHT RESERVED, NO PART OF THE CONTENTS (TEXT, PHOTOS) OF THIS BOOK
MAY BE REPRODUCED WITHOUT THE PERMISSION OF AUTHORS AND PUBLISHER.

TUTTI I DIRITTI RISERVATI, VIETATA LA RIPRODUZIONE TOTALE E PARZIALE DEI CONTENUTI
(TESTI E IMMAGINI) SENZA L'AUTORIZZAZIONE DEGLI AUTORI E DELL'EDITORE.

ISBN 978-88-904646-5-2

CONTENTS

INDICE

10 PREFACES

PRESENTAZIONI

10 Prof. A. Zanchetti

12 Prof. G. Mancia

14 Dr. L. Festi

16 Prof. C. Messa

18 INTRODUCTION

INTRODUZIONE

23 INTRODUCTION TO HIGH ALTITUDE

INTRODUZIONE GENERALE ALL'ALTA QUOTA

24 Historical background
Cenni storici

28 Physiology and pathophysiology of high altitude exposure
Aspetti fisiologici e fisiopatologici dell'alta quota

51 HIGHCARE-ALPS 2003 - 2004 - 2005

HIGHCARE-ALPI 2003 - 2004 - 2005

52 Setting, rationale and general aims
Scenario, razionale e obiettivi generali

61 HIGHCARE-ALPS 2006

HIGHCARE-ALPI 2006

62 Highcare-Alps 2006. Numbers, facts and images
Highcare-Alpi 2006. Numeri, dati e immagini della spedizione

64 Setting, rationale and general aims
Scenario, razionale e obiettivi generali

68 Exercise at high altitude
Esercizio in alta quota

75 Blood pressure
Pressione arteriosa

81 HIGHCARE-HIMALAYA 2008

HIGHCARE-HIMALAYA 2008

- 82** Highcare-Himalaya. Numbers, facts and images
Highcare-Himalaya. Numeri, dati e immagini della spedizione
- 84** Setting, rationale and general aims
Scenario, razionale e obiettivi generali
- 90** Blood pressure and control mechanisms
Pressione arteriosa e meccanismi di regolazione
- 98** Alterations in arterial properties during acute and prolonged exposure to high altitude
Alterazioni delle proprietà delle arterie durante esposizione acuta e prolungata in alta quota
- 106** Nocturnal cardio-respiratory monitoring at high-altitude
Monitoraggio notturno cardiorespiratorio in alta quota
- 111** Changes in cardiac structure and function
Variazioni nella struttura e funzione cardiaca
- 117** Respiratory physiology and non pharmacological interventions
Fisiologia respiratoria e interventi non farmacologici
- 126** Modulation of hepcidin production during hypoxia-induced erythropoiesis
Modulazione della produzione di epcidina durante l'eritropoiesi indotta da ipossia
- 131** Cognitive function under exposure to hypobaric hypoxia at altitude
Funzioni cognitive in condizioni di ipossia ipobarica da alta quota
- 134** Changes in urinary peptidome
Modulazione del peptidoma urinario

139 HIGHCARE-ALPS 2010

HIGHCARE-ALPI 2010

- 140** Highcare-Alps 2010. Numbers, facts and images
Highcare-Alpi 2010. Numeri, dati e immagini della spedizione
- 142** Setting, rationale and general aims
Scenario, razionale e obiettivi generali
- 146** Gender and acetazolamide effects on chemoreflex and periodic breathing during sleep at altitude
Effetti di acetazolamide sul chemoriflesso e sul respiro periodico durante il sonno ad alta quota in maschi e femmine
- 153** Blood pressure
Pressione arteriosa
- 158** Alterations in arterial properties under acute exposure to high altitude and effects of acetazolamide
Alterazioni nelle proprietà delle arterie in esposizione acuta ad alta quota ed effetti dell'acetazolamide

- 164** Cognitive alterations during acute high altitude hypobaric hypoxia exposure
Alterazioni delle funzioni cognitive durante esposizione acuta ad ipossia ipobarica in alta quota

167 HIGHCARE-ANDES 2012

HIGHCARE-ANDE 2012

- 168** Highcare-Andes. Numbers, facts and images
Highcare-Ande. Numeri, dati e immagini della spedizione
- 170** Setting, rationale and general aims
Scenario, razionale e obiettivi generali
- 177** Effects of acute exposure to high altitude in patients with arterial hypertension
Effetti dell'esposizione acuta ad alta quota in pazienti affetti da ipertensione arteriosa
- 185** Alterations in viscoelastic arterial properties in hypertensive subjects exposed to hypobaric hypoxia
Alterazioni delle proprietà viscoelastiche delle arterie in soggetti ipertesi esposti ad ipossia ipobarica
- 188** Effects of high altitude exposure on blood pressure response to exercise in hypertensive subjects
Effetti dell'esposizione ad alta quota sulla risposta pressoria all'esercizio in soggetti ipertesi

195 FUTURE PERSPECTIVES

PROSPETTIVE FUTURE

- 196** Perspectives: Currently ongoing HIGHCARE projects
Prospettive: Progetti HIGHCARE attualmente in corso

200 CONCLUSIONS

CONCLUSIONI

- 200** High altitude exposure: a pathophysiological model of reduced oxygen availability occurring in some chronic diseases
Esposizione all'alta quota: un modello fisiopatologico della ridotta disponibilità di ossigeno che si può osservare in patologie croniche

202 ACKNOWLEDGEMENTS

RINGRAZIAMENTI

204 AUTHORS

AUTORI

206 HIGHCARE PROJECTS RELATED PUBLICATIONS

ALTRE PUBBLICAZIONI RELATIVE AI PROGETTI HIGHCARE

PREFACE

PRESENTAZIONE

It is a great pleasure to introduce the reader to this beautiful volume, HIGHCARE PROJECTS, prepared by Professor Gianfranco Parati and his associates, summarizing the results of their high altitude experimental observations on the Alps, Himalaya and Andes, during a brilliant series of expeditions coordinated by the Istituto Auxologico Italiano.

Professor Parati's experiments are the continuations of a great Italian tradition, initiated at the end of the 19th century by the studies of a famous Italian physiologist, Angelo Mosso, and summarized in the volume "The Man on the Alps", which had at the time a well deserved success also on the literary scene.

This short foreword is intended not only to wish Parati's volume the same success as Mosso's. This success is guaranteed by the excellence and large body of scientific evidence obtained at different altitudes in different chains of mountains in different parts of the world, as well as by its splendid printing and illustrations. This foreword wants to underline the medical implications of the experimental findings obtained at high altitudes, which are the main reason why a scientific institute interested in medical care, such as the Istituto Auxologico Italiano, has promoted and coordinated the Highcare Projects. The main goal of the projects has not only been that obvious in the title, i.e. the care of body disturbances induced by high altitude, but also and especially that of taking advantage of the adjustments and maladjustments to high altitude exposure in order to develop improved solution to the care of that large group of chronic diseases that are characterized by reduced oxygen availability to tissues.

In its history, spanning for more than 50 years, the Istituto Auxologico Italiano has had as a mission the study and care of chronic diseases and their acute manifestations in the cardiovascular, endocrine-metabolic and neurological areas, and in particular of arterial hypertension, coronary heart disease, diabetes mellitus, obesity, cerebrovascular and neurodegenerative diseases. All these diseases share tissue anoxia or insufficient oxygen

È un vivo piacere introdurre il lettore al bel volume HIGHCARE PROJECTS, preparato dal Prof. Gianfranco Parati e dai suoi collaboratori, che riassume i risultati delle loro osservazioni sperimentali condotte ad alta quota sulle Alpi, l'Himalaya e le Ande, durante una brillante serie di spedizioni coordinate dall'Istituto Auxologico Italiano.

Gli esperimenti del Prof. Parati continuano una grande tradizione italiana, inaugurata alla fine dell'Ottocento dagli studi di un famoso fisiologo italiano, Angelo Mosso, e riassunti nel volume "L'uomo sulle Alpi", che ebbe ai suoi tempi meritati successi, anche letterari.

Questa breve introduzione non vuole solo augurare al libro di Gianfranco Parati lo stesso successo del volume di Mosso, peraltro garantito dall'eccellenza della grande mole di risultati ottenuti a quote diverse in diverse catene montuose del mondo e dalla splendida veste grafica. Questa introduzione intende soprattutto sottolineare l'interesse medico delle osservazioni sperimentali compiute ad alta quota, che ha indotto un Istituto di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico (IRCCS), quale l'Istituto Auxologico Italiano, a farsi promotore della coordinazione di tutti i progetti HIGHCARE. L'obiettivo di questi progetti non è stato infatti solo quello che sembra ovvio dal titolo, la cura (care) dei disturbi da alta altitudine (high), ma anche e soprattutto quello di apprendere dagli adattamenti e disadattamenti alle alte altitudini (high) migliori soluzioni alla cura (care) del largo gruppo di malattie croniche caratterizzate da insufficiente apporto di ossigeno ai tessuti.

Nella sua storia, che copre ormai più di 50 anni di attività di clinica e di ricerca, l'Istituto Auxologico Italiano ha svolto la sua missione nell'ambito delle malattie croniche cardiovascolari, endocrino-metaboliche e neurologiche, quali l'ipertensione, la malattia coronarica, il diabete, l'obesità, le malattie cerebrovascolari e neurodegenerative, che hanno nell'anossia tissutale un meccanismo finale comune e che, a loro volta, possono essere aggravate nelle loro manifestazioni dall'esposizione all'anossia. Il modello ingegnoso

availability as a final common mechanism, and, on their turn, can be further worsened in their pathological manifestations by exposure to anoxia. The ingenious scientific model chosen by Professor Parati and his colleagues, that of investigating the adaptive and maladaptive responses of the body to high altitude anoxia, promises to facilitate the understanding of the pathophysiological mechanisms of the major diseases within the scope of interest of our institution, and to further improve their management and care, which is the real mission of an institution devoted to clinical research.

I am sure the readers of this splendid volume, during the fascinating travel they are going to do through the adventurous scientific project of the authors, will get the message of their endeavour to understand not only the complex response of the human body to environmental changes, but also to accept the challenge of better investigating and managing some of the diseases of major social impact today.

scelto dal Prof. Parati e dai suoi collaboratori dell'Istituto Auxologico Italiano, di indagare le risposte adattative e maladattative dell'organismo all'anossia delle alte altitudini, promette di facilitare il progresso delle nostre conoscenze dei meccanismi delle malattie croniche di cui si occupa il nostro Istituto, e promette pure un ulteriore miglioramento della loro cura; il che è, infine, la reale missione di un istituto di ricerca clinica come il nostro.

Sono certo che il lettore di questo splendido volume, nell'affascinante viaggio che intraprenderà ripercorrendo l'avventuroso progetto scientifico degli autori, coglierà il messaggio dello sforzo: non solo comprendere meglio la risposta dell'organismo umano all'ambiente, ma anche raccogliere la sfida a meglio studiare e curare alcune delle malattie di maggior impatto sociale.

Prof. Alberto Zanchetti

Scientific Director,
Istituto Auxologico Italiano, IRCCS, Milan, Italy

Prof. Alberto Zanchetti

Direttore Scientifico,
Istituto Auxologico Italiano, IRCCS, Milano

PREFACE

PRESENTAZIONE

It is for me a great pleasure to write these introductory notes to the book of professor Gianfranco Parati on the results of the research projects that had as the main goal the adaptation of the cardiovascular system to high altitude via a series of scientific expeditions first on the Alps, then on the Himalayas and finally on the Andes. I am sure I will not overestimate the case by saying that it is a book whose scientific interest is perhaps greater than that of any other book that has addressed the alterations of bodily functions in conditions of high altitude-related hypoxia. This is because the research projects have been planned not only with a precise idea of where knowledge was limited or absent (and thus the gap to be filled), but also because their design had been such as to provide technically and statistically valid data, thereby guaranteeing evidence-based conclusions rather than anecdotal observations as in several previous cases.

The book will provide the readers with a thorough description of the extension, the importance and the methodological solidity of the results that have been obtained. I may add, however, that the extraordinary success of these expeditions is in part due to the following two factors. One, the regular sequence of the expeditions over time, which has allowed to investigate, always via adequate experimental designs and measurement techniques, in each subsequent expedition the questions emerged from the previous experience. Two, the wide range of scientific expertise and interest of the participating investigators, which has favoured the gathering of valuable information not only on the physiology and pathophysiology of the adaptation of the body to high altitude, but also to the important consequences of this adaptation for the diagnosis and treatment primarily of hypertension but also of other abnormal cardiovascular and pulmonary conditions. And to also obtain interesting technological data, namely to test and validate new sensitive measures of some cardiovascular variables, with a potential use not only at high altitude but also in other difficult environmental circumstances.

All members of the different expeditions

È per me un grande piacere scrivere questa nota introduttiva al libro del Professor Gianfranco Parati sui risultati delle ricerche che hanno avuto come oggetto principale gli adattamenti del sistema cardiovascolare all'alta quota tramite una serie di spedizioni scientifiche che il Prof. Parati ha organizzato sulle Alpi, sull'Himalaya e, per ultimo, sulle Ande. Non credo di esagerare se dico che si tratta di un libro il cui interesse supera quello di ogni altro volume sull'argomento. Ciò perché le ricerche sono state pianificate non solo con un'idea precisa di dove le conoscenze erano assenti o limitate (e quindi era importante colmarle), ma anche perché, al contrario dei precedenti largamente aneddotici ed episodici risultati, esse sono state in numerosi casi disegnate in modo da fornire dati tecnicamente e statisticamente validi, e quindi capaci di garantire conclusioni realmente basate sull'evidenza.

Leggendo il libro il lettore potrà rendersi conto da sé dell'estensione, dell'importanza e della solidità scientifica dei risultati ottenuti. A me sembra utile sottolineare lo straordinario risultato scientifico che tali spedizioni hanno conseguito, che è anche legato a due fattori: al loro succedersi regolare nel tempo, il che ha consentito di esaminare, in ogni spedizione successiva e sempre in modo rigorosamente scientifico, i parametri emersi sulla base dell'esperienza precedente; nonché ad un'apertura mentale che ha permesso di raccogliere informazioni preziose non solo sulla fisiologia e fisiopatologia dell'adattamento dell'organismo all'alta quota, ma anche su aspetti ed implicazioni diagnostiche e terapeutiche che tali adattamenti comportano. Grazie alle multiple competenze dei ricercatori delle diverse spedizioni, sono stati ottenuti anche dati tecnologicamente rilevanti, mettendo a punto nuove e più utili misure di variabili cardiovascolari, di particolare utilità non solo nell'alta quota ma anche in altre difficili condizioni ambientali.

A tutti i componenti delle diverse spedizioni vanno il plauso e l'ammirazione di tutti per i risultati ottenuti. Un riconoscimento speciale va però ovviamente riservato all'Autore di questo libro, Gianfranco Parati, che è stato, di tutte

deserve our thanks and admiration for what they have achieved. Of course a special thank is due to the Author of this book, Gianfranco Parati, who has been the scientific and organizing driving force of all expeditions. It is only because of his competence and experience in several areas of cardiovascular research, together with his extraordinary ability to motivate and coordinate the work of a team that this achievement has been made possible. I am sure that what we will read in the present book will not be his last contribution to pathophysiological, diagnostic and clinical aspects of high altitude medicine, and that Gianfranco already has in mind further projects and scientific adventures to be realized in a not distant future.

le spedizioni, l'ispiratore scientifico e l'anima organizzativa. Solo la sua grande esperienza e competenza in diversi settori della ricerca cardiovascolare, unita a straordinarie capacità di motivazione e coordinamento del lavoro di gruppo, ha consentito risultati del genere. Sono sicuro che quanto leggeremo in questo libro non sarà l'ultimo suo contributo, e che Gianfranco ha già in mente ulteriori progetti ed avventure scientifiche nel prossimo futuro.

Prof. Giuseppe Mancia

Emeritus Professore,
University of Milano-Bicocca, Italy

Prof. Giuseppe Mancia

Professore Emerito,
Università Milano-Bicocca

PREFACE

PRESENTAZIONE

Over the last few years, the number of people reaching high altitude have become increasingly greater, thanks to easier availability of different transportation means. This has been in parallel responsible for an increase in the rate of accidents and mountain sickness-related events, some of which of severe degree. In fact, many people approach the Alpine environment and, which is even more worrisome, the potentially more dangerous highlands of Himalayas, without sufficient physical preparation. This is often accompanied by lack of the necessary knowledge of high altitude related problems. As a result, a high number of individuals mindlessly expose themselves to a challenging environment and to the risk of unfavourable effects that such a condition may exert on human body, often trusting only on biased beliefs unsupported by any evidence and relying on self-prescribed therapies, in most cases derived from internet surfing.

This is the reason behind the decision of a group of Italian doctors who, following the strong Alpine tradition, have performed hard and passionate work on mountain medicine, exploring with a rigorous scientific methodology issues related to hypoxia and hypothermia, and their effects on the health of people exposed to high altitude, either for recreational and professional purposes. Moreover, current travelling facilities allow also elderly people, often suffering from either overt or subclinical cardiovascular or respiratory conditions, to reach high altitude. Professor Gianfranco Parati, a longstanding friend of mine and an internationally reknown cardiologist, has devoted consistent time and energies during the last few years to explore the effects of high altitude exposure on human body. These studies have included a large number of people, either permanently living at, or occasionally exposed to high altitude. These studies have focussed both on healthy volunteers and on individuals affected by cardiovascular problems, which, however, if properly managed, might not preclude performance even of intense activities at high altitude. Among those conditions we may include arterial hypertension, heart rhythm disturbances and even consequences of heart surgery. Clearly, due to well known logistic and financial

In questi ultimi anni assistiamo ad una sempre più numerosa ed eterogenea frequentazione della montagna, accompagnata, purtroppo, da un sempre maggior numero di infortuni e malori. Spesso infatti ci si approccia all'ambiente alpino o, ancor peggio, a quello delle grandi quote himalayane, con scarsa cultura e consapevolezza, ignari degli effetti che l'ambiente impervio e l'alta quota esercitano sul nostro organismo, forti in molti casi di preconcezioni e terapie self-made, scaricate dal web.

È questo il motivo per il quale un gruppo di medici italiani, seguendo una pratica consolidata nei principali Paesi alpini e non solo, si sta dedicando con passione e competenza alla medicina di montagna, esplorando con rigore medico-scientifico le problematiche legate in particolare all'ipossia ed all'ipotermia, nonché il loro impatto sulla salute di chi in montagna lavora, o vi si reca per escursionismo o alpinismo. Inoltre, la riscoperta della montagna avviene da parte di una fetta di popolazione cosiddetta "senior", spesso affetta da patologie cardiache o respiratorie talvolta misconosciute e, quando conosciute, sottovalutate, o mal valutate dal medico di famiglia. Il Prof. Gianfranco Parati, amico di lunga data e cardiologo di fama internazionale, si è dedicato negli ultimi anni alla valutazione degli effetti dell'alta quota sul nostro organismo, concentrandosi su quella grande parte di frequentatori e residenti della montagna che sono affetti da patologie cardiocircolatorie che, se farmacologicamente controllate in modo corretto, non impediscono una soddisfacente e talvolta performante frequentazione dell'ambiente montano. Mi riferisco in particolare agli ipertesi, a coloro che soffrono di disturbi della conduzione cardiaca, a coloro che sono stati sottoposti ad intervento cardiocirurgico invasivo e/o mini-invasivo, etc.

Come è possibile immaginare, a causa delle difficoltà logistiche ed economiche legate alla sperimentazione clinica in alta quota, il grande limite della medicina di montagna è quello della numerosità dei casi trattati, con conseguente difficoltà nella validazione dei risultati e l'impossibilità, a volte, di giungere a linee guida condivise ed accettate da tutti.

problems related to the challenging conditions of high altitude research, the difficulties in recruiting a sufficient number of patients and, as a consequence, the subsequent difficulties in validating results and in reaching conclusions with adequate statistical support, have often represented an obstacle to adequate research projects in the field of mountain medicine, sometimes making it difficult to issue widely accepted guidelines. The research group of Istituto Auxologico Italiano, IRCCS San Luca Hospital, and of the University of Milano-Bicocca, guided by Prof. Gianfranco Parati, has successfully organized a number of scientific high altitude medical expeditions, both on the Alps, in the Himalayas at Everest Base Camp and on the Peruvian Andes. These projects have allowed data collection with the support of the most recent high technology devices, and have focussed not only on mountaineers, but also on highlanders living in cities and towns at altitudes above 3000 meters. A merit of these studies has always been the effort made to recruit a sufficient number of subjects for an adequate statistical analysis of results, and to collect data not only in resting conditions but also during daily life activities and under physical exercise, where the effects of hypoxia become more prominent. This has led to publication of novel evidence on the systemic and cardiovascular effects of high altitude exposure, which may represent the background for future guidelines on how to manage cardiovascular and respiratory problems developing in the setting of high altitude. This group of young, skilful and motivated researchers and medical doctors, has shown how important results can be obtained even in our times characterized by economical and social difficulties, which are often challenging research and cultural development in many European countries, whenever enthusiasm and commitment are combined to reach predefined goals. For those reasons I really wish to thank Gianfranco, for his engagement, efforts and passion in pursuing the dream of a sustainable mountain medicine for everyone, both physicians and alpinists, aiming at a safer high altitude exposure.

Dr. Luigi Festi

Thoracic Surgeon, University
of Insubria, Varese, Italy

President of Central Medical Commission
of Italian Alpine Club, Milan, Italy

Il grande merito del gruppo del centro Auxologico dell'Ospedale IRCCS San Luca dell'Università Bicocca di Milano, guidato dal Prof. Parati, è stato quello di organizzare spedizioni a carattere clinico-scientifico in alta quota, al campo base dell'Everest così come sulle Ande, e di riuscire a trasferirvi la moderna tecnologia diagnostica e di ricerca. Ciò non solo affiancando gli alpinisti, ma recandosi là dove la popolazione vive, valutando centinaia di pazienti, interpretando il loro stile di vita, le loro difficoltà quotidiane, indagando in modo completo il loro stato di salute e proponendo, come risultato finale, linee guida universalmente accettate e condivise nel campo della patologia cardiaca e respiratoria di tipo cronico, applicate all'alta quota. Siamo di fronte, e mi fa grande piacere rimarcarlo, ad un gruppo di ricercatori e medici giovani, motivati, attenti e competenti, che in tempi di grandi difficoltà economiche e sociali, che grande impatto hanno sulla ricerca e la cultura scientifica nel nostro Paese, dimostrano vitalità, competenza, entusiasmo e voglia di innovazione. Un grazie quindi a Gianfranco per l'attenzione, la competenza, il coraggio e la passione che lo spingono verso l'obiettivo di rendere la medicina di montagna patrimonio di tutti, medici e appassionati, portandola ad un altissimo livello di specializzazione, permettendo, così, una frequentazione dell'ambiente alpino più sicura e consapevole.

Dr. Luigi Festi

Chirurgia Toracica, Università
degli Studi dell'Insubria, Varese

Presidente della Commissione Medica
del CAI, Club Alpino Italiano, Milano

PREFACE

PRESENTAZIONE

This original and unique book combines images of rare beauty with innovative scientific data on the effects of high altitude on a number of biological functions, in particular on changes in the activity of the cardiovascular system during acute and prolonged exposure to hypobaric hypoxia at altitude, collected over 11 years of research by Gianfranco Parati, Professor of Cardiovascular Medicine at the University of Milano-Bicocca, and by his coworkers.

These studies, carried out as part of the HIGHCARE (HIGH altitude CARDiovascular REsearch) projects, are an example of the high level of scientific research and of the internationalization which characterize the University of Milan Bicocca. In this frame, Professor Parati has provided a significant worldwide contribution, as demonstrated also by the large number of scientific publications on this and on related topic already appeared on international high impact journals.

The data collected in this book represent a significant progress in our understanding of the physiologic changes characterizing exposure to hypobaric hypoxia at high altitude as well as of the pathophysiologic mechanisms of acute mountain sickness and of those behind changes in the function of various organs and systems in this condition. They also offer indications for a clinical translation of the scientific studies carried out in the mountains, aimed at improving the management and treatment of patients suffering from chronic diseases associated with a reduced availability of oxygen. On behalf of the University of Milano-Bicocca I wish thus to congratulate Professor Parati for the enormous amount of productive work carried out so far in the frame of HIGHCARE projects. This has been possible thanks to the high standard of the research methods and of the technologies applied, but also because of the successful combination of Gianfranco Parati's passion for research and love for mountains.

I hope that this book might also stimulate our undergraduate as well as our graduated students to achieve proficiency in research

Questo volume rappresenta un'opera originale e unica nel suo genere, combinando immagini di rara bellezza con dati scientifici innovativi relativi agli effetti dell'alta quota su una serie di funzioni biologiche, in particolare sulle modificazioni a carico dell'apparato cardiovascolare durante esposizione acuta e prolungata all'ipossia ipobarica, raccolti nell'arco di 11 anni di ricerche da Gianfranco Parati, Professore Ordinario di Medicina Cardiovascolare all'Università di Milano-Bicocca, e dai suoi collaboratori.

Questi studi, effettuati nell'ambito dei progetti HIGHCARE (HIGH altitude CARDiovascular REsearch), sono un esempio dell'alto livello di ricerca scientifica e della internazionalizzazione che caratterizzano l'Università di Milano Bicocca, a cui il Prof. Parati ha portato un significativo contributo a livello mondiale, come dimostrato dall'elevato numero di pubblicazioni sia su questo tema che su argomenti correlati, già apparse su riviste internazionali di alto prestigio ed impatto.

I dati raccolti in questo libro rappresentano un significativo progresso nelle nostre conoscenze sia sulla fisiologia dell'esposizione all'ipossia ipobarica in alta quota che sulla fisiopatologia del mal di montagna, e delle alterazioni nella funzione di diversi organi e sistemi in questa condizione. Offrono inoltre elementi per una traduzione clinica delle osservazioni effettuate in alta montagna, allo scopo di migliorare la gestione e la terapia dei pazienti affetti da patologie croniche associate ad una disponibilità ridotta di ossigeno. A nome dell'Università degli Studi di Milano-Bicocca desidero complimentarmi con il Prof. Parati per la mole enorme di lavoro altamente produttivo sinora effettuato nell'ambito dei progetti HIGHCARE, grazie non solo all'elevato standard delle metodologie utilizzate, ma anche al felice connubio tra la sua passione per la ricerca e il suo amore per la montagna.

Mi auguro che questo libro sia di stimolo anche per i nostri studenti, specializzandi e dottorandi, perché diano spazio durante il loro curriculum universitario anche all'apprendimento di una corretta metodologia per la ricerca, la sola che può consentire di ottenere

methodology, which represents an essential condition for any progress in science and, specifically, for a better understanding of human body reactions under different and sometimes extreme conditions.

progresso nella scienza e raggiungimento di risultati ad elevato impatto internazionale, in particolare nella comprensione delle risposte del nostro organismo a condizioni diverse, e a volte estreme.

Prof. Cristina Messa
Rector
University of Milano-Bicocca, Italy

Prof. Cristina Messa
Rettore
Università degli Studi di Milano-Bicocca

INTRODUCTION

INTRODUZIONE



This book summarizes the results of a series of studies at high altitude in the context of the HIGHCARE research projects, where **HIGHCARE stands for HIGH altitude Cardiovascular REsearch**. These studies have been carried out by a team of experienced and enthusiastic researchers, whom for many years I have had the pleasure and privilege to co-ordinate. These Researchers belong in part to the Department of Cardiovascular, Neurological and Metabolic Sciences and to the Cardiovascular Research Laboratory of St. Luke's Hospital, IRCCS, Istituto Auxologico Italiano, and in part to the Department of Health Sciences, University of Milan Bicocca, Milan, Italy. The HIGHCARE research project originated, in part, from the need to better understand the effects on the human body of acute and prolonged hypobaric hypoxia that characterizes high altitude exposure, with obvious practical implications for climbers and hikers. Given our characterization as clinical researchers, however, these studies have also aimed at investigating a problem that often occurs in the daily clinical practice of a physician. That is, how to better understand and to more effectively deal with the difficulties of many patients who suffer from chronic diseases characterized by a reduced

Questo libro riassume i risultati di una serie di studi effettuati in alta quota nell'ambito dei progetti di ricerca **HIGHCARE**, acronimo di **HIGH altitude Cardiovascular REsearch**. Sono studi effettuati da un gruppo di ricercatori esperti ed entusiasti, che da molti anni ho il piacere ed il privilegio di coordinare. Sono ricercatori che operano in parte nel Dipartimento di Scienze Cardiovascolari, Neurologiche e Metaboliche e nel Laboratorio di Ricerche Cardiovascolari dell'Ospedale S.Luca, IRCCS, Istituto Auxologico Italiano di Milano, e in parte nel Dipartimento di Scienze della Salute, Università degli Studi di Milano-Bicocca. Queste ricerche sono nate in parte dal desiderio di meglio comprendere gli effetti sul corpo umano dell'esposizione acuta e prolungata all'ipossia ipobarica che caratterizza l'alta quota, con ovvie ricadute pratiche per alpinisti ed escursionisti appassionati delle alte vette. Data la nostra caratterizzazione come ricercatori clinici, tuttavia, questi studi hanno anche e soprattutto voluto indagare un problema che spesso si presenta nella pratica clinica quotidiana di un medico. E cioè, come comprendere meglio e affrontare con maggiore efficacia le difficoltà di molti pazienti che soffrono di patologie croniche

ABOVE

Stupa with national flags of all expedition participants at the Everest Base Camp.

SOPRA

Stupa al Campo Base Everest con le bandiere delle nazionalità di tutti i partecipanti alla spedizione.

availability of oxygen, either chronically, and/or associated with acute crises during daytime or, as in the case of sleep apneas, during the night or afternoon sleep. These are conditions that occur with a relatively high frequency, as in the case of heart failure associated with chronic lung disease, where a myocardium already damaged by previous diseases, not only is unable to support the needs of an effective blood circulation, but is also faced with the difficulties of lungs failing to introduce the required amount of oxygen in our body.

Another example is the condition of many obese individuals that often, in addition to the mechanical difficulties of expanding the lungs during inspiration, hampered by the presence of increased abdominal fat, also suffer from obstructive sleep apnea episodes during sleep. Dealing with these situations is often a difficult task for the physician, with many questions still awaiting for a satisfactory answer also because, in the context of chronic diseases, the effects of oxygen deficiency are inevitably mixed with the effects of other pathological conditions, making it difficult to understand their specific contribution to the overall clinical picture of the patient.

These considerations stimulated the identification of a scientific model to specifically investigate the effects of a low oxygen availability by focusing on a natural condition where a reduced blood oxygen concentration materializes without the presence of associated diseases: i.e. exposure to high altitude. It has to be acknowledged that studying the effects of hypoxia at high altitude may not precisely reflect the effects of hypoxia associated with pathologic conditions in chronic patients. Notwithstanding this limitation, a better understanding of what happens under hypoxic conditions in the absence of diseases can nevertheless provide potentially useful information to be translated into clinical practice: a peculiar example of translational medicine.

Based on such a background we started our medical research projects at high altitude, with the specific purpose of investigating, through a multidisciplinary and integrated approach, both systemic and cardiovascular effects of exposure to the low atmospheric pressure, and to the associated hypobaric hypoxia, typical of high mountains. In our HIGHCARE studies this was done in healthy volunteers, that is in ourselves, who were thus playing the dual role of guinea

caratterizzate da una ridotta disponibilità di ossigeno, sia cronicamente, sia anche in forma di crisi acute durante il giorno o, come nel caso delle apnee morfeiche, durante la notte o il sonno pomeridiano. Si tratta di condizioni che si verificano con una certa frequenza. Basti pensare all'insufficienza cardiaca associata a malattie polmonari croniche, condizione nella quale un miocardio già danneggiato da precedenti patologie non solo fatica a sostenere le necessità della circolazione del sangue, ma si trova anche ad affrontare le difficoltà di polmoni che non riescono ad introdurre la quantità di ossigeno necessaria nell'organismo.

Pensiamo anche alla condizione di molti soggetti obesi che spesso, oltre a dover affrontare la difficoltà meccanica di espandere i polmoni in inspirazione perché ostacolati dalla presenza di un aumento del grasso addominale, soffrono di notte anche di improvvisi arresti della respirazione, dovuti al ripetersi di occlusioni delle alte vie aeree durante il sonno: le ben note apnee morfeiche ostruttive. Affrontare queste situazioni rappresenta per un medico un problema complesso, con molte domande ancora in attesa di una soddisfacente risposta anche perché, nel contesto di malattie croniche, gli effetti della carenza di ossigeno sono inevitabilmente frammisti agli effetti di altre situazioni patologiche, il che rende difficile capire il loro contributo specifico al quadro clinico generale del paziente.

Da qui l'idea di trovare un modello scientifico che permettesse di studiare in modo specifico gli effetti di una insufficiente disponibilità di ossigeno, utilizzando una condizione offerta dalla natura ove tale scarsa disponibilità si materializza senza la presenza di malattie associate: l'esposizione all'alta quota. Certo, studiare gli effetti dell'ipossia in alta quota non riproduce esattamente gli effetti dell'ipossia che si associa ad altre patologie nei pazienti cronici. Nonostante ciò, comprendere meglio cosa succeda in condizioni di ipossia in assenza di malattie ci può comunque offrire informazioni potenzialmente utili da tradurre anche nella pratica clinica: una forma, anche questa, di medicina traslazionale.

Così ha preso forma l'idea della nostra ricerca medica in alta quota, con il preciso scopo di indagare, con un approccio multidisciplinare e integrato, gli effetti cardiovascolari e sistemici di una esposizione alla bassa pressione atmosferica tipica delle vette

pigs and researchers, but also in patients already suffering from chronic conditions such as high blood pressure. This was done with the ultimate goal of translating such novel knowledge into clinically useful information. Our approach to research at high altitude thus partly differs from that of other previous studies of a more “physiological” nature, which focused on the investigation of human body responses to hypobaric hypoxia primarily for the purpose of improving the performance of mountaineers and athletes, or to better counteract the symptoms and signs of “altitude sickness” in individuals ascending to altitude either for leisure or work.

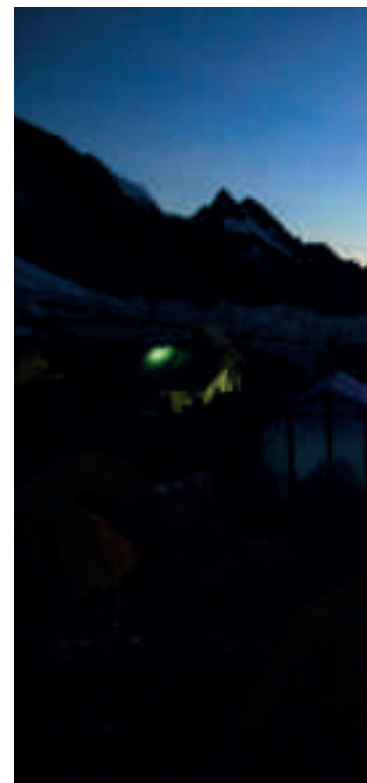
We have thus tried to face an old problem with a new perspective, which led us to accept the challenge of leaving the well-equipped research laboratories of Istituto Auxologico Italiano of Milan and of the University of Milan-Bicocca, and to venture in organizing collection of scientific data in difficult, uncomfortable and sometimes extreme environmental conditions. Under this perspective we first performed the HIGHCARE ALPS studies, conducted between years 2004 and 2010 in healthy volunteers on the Monte Rosa massif, at the Capanna Margherita, a shelter built in its original version by Queen Margherita of Savoy at the end of the nineteenth century to be a scientific observatory on the summit of Gnifetti peak, at 4559 meters, which makes it the highest refuge and scientific laboratory in Europe.

We continued our high altitude research in healthy volunteers with the HIGHCARE HIMALAYA study, conducted in year 2008 on the south (Nepal) slopes of Mount Everest, to investigate in an interdisciplinary manner and in a larger number of subjects the effects of an even lesser availability of oxygen, under both acute and prolonged exposure to higher altitudes. Finally, in year 2012, we carried out the HIGHCARE ANDES study in the Peruvian Andes, and extended our investigations to the effects of high altitude in patients who already suffer from high blood pressure at sea level. This was done to investigate both the reaction of the cardiovascular system of hypertensive patients living at sea level and their response to antihypertensive treatment when they are exposed to hypobaric hypoxia at altitude. In other words, we simulated what happens in our hypertensive patients when they decide to travel to high altitude for either leisure or work.

This book summarizes the results of all these

e alla conseguente ipossia ipobarica. E questo sia su volontari sani, in particolare su noi stessi, chiamati a svolgere quindi il duplice ruolo di cavie e di ricercatori, ma anche su pazienti già affetti da condizioni croniche, come l’ipertensione arteriosa, con l’obiettivo finale di tradurre queste conoscenze in informazioni di utilità clinica. Un approccio alla ricerca in alta quota, che quindi in parte si differenzia da quello di altri studi precedenti, di natura più “fisiologica” e cioè focalizzati sull’analisi di come reagisca il corpo umano all’ipossia ipobarica, con lo scopo prevalente di migliorare le performance degli alpinisti e degli atleti, o di meglio contrastare i disturbi del “mal di montagna” in chi voglia andare in vacanza in quota.

Si trattava pertanto di affrontare un problema antico con una prospettiva in buona parte nuova. E si trattava per noi di accettare una sfida: quella di uscire dai ben attrezzati laboratori di ricerca dell’Istituto Auxologico Italiano di Milano e dell’Università degli Studi di Milano-Bicocca e di avventurarsi ad organizzare una raccolta di dati scientifici in condizioni ambientali disagiate, a volte estreme. Cioè in condizioni tali da riprodurre le difficoltà respiratorie di un paziente ipossico, ma che proprio per questo potevano mettere a dura prova anche un ricercatore e rendere faticoso, e a volte tecnicamente problematico, lo studio delle alterazioni che si verificano nel corpo umano. Da qui sono nati gli studi HIGHCARE ALPS, condotti tra il 2004 e il 2010 su volontari sani sul massiccio del Monte Rosa, alla Capanna Margherita (fatta costruire nella sua versione iniziale dalla Regina Margherita



BELOW

Final steps before reaching Everest Base Camp (5400m). Prof. G. Parati and Prof. P. Agostoni.

SOTTO

Tratto finale della salita verso il Campo Base dell’Everest (5.400m). Prof. G. Parati e Prof. P. Agostoni.





ABOVE

Dawn at the Everest
Base Camp
(5400m).

SOPRA

Alba al Campo Base
Everest
(5.400m).

studies, with the aim of offering an integrated, although relatively concise, description of our findings, in the hope that what was discovered in our studies might be also helpful in clinical practice, and might represent a stimulus for further research for a deeper understanding of what still appears to remain a complex pathophysiological problem.

di Savoia alla fine dell'Ottocento come osservatorio scientifico), che con i suoi 4.559 metri di altezza rappresenta il rifugio e il laboratorio scientifico più alto d'Europa.

A queste ricerche ha fatto seguito, sempre in volontari sani, lo studio HIGHCARE HIMALAYA, condotto nel 2008 sulle pendici sud (Nepal) del monte Everest, per indagare in modo interdisciplinare e in un numero più elevato di soggetti gli effetti di disponibilità ancora minori di ossigeno, ancora più in alto, sia in acuto che dopo esposizione prolungata. Nel 2012, sulle Ande peruviane (HIGHCARE ANDES) abbiamo poi esteso le nostre ricerche agli effetti dell'alta quota in pazienti che già soffrono di ipertensione arteriosa a livello del mare, per indagare quale sia la reazione del loro apparato cardiovascolare quando esposti ad ipossia ipobarica, simulando quanto accade anche ai nostri pazienti ipertesi che si recano in alta quota per svago o per lavoro.

In questo volume sono riassunti i risultati di tutti questi studi, con l'obiettivo di offrirne una esposizione integrata, anche se sintetica, a beneficio del lettore, nella speranza che quanto osservato nei nostri studi possa essere di aiuto anche nella pratica clinica e sia di stimolo per ulteriori ricerche.

Gianfranco Parati

Professor of Cardiovascular Medicine,
University of Milan-Bicocca, Italy

Head, Cardiology Unit and Department of
Cardiovascular, Neurological and Metabolic
Sciences, St. Luke's Hospital, IRCCS,
Istituto Auxologico Italiano, Milan, Italy

Gianfranco Parati

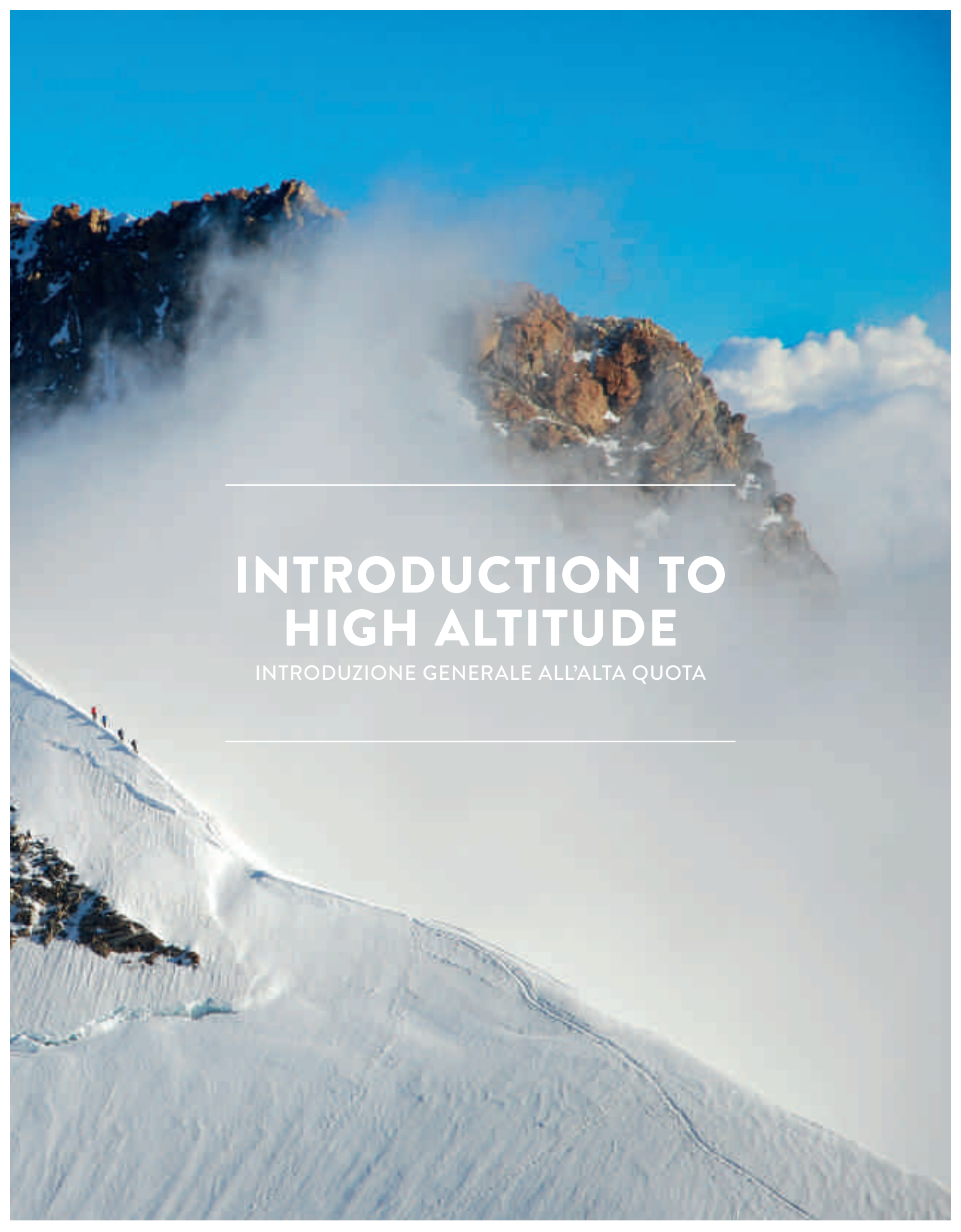
Professore Ordinario di Medicina
Cardiovascolare, Università di Milano-Bicocca

Direttore dell'Unità Complessa di Cardiologia
e del Dipartimento di Scienze Cardiovascolari,
Neurologiche e Metaboliche, Ospedale S.Luca,
IRCCS, Istituto Auxologico Italiano, Milano

Mount Rosa. Dufour and
Zumstein Peaks

Monte Rosa. Cime
Dufour e Zumstein





INTRODUCTION TO HIGH ALTITUDE

INTRODUZIONE GENERALE ALL'ALTA QUOTA

HISTORICAL BACKGROUND

CENNI STORICI

Modern alpinism and first scientific observations on high altitude pathophysiology date back to 1760, when one of the founders of modern alpinism, the Swiss naturalist Horace De Saussure, offered a prize for the discovery of a new way to reach the summit of Mont Blanc. After many attempts, the summit was finally conquered in 1786 by a medical doctor (Michel Gabriel Paccard) and a crystals' seeker (Jacques Baltman). Since 1950, when Maurice Herzog and Louis Lechenal for the first time climbed a 8000m mountain, thousands of alpinists approached highest mountains of Tibet, Nepal, Pakistan and China. Nowadays, owing to the increase of travelling facilities and the enthusiasm for extreme sports, a large number of individuals reach high altitude locations without adequate preparation and often have to face health issues related to the unfavourable environment. However, high altitude-related medical conditions are not limited to extreme altitudes. Each year many people reach moderately high altitudes (i.e. above 2500), either for recreational or for work purposes. Moreover, approximately 140 million of people live above 2500m and, in some geographical regions (e.g. Andes plateau in South America), entire populations of villages and towns are located at altitudes around 4000-5000 meters.

As the altitude increases, barometric pressure decreases and oxygen partial pressure decreases accordingly; in the resulting hypoxic environment exercise tolerance, even in case of light efforts, is significantly reduced and symptoms such as headache, nausea, asthenia and sleep disturbances often arise. Symptoms' development probability increases with the altitude reached and with ascent velocity, but an important role is played by personal susceptibility. In fact, in some individuals the symptoms may arise even at relatively low altitudes (less than 2500m). Considering the frequent occurrence of high altitude-induced symptoms and the low availability of medical resources, doctors and mountaineers should be aware of risks, be able to identify clinical signs and symptoms, and understand the basic rules of prevention and treatment of mountain sickness.

L'alpinismo moderno e le prime osservazioni scientifiche sulla fisiopatologia d'altura risalgono al 1760, quando l'alpinista e naturalista svizzero Horace De Saussure, considerato il fondatore dell'alpinismo moderno, offrì un premio a chi scoprisse una via di ascesa alla cima del Monte Bianco; la vetta fu conquistata nell'agosto del 1786, dopo anni di tentativi e di esplorazioni, da un medico (Michel Gabriel Paccard) e da un cercatore di cristalli (Jacques Baltman). A partire dal 1950, quando Maurice Herzog e Louis Lechenal scalarono per primi un ottomila, migliaia di altri alpinisti si sono succeduti sulle altissime montagne del Tibet, Nepal, Pakistan e Cina. Grazie all'aumento della popolarità degli sport estremi, e alla facilità di spostamento dei tempi attuali, sempre più persone si espongono a quote anche molto elevate, incorrendo in problemi di salute correlati a tale condizione ambientale. Ma le patologie d'alta quota non interessano solo chi, professionista o sportivo, raggiunge le vette più alte del mondo; milioni di persone ogni anno si recano in alta quota (definita come quota superiore ai 2.500m) per vacanza, semplice escursionismo o per motivi di lavoro e, nel mondo, si stima che oltre 140 milioni di persone vivano ad altitudini superiori ai 2.500m; addirittura, in alcune regioni geografiche come ad esempio l'altopiano andino in Sud America, molti individui risiedono permanentemente al di sopra dei 5.000m.

Con l'aumento dell'altitudine si riduce la pressione barometrica totale e, di conseguenza, diminuisce la pressione parziale di ossigeno dell'aria; si viene cioè a creare un ambiente ipossico in cui la tolleranza all'esercizio fisico, anche non sostenuto, è molto diminuita ed è comune la comparsa di sintomi quali cefalea, nausea, affaticabilità e disturbi del sonno. La probabilità che compaiano questi sintomi aumenta con la quota e la velocità di ascesa, ma molto dipende anche dalla "predisposizione" personale; alcuni individui particolarmente suscettibili, infatti, possono accusarli anche a quote relativamente basse (inferiori a 2.500m). Data l'incidenza relativamente alta delle malattie d'alta quota (ipobaropatie) e la difficoltà o impossibilità, a volte, di fornire assistenza medica in caso di emergenza, i medici e gli appassionati di montagna dovrebbero conoscerne i rischi,

BELOW

Queen Margherita Hut (4459m), year 2010.

SOTTO

Capanna Regina Margherita (4.459m), anno 2010.



High altitude physiology and pathophysiology research is longstanding; in fact, one of the main classic books on this topic is “La Pression Barometrique”, written in 1878 by Paul Bert¹, who studied the effects of barometric pressure and, in particular, of high altitude on human body. He described it as “*a topic of general and not only medical interest for human well-being, because many people live at altitude as a natural life condition*”. Already in 1874 Bert exposed himself to simulated hypobaric hypoxia corresponding to Mount Everest summit (through the use of a hypobaric chamber), thus anticipating more sophisticated experiments like 1946 “Operation Everest” and 1985 “Operation Everest II”.^{2,3} However, simulated experimental conditions cannot

saperne comprenderne i sintomi, ed essere informati sui principi basilari del trattamento e della prevenzione di queste sindromi.

Lo studio della fisiologia e delle patologie d’alta quota è stato iniziato molto tempo fa, il grande classico su questo argomento è “La Pression Barometrique” del 1878, nel quale l’autore, Paul Bert¹, descrive i suoi esperimenti sugli effetti indotti dalle alterazioni della pressione barometrica sull’organismo umano, ed in particolar modo sull’esposizione ad alta quota, poiché, citando l’autore, “*per milioni di persone questa è la condizione naturale di vita; non è quindi solo un buon oggetto di studio per la fisiologia e la medicina, ma un argomento di generale interesse come fattore di benessere umano*”. Bert già nel 1874 espose sé stesso in camera ipobarica ad una quota simulata corrispondente alla vetta del Monte Everest, anticipando esperimenti più sofisticati che sarebbero stati realizzati solo nella metà del 1900 (Operation Everest I del 1946, e Operation Everest II del 1985).^{2,3} Tuttavia, gli esperimenti in condizioni di alta quota simulata non possono completamente svelare le alterazioni fisiologiche dell’organismo esposto ad ipossia ipobarica, sia nel caso di esposizione acuta, sia nel caso di soggetti residenti permanentemente in alta quota, in quanto tale condizione non è solo sinonimo di ridotta pressione barometrica, ma è la somma di fattori



Courtesy of Club Alpino Italiano Sez. di Vaillo Sestia

ABOVE

Queen Margherita Hut under construction, year 1892.

SOPRA

Capanna Osservatorio “Regina Margherita”, lavori di costruzione, anno 1892.

completely reproduce pathophysiology of high altitude hypobaric hypoxia, both for acute and chronic exposure, because it includes the effects of many other environmental elements as temperature, air humidity, physical exertion, solar irradiation.⁴ Scientists have always been aware of the limitation related to artificial settings. Among them Angelo Mosso, an Italian medical doctor, physiologist and archaeologist, has conducted some of the first Alpine scientific expeditions: first in 1877 on Monviso, together with Quintino Sella, then in 1892 at Capanna Vallot on the Mont Blanc, to evaluate human body response to extreme environmental conditions. In 1895 Queen Margherita of Savoia, great supporter of science and alpinism, asked Angelo Mosso to create a high mountain observatory for meteorology, physics and geophysics, as well as of human physiology. In 1902 Angelo Mosso founded Queen Margherita Observatory, described as the “rock-based Observatory” and opposed to the Mont Blanc’s Observatory, based on ice. Initially, Queen Margherita Observatory consisted of one room inside the “Capanna Margherita” Alpine hut, on Punta Gnifetti on Monte Rosa (opened on 18 August 1893, at 4559m), and nowadays it accommodates the Alpine Institute for Physiology Studies and it welcomes scientific expeditions from all over Europe.

Despite the wide knowledge obtained from high altitude studies, many changes in body function at high altitude remain unclear, either representing adaptive mechanisms



ambientali addizionali, quali bassa temperatura, grado di umidità dell’aria, stimolazione fisica, irradiazione solare.⁴ Questo fatto era ben noto sin dall’inizio degli esperimenti sull’alta quota a molti studiosi, tra i quali Angelo Mosso, medico, fisiologo ed archeologo italiano, che fu tra i primi a compiere spedizioni scientifiche sulle Alpi: sul Monviso nel 1877, insieme a Quintino Sella, e nel 1892 alla Capanna Vallot sul Monte Bianco, per studiare il comportamento del corpo umano in condizioni estreme. Nel 1895 la Regina Margherita di Savoia, appassionata di scienza e amante dell’alpinismo, propose ad Angelo Mosso di fondare un osservatorio di montagna per lo studio della meteorologia, della fisica e della geofisica, nonché della fisiologia umana. Angelo Mosso fondò nel 1902 l’Osservatorio Regina Margherita, “l’Osservatorio fondato su roccia”, in competizione con l’Osservatorio Jannsen sul Monte Bianco, fondato su ghiaccio. Inizialmente costituito da una sola stanza presso il rifugio alpino “Capanna Margherita” alla Punta Gnifetti sul Monte Rosa (inaugurato il 18 agosto 1893, a quota 4.559m), è a tutt’oggi sede dell’Istituto di Fisiologia per lo Studio delle

LEFT

Lyskamm view from the Margherita Hut.

SINISTRA

Lyskamm visto dalla Capanna Margherita.



ABOVE

Last part of the ascent to Queen Margherita Hut.

ABOVE RIGHT

Queen Margherita at the inauguration of Margherita Hut, August 18th, 1893.

SOPRA

Ultimo tratto della salita verso la Capanna Margherita.

SOPRA A DESTRA

Visita della Regina Margherita all'inaugurazione della Capanna a lei intitolata, 18 agosto 1893.

or pathological conditions. Human body evaluation during high altitude exposure represents a valuable research tool to investigate hypoxia effects model because it helps to better understand mechanisms of hypobaric hypoxia adaptation and mountain sickness development, but also represents a useful “translational” model of chronic hypoxic medical conditions such as heart failure, pulmonary diseases, obstructive sleep apnoea syndrome and severe obesity, either associated with arterial hypertension or not. Moreover, high altitude settings represent ideal environments to test the diagnostic accuracy of new instruments and new pharmacological and non-pharmacological therapies useful in high-altitude induced pathological conditions and in diseases characterized by hypoxia.



Courtesy of Club Alpino Italiano Sez. di Valtellina Sesia

Alpi e meta di numerose spedizioni medico-scientifiche provenienti da tutta Europa. Numerosi studi sulle alterazioni in alta quota sono stati condotti, molto è stato compreso, ma diversi meccanismi del processo di adattamento all'alta quota, siano essi i fattori di un normale adattamento a condizioni ambientali “sfavorevoli” o l'evoluzione verso uno stato patologico, restano ancora da chiarire. Lo studio dell'organismo umano esposto a tali condizioni rappresenta inoltre un modello importante perché, oltre a permettere di comprendere meglio i meccanismi di adattamento all'ipossia ipobarica e di studiare le cause che generano le varie forme di “mal di montagna”, fornisce un modello per lo studio di patologie croniche associate ad una limitata disponibilità di ossigeno a livello tissutale, quali lo scompenso cardiaco, le broncopneumopatie, la sindrome delle apnee notturne e l'obesità grave, associate o meno all'ipertensione arteriosa. La ricerca in alta quota è, inoltre, fondamentale per esplorare nuove tecnologie diagnostiche e per testare e verificare l'efficacia di interventi terapeutici farmacologici e non, utili nella prevenzione e nella terapia delle alterazioni cardiovascolari indotte dall'esposizione all'alta quota e da malattie croniche associate ad ipossiemia.

1. Bert Paul. La Pression Barometrique; Recherches De Physiologie Experimentale. Masson, Paris, 1878. 2. Imray C, Wright A, Subudhi A, Roach R. Acute Mountain Sickness: Pathophysiology, Prevention, and Treatment. *Progress in Cardiovascular Diseases* 52, n. 6 (giugno 2010): 467–84. 3. Reeves JT, Groves BM, Sutton JR, Wagner PD, Cymerman A, Malconian MK, Rock PB, Young PM, Houston CS. Operation Everest II: Preservation of Cardiac Function at Extreme Altitude. *Journal of Applied Physiology* (1985). 1987 Aug; 63(2):531-9. 4. Appenzeller O, Martignoni E. The Autonomic Nervous System and Hypoxia: Mountain Medicine. *Journal of the Autonomic Nervous System* 57, n. 1–2 (5 febbraio 1996): 1–12.

PHYSIOLOGY AND PATHOPHYSIOLOGY OF HIGH ALTITUDE EXPOSURE

ASPETTI FISIOLGICI E FISIOPATOLOGICI DELL'ALTA QUOTA

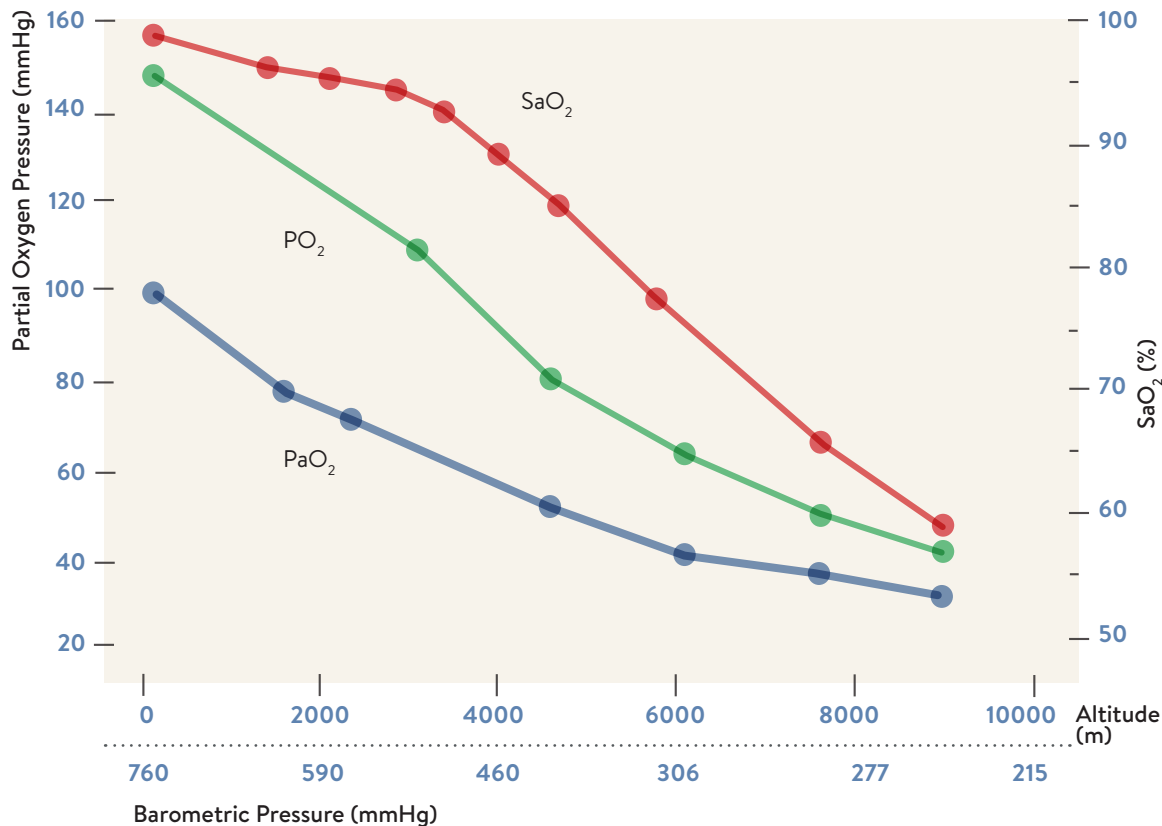


Figure 1

Relation among partial oxygen pressure, barometric pressure/altitude and arterial oxygen saturation (modified from: Gallagher-Hackett, *Emerg Med Clin North Am*, 2004²).

Relazione tra pressione parziale di ossigeno, pressione barometrica e saturazione di ossigeno (modificata da: Gallagher-Hackett, *Emerg Med Clin North Am*, 2004²).

HIGH ALTITUDE BIOPHYSICAL DESCRIPTION

High altitude effects on human body are a combined result of reduced barometric pressure, reduced oxygen partial pressure, reduced air humidity (it halves at 2000m and is about a quarter of sea level value at 4000m) and temperature (it falls by about 0.65° C every 100m). Gravitational attraction of air towards the earth determines atmospheric pressure: at sea level, it is equal to the weight of 760mm mercury column, and it decreases exponentially with increasing distance from the centre of the Earth (atmospheric pressure halves at 5500m and on Mt. Everest summit it is about 1/3 of that sea level value). Thanks to the convective movements, air composition remains the same independently from altitude; in fact, accordingly to Boyle's law, pressure reduction leads to volume expansion, but does not alter a given gas mixture composition.

DESCRIZIONE BIOFISICA DELL'ALTA QUOTA

Gli effetti dell'ipossia ipobarica sull'organismo umano in alta quota riflettono gli esiti di una serie di condizioni quali la riduzione della pressione atmosferica, della pressione parziale di ossigeno, dell'umidità (si dimezza a circa 2.000m e si riduce ad un quarto attorno ai 4.000m) e della temperatura (decresce in media di circa 0,65° C ogni 100m). La pressione atmosferica è determinata dalla forza di attrazione terrestre sull'aria: a livello del mare equivale al peso di una colonna di 760mm di mercurio, mentre diminuisce con l'altitudine secondo una funzione esponenziale che dipende dalla distanza dal centro della terra (a 5.500m è circa dimezzata e sulla cima dell'Everest è poco più di 1/3 della pressione rilevabile a livello del mare). A causa del rimescolamento atmosferico dovuto ai moti convettivi, al variare dell'altezza la

Thus, a reduction in atmospheric pressure determines a proportional reduction in partial pressure of each air component. Moreover, atmospheric pressure (and partial pressure of each single gas) is determined by altitude but also by latitude – because the Earth is a geoid (flattened at poles) rather than a sphere – by temperature and by meteorological conditions (high or low pressure).

According to Dalton’s law, partial pressure exerted by each gas in a mixture is proportional to its percentage concentration. At sea level, air exerts a pressure of 760mmHg, with the following composition: 20.95% oxygen, 78.64% nitrogen and 0.04% carbon dioxide. Oxygen intake from lungs to blood depends on the difference in oxygen partial pressure (PaO₂) between alveolar and venous capillary blood. At sea level, alveolar PaO₂ is about 100mmHg, equivalent to 21% of 760mmHg minus 47mmHg corresponding to alveolar water vapor pressure and pressure given by the mixing of fresh air with alveolar residual volume, which occurs at every breath. On the other hand, oxygen partial pressure in venous blood is about 40mmHg. Thus, an alveolar-capillary gradient at sea level of 60mmHg is sufficient to ensure diffusion of O₂ into capillary blood and to provide peripheral tissues oxygenation also in case of elevated metabolic requests (i.e. during physical exercise) (Figure 1). Alveolar pO₂ is directly proportional to ventilation up to the level of inspired air partial oxygen pressure and is inversely proportional to oxygen consumption rate; alveolar pCO₂ is proportional to CO₂ production rate and inversely proportional to ventilation.

At sea level, an alveolar ventilation of 3.5 L/min satisfies metabolic requests of a resting healthy individual. At altitude, to provide the alveoli with the same oxygen quantity, ventilation must increase to compensate for the reduction

composizione dell’aria rimane sostanzialmente invariata; secondo quanto descritto dalla legge di Boyle, la riduzione di pressione comporta un aumento del volume dei gas, quindi un dato volume di gas contiene un numero inferiore di molecole, ma non ne modifica la composizione. Pertanto al variare della quota, al diminuire della pressione atmosferica, diminuisce la pressione parziale di ciascun componente. Inoltre, la pressione atmosferica (e quindi le pressioni parziali dei singoli componenti), non è dipendente solo dalla quota, ma cambia anche in base alla latitudine, in quanto la Terra non è una sfera, ma un geoide (schiacciata ai poli rispetto all’equatore), alla temperatura ed alle condizioni atmosferiche (stato di bassa od alta pressione).

La pressione parziale esercitata da un gas contenuto in una miscela è, secondo la legge di Dalton, direttamente proporzionale alla sua concentrazione percentuale nella miscela stessa; l’aria a livello del mare esercita una pressione di 760mmHg, con la seguente composizione: 20,95% ossigeno, 78,64% azoto e 0,04% anidride carbonica. Il passaggio di O₂ dai polmoni al sangue è in funzione della differenza esistente tra la pressione di O₂ negli alveoli polmonari e quella nel sangue venoso a livello capillare. A livello del mare la pressione parziale dell’ossigeno negli alveoli polmonari è di circa 100mmHg, risultante dalla quota di pressione parziale di ossigeno (21% circa di 760mmHg) a cui si devono sottrarre 47mmHg di pressione corrispondente alla pressione di saturazione di vapore acqueo presente a livello alveolare ed una quota corrispondente al rimescolamento che avviene ad ogni atto respiratorio con il volume residuo alveolare. Di contro, la pressione nel sangue venoso a livello capillare è di circa 40mmHg. Il gradiente alveolo-capillare, che a livello del mare è dunque di 60mmHg, è più che adeguato ad assicurare il passaggio di O₂ dagli alveoli al versante capillare, garantendo l’ossigenazione dei tessuti e degli organi anche in condizioni di elevato flusso polmonare ed elevate necessità metaboliche, come avviene ad esempio in caso di esercizio fisico (Figura 1). La pO₂ alveolare è direttamente proporzionale alla ventilazione fino al limite imposto dalla pressione parziale di O₂ dell’aria inspirata ed è inversamente proporzionale alla velocità di consumo di O₂; la pCO₂ alveolare è direttamente proporzionale alla velocità di produzione ed inversamente alla ventilazione. A livello del mare, una ventilazione alveolare

Table 1

Definition for high altitude (modified from: Imray C et al., Prog. Cardiovasc Dis. 2010³).

Definizione di alta quota (modificata da: Imray C et al., Prog. Cardiovasc Dis. 2010³).

LOW ALTITUDE BASSA QUOTA	da 0 a 1.500m s.l.m.
INTERMEDIATE ALTITUDE QUOTA INTERMEDIA	da 1.500 a 2.500m s.l.m.
HIGH ALTITUDE ALTA QUOTA	da 2.500 a 3.500m s.l.m.
VERY HIGH ALTITUDE ALTISSIMA QUOTA	da 3.500 a 5.800m s.l.m.
EXTREME ALTITUDE ALTITUDINE ESTREMA	al di sopra di 5.800m s.l.m.
DEATH ZONE ALTEZZA INCOMPATIBILE CON LA VITA	al di sopra di 8.000m s.l.m.

in oxygen partial pressure in the inspired air, which determines both a reduction in total air oxygen content and a reduction in venous blood re-oxygenation, because of a reduction in alveolar-capillary oxygen gradient. Moreover, a reduced PaO_2 (i.e. a reduced quantity of blood transported oxygen), hinders oxygen transfer to peripheral tissues and so reduces oxygen extraction.¹ The reduction of available oxygen becomes more relevant during physical exercise, when metabolic requests increase markedly.

From a medical point of view, altitude is defined “high” when hypobaric hypoxia becomes relevant, inducing typical signs and symptoms described as “mountain sickness”. Pathophysiological effects of high altitude may become evident on a “continuum” basis, with their progressive appearance and increase in magnitude in parallel with increasing altitude. In some individuals they may become manifest already at 1500m, their intensity being proportional to altitude and hypoxia severity; however, ascent velocity, acclimatization time, intensity of physical exertion and genetic factors also play a role. It is thus difficult to precisely define the altitude at which pathophysiological response to hypoxia starts to interfere with cardiopulmonary performance. Available literature suggests a cut-off altitude of 2400-2500m (Table 1 and Figure 2); at that altitude PaO_2 is about 60mmHg. At extreme

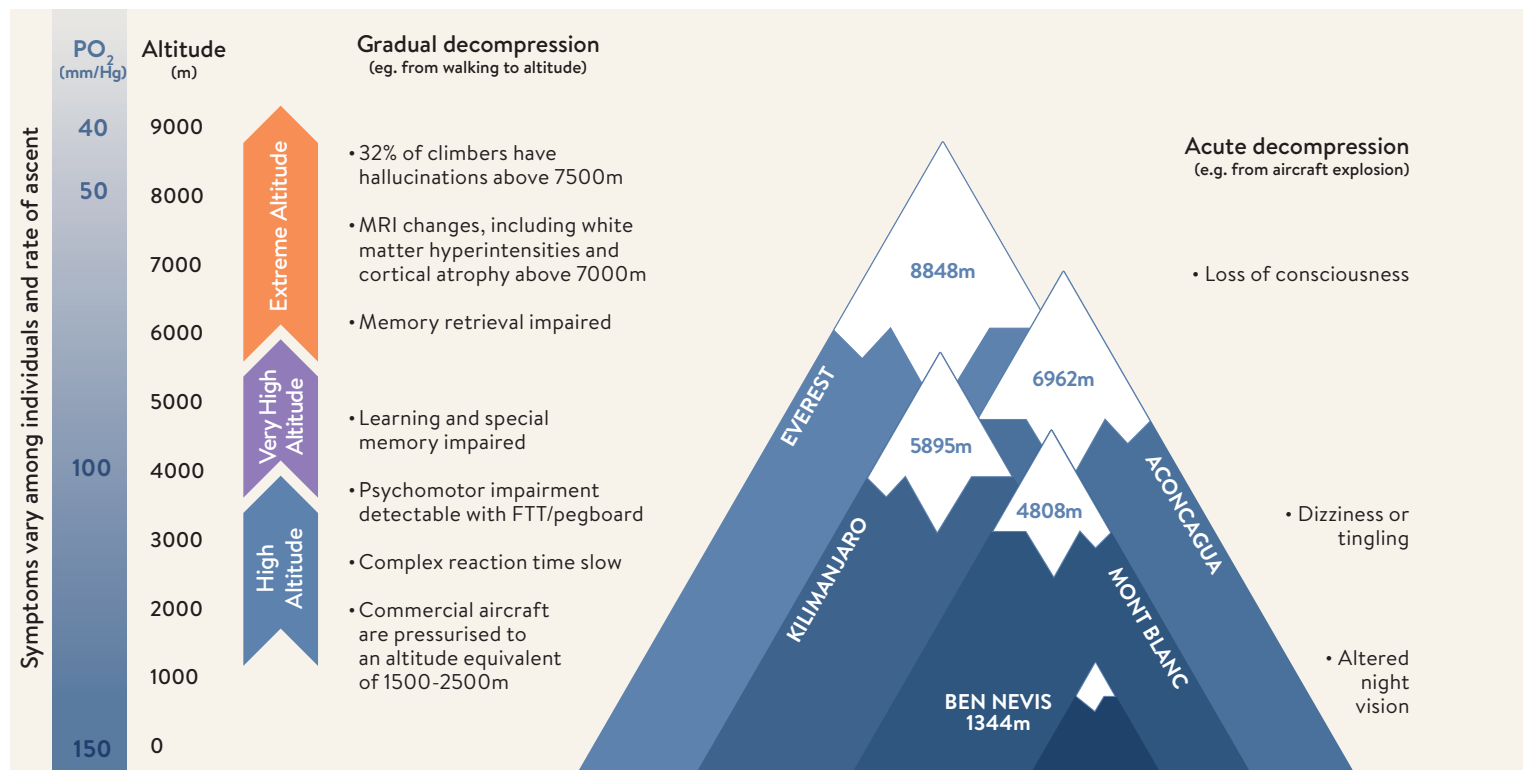
di circa 3,5 L/min soddisfa pienamente i fabbisogni metabolici di un individuo sano a riposo. In alta quota, per rifornire gli alveoli con la stessa quantità di ossigeno, la ventilazione deve aumentare per bilanciare due condizioni sfavorevoli: da una parte la ridotta quantità di ossigeno dell'aria atmosferica respirata, dall'altra la riduzione in termini assoluti della pressione parziale di ossigeno, che modifica proporzionalmente il passaggio alveolo capillare ed è proporzionale al gradiente delle pressioni parziali esistente tra questi due compartimenti. Inoltre, spostandoci a livello tissutale, una ridotta PaO_2 (quantità di ossigeno trasportato nel sangue arterioso) limita la cessione di ossigeno ai tessuti stessi, e quindi diminuisce per quantità di sangue la quota estratta di ossigeno.¹ Questa ridotta disponibilità dell'ossigeno diventa ancora più rilevante durante lo sforzo fisico, quando il fabbisogno dell'ossigeno aumenta notevolmente.

Nel contesto medico, “alta quota” viene solitamente definita come una quota al di sopra della quale diventano evidenti gli effetti della ridotta disponibilità dell'ossigeno nell'aria, inducendo la comparsa di una sintomatologia caratteristica nota come “mal di montagna”. Gli effetti fisiologici della quota hanno carattere continuo, in alcuni soggetti possono essere osservati già a partire da

Figure 2

Neurological symptoms at high altitude (modified from: Imray C et al., *Prog Cardiovasc Dis.* 2010³).

Sintomi neurologici in alta quota (modificata da: Imray C et al., *Prog Cardiovasc Dis.* 2010³).



altitudes, above 7500-8000m asl (the “death zone”), oxygen availability becomes too low to ensure long time survival, and acclimatization is impossible. On Mount Everest summit (8848m), atmospheric pressure is merely 253mmHg. Until 1978, when Messner and Habeler reached the top without supplemental oxygen, survival at such an altitude was considered impossible also over short periods of time. Above 8500m, physical and cognitive impairments become dramatic, and climbing at such an altitude has been described by an alpinist as something similar to a “sick men walking in a dream”.



circa 1.500m, e la loro entità è proporzionale all'altitudine ed al grado di ipossia; inoltre dipendono da altri fattori come la velocità di ascesa, il tempo di acclimatamento, l'intensità dell'attività fisica praticata ed il substrato genetico. Diventa pertanto difficile definire il livello esatto in corrispondenza del quale i cambiamenti fisiologici innescati dall'esposizione all'ipossia ipobarica iniziano ad influenzare la performance cardiopolmonare. Dalla letteratura si ritiene che questi effetti diventino rilevanti a partire da quote superiori a 2.400-2.500m (Tabella 1 e Figura 2); a tale altitudine la PaO_2 è pari a circa 60mmHg. A quote estreme, oltre i 7.500-8.000m s.l.m. (la cosiddetta “zona della morte”), la disponibilità dell'ossigeno diventa troppo bassa per poter sostenere la sopravvivenza per lunghi periodi, e l'acclimatazione risulta impossibile. Sulla cima del Monte Everest (8.848m) la pressione atmosferica è di solo 253mmHg; fino al 1978, data in cui Messner e Habeler raggiunsero la cima senza l'ausilio di ossigeno supplementare, si riteneva addirittura impossibile la sopravvivenza in tali condizioni ambientali, anche solo per brevissimi periodi. Oltre gli 8.500m, le prestazioni fisiche e mentali decadono drammaticamente e la progressione a queste quote estreme è stata descritta da un alpinista come quella di “un uomo malato che cammina in un sogno”.

LEFT

Early studies on low barometric pressure at high altitude, XIX century.

SINISTRA

Prime ricerche sulla pressione atmosferica ad alta quota, XIX secolo.

1. West JB. Respiratory Physiology: The Essential. *Williams Lippincott and Wilkins*, ED. 2012. 2. Gallagher SA, Hackett PH. High-altitude illness. *Emerg Med Clin North Am*. 2004 May;22(2):329-55, viii. 3. Imray C, Wright A, Subudhi A, Roach R. Acute mountain sickness: pathophysiology, prevention, and treatment. *Prog Cardiovasc Dis*. 2010 May-Jun;52(6):467-84.

PHYSIOLOGICAL REACTIONS TO HIGH ALTITUDE

During acute high altitude exposure, many physiological modifications develop in response to hypobaric hypoxia. The main challenge for a non-acclimatized body is related to the reduction in barometric pressure and the resulting proportional partial oxygen pressure decrease (hypobaric hypoxia). Thanks to the sigmoid shape of haemoglobin dissociation curve, up to 3000 meters of altitude only a minor reduction in blood oxygen saturation occurs (Figure 3). For example, at 2000m asl, partial alveolar oxygen pressure is reduced to 78mmHg (compared to 100mmHg at sea level), but haemoglobin oxygen saturation (SaO_2) is still about 90% (compared to 95-98% at sea level). This small difference, not perceivable at rest, may become relevant during moderate-to-intense physical activity. Above 3000m, progressive reduction in oxygen saturation makes physical exertion more difficult, reducing aerobic capacity compared to sea level (reduction in maximum oxygen consumption).¹ After a rapid ascent to 4300m, oxygen saturation of a non-acclimatized subject falls to 80%, with an arterial oxygen partial pressure (PaO_2) of approximately 40mmHg. With a further increase in altitude, partial oxygen pressure falls toward critical levels. Below 73% of oxygen saturation, haemoglobin dissociation curve becomes steeper and small reductions in PaO_2 lead to a marked fall in SaO_2 .^{2,3}

The efficacy of the acclimatization process, including the physiological responses developed to cope with hypoxic environmental conditions, depends on the acclimatization time course. Time needed for a complete acclimatization is determined by individual characteristics and reached altitude, and takes from hours to days. For example, any individual abruptly exposed to a barometric pressure corresponding to Mount Everest summit would lose consciousness within 2 minutes, but such an altitude is reachable with a gradual ascent.

The ultimate aim of acclimatization is to maintain an adequate oxygen supply to the body. Many mechanisms are involved, including increases in ventilation, cardiac output and haemoglobin concentration, as well as other metabolic modifications. Some of these responses arise immediately, others require hours to days to develop (Figure 4). The initial response to hypobaric hypoxia aimed to increase the

RISPOSTE FISILOGICHE ALL'ALTA QUOTA

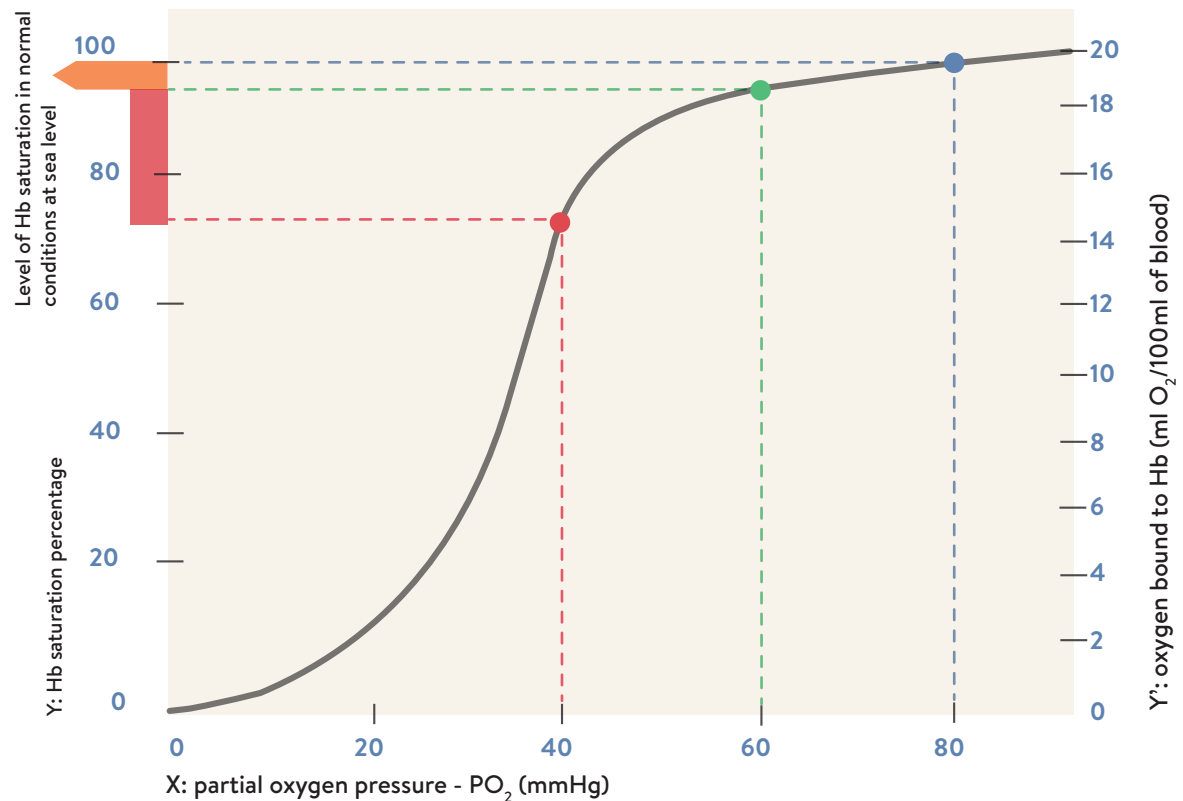
L'esposizione acuta all'alta quota induce una serie di alterazioni fisiologiche a breve e a lungo termine in risposta all'ipossia ipobarica. Il principale problema legato all'altitudine è rappresentato dalla riduzione della pressione parziale di ossigeno (ipossia) che si verifica proporzionalmente alla riduzione della pressione barometrica. Sino ad un'altitudine di circa 3.000m, la saturazione percentuale dell'emoglobina diminuisce di poco rispetto al livello del mare, grazie alla forma sigmoidale della curva di dissociazione dell'emoglobina (Figura 3). Ad una altitudine di 2.000m, ad esempio, la pressione alveolare dell'ossigeno è ridotta a 78mmHg rispetto ai 100mmHg a livello del mare, ma la saturazione percentuale dell'emoglobina è ancora del 90%, a fronte del 95-98% a livello del mare. Malgrado questa piccola differenza non sia percepibile in condizioni di riposo, può divenire di particolare rilevanza nel corso di attività fisica moderata-intensa. A quote più elevate (oltre i 3.000m), la progressiva riduzione della saturazione percentuale dell'emoglobina rende più faticoso il lavoro fisico, con riduzione della capacità aerobica rispetto al livello del mare (riduzione del massimo consumo di ossigeno).¹ In seguito ad una rapida ascesa ad una quota di 4.300m, in un soggetto non acclimatato, la SaO_2 scende a circa 80%, con una PaO_2 di circa 40mmHg.

Aumentando la quota raggiunta la pressione alveolare dell'ossigeno si riduce fino ad arrivare a livelli critici; al di sotto del 73% di saturazione la curva di dissociazione dell'emoglobina diventa molto più ripida e piccole variazioni nella pressione parziale determinano una pronunciata diminuzione nella saturazione.^{2,3} L'efficacia dei processi di acclimatazione, intesi come complesso di modificazioni finalizzate a controbilanciare le condizioni ambientali di ipossia, rendono conto delle tempistiche di esposizione; per adattarsi, l'organismo richiede, in modo diverso da soggetto a soggetto e a seconda della quota raggiunta, un tempo variabile in termini di ore o giorni. Ad esempio: un individuo esposto in acuto ad una pressione barometrica pari a quella presente in vetta all'Everest perderebbe conoscenza nel giro di 2 minuti, ma tale quota è raggiungibile con tappe intermedie e progressive. L'acclimatazione è mediata da meccanismi atti a sostenere la distribuzione dell'ossigeno nell'organismo quali per esempio: aumento

Figure 3

Oxygen - haemoglobin dissociation curve (modified from Gallagher-Hackett, 2001).

Curva di dissociazione dell'emoglobina (modificata da Gallagher-Hackett, 2001).



partial pressure of alveolar oxygen, involves the activation of breathing regulation centre, leading to an increase in respiratory rate and tidal volume. This depends on hypoxia-mediated activation of carotid and aortic peripheral chemoreceptors in carotid and aortic bodies, able to detect PaO_2 changes and to respond through afferent neural influences sent to respiratory nuclei in brain stem. The resulting hyperventilation is particularly evident when PaO_2 falls below 60mmHg.

In healthy subjects living at sea level, ventilation at rest increases by approximately 33% during the first days of exposure to 3110m altitude. Maximum ventilation increase is seen at 7000-7500m, where barometric pressure is about 300-280mmHg. At this altitude, alveolar PO_2 is 28-30mmHg and arterial PO_2 is 25-27mmHg. At higher altitudes it is no longer possible to compensate hypoxia with an increase in ventilation, because of the low alveolar-capillary oxygen gradient: pulmonary ventilation decreases, often accompanied by abnormalities in breathing rhythm, rate and amplitude.⁴ During a prolonged high altitude permanence (weeks), the sensitivity of peripheral chemoreceptors to hypoxic stimulus slowly increases, leading to "hypoxic ventilatory acclimatization", defined by a gradual increase in ventilation, despite the continuous increase in blood O_2 content,

della ventilazione, della portata cardiaca, della concentrazione dell'emoglobina ed altre modificazioni metaboliche; alcuni di questi meccanismi sono immediati, altri richiedono ore o giorni per esplicare la loro funzione (Figura 4).

Il primo meccanismo di adattamento messo in atto per aumentare la quantità di ossigeno a livello alveolare in risposta ad una minore pressione parziale del gas dell'aria atmosferica è rappresentato dalla stimolazione del centro del respiro, con un incremento della frequenza respiratoria e del volume respiratorio corrente; tale stimolo è mediato da chemocettori periferici, situati nel glomo carotideo ed aortico, in grado di percepire la riduzione di PaO_2 , determinando la comparsa di afferenze ai nuclei respiratori del tronco encefalico con l'effetto di indurre iperventilazione (lo stimolo all'iperventilazione si verifica maggiormente quando la pressione PaO_2 raggiunge valori inferiori a 60mmHg). La ventilazione a riposo in soggetti sani residenti normalmente a livello del mare, nei primi giorni di esposizione a 3.110m, aumenta di circa il 33%; il massimo aumento della ventilazione si raggiunge a quote di 7.000-7.500m, ove la pressione barometrica è di 300-280mmHg. A questa quota, la PO_2 alveolare è 28-30mmHg e quella del sangue arterioso è 25-27mmHg. Oltre tale quota, a causa della differenza alveolo-

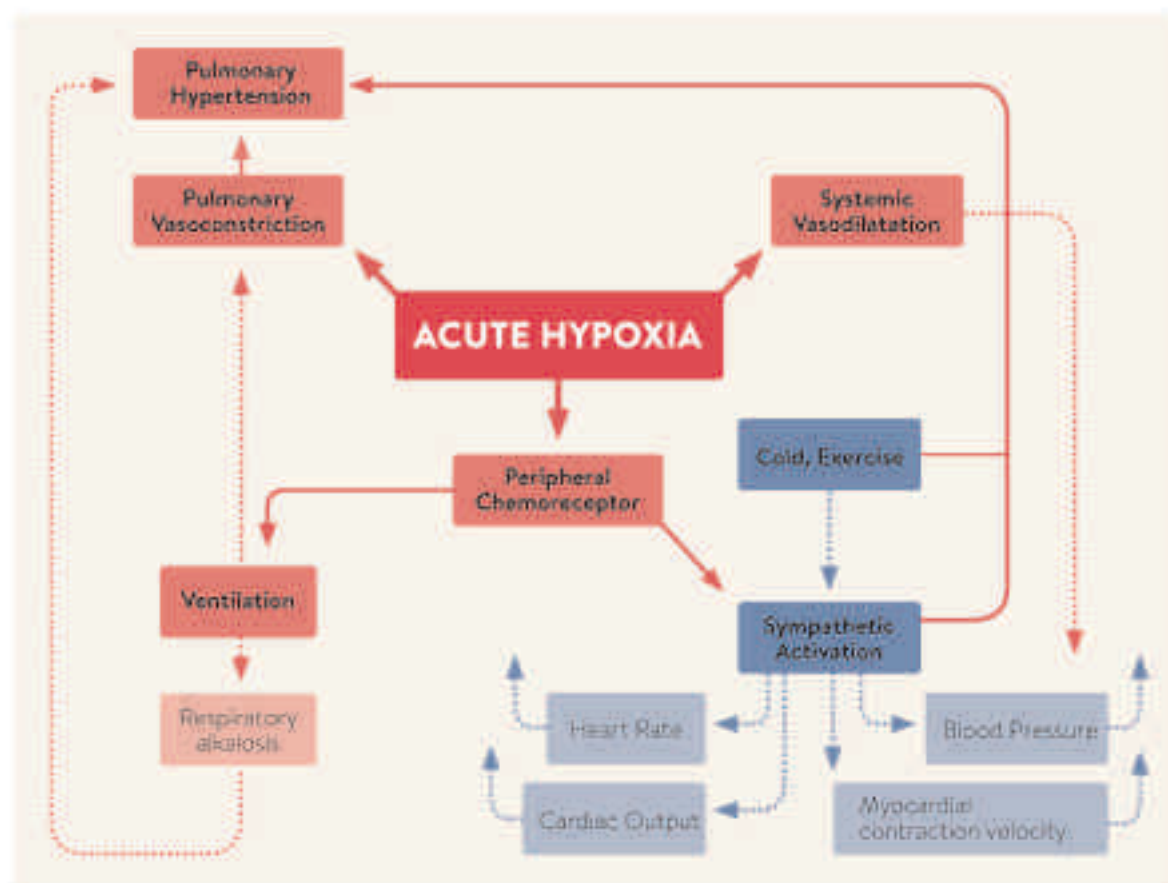


Figure 4

Effects of hypoxia on systemic and pulmonary circulation (modified from: Barcroft P. *et al. Circulation*, 2007²⁵).

Principal alterations accompanying acclimatization to high altitude (modified from: Barcroft P. *et al. Circulation*, 2007²⁵).

owing to other adaptive mechanisms (i.e. in spite of a reduction in the hypoxic stimulus).³ Within few minutes of high altitude exposure a marked increase in pulmonary vascular resistances occurs (from 50% to 300% compared to baseline) as a result of hypoxic pulmonary vasoconstriction, known as Euler-Liljestrand reflex, taking its name from Von Euler e Liljestrand, who first described it in 1946.⁶ It is triggered by zone hypoxia (e.g. in case of atelectasis), and improves ventilation-perfusion matching, reducing the amount of perfused dead space. Hypoxic vasoconstriction is a direct consequence of smooth lung muscle cells depolarization. It involves oxygen-sensitive potassium channel closure, and the consequent opening of calcium channels, leading to intracellular calcium increase. When the whole lung is hypoxic, this reflex becomes maladaptive, because it determines a generalized increase in pulmonary vascular resistance and pulmonary artery pressure. An increase in pulmonary pressure has been observed in subjects acutely exposed to high altitude, in Andean populations and, to a lesser extent, also in Tibetans living at altitude for generations.⁷

Hypoxia induced pulmonary hypertension is usually moderate, with mean pulmonary pressure of about 25mmHg, but with a considerable

capillare di ossigeno, non è possibile mettere in atto ulteriori meccanismi di adattamento di tipo ventilatorio tali da permettere una risposta in termini di acclimatazione, la ventilazione polmonare diminuisce più o meno rapidamente e, nel contempo, si possono registrare irregolarità nel ritmo, nell'ampiezza e nella frequenza del respiro.⁸

Durante un soggiorno di lunga durata in quota (settimane), la sensibilità globale all'ossigeno di questo pathway aumenta gradualmente, comportando lo sviluppo di un fenomeno denominato "acclimatazione ventilatorio ipossico", definito come l'aumento graduale della ventilazione nonostante l'incremento continuo del contenuto arterioso di ossigeno ad opera di altri meccanismi di compenso (ovvero nonostante una riduzione dello stimolo ipossico).⁵ L'esposizione all'alta quota determina, entro pochi minuti dall'esposizione all'ipossia, un fenomeno di vasocostrizione ipossica polmonare responsabile di un incremento delle resistenze vascolari polmonari, che possono aumentare dal 50 al 300% rispetto alla condizione iniziale. La vasocostrizione ipossica, descritta da Von Euler e Liljestrand nel 1946⁶ e denominata pertanto riflesso di Euler-Liljestrand, si

interindividual variability. In particular, a greater increase has been observed in patients susceptible to high altitude pulmonary oedema.⁸ Anatomic changes in pulmonary artery wall may be observed during a prolonged exposure to hypoxia, with an increase in the muscular layer and the fibrous tissue that, sometimes, may become irreversible. For example, post-mortem study of Andean subjects living above 4500m revealed hypertrophic right ventricles and thicker muscular layer in distal branches of the pulmonary artery. These findings suggest that structural vascular and cardiac changes occur in response to chronic high altitude exposure and the consequent persistent pulmonary arterial pressure (PAP) increase.⁹ Moreover, alterations in respiratory mechanics, probably consequent to the lower air density, arise with increase in peak expiratory flow and decrease in airways resistances. Many studies suggest a reduction in forced vital capacity and of tidal volume, possibly due to low air density but also to pulmonary overflow, interstitial oedema and to hyperventilation induced muscular fatigue.^{10,11}

Cardiovascular system as a whole plays an important role in acclimatization to acute hypoxia. In fact, since oxygen transport is the product of arterial oxygen concentration and cardiac output, the increase in the latter represents a fast compensatory mechanism. During acute exposure, cardiac output increases along with the increase in ventilation, proportionally to blood oxygen content reduction in order to maintain the product constant (i.e. total oxygen peripheral delivery),

verifica in risposta ad una ipossia zonale (ad es. atelettasia), è funzionale ad un alterato rapporto tra ventilazione e perfusione, ed è destinata a limitare in tal modo la quota di spazio morto perfusa. La vasocostrizione polmonare ipossica è secondaria alla depolarizzazione delle cellule muscolari lisce delle arterie polmonari, per inibizione dei canali del potassio ossigeno-sensibili deputati all'attivazione di canali per il calcio, con conseguente ingresso di ioni calcio nella cellula. Quando è l'intero polmone a trovarsi in ipossia, la vasocostrizione diviene "globale" e quindi non rappresenta più un vantaggio, bensì un fenomeno sfavorevole, in quanto determina in toto un aumento delle resistenze vascolari polmonari e della pressione arteriosa polmonare. Un aumento della pressione polmonare è stato osservato sia in soggetti esposti acutamente alla quota, sia nelle popolazioni andine residenti in modo permanente a quote elevate, sia, seppure in misura inferiore, in soggetti tibetani residenti in alta quota da generazioni.⁷

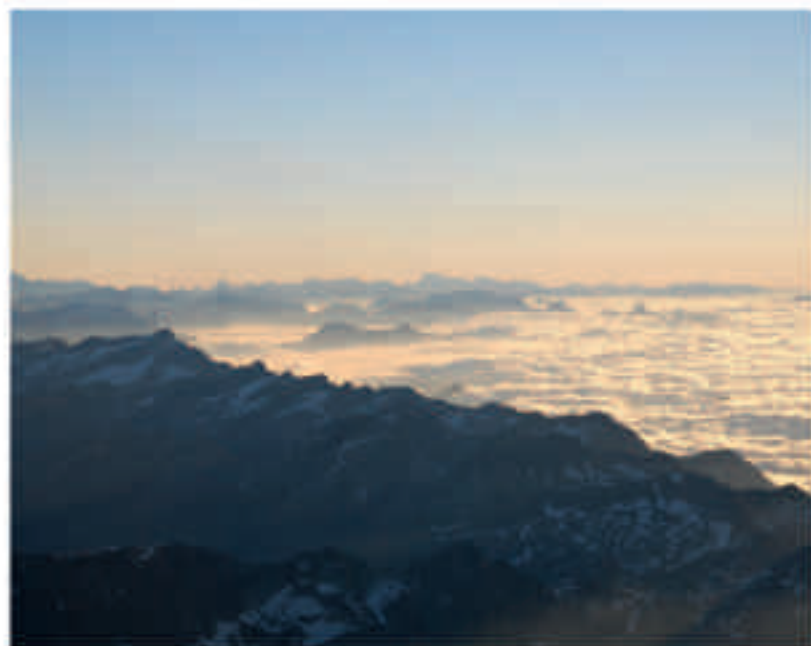
L'ipertensione polmonare derivante da questo fenomeno è moderata con pressioni arteriose polmonari medie intorno ai 25mmHg, ma esiste una notevole variabilità soggettiva; è stato osservato che nei soggetti suscettibili all'edema polmonare da alta quota, l'aumento è di molto superiore.³ Durante un'esposizione prolungata ad ambiente ipossico si possono osservare vere e proprie modificazioni anatomiche a livello delle arterie polmonari, con aumento dello strato muscolare e del tessuto fibroso delle pareti che, talvolta, possono evolvere in forme non reversibili. Ad esempio, all'esame autoptico di soggetti andini residenti oltre i 4.500m si osserva un maggiore grado di muscolarizzazione delle branche dell'arteria polmonare distale ed un'ipertrofia ventricolare destra. Queste osservazioni suggeriscono che l'aumento della Pressione Arteriosa Polmonare (PAP) sia persistente in esposizione cronica prolungata e tale da determinare alterazioni a livello strutturale, allo scopo di sostenere un aumento del carico di lavoro e per garantire un adattamento a queste condizioni ambientali.⁵ A livello polmonare, inoltre, si osservano modificazioni nella meccanica respiratoria che, verosimilmente, riflettono una ridotta densità dell'aria; il piccolo respiratorio aumenta e le resistenze delle vie aeree sono ridotte. Molti studi, inoltre, riportano una riduzione della capacità vitale forzata e del volume corrente. Tali meccanismi sarebbero attribuibili

BELOW

South-East view from the terrace of Queen Margherita Hut.

SOTTO

View south-east from the terrace of the Capanna Regina Margherita.



both during exercise and rest. The increase in cardiac output during acute exposure is mainly due to an increase in heart rate to compensate a reduction in stroke volume. With acclimatization heart rate decreases, both at rest and during exercise, in parallel with a reduction in left ventricle work and an increase in right ventricle work.¹²

Increase in heart rate is a consequence of sympathetic activation and reduction in vagal cardiac modulation. For a given exercise level, heart rate is always greater at altitude, even if heart rate is not reachable during a maximal exercise is lower at altitude than at sea level.^{13,14} A 10 to 30% increase in resting heart rate has been observed above 4300m, while a 22% cardiac output increase has been observed in laboratory simulated hypoxia (at 12% inspired O₂ fraction). This increase appeared to be fully attributable to an 18% heart rate increase with stroke volume remaining unchanged.

As mentioned previously, during prolonged high altitude exposures, maximum cardiac output decreases and maximum oxygen consumption remains reduced. In 1967 Alexander *et al.* reported that, compared with sea level, ejection volume and cardiac output decreased by 15% to 20% after a 5-days exposure to 2380m, by 16% after a 10-days exposure to 3100m and by 25% after a 21-days exposure to 4300m. This probably depends on long term changes in autonomic system function, through β -adrenergic pathway desensitization and muscarinic pathway upregulation, mechanisms aimed at reducing myocardial O₂ consumption.

Left ventricular work decrease is associated with stroke volume decrease, and is also related with the reduction of left ventricle size and filling pressure. This phenomenon is partly due to the reduction in plasma volume typically occurring at altitude (more than 20% during the first week at 3800-4500m). Plasma volume reduction is initially mediated by chemoreceptors, increased atrial natriuretic peptide production and suppressed aldosterone synthesis (resulting in increased diuresis) and, later, by fluid shift from extracellular toward intracellular compartment.¹⁵

Chronic right ventricle pressure overload, associated with hypoxic pulmonary hypertension, may also be responsible for the left ventricular stroke volume reduction. This is because right ventricular volume increases in response to increased pulmonary resistances;

non solo alla ridotta densità dell'aria, ma anche allo sviluppo di edema interstiziale da iperafflusso polmonare e ad un affaticamento della muscolatura respiratoria in condizioni di iperventilazione ed ipossiemia.^{10,11}

Nelle risposte in fase acuta all'esposizione all'alta quota è coinvolto, ovviamente, anche il sistema cardiocircolatorio; poiché il trasporto di ossigeno è il prodotto della concentrazione arteriosa dello stesso e dell'*output* cardiaco, quest'ultimo parametro rappresenta un fisiologico e rapido meccanismo di compenso. In esposizione acuta, parallelamente all'aumento nella ventilazione si osserva un aumento della gittata cardiaca. Sia in condizioni di riposo che sotto esercizio, infatti, la gittata aumenta in modo direttamente proporzionale alla riduzione del contenuto arterioso di ossigeno, e tale per cui il prodotto di entrambi i fattori (e quindi l'apporto tissutale di ossigeno) rimanga invariato. L'incremento della gittata cardiaca in esposizione acuta è imputabile essenzialmente ad un aumento della frequenza cardiaca a fronte di una riduzione della gittata pulsatoria. Con l'acclimatazione, si osserva una riduzione della gittata cardiaca sia a riposo che durante l'esercizio, parallelamente ad una diminuzione del lavoro ventricolare sinistro e ad un aumento del lavoro ventricolare destro.¹²

L'incremento della frequenza cardiaca è correlabile ad un aumento dell'attività del sistema nervoso simpatico e ad una diminuzione del tono vagale. Per un dato livello di esercizio, la frequenza cardiaca è sempre maggiore in quota, anche se la frequenza cardiaca massima raggiungibile con carico di lavoro massimale è ridotta rispetto al livello del mare.^{13,14}

Al di sopra di 4.300m, in esposizione acuta, sono stati documentati incrementi della frequenza cardiaca a riposo compresi tra il 10 ed il 30%; mentre in esperimenti in ipossia simulata in soggetti esposti ad una frazione inspiratoria di ossigeno pari al 12%, l'*output* cardiaco incrementa del 22% e ciò è interamente attribuibile ad un aumento del 18% della frequenza cardiaca in assenza di modificazioni della gittata pulsatoria. Nel corso di esposizioni prolungate in quota, come precedentemente anticipato, la gittata cardiaca massima diminuisce e la massima stima di consumo di ossigeno rimane ridotta. Per esempio, in uno studio di Alexander del 1967, si è osservato come il volume di eiezione e la gittata cardiaca dopo 5 giorni a 2.380m si riducano dal 15 al 20% rispetto al livello del mare, dopo 10 giorni a 3.100m del 16% e, infine, dopo 21 giorni a 4.300m diminuiscano



ABOVE
Peruvian Andes view
from the Carretera
Central PE-22.

SOPRA
Le Ande peruviane
lungo la Carretera
Central PE-22.



this in turn leads to an increase in intrapericardial pressure, which limits left atrial and ventricular filling. Moreover, pulmonary hypertension determines a deviation of interventricular septum toward the left ventricle, with a geometry alteration contributing to impaired filling. In pathological conditions characterized by pulmonary hypertension, this may cause left ventricle diastolic dysfunction, whilst during acute high altitude exposure this is prevented by increased atrial contraction.

The role of pulmonary hypertension was hypothesized in determining the impaired altitude exercise tolerance, through a reduction in maximal cardiac output. In a study by Ghofrani *et al*,¹⁶ after sildenafil administration (a 5-phosphodiesterase inhibitor which induces pulmonary vasodilation and increase in blood flow), a reduction in vascular pulmonary resistances and in pulmonary pressure, along with an increase in maximal cardiac output and workload were observed, both in healthy subjects acutely exposed to simulated hypobaric hypoxia at sea level, and in healthy subjects acclimatized to hypobaric hypoxia at Mount Everest base camp. During high altitude exposure, systemic blood pressure responses are variable as a result of the direct effect of hypoxia on blood vessels and the indirect

del 25%. Tale meccanismo, verosimilmente, può essere attribuibile a modificazioni a lungo termine a carico del sistema nervoso autonomo, per desensibilizzazione del *pathway* β -adrenergico e ad una *up-regulation* del *pathway* muscarinico, meccanismi atti a limitare il consumo di ossigeno da parte del miocardio.

La diminuzione del lavoro ventricolare sinistro e, quindi, il ridotto volume di eiezione, sono correlabili anche ad una riduzione delle dimensioni del ventricolo stesso e della pressione di riempimento; tale fenomeno, in parte, può essere conseguenza della riduzione del volume plasmatico che, nella prima settimana, diminuisce di oltre il 20% a quote di 3.800-4.500m. L'iniziale riduzione del volume plasmatico è mediata da chemorecettori, dall'aumento del rilascio di peptidi natriuretici atriali e dalla diminuzione della sintesi di aldosterone (fenomeni che determinano un aumento della diuresi), mentre, nelle fasi successive, la riduzione del volume plasmatico si verifica senza una perdita netta di massa d'acqua, a causa del passaggio dei fluidi dal comparto extracellulare a quello intracellulare.¹⁵

Anche un cronico sovraccarico di pressione nel ventricolo destro, in presenza di ipertensione polmonare ipossica, può essere responsabile della riduzione del volume di eiezione ventricolare sinistro. Quando il ventricolo destro si dilata in risposta ad un aumento della resistenza vascolare polmonare, il volume diastolico ventricolare sinistro si riduce a causa del vincolo costituito dal pericardio che ne modula i volumi, limitandone la dilatazione. L'ipertensione polmonare, inoltre, causa una deviazione del setto interventricolare verso il ventricolo sinistro, che ne altera la geometria e ne ritarda il riempimento. Nelle forme patologiche di ipertensione polmonare, questo meccanismo può causare una disfunzione diastolica del ventricolo sinistro, mentre durante un'esposizione acuta all'ipossia la disfunzione diastolica è controbilanciata da una maggiore contrazione atriale.

L'ipotesi di un ruolo dell'ipertensione polmonare alla base di una ridotta tolleranza all'esercizio in quota, correlata ad una riduzione della gittata cardiaca massimale, è supportata da uno studio di Ghofrani *et al*¹⁶. Dopo somministrazione di sildenafil (farmaco inibitore della 5-fosfodiesterasi che determina una vasodilatazione con aumento dell'afflusso ematico), si sono verificati una riduzione delle

chemoreceptor-mediated effects. Hypoxia per se exerts a direct vasodilating effect; this effect is the expression of local regulation mechanisms aimed at assuring adequate oxygen supply to peripheral tissues and involves ATP release from red blood cells, HIF-1 (hypoxia inducible factor-1) production and NO generation. On the other hand, the hypoxia-induced increase in sympathetic activity (through peripheral chemoreflex activation) leads to peripheral vasoconstriction and consequently to a blood pressure increase.

These mechanisms may be partly inhibited after long high altitude permanence, when blood oxygen increases through ventilatory acclimatization and through haematocrit increase, due to erythropoiesis and reduction in plasma volume. This may explain lower blood pressure (BP) value detected in highlanders than in lowlanders exposed to hypoxia.¹⁷

As far as acid-base balance is concerned, hyperventilatory response induces a reduction in carbon dioxide (CO₂) partial pressure (due to increased alveolar-capillary gradient and greater body CO₂ clearance with ensuing hypocapnia) leading to respiratory alkalosis and left shift of the oxygen-haemoglobin dissociation curve, favouring oxygen binding to haemoglobin in the lungs. Within few hours of high altitude exposure, 2,3-diphosphoglycerate level increases in red blood cells, shifting the dissociation curve to the right. This



resistenze vascolari polmonari, una riduzione dei valori di pressione polmonare, ed un aumento dell'output cardiaco massimale e del workload, sia in soggetti sani esposti acutamente ad ipossia ipobarica simulata a livello del mare, sia in soggetti sani acclimatati ad ipossia ipobarica prolungata al Campo Base del Monte Everest. In quota, la pressione arteriosa sistemica subisce delle variazioni contrastanti, come risultato dell'effetto sinergico tra l'azione diretta dell'ipossia sui vasi sanguigni e la risposta sulla circolazione sistemica e polmonare mediata dai chemorecettori. L'ipossia di per sé ha un'azione vasodilatatrice; alla base di tale meccanismo è verosimile ipotizzare una regolazione locale del trasporto di ossigeno secondo le necessità dei tessuti, il rilascio di ATP dai globuli rossi, la liberazione di HIF-1 (hypoxia inducible factor 1) e la generazione di NO, prodotto da diversi sistemi. Di contro, l'aumento dell'attività del sistema simpatico, anch'esso indotto dall'ipossia, determina vasocostrizione periferica con aumento della pressione arteriosa.

Questi meccanismi potrebbero parzialmente deattivarsi dopo una prolungata permanenza in alta quota, quando il contenuto di ossigeno del sangue aumenta in risposta ad una acclimatazione respiratoria ed all'incremento dell'ematocrito associato ad eritropoiesi ed alla riduzione del volume plasmatico; tale fenomeno spiegherebbe anche il rilievo di valori pressori più bassi nelle popolazioni normalmente residenti alle alte quote rispetto a soggetti residenti a livello del mare quando esposti ad ipossia.¹⁷

Dal punto di vista delle alterazioni a carico dell'equilibrio acido-base, la risposta iperventilatoria induce una riduzione della pressione parziale di anidride carbonica (per aumento del gradiente di pressione alveolo-capillare e maggior eliminazione di CO₂ dall'organismo, e conseguente ipocapnia), con sviluppo di alcalosi respiratoria e spostamento della curva di dissociazione ossigeno-emoglobina verso sinistra, facilitando quindi il legame dell'ossigeno all'emoglobina a livello polmonare. A distanza di poche ore dall'arrivo in quota si verifica in parallelo un aumento dei livelli di 2,3-difosfoglicerato (proveniente dai globuli rossi) con spostamento della curva di dissociazione nuovamente verso destra: tale condizione favorisce il rilascio di ossigeno a muscoli e tessuti periferici ma, di contro, diminuisce l'affinità a livello polmonare tra emoglobina ed ossigeno (Figura 3).¹⁸ Il pH ematico può essere descritto nei



LEFT

Ascent to Queen Margherita Hut.

ABOVE

Trekking to Mt. Everest South Base Camp.

SINISTRA

Salita alla Capanna Margherita.

SOPRA

Trekking verso il Campo Base Sud del Monte Everest.



effect favours oxygen release to muscles and peripheral tissues but reduces oxygen-haemoglobin affinity in the lungs (Figure 3).¹⁸

Blood pH can be described as the ratio between bicarbonate and carbon dioxide concentrations, normally about 20:1. Hyperventilation-induced hypocapnia persists over the entire altitude exposure, altering this ratio and determining respiratory alkalosis. In case of long high altitude stay, the latter is compensated through an increase in renal bicarbonate elimination, restoring a normal $\text{HCO}_3^-/\text{CO}_2$ ratio. Reduction in bicarbonates implies an impaired blood buffering capacity that during exertion may cause a pH increase because of lactic acid accumulation. However, despite

termini del rapporto tra concentrazione dello ione bicarbonato (HCO_3^-) e di anidride carbonica (CO_2); tale rapporto è normalmente pari a 20:1. L'ipocapnia risultante dall'iperventilazione si mantiene per tutto il tempo di esposizione all'alta quota, alterando questo rapporto e determinando alcalosi respiratoria. Quest'ultima viene compensata durante l'esposizione prolungata tramite un incremento dell'eliminazione renale di bicarbonato con le urine, con conseguente ripristino del normale rapporto $\text{HCO}_3^-/\text{CO}_2$. La riduzione dei bicarbonati si riflette in una ridotta capacità tampone del sangue che, durante lo sforzo, potrebbe causare una maggiore deviazione del pH verso l'acidosi per via dell'accumulo dei lattati. Tuttavia, nonostante

reduced oxygen availability, this does not occur, because lactic acid tends to remain low (despite a fully functional anaerobic pathway). This phenomenon is known as “the lactate paradox”, wherein hypoxia and a relative incapacity of lactic acid production coexist. Its mechanism is not yet clear.^{19,20}

During the pH modulation phase, respiratory pattern is usually altered: hypoxia induced hyperventilation leads to a reduction in CO₂ partial pressure but, if this effect is excessive, the resultant alkalosis inhibits respiratory activity. Slower and shallower breathing (hypopnoea) or apnoea follows, with an increase in CO₂, pH reduction and consequent new respiratory stimulus for hyperventilation. This alternating opposite stimuli lead in many subjects to the development of “periodic breathing”, characterized by hyperventilation-hypoventilation/apnoea cycles. This phenomenon is particularly evident during sleep (when respiratory pattern is per se irregular).

During prolonged hypoxia exposure, haematocrit increases, initially because of fluid loss and later also from a true increase in red cell number. It has been demonstrated that erythropoietic stimulus is proportional to reached altitude up to 6500m. At this altitude, maximal erythrocyte counts are observed, in acclimatized subjects reaching even 7000000/mcL.²¹ Hypoxia stimulates bone marrow erythrocyte production mediated by a renal hormone called erythropoietin, within 15 hours from the start of the exposure.²² This condition persists over the entire altitude exposure, disappearing only after return to sea level (haematocrit increase persists for another 2-4 weeks). After one week at 2300m an 8% reduction in plasmatic mass is observed, along with a 4% increase in haematocrit and a 10% increase in haemoglobin. After one week at 4300m, plasmatic mass reduction reaches 16-25%, along with a 6% increase in haematocrit and a 20% increase in haemoglobin. Data from Everest expedition in 1973 show a 40% increase in haemoglobin concentration and a 66% increase in haematocrit after acclimatization.²³ These changes are due to a hypoxia- induced modulation of hepcidin, as shown in the frame of our HIGHCARE HIMALAYA study (Piperno *et al.* Blood, 2011).

Many studies evaluated the effects of high altitude acclimatization on glucose metabolism, mainly regulated by sympathetic-adrenal system and hypothalamus-hypophysis-adrenal axis. Both

una ridotta disponibilità dell’ossigeno, questo non avviene in quanto i livelli di lattato durante lo sforzo tendono a rimanere bassi, sebbene la via glicolitica anaerobica sia perfettamente funzionante. Tale fenomeno è noto come il “paradosso del lattato” in quanto coesistono una condizione di ipossia e di relativa incapacità alla produzione di acido lattico; il suo meccanismo non è tuttora chiaro.^{19,20}

L’equilibrio respiratorio nella fase di assestamento del pH è piuttosto perturbato: l’ipossia induce iperventilazione con riduzione della pressione parziale di CO₂ ma, se questo meccanismo è troppo marcato, l’alcalosi risultante inibisce l’attività respiratoria. Il soggetto allora smette/riduce la respirazione, con accumulo di anidride carbonica e conseguente nuovo stimolo all’iperventilazione indotta dalla riduzione del pH. Questa alternanza di stimoli opposti provoca in molti soggetti il cosiddetto “respiro periodico”, costituito da fasi di iperventilazione che si succedono a fasi di ipoventilazione e, a volte, di apnea. Tale fenomeno è particolarmente evidente nel sonno (fase nella quale, già di per sé, l’attività respiratoria è piuttosto irregolare).

Nelle fasi prolungate di esposizione ad ipossia si osserva un aumento dell’ematocrito, risultante inizialmente soprattutto dalla perdita di fluidi, e successivamente anche da un aumento dei globuli rossi circolanti. È riportato in letteratura che lo stimolo dell’eritropoiesi è proporzionale alla quota raggiunta fino ad almeno 6.500m, altezza alla quale si riscontrano i massimi valori di eritrociti che, nei soggetti acclimatati, possono superare i 7 milioni/mcL.²¹ L’ipossia stimola la produzione di eritrociti da parte del midollo osseo, mediata dall’ormone eritropoietina prodotto a livello renale entro 15 ore dall’esposizione allo stimolo ipossico;²² al permanere in alta quota permane questa condizione, che si risolve solo al rientro a quote più basse (le modificazioni a carico dell’ematocrito scompaiono del tutto dopo 2-4 settimane dal ritorno a bassa quota). Dopo una settimana a 2.300m si verifica una riduzione dell’8% della massa plasmatica, un aumento dell’ematocrito del 4% ed un aumento del 10% dell’emoglobina. Dopo una settimana a 4.300m la riduzione del volume plasmatico sale al 16-25% con un aumento del 6% dell’ematocrito e del 20% dell’emoglobina. I dati sulla spedizione Everest del 1973 mostrano come dopo acclimatazione a 6.500m la concentrazione di emoglobina aumentava del 40% e l’ematocrito del 66%.²³

catecholamines and cortisol stimulate glucose release from liver and inhibit glucose intake by muscles, leading to an increase in blood glucose (catecholamine act more rapidly than cortisol). It has been demonstrated that after merely 2 days at 4550m glucose intolerance may develop, both in men and women, probably related to plasmatic cortisol increase. High altitude studies have shown that glucose homeostasis is influenced by hypoxia and acclimatization level. In fact, blood glucose remains unchanged over the first few hours, then increases after a few days of high altitude exposure, and finally returns to sea level values after acclimatization. This finding is probably due to plasmatic concentration of insulin, which increases during acute exposure and returns to baseline after 15-20 days of high altitude permanence.²⁴

Tali modificazioni sono attribuibili ad alterazioni a carico dell'epididima indotte dall'ipossia, come dimostrato dai risultati dello studio HIGHCARE HIMALAYA (Piperno *et al*, Blood, 2011). Numerosi studi riportano un effetto dell'acclimatamento in alta quota anche sul metabolismo glucidico, soggetto al controllo principalmente di due sistemi neurormonali: il sistema simpatico-surrenalico e l'asse ipotalamo-ipofisi-surrene. Sia le catecholamine che il cortisolo, attraverso l'aumentata fuoriuscita di glucosio dal fegato e la diminuita entrata di glucosio nel muscolo, innalzano la concentrazione glicemica nel sangue, ove l'azione delle catecholamine, principalmente dell'adrenalina, è più veloce di quella del cortisolo. È stato evidenziato che un soggiorno di anche solo 2 giorni a 4.550m induce una marcata intolleranza al glucosio, sia nei soggetti di sesso maschile che femminile, e ciò è probabilmente riconducibile all'aumento del cortisolo plasmatico. Gli studi eseguiti in alta quota hanno mostrato che l'omeostasi del glucosio è influenzata dall'ipossia e dal grado di acclimatazione del soggetto. In risposta all'ipossia acuta la concentrazione plasmatica di glucosio a digiuno non cambia nelle prime ore, ma aumenta dopo alcuni giorni; dopo acclimatamento, nuovamente, la glicemia a digiuno è comparabile a quella rilevata a livello del mare. Tale dato è collegabile alla concentrazione plasmatica di insulina, che aumenta durante l'esposizione acuta e si normalizza solamente dopo 15-20 giorni di soggiorno in alta quota.²⁴

1. Cerretelli P. Gas exchange at high altitude. In: West JB ed. *Pulmonary gas exchange. Volume II: oxygen and environment*. Academic Press NY pp97-147.
2. Adams WC, Bernauer EM, Dill DB, Bomar JB Jr. Effects of equivalent sea-level and altitude training on VO₂ max and running performance. *J Appl Physiol* 1975 Aug;39(2):262-6.
3. Taino G, Giardini G, Pecchio O, Brevi M, Giorgi M, Verardo MG, Detragiaches E, Imbriani M. Work at high altitude: concepts of physiopathology, risk factors, health surveillance and criteria for the development of work capacity evaluation criteria. *G Ital Med Lav Ergon*. 2012 Apr-Jun;34(2):101-40.
4. Basu CK, Selvamurthy W, Bhaurmick G, Gautam RK, Sawhney RC. Respiratory Changes during Initial Days of Acclimatization to Increasing Altitudes. *Aviation, Space, and Environmental Medicine* 67, no. 1 (January 1996): 40-45.
5. Weil JV, Stevens T, Pickett CK, Tatsumi K, Dickinson MG, Jacoby CR, Rodman DM. Strain-Associated Differences in Hypoxic Chemosensitivity of the Carotid Body in Rats. *The American Journal of Physiology* 1998 May;274(5 Pt 1):L767-74.
6. Von Euler US, Liljestrand G. Observations on the pulmonary arterial blood pressure in the cat. *Acta. Physiol. Scand.* 1946;12:301-320.
7. Beall CM, Andean, Tibetan, and Ethiopian Patterns of Adaptation to High-Altitude Hypoxia. *Integr Comp Biol*. 2006 Feb;46(1):18-24.
8. Penalzoza D, Arias-Stella J. The Heart and Pulmonary Circulation at High Altitudes: Healthy Highlanders and Chronic Mountain Sickness. *Circulation* 115, n. 9 (6 marzo 2007): 1132-46.
9. León-Velarde F, Sanchez J, Bigard AX, Brunet A, Lesty C, Monge C. High altitude tissue adaptation in Andean coots: capillarity, fibre area, fibre type and enzymatic activities of skeletal muscle. *J Comp Physiol B*. 1993;163(1):52-8.
10. Weil JV, Stevens T, Pickett CK, Tatsumi K, Dickinson MG, Jacoby CR, Rodman DM. Evidence for Increased Intrathoracic Fluid Volume in Man at High Altitude. *Journal of Applied Physiology: Respiratory, Environmental and Exercise Physiology*. 1998 May;274(5 Pt 1):L767-74.
11. Cremona G, Asnaghi R, Baderna P, Brunetto A, Brutsaert T, Cavallaro C, Clark TM, Cogo A, Donis R, Lanfranchi P, Luks A, Novello N, Panzetta S, Perini L, Putnam M, Spagnolatti L, Wagner H, Wagner PD. Pulmonary Extravascular Fluid Accumulation in Recreational Climbers: A Prospective Study. *The Lancet*. 2002 Jan 26;359(9303):303-9.
12. Alexander JK, Hartley LH, Modelski M, Grover RF. Reduction of Stroke Volume during Exercise in Man Following Ascent to 3,100 M Altitude. *Journal of Applied Physiology* 23, n. 6 (dicembre 1967): 849-58.
13. Reeves JT, Groves BM, Sutton JR, Wagner PD, Cymerman A, Malconian MK, Rock PB, Young PM, Alexander JK, Houston CS. Oxygen Transport during Exercise at Extreme Altitude: Operation Everest II. *Annals of Emergency Medicine* 16, n. 9 (settembre 1987): 993-98.
14. Weil WM, Glassner PJ, Bosco 3rd JA. High-Altitude Illness and Muscle Physiology. *Bulletin of the NYU Hospital for Joint Diseases* 65, n. 1 (2007): 72-77.
15. Hackett PH, Roach RC. High-altitude medicine: in: *Wilderness Medicine* 5th 2007.
16. Ghofrani HA, Reichenberger F, Kohstall MG, Mrosek EH, Seeger T, Olschewski H, Seeger W, Grimminger F. Sildenafil Increased Exercise Capacity during Hypoxia at Low Altitudes and at Mount Everest Base Camp: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Crossover Trial. *Annals of Internal Medicine* 141, n. 3 (3 agosto 2004): 169-77.
17. Grocott M, Montgomery H, Vercueil A. High-Altitude Physiology and Pathophysiology: Implications and Relevance for Intensive Care Medicine. *Critical Care* (London, England) 11, n. 1 (2007): 203.
18. Lenfant C, Ways P, Aucutt C, Cruz J. Effect of Chronic Hypoxic Hypoxia on the O₂-Hb Dissociation Curve and Respiratory Gas Transport in Man. *Respiration Physiology* 7, n. 1 (giugno 1969): 7-29.
19. Cerretelli P, Samaja M. Acid-base balance at exercise in normoxia and chronic hypoxia. Revisiting the "lactate paradox". *Eur J Appl Physiol* 2003; 90(5-6): 431-48.
20. van Hall G, Lundby C, Araoz M, Calbet JA, Sander M, Saltin B. The Lactate Paradox Revisited in Lowlanders during Acclimatization to 4100 M and in High-Altitude Natives. *The Journal of Physiology* 587, n. Pt 5 (1 marzo 2009): 1117-29.
21. Samaja M, Brenna L, Allibardi S, Cerretelli P. Human Red Blood Cell Aging at 5,050-M Altitude: A Role during Adaptation to Hypoxia. *Journal of Applied Physiology* (Bethesda, Md.: 1985) 75, n. 4 (ottobre 1993): 1696-1701.
22. Abbrecht PH, Littell JK. Plasma erythropoietin in men and mice during acclimatization to different altitudes. *J Appl Physiol* 1972; 32: 54.
23. Cerretelli P. Oxidative and anaerobic metabolism in subject acclimatized to altitude. Experimental studies in course of the Italian expedition to Everest. *Minerva medica* 67, n. 36 (28 luglio 1976): 2331-46.
24. Benso A, Broglio F, Aimaretti G, Lucatello B, Lanfranco F, Ghigo E, Grottolli S. Endocrine and Metabolic Responses to Extreme Altitude and Physical Exercise in Climbers. *European Journal of Endocrinology / European Federation of Endocrine Societies* 157, n. 6 (dicembre 2007): 733-40.
25. Bärtsch P, Gibbs JS. Effect of altitude on the heart and the lungs. *Circulation*. 2007 Nov 6;116(19):2191-202.

PATHOLOGIC CONDITIONS ASSOCIATED WITH EXPOSURE TO HYPOBARIC HYPOXIA AT ALTITUDE

Hypobaric hypoxia may induce so called mountain sickness, that is, pathological responses in otherwise healthy subjects ascending to altitude. Most important risk factors include the speed of ascent, the altitude reached, the altitude at which the subjects sleep, individual susceptibility and a history of previous mountain sickness. Other factors may also play a role, such as cardiopulmonary pre-existing conditions, previous neck radiotherapy or surgery, previous airways infections, alcohol intake, obesity, physical fitness and the degree of physical exertion. There is also an age- and gender- related pattern, with mountain sickness being equally frequent in children and young adults but apparently less frequent in subjects above 50 years of age. According to some studies females might be at higher risk than males.^{1,2}

Mountain sickness was first described in 30 a.C. by a Chinese official, Too Kin, who reported pallor, headache and vomiting in men exposed to high altitude. The first clinical description comes from 1913 from Thomas Holmes Ravenhill³ who assisted miners working at 4700m above sea level (asl) in northern Chile: he classified high altitude's diseases according to a schematic approach which is still in use. Recent data suggest that signs and symptoms of mountain sickness are present in at least 25% of subjects exposed to altitudes greater than 2500m asl, with a prevalence increasing with altitude.⁴

Acute Mountain Sickness (AMS) and High Altitude Cerebral Edema (HACE)

Acute Mountain Sickness (AMS) is a benign and self-limiting medical condition developing within 4-36 hours of rapid ascent to high altitude in non-acclimatized subjects. It reflects body's strain to adapt to the new environmental conditions. Natural history is usually favourable, but malign conditions such as high altitude cerebral oedema (HACE) or high altitude pulmonary oedema (HAPE) may develop. AMS is a condition related to hypobaric hypoxia; therefore its incidence correlates with the reached altitude and with ascent velocity. It is rare below 2500m,⁵ but its incidence is reported at 25%⁶ at moderate altitudes (2500-3000m asl) and up to 50% in climbers reaching Mount Everest summit (8848m asl) and remaining

PATOLOGIE LEGATE ALL'IPPOSSIA IPOBARICA DA ALTA QUOTA

Il termine "ipobaropatie" (o malattie da alta quota) include un gruppo di condizioni patologiche che possono interessare soggetti altrimenti sani che si recano in alta quota. I fattori di rischio più importanti per lo sviluppo di tali patologie sono la rapidità dell'ascesa, la quota raggiunta, la quota alla quale il soggetto dorme di notte, la suscettibilità individuale e la storia di pregresso "mal di montagna"; addizionali fattori di rischio sono rappresentati da preesistenti patologie cardiopolmonari, pregresse radioterapia o chirurgia in corrispondenza del distretto cervicale, pregresse infezioni delle vie aeree, l'assunzione di alcool, l'obesità, l'allenamento ed il livello di sforzo fisico compiuto. Da un punto di vista epidemiologico bambini ed adulti risultano colpiti in ugual modo, mentre i soggetti al di sopra dei cinquanta anni sembrano essere meno suscettibili. Secondo alcuni studi, il sesso femminile pare essere interessato in modo maggiore rispetto a quello maschile.^{1,2}

La prima narrazione del "mal di montagna" risale al 30 a.C., quando Too Kin, un ufficiale del governo cinese, descrisse gli effetti dell'alta quota sugli uomini (pallore associato a cefalea e vomito). La prima descrizione medica si ebbe nel 1913, grazie a Thomas Holmes Ravenhill,³ pioniere della medicina d'alta quota, che prestò la propria opera di medico nelle miniere del nord del Cile a 4.700m: egli descrisse con precisione le malattie d'alta quota e le classificò secondo uno schema tuttora in uso. Secondo dati attuali, almeno il 25% dei soggetti che raggiungono quote superiori ai 2.500m sviluppano segni e sintomi di "mal di montagna", percentuale che aumenta al crescere della quota raggiunta.⁴

Mal di montagna acuto (AMS) ed edema cerebrale da alta quota (HACE)

Il male acuto di montagna (in inglese "acute mountain sickness", di seguito AMS) è una condizione patologica benigna ed autolimitante che si sviluppa a seguito di una rapida ascesa in alta quota, entro le prime 4-36 ore in soggetti non acclimatati, ed esprime una difficoltà di adattamento dell'organismo all'altitudine. Il decorso è generalmente favorevole, ma può evolvere in forme maligne quali l'edema cerebrale (in inglese "high altitude cerebral edema", di seguito HACE) e l'edema polmonare d'alta quota (in inglese "high altitude pulmonary

more than 5 hours above 8000m asl.⁷ Finally it occurs in 84% of individuals flying at altitude of 3860m with non-pressurized airplanes, when ascent to high altitude is particularly rapid.⁸

Acute mountain sickness is characterized by non-specific symptoms and signs, such as headache, anorexia, nausea and vomiting, fatigue, dizziness, and sleep disturbances. A pulsing headache, worsening during the night and after waking up, is the most frequent symptom, described in 48% of cases. It is followed by gastrointestinal manifestations (24%). There are no pathognomonic manifestations, but, when neurological and respiratory signs are present, a possible development of, respectively, HACE and HAPE must be suspected.^{9,10}

edema”, di seguito HAPE). Trattandosi di una patologia connessa all’ipossia ipobarica, l’incidenza varia secondo l’altitudine e la rapidità di ascesa; raramente si sviluppa a quote inferiori ai 2.500m,⁵ l’incidenza per altitudini moderate (2.500-3.000m) è del 25%⁶ ed arriva al 50% negli alpinisti che arrivano sulla cima del Monte Everest (8.848m), o soggiornano per più di cinque ore al di sopra degli 8.000m.⁷ Si verifica nell’84% di coloro che compiono voli a 3.860m su velivoli non pressurizzati, poiché raggiungono quote elevate in tempi rapidi ed in assenza di adattamento.⁸

L’AMS è caratterizzato da sintomi aspecifici e ridotti reperti clinici; principalmente cefalea, anoressia, nausea, vomito, astenia, vertigini, disturbi del sonno. La cefalea (di solito di

SELF-REPORT QUESTIONNAIRE

Questionario di Autovalutazione

LAKE LOUISE SCORE (LLS) FOR THE DIAGNOSIS OF ACUTE MOUNTAIN SICKNESS (AMS)

A diagnosis of AMS is based on:

1. A rise in altitude within the last 4 days
2. Presence of a headache PLUS
3. Presence of at least one other symptom
4. A total score of 3 or more from the questions on the right.

Add together the individual scores for each symptom to get the total score.

LAKE LOUISE SCORE (LLS) PER LA DIAGNOSI DEL MALE DI MONTAGNA ACUTO (AMS)

La diagnosi del male di montagna acuto (AMS) si basa su:

1. un incremento di altitudine negli ultimi 4 giorni
 2. presenza di mal di testa
 - IN AGGIUNTA A:
 3. presenza di almeno un altro sintomo
 4. un punteggio totale di 3 o più dalle domande riportate a lato
- Sommare i punteggi ottenuti nelle singole domande per ottenere il punteggio complessivo

HEADACHE Mal di testa	No headache / Assenza di mal di testa	0
	Mild headache / Leggero mal di testa	1
	Moderate headache / Moderato mal di testa	2
	Severe headache, incapacitating / Intenso mal di testa, inabilitante	3
GASTROINTESTINAL SYMPTOMS Sintomi gastrointestinali	None / Nessuno	0
	Poor appetite or nausea / Scarso appetito o nausea	1
	Moderate nausea &/or vomiting / Nausea moderata e/o vomito	2
	Severe nausea &/or vomiting / Intensa nausea e/o vomito	3
FATIGUE AND/OR WEAKNESS Affaticamento e/o debolezza	Not tired or weak / Assenza di affaticamento o debolezza	0
	Mild fatigue/ weakness / Lieve affaticamento / debolezza	1
	Moderate fatigue/ weakness / Moderato affaticamento / debolezza	2
	Severe fatigue/ weakness / Intenso affaticamento / debolezza	3
DIZZINESS/ LIGHTHEADEDNESS Capogiro / sensazione di “testa vuota”	Not dizzy / Assenza di capogiro	0
	Mild dizziness / Presenza di lieve capogiro	1
	Moderate dizziness / Presenza di moderato capogiro	2
	Severe dizziness, incapacitating / Intenso capogiro, inabilitante	3
DIFFICULTY IN SLEEPING Disturbi del sonno	Slept as well as usual / Normale qualità del sonno	0
	Did not sleep as well as usual / Sonno di qualità inferiore al solito	1
	Woke many times, poor sleep / Molti risvegli notturni, scarsa qualità del sonno	2
	Could not sleep at all / Impossibilità a dormire	3
TOTAL SCORE OF: Punteggio totale:		3 TO 5 = MILD AMS / debole AMS 6 OR MORE = SEVERE AMS / grave AMS
TOTAL / Totale		

Lake Louise Score is a self-assessment questionnaire (Box “Self Report Questionnaire”) developed in 1991 for AMS diagnosis and severity quantification, currently widely used in clinical management and research. A quantitative scale (0=absent, 3=severe) is used to assess headache, gastrointestinal symptoms, fatigue, dizziness, and sleep disturbances. Presence of headache plus at least one more symptom, with a total score of at least 3, is suggestive of AMS. Diagnosis may be confirmed evaluating the following parameters: consciousness state (0 to 4), motion disturbances (0 to 4), peripheral oedema - usually affecting face, hands and feet (0 to 2 points).¹¹

AMS and HACE share pathophysiological mechanisms, in fact both are consequences of cerebral hypoxia. Actually, AMS is considered by some as an early, and often self-limiting, stage of HACE (2-3% of AMS cases develops HACE). HACE incidence is very rare below 4000m; above 4500m asl it is 0.5-1%.¹² Ataxia is usually the first sign of HACE, often followed by hallucinations, confusion, sleepiness, conscience status impairment up to coma and death due to cerebral herniation. Various neurological signs including papilledema,

tipo pulsante e spesso più intensa durante la notte o al risveglio) è il sintomo più frequente (48%), seguita dai disturbi gastrointestinali (24%). Non esistono segni patognomonic; la presenza di reperti neurologici o respiratori anomali deve far sospettare una evoluzione verso HACE o HAPE.^{9,10}

Nel 1991 è stato proposto un questionario di autovalutazione a punteggio per la diagnosi e la quantificazione del “male di montagna” acuto, divenuto oggi lo strumento più usato a fini di ricerca, il Lake Louise Score (Box “Self Report Questionnaire”). La cefalea, i disturbi gastro-intestinali, la debolezza, le vertigini e l'insonnia vengono quantificati secondo un punteggio che va da 0 (assente) a 3 (severo). I risultati del questionario sono compatibili con AMS se è presente cefalea associata ad almeno un altro sintomo e con punteggio globale maggiore di 2. La diagnosi può essere ridefinita mediante l'aggiunta di una valutazione clinica dei seguenti parametri: stato mentale (scala da 0 a 4), presenza di disturbi del movimento (scala da 0 a 4) e presenza di edemi periferici, di solito al volto, mani e piedi (scala da 0 a 2).¹¹ I fattori eziopatogenetici dell'AMS sono i medesimi dell'HACE: entrambe infatti sono

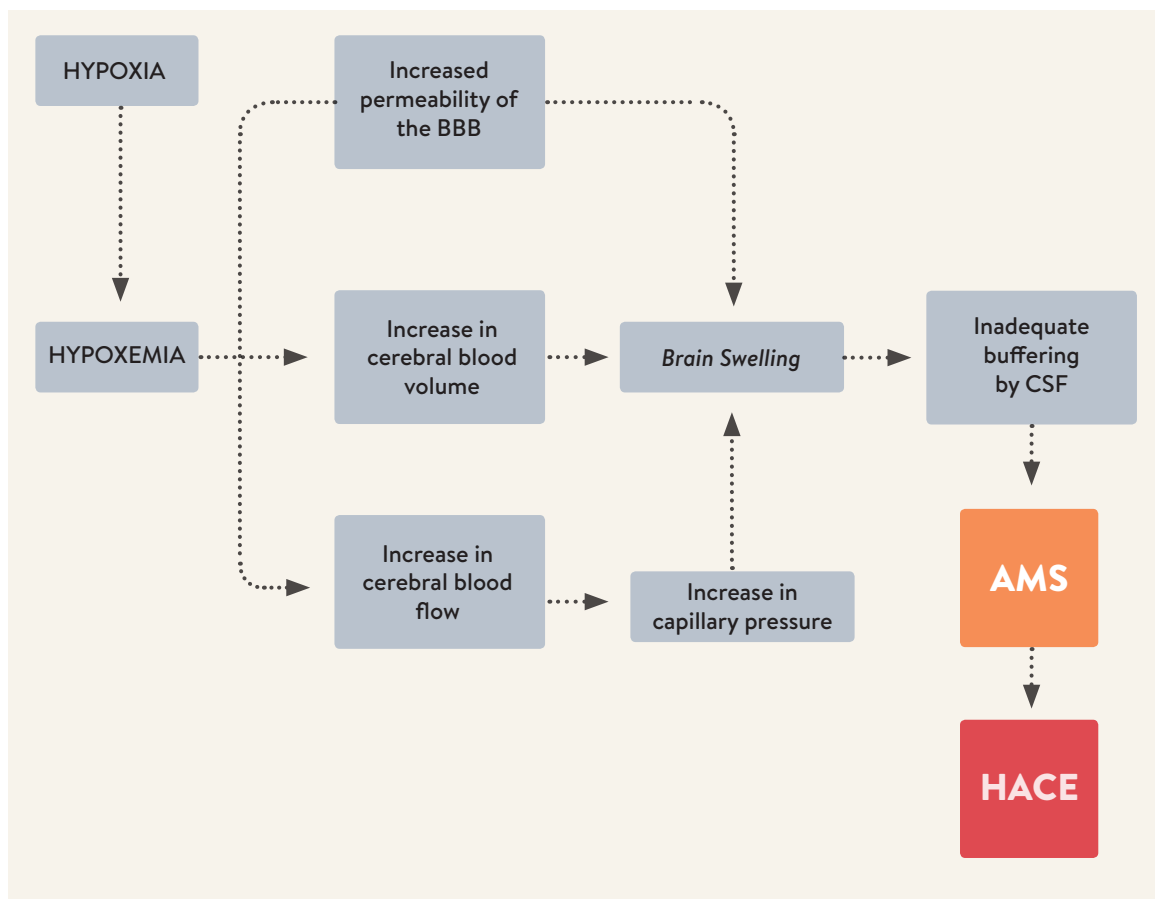


Figure 5

Pathophysiologic model for AMS and HACE (BBB= blood-brain-barrier; CSF= cerebrospinal fluid.) (modified from: Basnyat B, Murdoch DR, *Lancet*, 2003²).

Modello patofisiologico proposto per AMS e HACE. (BEE=barriera emato-encefalica; LCS=liquido cerebrospinale) (modificata da: Basnyat B, Murdoch DR, *Lancet*, 2003²).

retinal haemorrhages and, sometimes, focal deficits, may be present. Progression from AMS to HACE usually occurs 2-4 days after the ascent. Pathophysiological mechanisms of HACE are only partly understood.

In 2001 Hackett and Roach¹³ (Figure 5) proposed a model in which hypoxia-induced neurohormonal and haemodynamic responses lead to increases in cerebral blood flow, cerebral blood vessels hydrostatic pressure, and cerebral blood volume, as well as alterations of the permeability of blood-brain barrier and consequently development of “brain swelling”.¹⁴ According to this hypothesis, AMS and HACE would result from insufficient capacity to compensate cerebral oedema, affecting mainly subjects with a limited intracranial pressure management capacity due to inadequate cerebrospinal fluid handling. In fact, almost all people ascending to altitude develop some cerebral oedema, but only few of them show symptoms of severe AMS or of cerebral oedema. Many factors contribute to intracranial fluid and pressure management, such as cerebrospinal fluid production, reabsorption and distribution in the spinal canal, and brain/cranium volume ratio. In fact,

espressione di una sofferenza cerebrale legata all'ipossia; è verosimile ritenere, infatti, che l'AMS sia in realtà una fase precoce e spesso autolimitante dell'edema cerebrale, che viene, quindi, comunemente considerato lo stadio finale di AMS (2-3% dei casi di AMS evolve in HACE). L'incidenza dell'HACE è rara a quote inferiori a 4.000m, oltre i 4.500m è dello 0,5-1%.¹² Il primo sintomo dell'evoluzione verso l'HACE è tipicamente la comparsa di atassia, che può essere seguita da allucinazioni, confusione, sonnolenza, alterazione dello stato di coscienza fino al coma ed al decesso per erniazione cerebrale. Possono essere presenti vari segni di compromissione neurologica e possono comparire papilledema, emorragie retiniche ed occasionalmente deficit neurologici focali. La progressione di AMS verso l'edema cerebrale di solito avviene 2/4 giorni dopo l'ascesa. I meccanismi alla base dello sviluppo di queste sindromi sono conosciuti solo in parte. Il modello fisiopatologico proposto da Hackett e Roach nel 2001¹³ (Figura 5) prevede che l'ipossiemia inneschi risposte neuro-ormonali ed emodinamiche in grado di condurre ad un aumento del flusso ematico cerebrale con conseguente edema, aumento della pressione idrostatica nei vasi cerebrali, aumento del volume ematico cerebrale ed aumento della permeabilità della barriera ematoencefalica con sviluppo di rigonfiamento del tessuto cerebrale (“brain swelling”).¹⁴ Secondo questo modello, AMS e HACE sarebbero l'effetto di una ridotta capacità di compenso dell'edema cerebrale ed interesserebbero prevalentemente soggetti con limitate capacità di compenso dell'aumento di fluidi nel comparto cranico da parte del sistema di clivaggio del liquido cerebrospinale. Infatti, praticamente tutti i soggetti che si recano ad alta quota sviluppano edema di grado variabile, ma solo in alcuni compaiono sintomi di AMS o di un franco edema cerebrale d'alta quota; ciò dipende dalla capacità di ciascun soggetto di compensare l'aumento del volume cerebrale, impedendo l'eccessivo incremento della pressione intracranica. Tale capacità di compenso dipende da diversi fattori, quali ad esempio la capacità di aumentare il riassorbimento del liquido cefalorachidiano e di ridurre la produzione, la possibilità di dislocare il liquido cefalorachidiano dai ventricoli encefalici verso il canale midollare, oppure la differente capacità intracranica di ciascuno. Tanto maggiore è la capacità intracranica del soggetto, tanto maggiore sarà la capacità di tamponare un aumento del volume cerebrale, senza che si abbia un eccessivo aumento della

BELOW

Giulio Savia[†] at Mount Everest Base Camp 2008.

SOTTO

Giulio Savia[†] al Campo Base Everest, 2008.



older people, who have greater intracranial space because of the physiological decrease in brain volume, are less likely to develop AMS.

High altitude pulmonary edema (HAPE)

HAPE is a malignant complication, not necessarily preceded by AMS, that can develop in non-acclimatized subjects within 2-5 days of HA exposure. Highlanders returning to altitude after a long sea-level stay may experience HAPE as well. Its incidence, as seen for AMS, depends on ascent velocity, reached altitude (above 2500m) and on individual susceptibility (previous HAPE represents a risk factor). Reported incidence is of 2% in mountaineers who reach altitude in 3 or more days, 7% for 24 hours ascent and is up to 65% in subjects with previous HAPE. It is more common if altitude is reached by cable car rather than walking, but no difference was found between genders or at different physical fitness levels.¹⁵ Subjects suffering from anomalous pulmonary circulation with increased pulmonary capillary pressure (e.g. unilateral absence of one pulmonary artery or idiopathic pulmonary hypertension) have a greater risk of HAPE.¹⁶

Symptoms usually start 12 to 48 hours after arrival at high altitude (typically during the 2nd night) and consist, especially in fully symptomatic cases, of thoracic oppression, exertion dyspnoea and dry cough, sometimes accompanied by oliguria. The cough rapidly increases becoming productive, accompanied by copious frothy sputum, often with bloody stria from pulmonary capillary vessels rupture. Physical examination reveals cyanosis, tachycardia (>110 bpm), tachypnoea (>20/min), sometimes accompanied by peripheral oedema and fever (38-39°C). Unless rapidly treated, within a few hours HAPE may progress towards coma and death. The occurrence of HAPE is actually possible also at moderate altitudes, as demonstrated in a research conducted in 2003 on the French Alps. Through local hospital registers analysis, many cases were identified of skiers exposed to a 1400-2000m asl altitude and hospitalized for acute pulmonary oedema (without other possible explanation).

For a long time HAPE was considered as a cold-related pneumonia or as the consequence of heart failure due to hypoxia and physical exertion. In 1964 Hultgren¹⁷ first demonstrated the non-cardiac mechanism of this condition, which in fact depends on an excessive increase in

pressione intracranica. A sostegno di questa ipotesi vi è il fatto che, negli individui più anziani, a causa della riduzione del volume cerebrale, l'incidenza di AMS e di HACE è significativamente minore. L'età avanzata sembra essere quindi un fattore protettivo.

Edema polmonare da alta quota (HAPE)

L'HAPE rappresenta una complicanza maligna che può insorgere, in soggetti non acclimatati, entro i primi 2-5 giorni dall'esposizione all'alta quota, e non è necessariamente preceduto da AMS. Tale condizione è stata riscontrata anche fra coloro che risiedono in alta quota, quando tornano da lunghi soggiorni a basse altitudini. L'incidenza, come per AMS, dipende dalla velocità di ascesa, dall'elevata altitudine (oltre i 2.500m) e dalla predisposizione individuale (coloro che hanno avuto un precedente episodio di HAPE hanno un rischio maggiore di recidiva durante una successiva esposizione all'alta quota). L'incidenza è inferiore al 2% tra gli alpinisti che raggiungono vette elevate impiegando 3 o più giorni; sale al 7% anche negli esperti alpinisti senza anamnesi di HAPE, se la stessa altitudine viene raggiunta entro 24 ore; raggiunge il 65% in coloro che hanno già avuto HAPE ed è più frequente se un'alta quota si raggiunge velocemente in funivia piuttosto che a piedi. Non si è riscontrata un'incidenza diversa fra i due sessi, né gli atleti sembrano essere maggiormente protetti rispetto alla popolazione generale.¹⁵ Soggetti affetti da anomalie della circolazione cardiopolmonare associate ad incremento della pressione capillare polmonare, quali assenza unilaterale di una arteria polmonare od ipertensione polmonare idiopatica, sono esposti a maggior rischio di incidenza.¹⁶

Generalmente, i sintomi iniziano da 12 a 48 ore dopo l'arrivo in alta quota (tipicamente durante la seconda notte) e, nei casi in cui poi si sviluppi un quadro franco di patologia, essi sono ben presto accompagnati da oppressione respiratoria con mancanza o brevità di respiro, facile dispnea da sforzo e persistente tosse secca; talora vi è anche oliguria. La tosse diviene rapidamente più insistente, stizzosa, umida, ed è accompagnata da abbondante espettorato schiumoso, spesso striato di sangue per rottura di capillari bronchiali. All'esame obiettivo è presente cianosi, tachycardia (>110/min) e tachipnea (>20/min). Possono comparire edemi periferici e febbre (38-39° C). In assenza di un rapido trattamento, nel giro di poche ore il quadro clinico dell'HAPE si aggrava, con aumento

BELOW

Descent from
Queen Margherita Hut
2010.

SOTTO

Discesa dalla Capanna
Margherita
2010.



pulmonary arterial pressure (hypoxic pulmonary vasoconstriction), leading to blood and plasma leaking from blood vessels to interstitial space and alveolar cavity. Interestingly, an important increase in pulmonary artery pressure has been reported in patients with previous HAPE during exercise at sea level,^{18,19} strongly supporting the role of personal susceptibility.²⁰ Although hypoxic vasoconstriction mechanism depends mainly on smooth pulmonary myocytes, other factors may modulate this physiological response,²¹ in particular, endothelial dysfunction (due to an impaired production of pulmonary vasodilators such as NO, and to an increased production of vasoconstrictors such as endothelin-1)^{22,23} and an increase in pulmonary capillary pressure. Involved mechanisms could be a heterogeneous vasoconstriction leading to hypoperfusion of some lung areas (in this case, hypoperfusion would represent a protective factor from anomalous intravascular pressure increase)²⁴ and a venous vasoconstriction in response to hypoxia.²⁵ Other factors which may play a role in HAPE

della frequenza respiratoria, della frequenza cardiaca e della cianosi, fino all'insorgenza del coma, fase che precede la morte.

In una ricerca condotta sulle Alpi francesi nel 2003 è stato dimostrato che l'insorgenza di edema polmonare è possibile anche ad altitudini moderate; analizzando i registri degli ospedali locali si è evidenziato come numerosi sciatori esposti ad altitudini di 1.400-2.400m siano stati ricoverati con un quadro di edema polmonare, escludendo ogni altra possibile causa che potesse provocare tale condizione.

Per molto tempo si è creduto che l'HAPE fosse una polmonite legata al freddo, o la conseguenza di un'insufficienza cardiaca acuta secondaria all'esercizio fisico e all'ipossia. Hultgren, nel 1964,¹⁷ fu uno dei primi a dimostrarne l'origine non cardiogena, poiché il meccanismo iniziale è rappresentato da un aumento eccessivo della pressione arteriosa polmonare (vasocostrizione polmonare ipossica) tale da comportare uno "stravasamento" di plasma e cellule dai vasi negli alveoli polmonari. È interessante notare come alcuni studi riportino un aumento notevole della PAP anche a livello del mare durante un esercizio fisico nei soggetti affetti da HAPE;^{18,19} questa osservazione ha fatto presupporre la presenza di una predisposizione individuale.²⁰

Anche se il meccanismo che regola la vasocostrizione polmonare ipossica è intrinseco alle cellule della muscolatura liscia polmonare, ci sono ulteriori meccanismi che possono modulare questa risposta.²¹ Tra i principali chiamati in causa ritroviamo: la disfunzione endoteliale (causata da una minore produzione di sostanze vasodilatanti polmonari, quali l'NO ed una maggiore produzione di sostanze vasocostrittrici, come l'endotelina 1),^{22,23} e l'aumento della pressione capillare polmonare. Due possibili meccanismi possono spiegare quest'ultimo fenomeno: una vasocostrizione non omogenea che porta a iperperfusion di alcune aree polmonari (le aree polmonari meno perfuse sarebbero protette, in quelle iperperfuse si avrebbe, invece, un importante aumento pressorio),²⁴ e la vasocostrizione venosa in risposta all'ipossia.²⁵ Inoltre possono avere un ruolo diretto nella genesi dell'HAPE l'aumento dell'attività del sistema autonomo simpatico,²⁶ che contribuisce all'incremento pressorio nel microcircolo polmonare, un minor riassorbimento da parte dell'epitelio del liquido alveolare, ed una aumentata permeabilità della membrana alveolo-capillare, verosimilmente





include: the increase in sympathetic system activity²⁶ leading to hypertension in pulmonary microcirculation; impaired alveolar fluid reabsorption, increased permeability of the alveolar membranes and even its rupture, leading to plasma and erythrocyte leakage; upper and lower airways infection; congenital pulmonary or cardiac syndromes; physical exertion.^{27,28}

Chronic mountain sickness (CMS)

CMS, or Monge's disease, is a clinical syndrome common in people born or residing for a long time at altitudes above 2500m. Clinical features are erythrocytosis (Hb ≥ 19 g/dL in females and ≥ 21 g/dL in males), severe hypoxia, sometimes moderate to severe pulmonary hypertension, eventually evolving to *cor pulmonare*, and congestive heart failure.²⁹ Symptoms include dyspnoea, palpitations, insomnia, headache, confusion, anorexia, concentration impairment, and memory deficit. Sometimes reduced exercise tolerance, bone pain, acral paresthesias, and haemoptysis are reported. Disease progression may lead to overt heart failure. Clinical manifestations tend to gradually disappear during descent to lower altitudes and reappear after return to high altitude. A prevalence of 15.6% and 0.91%

dovuta all'apertura di pori o finestre, a rotture della membrana alveolare e all'incremento del flusso vescicolare transcellulare che favorirebbe il passaggio di plasma e di sue componenti nell'interstizio e negli alveoli.^{27,28}

Altri fattori che contribuiscono alla formazione dell'edema polmonare sono la contemporanea presenza di infezioni delle alte vie aeree o di anomalie congenite polmonari o cardiache e l'esercizio fisico.

Mal di montagna cronico (CMS)

Il "mal di montagna" cronico (in inglese "chronic mountain sickness", di seguito CMS), anche conosciuto come malattia di Monge, è una sindrome clinica che compare in soggetti nati o residenti per molti anni a quote superiori a 2.500m; è caratterizzata da eccessiva eritrocitosi (femmine Hb ≥ 19 g/dL; maschi Hb ≥ 21 g/dL), severa ipossiemia e, in alcuni casi, ipertensione polmonare moderata o severa, con possibile evoluzione verso il *cor pulmonare* e lo scompenso cardiaco congestizio.²⁹

Le manifestazioni cliniche comprendono dispnea, palpitazioni, insonnia, cefalea, confusione, inappetenza, ridotta concentrazione ed alterazioni della memoria. Talvolta i pazienti lamentano ridotta tolleranza dell'attività fisica, dolore osseo, parestesie acrali ed emottisi. Con la progressione della patologia può subentrare uno scompenso cardiaco conclamato. Le manifestazioni cliniche scompaiono gradualmente con la discesa a quote più basse, per ripresentarsi una volta che i soggetti tornano in quota. La prevalenza stimata di questa patologia è del 15,6% nell'area andina, mentre è pari a 0,91% nell'area tibetana; la diversa prevalenza alle medesime altitudini in popolazioni differenti presuppone l'esistenza di fenomeni genetici di adattamento. I fattori di rischio includono età, obesità, bassa saturazione arteriosa di ossigeno e un basso flusso di picco espiratorio.

Il CMS ha origine multifattoriale: il meccanismo più accreditato per lo sviluppo di questa condizione è la presenza di una risposta ventilatoria ipossica smorzata per disfunzione chemorecettoriale, per cui l'ipoventilazione condurrebbe ad eritropoiesi abnorme, aumento della massa dei globuli rossi e della viscosità ematica, ipertensione sistemica e polmonare, e scompenso cardiaco.³⁰ Paradossalmente l'aumento degli eritrociti, volto a migliorare

LEFT

Ascent to Queen Margherita Hut.

SINISTRA

Salita alla Capanna Margherita.

is estimated respectively in the Andean and Tibetan areas; the differences in the prevalence between these populations, in spite of similar altitudes, suggest the existence of genetic factors involved in adaptation. Main risk factors include age, obesity, low peripheral oxygen saturation, and a low expiratory peak flow. Many pathophysiological factors contribute to CMS, particularly an impaired ventilatory response to hypoxia, due to chemoreceptors dysfunction. In this condition, hypoventilation would induce an abnormal erythropoiesis, increase in red cells mass and in blood viscosity, systemic and pulmonary hypertension with heart failure.³⁰ Paradoxically, excessive erythrocytosis, instead of improving blood oxygen transportation, worsens hypoxemia leading to cerebral blood flow alterations and impairment in peripheral oxygen delivery.

la capacità di trasporto dell'ossigeno, quando diventa eccessivo peggiora l'ipossiemia, determinando alterazioni del flusso e compromissione del trasporto di ossigeno ai tessuti periferici, incluso l'encefalo.

1. Gallagher SA, Hackett PH. High-Altitude Illness. *Emerg Med Clin North Am.* 2004 May;22(2):329-55, viii. 2. Basnyat B, Murdoch DR. High-Altitude Illness. *Lancet.* 2003 Jun 7;361(9373):1967-74. 3. Ravenhill TH. Some experiences of mountain sickness in the Andes. *J Trop Med Hyg* 1913. 20:313-22. 4. Muza SR, Rock PB, Zupan MF, Miller JC, Thomas WR, Cymerman A. Residence at Moderate Altitude Improves Ventilatory Response to High Altitude. *Aviat Space Environ Med.* 2004 Dec;75(12):1042-8. 5. Gabry AL, Ledoux X, Mozziconacci M, Martin C. High-Altitude Pulmonary Edema at Moderate Altitude (< 2,400 M; 7,870 Feet): A Series of 52 Patients. *Chest* 123, n. 1 (gennaio 2003): 49-53. 6. Honigman B, Theis MK, Koziol-McLain J, Roach R, Yip R, Houston C, Moore LG, Pearce P. Acute Mountain Sickness in a General Tourist Population at Moderate Altitudes. *Annals of Internal Medicine* 118, n. 8 (15 aprile 1993): 587-92. 7. Hackett PH, Rennie D, Levine HD. The Incidence, Importance, and Prophylaxis of Acute Mountain Sickness. *Lancet* 2, n. 7996 (27 novembre 1976): 1149-55. 8. Murdoch DR. Altitude Illness Among Tourists Flying to 3740 Meters Elevation in the Nepal Himalayas. *J Travel Med.* 1995 Dec 1;2(4):255-256. 9. Ferrazzini G, Maggiorini M, Kriemler S, Bärtsch P, Oelz O. Successful Treatment of Acute Mountain Sickness with Dexamethasone. *British Medical Journal (Clinical Research Ed.)* 294, n. 6584 (30 maggio 1987): 1380-82. 10. Bartscher M, Likar R, Nachbauer W, Philadelphia M. Aspirin for Prophylaxis against Headache at High Altitudes: Randomised, Double Blind, Placebo Controlled Trial. *BMJ (Clinical Research Ed.)* 316, n. 7137 (4 aprile 1998): 1057-58. 11. Mason N. The pathology of high altitude: an introduction to the disease states of high altitude. *Current Anaesthesia and Critical Care* 2000; 11:104-112. 12. Bärtsch P, Swenson ER. Acute High-Altitude Illnesses. *The New England Journal of Medicine* 369, n. 17 (24 ottobre 2013): 1666-67. 13. Hackett PH, Roach RC. High-Altitude Illness. *The New England Journal of Medicine* 345, n. 2 (12 luglio 2001): 107-14. 14. Fishman RA. Brain Edema. *The New England Journal of Medicine* 293, n. 14 (2 ottobre 1975): 706-11. 15. Honigman B, Theis MK, Koziol-McLain J, Roach R, Yip R, Houston C, Moore LG, Pearce P. Acute mountain sickness in a general tourist population at moderate altitudes. *Ann Intern Med* 1993; 118:587-92. 16. Naeije R, Mèlot C, Mols P, Hallemans R. Effects of Vasodilators on Hypoxic Pulmonary Vasoconstriction in Normal Man. *Chest.* 1982 Oct;82(4):404-10. 17. Hultgren H, Lopez CE, Lundberg E, Miller H. Physiologic studies of pulmonary edema at high altitude. *Circulation* 1964; 29:393-408. 18. Grunig E, Mereles D, Hildebrandt W, Swenson ER, Kubler W, Kuecherer H, Bärtsch P. Stress Doppler echocardiography for identification of susceptibility to high altitude pulmonary artery. *J Am Coll Cardiol* 2000; 35:980-987. 19. Eldridge MW, Podolsky A, Richardson RS, Johnson DH, Knight DR, Johnson EC, Hopkins SR, Michimata H, Grassi B, Feiner J, Kurdak SS, Bickler PE, Wagner PD, Severinghaus JW. Pulmonary hemodynamic response to exercise in subjects with prior high-altitude pulmonary edema. *J. Appl Physiol* 1996; 81:911-921. 20. Kawashima A, Kubo K, Kobayashi T, Sekiguchi M. Hemodynamic responses to acute hypoxia, hypobaria, and exercise in subjects susceptible to high-altitude pulmonary edema. *J Appl Physiol* 1989; 67:1982-1989. 21. Maggiorini M. High altitude pulmonary oedema. *Cardiovascular Research* 2006; 72:41-50. 22. Berger MM, Hesse C, Dehnert C, Siedler H, Kleinbongard P, Bardenheuer HJ, Kelm M, Bärtsch P, Haefeli WE. Hypoxia impair systemic endothelial function in individuals prone to high-altitude pulmonary edema. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 172:763-767. 23. Modesti PA, Vanni S, Morabito M, Modesti A, Marchetta M, Gamberi T, Sofi F, Savia G, Mancina G, Gensini GF, Parati G. Role of endothelin-1 in exposure to high altitude: Acute Mountain Sickness and Endothelin-1 (ACME-1) study. *Circulation.* 2006. 114(13): p. 1410-6. 24. Hultgren HN, Grover RF, Hartley LH. Abnormal circulatory responses to high altitude in subjects with a previous history of high-altitude pulmonary edema. *Circulation* 1971; 44:759-770. 25. Gao Y, Raj JU. Role of veins in regulation of pulmonary circulation. *Am J Physiol* 2005;288:L213-26. 26. Duplain H, Vollenweider L, Delabays A, Nicod P, Bärtsch P, Scherrer U. Augmented sympathetic activation during short-term hypoxia and high-altitude exposure in subjects susceptible to high-altitude pulmonary edema. *Circulation* 1999; 99:2665-68. 27. West JB, Tsukimoto K, Mathieu-Costello O, Prediletto R. Stress failure in pulmonary capillaries. *J Appl Physiol* 1991; 70:1731-42. 28. Swenson ER, Maggiorini M, Mongovin S, Gibbs JSR, Greve I, Mairrbaurl H, Bärtsch P. Pathogenesis of High-Altitude Pulmonary Edema. *JAMA* 2002; 287:2228-2235. 29. León-Velarde F, Villafuerte FC, Richalet JP. Chronic Mountain Sickness and the Heart. *Progress in Cardiovascular Diseases* 52, n. 6 (giugno 2010): 540-9. 30. Reeves JT, Weil JV. Chronic Mountain Sickness. A View from the Crow's Nest. *Advances in Experimental Medicine and Biology* 502 (2001): 419-37.

Mount Cervino
(4478 m)

Monte Cervino
(4.478 m)





HIGHCARE-ALPS

2003 - 2004 - 2005

SETTING, RATIONALE AND GENERAL AIMS

SCENARIO, RAZIONALE E OBIETTIVI GENERALI

The HIGHCARE project was born in early 2003 (even if its current name was coined later), when our late colleague, Dr. Giulio Savia, launched a proposal of a high altitude study, encompassing a series of multidisciplinary assessments in a high altitude setting. He worked as an endocrinologist in the San Giuseppe Hospital of Istituto Auxologico Italiano located in Piancavallo on the hills overlooking Lake Maggiore. His initiative, born from the love of the mountains, the passion for the alpinism and from research ambitions, was willingly embraced by several other researchers of the Institute, including a neurologist Dr. Cinzia Miscio and a cardiologist Prof. Gianfranco Parati. A necessary financial support was granted by the authorities of the Institute and the first expedition started taking shape.

The location of the study was obvious from the very beginning: Capanna Regina Margherita, a mountain shelter and at the same time a renowned laboratory dedicated to high altitude research is only 70 km away (in a straight line) from the Institute facilities in Milan and much closer from Piancavallo. It can be reached within 24 hours (allowing for a night's rest at Capanna Gnifetti at a lower altitude of 3647m) and the ascent does not pose major technical difficulties, being feasible for the majority of moderately fit people with some experience of mountain climbing. The shelter is positioned at an altitude of 4559 meters above sea level on the top of Punta Gnifetti (Signalkuppe), one of the summits of Monte Rosa, a large massif on Italian-Swiss border with its highest point being Punta Dufour (Dufourspitze, 4634m), the second highest summit in the Alps after Mont Blanc.

The expedition took place in early September of 2003. The first group of participants, most of whom were involved in performing the research procedures apart from being study subjects, successfully reached the shelter on the 1st of September 2003, the second several days later. Overall the data were collected from thirteen participants and included blood samples collection for the assessment of metabolic variables, 24 hour ambulatory blood pressure monitoring (ABPM), beat-by-beat blood pressure monitoring, neuroreactivity tests and vital signs. In several subjects ventilatory



Il progetto HIGHCARE nacque all'inizio del 2003 (anche se il nome attuale gli fu assegnato in seguito), dall'idea del nostro collega Dott. Giulio Savia, che propose di organizzare uno studio scientifico in alta quota comprensivo di una valutazione multidisciplinare. Giulio era un endocrinologo dell'Ospedale San Giuseppe dell'Istituto Auxologico Italiano, sito nel piccolo paese di Piancavallo, sulle colline affacciate sul lago Maggiore; la sua iniziativa, nata dall'amore per la montagna, dalla passione per l'alpinismo e dall'interesse verso la ricerca, è stata abbracciata da numerosi altri ricercatori dell'istituto, tra i quali la neurologa Dott.ssa Cinzia Miscio e il cardiologo Prof. Gianfranco Parati. L'Istituto ha garantito il fondamentale supporto economico, così la prima spedizione ha iniziato a prendere forma.

La meta prescelta dello studio è stata ovvia sin dall'inizio: la Capanna Regina Margherita, un rifugio di montagna e contemporaneamente un laboratorio scientifico dedicato alla ricerca di alta quota, distante solo 70 km in linea d'aria dalla sede dell'Istituto a Milano, e ancora meno

ABOVE

Regina Margherita Hut, seen from Zumstein Peak.

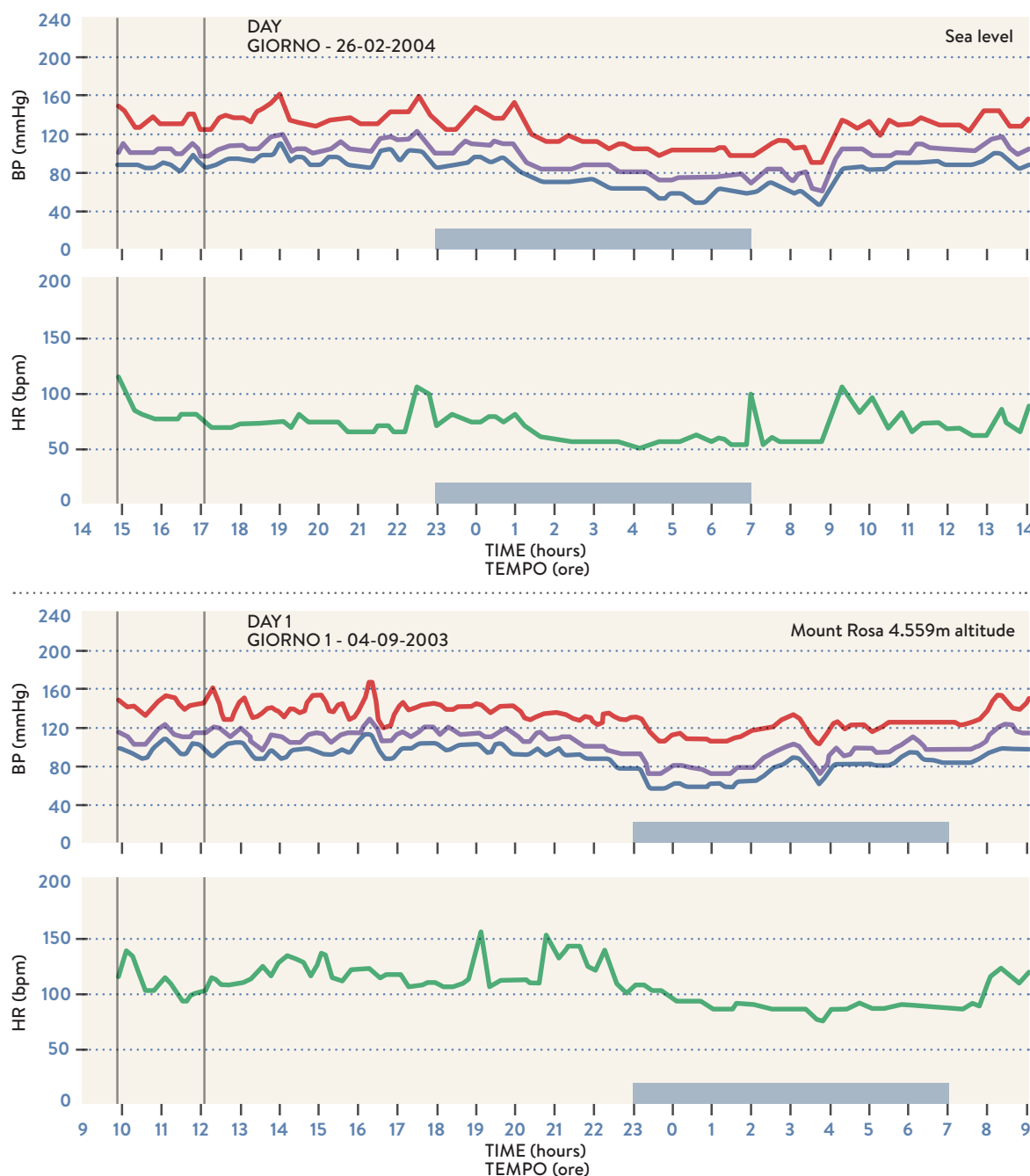
SOPRA

Il rifugio Capanna Regina Margherita, visto dalla punta Zumstein.

Figure 1

24 hour blood pressure (red line – systolic; blue line – diastolic; purple line – mean) and heart rate (green line) profiles obtained in one of the participants of 2003 and 2004 expeditions at sea level (above) and during exposure to 4559m (below).
BP=blood pressure;
HR=heart rate

Profilo della pressione arteriosa delle 24 ore (linea rossa – sistolica; linea blu – diastolica; linea viola – media) e frequenza cardiaca (linea verde), registrato in un partecipante alle spedizioni del 2003 e 2004 a livello del mare (sopra) e durante esposizione a 4.559m (sotto).
BP=pressione arteriosa;
HR=frequenza cardiaca



assessment and sleep study was performed. Even if the number of participants was limited and data frequently incomplete due to numerous difficulties, thus making a formal data analysis not feasible, the study turned out to be very fruitful for a number of reasons. Most importantly, it provided an initial direct experience with the very challenging setting of the high altitude laboratory in a mountain shelter and revealed a series of difficulties which have to be taken into account when performing high altitude research: logistic problems (transport of the equipment, unstable power supply, need to comply with the activities of shelter staff and alpinists, blood

da Piancavallo. La Capanna può essere raggiunta con un percorso della durata di 24 ore (compresa una notte da trascorrere alla Capanna Gnifetti, a quota 3.647m) che non richiede particolari abilità tecniche e può essere affrontato dalla maggior parte delle persone con un grado medio di allenamento. Il rifugio si trova sul Monte Rosa, a 4.559m s.l.m., precisamente sulla cima della Punta Gnifetti (Signalkuppe). Il Monte Rosa è un imponente massiccio sul confine italo-svizzero, che con la sua cima maggiore (Punta Dufour, Dufourspitze, 4.634m) si attesta secondo massiccio più alto delle Alpi, dopo il Monte Bianco.

samples handling); difficulties in collecting the data either due to malfunctioning of some devices in low atmospheric pressure or due to nonphysiological responses occurring in the volunteers (e.g. difficulty in collecting finger blood pressure signal due to peripheral vasoconstriction); high altitude sickness which can make any kind of activity a suffering; need to work as a team (even despite competing research activities) being confined to a few hundred square meters for several days; difficulty with maintaining personal hygiene (no running water...). Moreover these preliminary data helped in choosing the directions for further research – it was in 2003 when we first noted that high altitude increases blood pressure over 24 hours but particularly at night (Figure 1), a finding formalized in later expeditions. Last but not least, it was a profound human experience, which has awakened or reawakened the passion for the mountains in many of us.

The positive experience of the first expedition led us to design new studies in the following years, with various objectives. In particular, in 2004 we attempted the first studies of different interventions aimed at favourably modifying the adaptation to acute high altitude exposure. This involved the study of the effects of interval hypoxic training, performed over a period of 4 weeks preceding high altitude exposure. Also the impact of continuous positive airway pressure (CPAP) ventilation during the permanence in Regina Margherita Hut was explored. A series of measurements were performed to assess the haemodynamic and humoral response to hypoxia and the effect of interventions. Moreover, these assessments were also performed during brief exposure to a comparable degree of normobaric hypoxia in a laboratory setting. Unfortunately, the reality turned out to be more difficult than expected and the intervention data were not sufficiently complete to provide adequate statistical power. Nonetheless a lot of interesting data were collected. Some of the results collected in a total of 19 healthy volunteers and addressing cardiovascular responses were presented the following year during the European Society of Hypertension meeting. The information obtained from 24 hour blood pressure monitoring provided the first systematic demonstration from our group of a clear blood pressure increase induced by high altitude exposure, in particular during the night, in line with some previous reports. In a short beat-by-beat blood pressure and pulse interval monitoring we observed a

La spedizione è partita all'inizio di settembre 2003. Il primo gruppo di partecipanti, la maggior parte dei quali nella duplice veste di sperimentatore e paziente, ha raggiunto il rifugio il 1 settembre 2003, il secondo alcuni giorni più tardi. Complessivamente sono stati raccolti dati di 13 partecipanti, tra i quali campioni ematici per la valutazione di dati metabolici, il monitoraggio ambulatorio della pressione arteriosa delle 24 ore (ABPM), il monitoraggio della pressione battito-a-battito, test di neuroreattività e parametri vitali. In alcuni soggetti sono state effettuate anche valutazioni della ventilazione e del sonno.

Nonostante il numero ridotto di partecipanti e i dati parzialmente incompleti a causa delle numerose difficoltà legate al setting sperimentale non abbiano reso possibile un'analisi statistica completa, lo studio si è comunque rivelato di notevole interesse per una serie di motivi; in particolare, ha rappresentato la prima esperienza diretta in uno scenario altamente sfavorevole (quale un laboratorio d'alta quota in un rifugio di montagna), mettendo in luce una serie di difficoltà da affrontare nella ricerca ad alta quota: problemi logistici (trasporto dell'equipaggiamento, fornitura elettrica discontinua, necessità di adeguarsi alle attività e agli orari del personale del rifugio e degli alpinisti, gestione dei campioni ematici); difficoltà nella raccolta dati, sia per il malfunzionamento di alcuni strumenti in condizioni di bassa pressione barometrica che per risposte non fisiologiche che si manifestavano nei volontari (i.e. difficoltà a misurare la pulsossimetria al dito a causa della vasocostrizione periferica); l'insorgenza di "male acuto di montagna", che può rendere ogni tipo di attività una sofferenza; la necessità di lavorare in squadra (persino in caso di attività di ricerca in competizione) rimanendo confinati in pochi metri quadri per più giorni consecutivi; difficoltà a mantenere l'igiene personale (assenza di acqua corrente). Inoltre, i dati preliminari che sono stati raccolti hanno indicato la strada per le ricerche successive; è stato infatti nel 2003 che abbiamo notato per la prima volta l'aumento della PA in alta quota, particolarmente durante le ore notturne (Figura 1), dato che è stato poi confermato nelle spedizioni successive. Come ultima considerazione, certamente non meno importante delle altre, questa spedizione ha rappresentato un'importante esperienza umana, che ha svegliato - e risvegliato - la passione per la montagna in molti di noi.

RIGHT

Nasal mask for continuous positive airways pressure (CPAP).

DESTRA

Maschera nasale per l'applicazione di pressione positiva alle vie aeree (CPAP).



ABOVE

Spirometry and expiratory gas evaluation after controlled slow deep breathing.

SOPRA

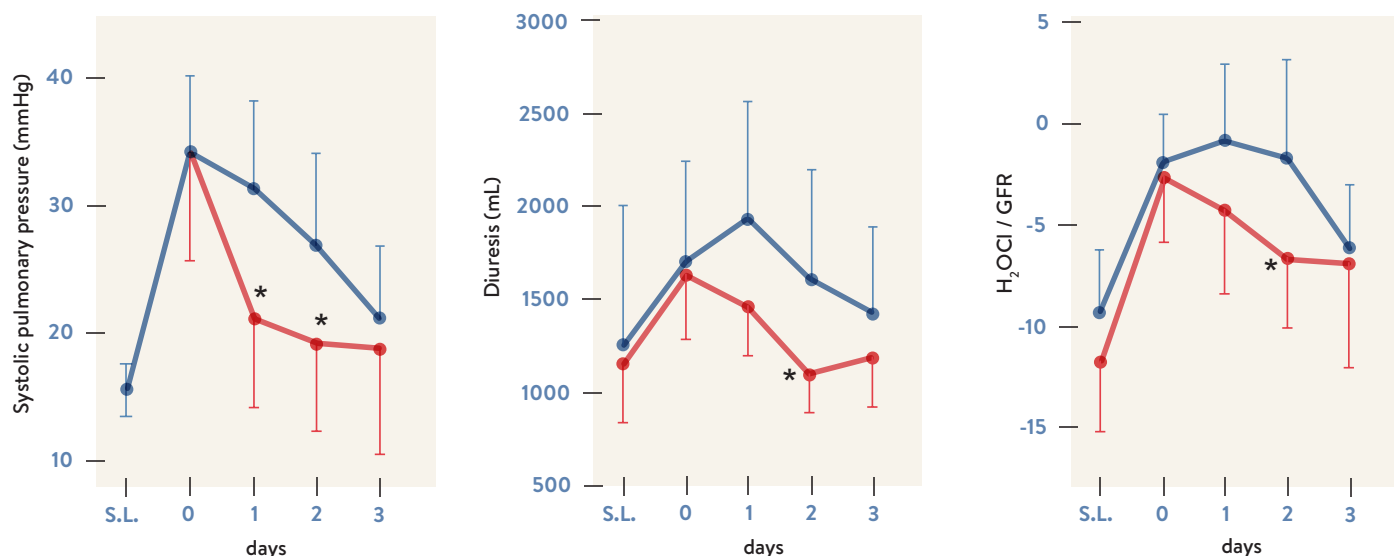
Spirometria e valutazione dei gas espiratori dopo respiro lento controllato.

clear reduction in pulse interval variability and a reduced cardiac baroreflex sensitivity with some interesting differences between different durations of hypoxia exposure.

It was also in 2004 when, for the first time, we involved in a scientific collaboration another research group. This collaboration involved the research group from the University of Florence headed by Prof. Pietro Amedeo Modesti and was aimed at studying the effects of endothelin-1 (ET-1) and bosentan, a blocker of ET-1 receptors, during high altitude exposure. The result was the first publication of data in a peer reviewed journal (Modesti *et al.*, *Circulation* 2006). In this study 20 healthy volunteers were randomly assigned to receive bosentan (62,5 mg for 1 day and 125 mg for the following 2 days; n=10) or placebo (n=10) at sea level and at high altitude (4559m). At sea level, bosentan did not induce any significant changes in hemodynamic or renal parameters while, at altitude, the subjects treated with this drug showed a significant reduction of systolic pulmonary artery pressure

L'esperienza positiva della prima spedizione ci ha portato negli anni successivi a progettare nuovi studi, con diversi obiettivi. In particolare, nel 2004 abbiamo organizzato il primo studio interventistico, in cui abbiamo valutato differenti interventi non farmacologici mirati ad agire positivamente sull'adattamento all'alta quota. Abbiamo valutato gli effetti dell'*interval training* in ipossia, eseguito per un periodo di 4 settimane prima dell'esposizione alla quota, e l'impatto della ventilazione delle vie aeree con pressione positiva continua (CPAP) durante la permanenza alla Capanna Regina Margherita. Inoltre, abbiamo effettuato una serie di misurazioni volte alla valutazione della risposta emodinamica e umorale all'ipossia, nonché gli effetti dell'intervento. Queste valutazioni sono state ripetute anche in laboratorio, durante una breve esposizione ad un grado equivalente di ipossia normobarica. Sfortunatamente la realtà si è rivelata essere più dura del previsto, poiché i dati sulle manovre sperimentali non erano sufficienti per fornire una potenza statistica adeguata; ciononostante, sono stati raccolti numerosi dati interessanti. Complessivamente sono stati raccolti dati da 19 volontari sani, con l'obiettivo di valutarne le risposte cardiovascolari; alcuni risultati sono stati presentati l'anno seguente durante il Congresso annuale della Società Europea dell'Iperensione. Le informazioni ottenute dal monitoraggio ambulatorio delle 24 ore della pressione arteriosa hanno fornito la prima dimostrazione sistematica, da parte del nostro gruppo, di un evidente incremento pressorio indotto dall'esposizione all'alta quota, in particolare durante la notte, in linea con precedenti dati. In un monitoraggio breve della pressione arteriosa battito-a-battito abbiamo osservato una chiara riduzione nella variabilità dell'intervallo di polso ed una ridotta sensibilità del baroriflesso cardiaco, con alcune interessanti differenze tra differenti durate di esposizione all'ipossia.

Sempre nel 2004, per la prima volta, abbiamo coinvolto in una collaborazione scientifica un altro gruppo di ricerca. L'équipe del Prof. Pietro Amedeo Modesti dell'Università di Firenze ha partecipato alla spedizione con l'obiettivo di studiare gli effetti di endotelina-1 (ET-1) e bosentan, un bloccante dei recettori di ET-1, durante l'esposizione ad alta quota. I risultati sono stati pubblicati per la prima volta in un giornale *peer reviewed* (Modesti *et al.*, *Circulation* 2006). In questo studio 20 volontari sani sono stati randomizzati a ricevere bosentan (62,5 mg per 1 giorno e 125 mg per i



(21 ± 7 versus 31 ± 7 mm Hg, $p < 0.03$) and a mild increase in arterial oxygen saturation versus placebo after just 1 day of treatment. However, both urinary volume and free water clearance (H_2OCl /glomerular filtration rate) were significantly reduced versus placebo after 2 days of ET-1 antagonism (1100 ± 200 versus 1610 ± 590 mL; -6.7 ± 3.5 versus -1.8 ± 4.8 mL/min, $p < 0.05$ versus placebo for both). Sodium clearance and segmental tubular function were not significantly affected by bosentan administration (Figure 2). These results indicated that the early beneficial effect of ET-1 antagonism on pulmonary blood pressure is followed by an impairment in volume adaptation.

The scientific project that was to become HIGHCARE gained momentum and in summer of 2005 the third expedition took place. Again the project focused on the study of nonpharmacological interventions aimed at improving ventilation at high altitude. This time, apart from a more systematic collection of data on CPAP efficacy we also decided to study the effects of slow paced breathing on respiratory and cardiovascular variables.

The assessment of nonpharmacological interventions was based on previous reports suggesting that subclinical interstitial oedema is present in most recreational and professional climbers exposed to high altitude. In some cases this condition may evolve into overt high-altitude pulmonary oedema, which is a haemodynamic hydrostatic oedema characterized by high pulmonary artery pressure. In this regard, it is similar to cardiogenic oedema, frequently treated using CPAP, which, in the presence of

successivi 2 giorni; $n=10$) o placebo ($n=10$), sia a livello del mare che in alta quota (4.559m). A livello del mare bosentan non induceva alcuna variazione significativa né nei parametri emodinamici né in quelli renali, mentre in alta quota i soggetti trattati hanno mostrato una significativa riduzione nella pressione arteriosa polmonare sistolica (21 ± 7 versus 31 ± 7 mm Hg, $p < 0.03$) ed un lieve incremento nella saturazione arteriosa dopo un solo giorno di trattamento. Ciononostante, sia il volume urinario che la clearance dell'acqua libera (H_2OCl /glomerular filtration rate) erano significativamente ridotti rispetto al placebo dopo 2 giorni di blocco dei recettori per ET-1 (1100 ± 200 versus 1610 ± 590 mL; -6.7 ± 3.5 versus -1.8 ± 4.8 mL/min, $p < 0.05$ versus placebo per entrambi). La clearance del sodio e la funzione segmentale del tubulo non erano significativamente influenzate dalla somministrazione di bosentan (Figura 2). Questi risultati indicano che i benefici precoci della somministrazione di inibitori ET-1 sulla pressione arteriosa polmonare sono seguiti da una riduzione nell'adattamento del volume circolante.

Il progetto scientifico che sarebbe poi diventato HIGHCARE colse l'attimo: e nell'estate del 2005 partì la terza spedizione scientifica. Anche stavolta il focus del progetto era la valutazione dell'effetto di manovre non farmacologiche nel migliorare la ventilazione in alta quota. Questa volta, a parte una raccolta più sistematica dei dati sull'efficacia della CPAP, abbiamo anche deciso di studiare l'effetto del respiro lento controllato sulle variabili respiratorie e cardiovascolari. La scelta degli interventi non farmacologici era basata su dati precedenti, che indicavano la presenza di edema interstiziale

Figure 2

Systolic pulmonary artery pressure (left), urinary volume (middle) and free water clearance (right) at sea level (S.L.) and during exposure to high altitude (days 0, 1, 2, and 3) in bosentan- (red circles) or placebo treated (blue circles) group. * $p < 0.05$ vs. placebo. (modified from: Modesti PA et al., *Circulation*, 2006³).

Pressione sistolica arteriosa polmonare (sinistra), volume urinario (centro) e clearance dell'acqua libera (destra) a livello del mare (S.L.) e durante esposizione all'alta quota (giorno 0, 1, 2 e 3) in soggetti trattati con bosentan (cerchi rossi) o placebo (cerchi blu). * $p < 0.05$ vs. placebo. (modificata da: Modesti PA et al., *Circulation*, 2006³).

increased extra vascular lung fluid, allows improvement of oxygen transport across the alveolar capillary membrane by mechanical removal of accumulated alveolar fluid. In fact beneficial effects of CPAP in HAPE were previously reported.

As in the previous expeditions, Regina Margherita Hut was reached from sea level in less than 2-day hike and CPAP effects were assessed on the second day of altitude exposure. The aim of the study was to indirectly evaluate the effects of CPAP on haemoglobin oxygen saturation in this condition. To that aim in 23 (out of the total of 39) participants of the expedition CPAP was applied using a nasal mask in a sitting position using a standard commercial instrument (S8 ResMed, Bella Vista, Australia) regulated to administer a pressure of 7 cm H₂O. Transcutaneous haemoglobin oxygen saturation (SpO₂) was measured constantly before, during and after CPAP application. Pulmonary pressure was measured before and immediately after CPAP application by means of Doppler Ultrasound (Vivid I; General Electric, Tirat Carmel, Israel). Systemic blood pressure (by an oscillometric validated device, OMRON M5-I, Omron, Tokyo, Japan), heart rate, and respiratory frequency were also recorded.

Mean atmospheric pressure and oxygen air pressure were 440 and 92 mmHg, respectively. All subjects tolerated the CPAP manoeuvre well. After short-term high-altitude exposure at Regina Margherita Hut, application of CPAP for 30 min reduced heart rate and systolic pulmonary artery pressure, but did not influence systemic blood pressure, whereas haemoglobin oxygen saturation was significantly increased by CPAP from 80 to 91% ($p < 0.001$). Haemoglobin oxygen saturation increase became evident 5 min after starting CPAP application, and remained so throughout the intervention. Neither Lake Louise Score of acute mountain sickness, haemoglobin oxygen saturation nor pulmonary vascular pressure correlated to the haemoglobin oxygen saturation changes during CPAP. These data have shown that CPAP application after short-term high altitude exposure improves arterial haemoglobin oxygen saturation, in line with the hypothesis that lung fluid accumulation is, at least in part, responsible for low arterial haemoglobin oxygen saturation at high altitude. These findings were later completed with those obtained in the study performed during more prolonged exposure to

subclino nella maggioranza dei soggetti esposti all'alta quota. In alcuni casi questa condizione può portare all'edema polmonare da alta quota, cioè un edema emodinamico idrostatico caratterizzato da elevata pressione arteriosa polmonare. Per questa caratteristica è simile all'edema cardiogeno, frequentemente trattato con CPAP che, in presenza di aumento del liquido polmonare extravascolare, permette un miglioramento del trasporto dell'ossigeno attraverso la membrana alveolo capillare tramite la rimozione meccanica del liquido alveolare accumulato. Gli effetti benefici della CPAP nell'HAPE erano già stati riportati in letteratura.

Come nelle spedizioni precedenti, la Capanna Regina Margherita è stata raggiunta in meno di 2 giorni di cammino partendo da livello del mare, e gli effetti della CPAP sono stati valutati durante il secondo giorno di esposizione all'alta quota. Lo scopo dello studio era valutare indirettamente gli effetti della CPAP sulla saturazione periferica dell'emoglobina. A questo scopo, 23 soggetti (su 39 partecipanti alla spedizione) si sono sottoposti a CPAP tramite una maschera nasale in posizione seduta, utilizzando uno strumento commerciale standard (S8 ResMed, Bella Vista, Australia) regolato per erogare una pressione di 7 cm H₂O. La saturazione trascutanea di ossigeno dell'emoglobina (SpO₂) è stata misurata costantemente prima, durante e dopo l'applicazione di CPAP. La pressione polmonare è stata misurata prima e immediatamente dopo l'applicazione di CPAP tramite ecoDopplergrafia (Vivid I; General Electric, Tirat Carmel, Israel). Sono state inoltre registrate la pressione arteriosa sistemica (misurata tramite uno strumento oscillometrico validato, OMRON M5-I, Omron, Tokyo, Japan), la frequenza cardiaca e la frequenza respiratoria.

La pressione atmosferica media e la pressione dell'ossigeno erano rispettivamente 440 e 92 mmHg. Tutti i soggetti hanno tollerato bene l'applicazione di CPAP. Dopo breve esposizione ad alta quota alla Capanna Regina Margherita, l'applicazione di CPAP per 30 minuti ha ridotto la frequenza cardiaca e la pressione arteriosa polmonare sistolica, ma non ha influenzato la pressione arteriosa sistemica. Dopo 5 minuti di CPAP è diventato evidente anche un aumento nella saturazione dell'ossigeno dell'emoglobina, che rimaneva poi stabile per tutta l'applicazione. Né il Lake Louise Score per il male acuto di montagna, né la saturazione di ossigeno dell'emoglobina, né la pressione vascolare polmonare

high altitude in the framework of HIGHCARE-Himalaya study (see the chapter on HIGHCARE-Himalaya for details) and the results of these two studies were published jointly (Agostoni *et al.* Eur Heart J 2010).

The second kind of acute intervention tested in 2005 study focused on the slow deep breathing manoeuvre. Controlled breathing with low rate and high tidal volume has been shown to improve the efficiency of ventilation by increasing alveolar ventilation and reducing dead space ventilation, and likely also on the alveolar capillary membrane level, in particular when interstitial lung fluids are increased. For instance our group has previously shown its benefits in subjects with chronic heart failure.¹ Thus, the aim of the study was to assess whether slow deep breathing may improve ventilation efficiency in healthy subjects during acute exposure to high altitude by evaluating its effects on blood oxygen saturation (SpO_2).

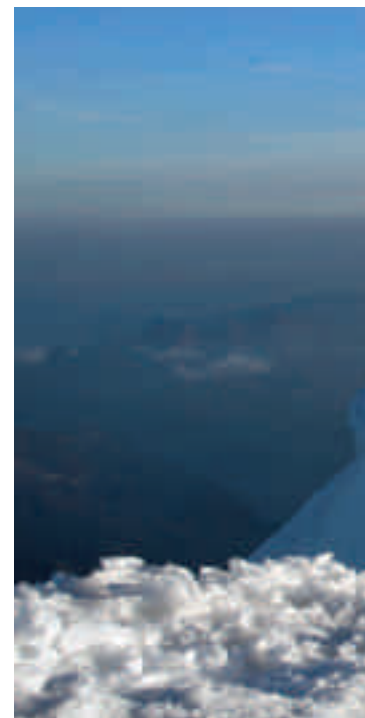
Each of 39 subjects participating in this study underwent: a) baseline assessment after at least 15 minutes of rest at a spontaneous breathing rate, b) 15 minutes of slow deep breathing exercise at a rate of 0.1 Hz (6 breaths per minute) paced by a digital metronome (RESPeRATE, Intercure Ltd, Lod, Israel), and c) 5 minutes recovery at a spontaneous breathing rate. Breathing rate reduction was mainly obtained by prolonging the expiration phase so that the ratio between inspiration and expiration duration was about 1:2. We assessed SpO_2 , arterial blood pressure (BP), heart rate (HR) and systolic pulmonary artery pressure (PAP). Transcutaneous measurement of pO_2 (ptO_2) and of pCO_2 ($ptCO_2$) was also performed (TCM4 device, Radiometer, Copenhagen, Denmark).

Slow breathing exercise at high altitude (HA) was associated with a significant increase in SpO_2 from baseline value (from $80.2 \pm 7.7\%$ to $89.5 \pm 8.2\%$, $p < 0.001$), a significant increase in PtO_2 and a significant reduction in $PtCO_2$. During the recovery phase, all variables returned to baseline values, with the exception of blood oxygenation (SpO_2 and PtO_2), which remained somewhat higher after 5 minutes of recovery compared with baseline. A significant reduction in SBP was found at the end of the slow breathing session, with SBP values which remained lower than baseline after the recovery period. HR tended to decrease during slow deep breathing, but the changes were not significant. Pulmonary artery pressure was significantly reduced

correlavano con le variazioni nella saturazione di ossigeno dell'emoglobina durante CPAP. Questi dati mostrano come l'applicazione di CPAP dopo breve esposizione all'alta quota migliori la saturazione arteriosa di ossigeno dell'emoglobina, avvalorando l'ipotesi che l'accumulo di fluidi nel polmone sia, almeno in parte, responsabile della ridotta saturazione di ossigeno dell'emoglobina in alta quota. Questi risultati sono stati successivamente completati da quelli ottenuti nello studio eseguito durante l'esposizione prolungata all'alta quota nel contesto dello studio HIGHCARE-Himalaya (vedere il capitolo HIGHCARE-Himalaya per dettagli), e i risultati di questi due studi sono stati pubblicati congiuntamente (Agostoni *et al.* Eur Heart J 2010).

Il secondo tipo di intervento in acuto testato nel 2005 si basava sul respiro lento e profondo controllato. È stato infatti dimostrato che il respiro controllato con bassa frequenza e alto tidal volume migliora l'efficienza della ventilazione, aumentando la ventilazione alveolare e riducendo la ventilazione dello spazio morto e, verosimilmente, anche agendo a livello della membrana alveolo capillare, in particolare quando i liquidi interstiziali siano aumentati. Infatti, il nostro gruppo ha precedentemente mostrato i suoi benefici in soggetti con insufficienza cardiaca cronica.¹ Quindi, lo scopo dello studio era valutare se il respiro lento profondo possa migliorare l'efficienza ventilatoria in soggetti sani durante esposizione acuta all'alta quota, analizzando i suoi effetti sulla saturazione di ossigeno del sangue (SpO_2).

Ognuno dei 39 soggetti arruolati nello studio è stato sottoposto a: a) valutazione basale dopo almeno 15 minuti di riposo a frequenza respiratoria spontanea, b) 15 minuti di esercizio di respiro lento alla frequenza di 0,1 Hz (6 respiri al minuto), guidata da un metronomo digitale (RESPeRATE, Intercure Ltd, Lod, Israel), e c) 5 minuti di recupero a frequenza respiratoria spontanea. La riduzione nella frequenza respiratoria è stata ottenuta principalmente aumentando la fase espiratoria, così che il rapporto tra tempo inspiratorio ed espiratorio fosse circa 1:2. Abbiamo misurato la SpO_2 , la pressione arteriosa (BP), la frequenza cardiaca (HR) e la pressione arteriosa polmonare sistolica. È stata inoltre eseguita la misurazione transcutanea della pO_2 (ptO_2) e della pCO_2 ($ptCO_2$) (TCM4 device, Radiometer, Copenhagen, Denmark). L'esercizio di respiro lento in alta quota era





ABOVE

Prof. Gianfranco Parati
outside the Queen
Margherita Hut
(4459 m).

SOPRA

Il Prof. Gianfranco
Parati nei pressi della
Capanna Regina
Margherita
(4.459m).

after 5 minutes of recovery. The only variable which significantly predicted the increase of SpO_2 induced by slow deep breathing was the SpO_2 baseline value itself ($r=-0.38$, $p=0.017$). The results of this study were confirmed and extended in the Himalaya expedition in 2008 (see the chapter on HIGHCARE-Himalaya for details) and the results of these two studies were published jointly (Bilo *et al.* PLoS ONE 2012). These preliminary studies have thus provided important evidence supporting the immediate effects of two nonpharmacological interventions in terms of improved ventilation at high altitude. The data on more prolonged exposure from HIGHCARE-Himalaya reinforced the conclusions obtained in the context of these HIGHCARE ALPS studies, and provided further insight into the physiological mechanisms underlying the observed changes. Enriched by these initial experiences, the HIGHCARE researchers were then ready to take next steps in the study of the human body behaviour at high altitude.

associato ad un significativo aumento nella SpO_2 dal valore basale (da $80,2\pm 7,7\%$ a $89,5\pm 8,2\%$, $p<0,001$), con un significativo aumento nel PtO_2 e una significativa riduzione nel $PtCO_2$. Durante la fase di recupero tutte le variabili sono tornate ai valori basali, tranne l'ossigenazione del sangue (SpO_2 e PtO_2) che è rimasta lievemente più alta dopo i 5 minuti di recupero rispetto al basale. Una riduzione significativa nella SBP è stata osservata alla fine della seduta di respiro lento, ed i valori di SBP sono rimasti più bassi che al basale dopo il periodo di recupero. La frequenza cardiaca tendeva a ridursi durante il periodo di respiro lento, ma le modificazioni non erano significative. La pressione arteriosa polmonare era significativamente ridotta dopo i 5 minuti di recupero. L'unica variabile che prediceva significativamente l'aumento della SpO_2 indotto dal respiro lento profondo era la stessa SpO_2 basale ($r=-0,38$, $p=0,017$).

I risultati di questo studio sono stati confermati e ampliati nella spedizione in Himalaya del 2008 (vedere il capitolo HIGHCARE-Himalaya per dettagli) e i risultati di questi due studi sono stati pubblicati congiuntamente (Bilo *et al.* PLoS ONE 2012). Questi studi preliminari hanno quindi fornito importanti evidenze a supporto degli effetti immediati degli interventi non farmacologici in termini di miglioramento della ventilazione in alta quota. Il fatto che siano stati confermati e completati durante l'esposizione più lunga dello studio HIGHCARE-Himalaya rinforza le loro conclusioni, e fornisce ulteriori scorci nei meccanismi fisiologici sottesi alle modificazioni osservate. Arricchiti da queste esperienze iniziali, i ricercatori HIGHCARE erano quindi pronti per muovere i successivi passi nello studio del comportamento del corpo umano in alta quota.

1. Parati G, Malfatto G, Boarin S, Branzi G, Caldara G, Giglio A, Bilo G, Ongaro G, Alter A, Gavish B, Mancia G. Device guided paced breathing in the home setting: effects on exercise capacity, pulmonary and ventricular function in patients with chronic heart failure: a pilot study. *Circ Heart Fail* 2008;1:178–183.

HIGHCARE REFERENCES - BIBLIOGRAFIA HIGHCARE:

2. Caldara G, Bilo G, Giglio A, Riva I, Styczkiewicz K, Faini A, Susta D, Savia G, Maronati A, Modesti PA, Liuzzi A, Mancia G, Parati G. Cardiovascular effects of acute and prolonged hypobaric hypoxia in healthy subjects. *XV European Meeting on Hypertension*. Milan 2005.
3. Modesti PA, Vanni S, Morabito M, Modesti A, Marchetta M, Gamberi T, Sofi F, Savia G, Mancia G, Gensini GF, Parati G. Role of endothelin-1 in exposure to high altitude: Acute Mountain Sickness and Endothelin-1 (ACME-1) study. *Circulation*. 2006;114:1410–6.
4. Agostoni P, Caldara G, Bussotti M, Revera M, Valentini M, Gregorini F, Faini A, Lombardi C, Bilo G, Giuliano A, Veglia F, Savia G, Modesti PA, Mancia G, Parati G; on behalf of the HIGHCARE Investigators. Continuous positive airway pressure increases haemoglobin O₂ saturation after acute but not prolonged altitude exposure. *Eur Heart J*. 2010;31:457–63.
5. Bilo G, Revera M, Bussotti M, Bonacina D, Styczkiewicz K, Caldara G, Giglio A, Faini A, Giuliano A, Lombardi C, Kawecka-Jaszcz K, Mancia G, Agostoni P, Parati G, on behalf of the HIGHCARE investigators. Effects of slow deep breathing at high altitude on oxygen saturation, pulmonary and systemic hemodynamics. *PLoS ONE*. 2012;7:e49074

Queen Margherita HUT
(4559m) on Gnifetti Peak

Capanna Regina
Margherita (4.559m)
sulla Punta Gnifetti





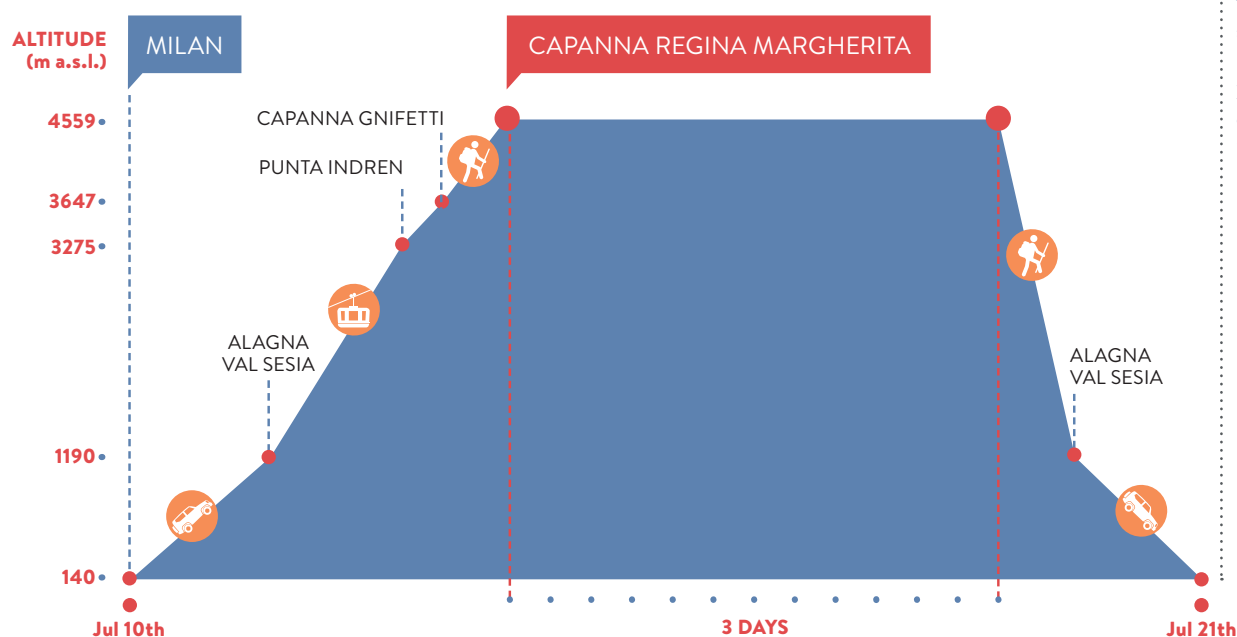
HIGHCARE-ALPS

2006

HIGHCARE-ALPS 2006

NUMBERS, FACTS AND IMAGES

HIGHCARE-ALPI 2006, Numeri, Dati e Immagini della spedizione



THE EXPEDITION

Timing, altimetry and sites.

LA SPEDIZIONE

Date, altimetria e luoghi della spedizione.

THE ROUTE - Il percorso



EXPEDITION DATA - Numeri della spedizione

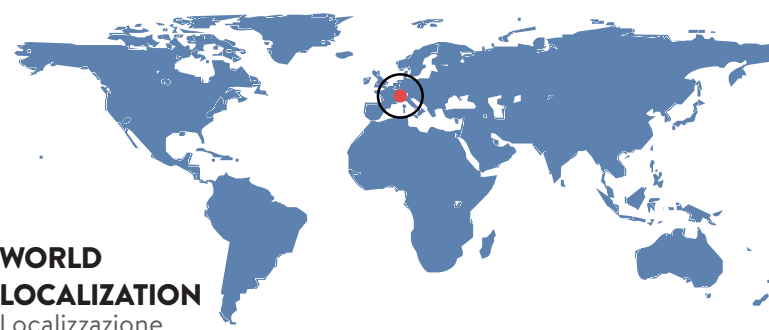
3 treatment groups

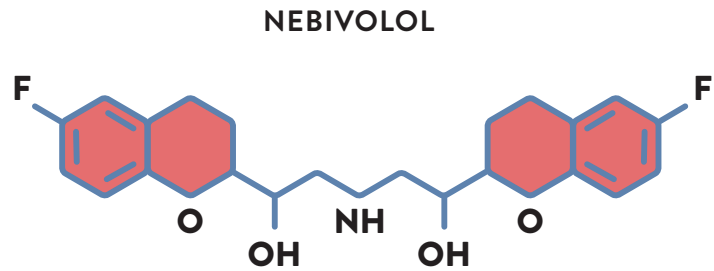
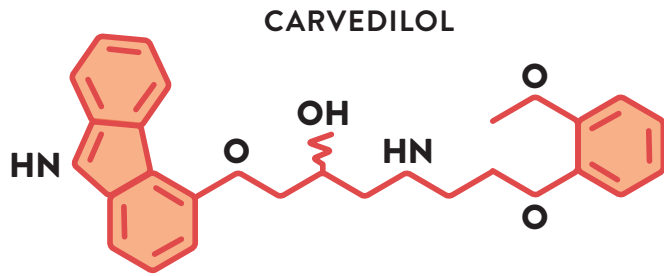
27 participants

69% lowest blood oxygen saturation registered

70 kilometers in a straight line from Milan

5964 ambulatory blood pressure readings obtained





PARTICIPANTS
Partecipanti

12
WOMEN

15
MEN

26
Y.O.

TO

62
Y.O.

METHODS - Metodi



RANDOMIZED TRIAL



**NEBIVOLOL
VS. CARVEDILOL
VS. PLACEBO**



27 HEALTHY VOLUNTEERS



**ALTITUDE EXPOSURE:
ACUTE**



**ALTITUDE(S) REACHED:
4559 M**

ASSESSMENTS - Valutazioni



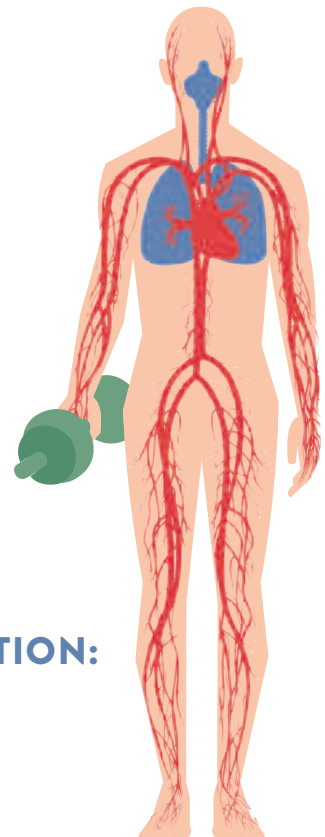
CARDIOVASCULAR:

Conventional blood pressure measurement, 24 hour ambulatory blood pressure monitoring, beat-by-beat blood pressure and pulse interval monitoring, echocardiography



**EXERCISE AND
RESPIRATORY FUNCTION:**

Cardiopulmonary exercise test



SETTING, RATIONALE AND GENERAL AIMS

SCENARIO, RAZIONALE E OBIETTIVI GENERALI



The experience gained by our group during previous expeditions to Capanna Regina Margherita on Monte Rosa led to the first pharmacological study in the framework of the HIGHCARE projects. HIGHCARE-ALPS 2006 study was performed in the very same location, during acute exposure to the altitude of 4559 metres. Its primary focus was to assess the cardiovascular effects of beta-adrenergic receptors antagonists (beta-blockers) compared with placebo at altitude. In particular, the effects of these drugs on exercise performance and on 24 hour ambulatory blood pressure were investigated in detail. The results of these studies will be discussed later in this chapter.

Beta-blockers represent a heterogeneous group of drugs with several clinical applications, mainly in cardiovascular diseases: they are commonly used in the treatment of hypertension, ischemic heart disease, cardiac arrhythmias and heart failure. The common pharmacological feature of beta-blockers used in clinical practice is their capacity to block beta-1 adrenergic receptors.

L'esperienza acquisita dal nostro gruppo durante le precedenti spedizioni alla Capanna Margherita (Monte Rosa) ci ha condotti al primo studio farmacologico nell'ambito del progetto HIGHCARE. Anche lo studio HIGHCARE-ALPS 2006 è stato condotto nella Capanna Margherita, durante esposizione acuta a 4.559 metri di altitudine. L'obiettivo primario era la valutazione degli effetti della somministrazione di antagonisti dei recettori β -adrenergici (β -bloccanti), paragonati al placebo, in tale condizione. In particolare, è stato valutato in dettaglio l'effetto di questi farmaci sulla performance durante esercizio e sulla pressione arteriosa delle 24 ore; i risultati di queste valutazioni sono discussi in dettaglio in questo capitolo.

I β -bloccanti sono una classe eterogenea di farmaci con numerose applicazioni cliniche, prevalentemente nell'ambito delle patologie cardiovascolari: sono frequentemente utilizzati nel trattamento dell'ipertensione, della cardiopatia ischemica, delle aritmie e

ABOVE

Ascent to Capanna Gnifetti.

SOPRA

Salita alla Capanna Gnifetti.

These receptors are expressed predominantly in cardiac tissue and in a normal heart they represent about 80% of all beta-adrenergic receptors. They are present both on working cardiomyocytes and in conductive cardiac tissue; thereby their stimulation affects cardiac mechanics (positive inotropic effect) as well as cardiac pacemaker function and conduction (positive chronotropic, batmotropic and dromotropic effects). Overall, the effect of their pharmacological blockade is that of reduced contractility and decreased heart rate, leading to a reduced myocardial oxygen consumption, an effect fundamental for their use in coronary artery disease and heart failure. The predominant mechanism responsible for the blood pressure lowering effect of beta-1 blockade is less clear: while a contribution of reduced cardiac output is relevant, other mechanisms seem to play an important role as well, in particular the effects on arterial baroreflex sensitivity and those on beta-1 receptors present in juxtaglomerular apparatus in the kidney.^{1,2,3}

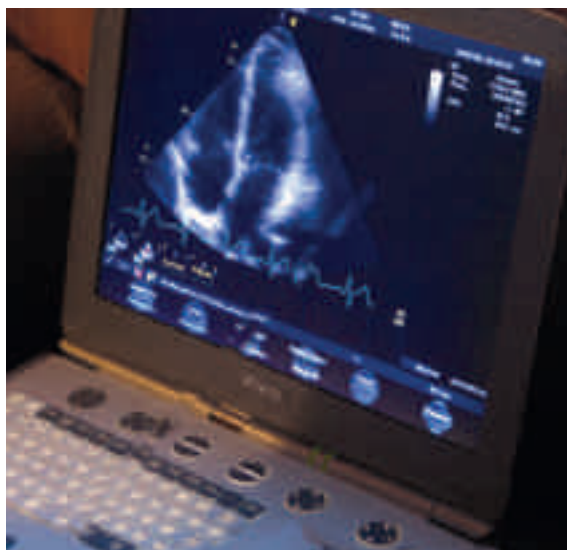
Important differences exist between different beta-blockers in terms of pharmacological features, including their selectivity for beta-1 adrenergic receptors, and additional properties. Based on these differences, a subgroup of so called “beta-blockers with vasodilatory properties” has been identified. These properties are of particular relevance in conditions where peripheral systemic vasodilation is beneficial, e.g. in arterial hypertension and in heart failure. Two such drugs are more commonly used nowadays: carvedilol and nebivolol. Carvedilol is a nonselective drug, which, apart from blocking beta-1 (and to

dell'insufficienza cardiaca. La caratteristica farmacologica comune a tutta questa classe di farmaci è la capacità di bloccare i recettori β -1 adrenergici. Questi recettori sono espressi prevalentemente a livello del tessuto cardiaco e, in un cuore normale, rappresentano circa l'80% di tutti i recettori β -adrenergici. Grazie all'espressione uniforme nel tessuto muscolare e nel tessuto di conduzione che li caratterizza, la loro attività si riflette sia sulla funzione meccanica che sulla conduzione cardiaca (effetto cronotropo, batmotropo e inotropo positivo). L'effetto globale del blocco farmacologico di questi recettori è la riduzione della contrattilità e della frequenza cardiaca, che si traduce nella riduzione del consumo cardiaco dell'ossigeno, un effetto fondamentale che viene sfruttato nella cardiopatia ischemica e nell'insufficienza cardiaca. Inoltre, il blocco dei recettori β 1 porta alla riduzione della pressione arteriosa, anche se è meno chiaro quale sia il meccanismo principalmente responsabile di questo effetto: infatti, il contributo dato dalla riduzione del *cardiac output* è rilevante, ma anche altri meccanismi sembrano essere coinvolti. In particolare, la modulazione della sensibilità del baroriflesso arterioso e l'effetto sui recettori β 1 presenti nell'apparato iuxtaglomerulare del rene.^{1,2,3}

I diversi β -bloccanti presentano caratteristiche farmacologiche significativamente differenti, tra le quali la diversa selettività per i recettori β 1 adrenergici e alcune proprietà aggiuntive (proprietà ancillari). Sulla base di queste differenze, è stato identificato un sottogruppo di β -bloccanti “con proprietà vasodilatatorie”. Nelle condizioni in cui la vasodilatazione periferica ha un effetto positivo, questa caratteristica è di grande rilevanza, per esempio nell'ipertensione arteriosa e nell'insufficienza cardiaca. Attualmente, i due principi attivi più utilizzati sono carvedilolo e nebivololo. Il carvedilolo è un β -bloccante non selettivo che, oltre a bloccare i recettori β 1 (e in parte anche i β 2), è un antagonista dei recettori adrenergici alfa 1; questa attività spiega la sua azione di vasodilatatore. Il nebivololo invece è un farmaco β 1 selettivo, con la proprietà aggiuntiva di aumentare la sintesi di acido nitrico (NO), un potente mediatore di vasodilatazione.¹ Il razionale nello studio dell'effetto dei β -bloccanti in alta quota è legato al marcato incremento nell'attività simpatica che si verifica in questa condizione, prevalentemente legato all'attivazione ipossica dei chemocettori. Questa risposta, che rappresenta un

RIGHT
Portable
echocardiograph,
Vivid I GE.

DESTRA
Ecocardiografo
portatile, Vivid I GE.



some extent also beta-2) receptors, is an antagonist of alpha1-adrenergic receptors, a mechanism responsible for its vasodilatory effect. Nebivolol, on the other hand, is a beta-1 selective drug, with an additional property of increasing the synthesis of nitric oxide (NO), a potent vasodilating mediator.¹

The potential relevance of studying the effects of beta-blockers at high altitude is related to the marked increase in sympathetic activity due to chemoreceptors activation by hypoxia, reported in this condition. On one hand, this response may contribute to blood pressure increase (see also the chapter on HIGHCARE-Himalaya study), on the other, it represents a mechanism of adaptation to environmental stress. Moreover, activation of beta-2 adrenergic receptors present in the pulmonary alveoli may favour fluid transport across the alveolar cell membrane and the benefits of beta-2 agonists in high altitude pulmonary oedema have been previously reported.^{4,5} Consequently, nonselective beta-blockers, such as carvedilol,

meccanismo di adattamento allo stress ambientale, può contribuire all'aumento nella pressione arteriosa (vedi anche il capitolo dedicato allo studio HIGHCARE-Himalaya). Dall'altra parte, però, bisogna considerare che l'attivazione dei recettori β_2 presenti negli alveoli polmonari può favorire il trasporto di fluidi attraverso la membrana alveolare; gli effetti benefici della stimolazione dei recettori β_2 nel favorire il drenaggio dei liquidi dagli alveoli e dall'interstizio sono stati precedentemente descritti.^{4,5} Di conseguenza, β -bloccanti non selettivi come per esempio il carvedilolo, possono avere effetti sfavorevoli in questo setting. Un altro aspetto importante di cui tenere conto è il ruolo giocato dalla soppressione della produzione di NO nella vasocostrizione polmonare d'alta quota (vedi capitolo sulla patologia d'alta quota); quindi, l'aumento della sua sintesi dovuto alla somministrazione di nebivololo potrebbe essere benefico.

Sono stati valutati 35 volontari sani, non

BELOW

Approaching Regina Margherita Hut from Signal Crest.

SOTTO

Avvicinamento alla Capanna Regina Margherita dalla cresta Signal.



which block not only beta-1 but also beta-2 receptors, might have unfavourable effects in this setting. On the other hand, suppressed production of NO plays an important role in the pulmonary vasoconstriction at high altitude (see chapter on high altitude pathology) and its increased synthesis due to nebivolol administration could be beneficial. Thirty-five adult, nonsmoking healthy volunteers, taking no medications were screened, and 27 of them were recruited (15 males, 12 females, mean age 39.1 ± 12.7 , range 26–62 years, body weight 66.4 ± 13.3 kg, BMI 22.0 ± 3.3 kg/m²). All subjects were sea level residents not engaged in regular endurance exercise training. Enrolled subjects were randomly assigned to double-blind treatment with placebo (n=9, one tablet b.i.d.), carvedilol (n=9, one 25 mg tablet b.i.d.), or nebivolol (n=9; one 5 mg tablet in the morning, one placebo tablet in the evening). Drugs were taken for 3 weeks before and throughout high altitude exposure. Study tests were performed: under no treatment at sea level, under treatment at sea level, and under treatment within the first 2 days of high altitude exposure. All subjects ascended in less than 30 h from sea level to the Capanna Regina Margherita (Monte Rosa, altitude 4559m), where they did not perform any relevant physical activity.

Study assessments included general laboratory investigations, vital signs, echocardiography, ambulatory blood pressure monitoring and cardiopulmonary exercise test (CPET). Occurrence and severity of acute mountain sickness was explored by computing in each subject the Lake Louise Score (LLS). Tolerability of treatment was assessed by means of an *ad hoc* questionnaire. The study was registered on clinicaltrials.gov as NCT00924833.

fumatori, che non assumevano alcuna terapia cronica; ne sono stati arruolati 27 (15 maschi, 12 femmine, età media $39,1 \pm 12,7$ anni, età 26–62 anni, peso corporeo $66,4 \pm 13,3$ kg, BMI $22,0 \pm 3,3$ kg/m²). Tutti i soggetti erano residenti a bassa quota e non praticavano regolarmente allenamento di resistenza all'esercizio fisico. I soggetti arruolati sono stati randomizzati in doppio cieco a trattamento placebo (n=9, una compressa b.i.d.), carvedilolo (n=9, una compressa da 25 mg b.i.d.), o nebivololo (n=9, una compressa da 5 mg al mattino ed una compressa di placebo la sera). I farmaci sono stati assunti nelle 3 settimane precedenti lo studio, e durante tutta l'esposizione all'alta quota. Gli esami previsti dallo studio sono stati effettuati in assenza di trattamento a livello del mare, durante assunzione di trattamento a livello del mare, durante assunzione di trattamento nei primi 2 giorni di permanenza in alta quota. Tutti i soggetti, partendo da Milano, hanno raggiunto la Capanna Regina Margherita (Monte Rosa, 4.559m di altitudine) in meno di 30 ore e, successivamente, non hanno svolto attività fisica significativa.

Gli esami previsti dallo studio comprendevano analisi di laboratorio, rilevazione dei parametri vitali, ecocardiogramma, monitoraggio ambulatorio della pressione arteriosa e test cardiopolmonare (CPET). L'insorgenza e la gravità del "male acuto di montagna" sono state valutate sottoponendo ogni soggetto al questionario per il calcolo del Lake Louise Score (LLS). La tollerabilità dei trattamenti è stata valutata tramite questionari appositamente elaborati. Lo studio è stato registrato sul sito clinicaltrials.gov con il codice NCT00924833.

1. Wachter SB, Gilbert EM. Beta-adrenergic receptors, from their discovery and characterization through their manipulation to beneficial clinical application. *Cardiology*. 2012;122:104-12. 2. Oparil S, Weber MA. *Hypertension. Companion to Brenner & Rector's The Kidney*. Elsevier Saunders. Philadelphia 2005. 3. G.Parati, E. Mutti, A. Frattola, P. Castiglioni, M. Di Rienzo, G. Mancia. β -adrenergic blocking treatment and 24-hour baroreflex sensitivity in essential hypertensive patients. *Hypertension*, 1994; 23 (part 2): 992-996 4. Paolillo S, Pellegrino R, Salvioni E, Contini M, Iorio A, Bovis F, Antonelli A, Torchio R, Gulotta C, Locatelli A, Agostoni P. Role of alveolar β_2 -adrenergic receptors on lung fluid clearance and exercise ventilation in healthy humans. *PLoS One*. 2013;8:e61877 5. Sartori C, Allemann Y, Duplain H, Lepori M, Egli M, Lipp E, Hutter D, Turini P, Hugli O, Cook S, Nicod P, Scherrer U. Salmeterol for the prevention of high-altitude pulmonary edema. *N Engl J Med*. 2002;346:1631-6.

EXERCISE AT HIGH ALTITUDE

ESERCIZIO IN ALTA QUOTA

The understanding of the effects of high altitude on exercise performance is of considerable interest, because in most individuals the exposure to this condition is associated with physical exertion, be it for sport (hiking, climbing, skiing, etc.) or for work (miners, construction workers). In fact a vast portion of high altitude research deals with exercise physiology. Several studies performed within the framework of HIGHCARE projects included assessments aimed at providing information on the physiological changes occurring in the expedition participants during exercise at high altitude. In HIGHCARE-ALPS 2006 project, exercise was the primary focus of the entire study. To that aim cardiopulmonary exercise test (CPET) was performed in all participants in different study conditions. In this paragraph we describe the results of two published analyses: one of them focused on the changes in ventilatory response to exercise at high altitude in untreated subjects, while the second addressed the effects of treatment with beta-blockers on exercise performance.

METHODS

CPETs were performed on a cyclo-ergometer (Ergometrics 100, Ergoline, Bitz, Germany) with a metabolic cart (Oxycon Mobile software v. 4.6, VIASYS Healthcare GmbH, Wurburg, Germany) at sea level, and on the second/third day at high altitude. The exercise protocol included



La comprensione degli effetti dell'alta quota sulla performance durante esercizio fisico è fondamentale, poiché la maggior parte delle persone che si espone ad alta quota pratica attività fisica per sport (escursionismo, arrampicata, sci, ecc.) o per lavoro (minatori, operai). Per questa ragione, una significativa parte della ricerca d'alta quota si occupa della fisiologia dell'esercizio. Le modificazioni fisiopatologiche che si verificano durante l'esercizio in alta quota sono state oggetto di studio in numerose spedizioni effettuate nell'ambito del progetto HIGHCARE, in particolare nello studio HIGHCARE-Alps 2006, in cui tale argomento è stato il focus primario. I partecipanti sono stati sottoposti a test cardiopolmonare (CPET) in varie condizioni sperimentali. In questo capitolo sono esposti i risultati dei due lavori finora pubblicati: il primo incentrato sulle variazioni della risposta ventilatoria all'esercizio in alta quota in soggetti non trattati, il secondo rivolto alla valutazione degli effetti del trattamento con β -bloccanti.

METODI

I CPET sono stati eseguiti con un ciclo ergometro (Ergometrics 100, Ergoline, Bitz, Germany) dotato di strumenti per la valutazione dell'assetto metabolico (Oxycon Mobile software v. 4.6, VIASYS Healthcare GmbH, Wurburg, Germany) a livello del mare e durante il secondo/terzo giorno di permanenza in alta quota. Il protocollo di esercizio consisteva in 10 minuti di monitoraggio, durante i quali i soggetti rimanevano seduti e a riposo, seguiti da 3 minuti di pedalata senza carico e successivamente da un incremento del carico di esercizio di 30W ogni 2 minuti, fino all'esaurimento muscolare. Sono stati analizzati i seguenti parametri: ventilazione respiro-a-respiro, i flussi dei gas respiratori, l'ECG, la pulsossimetria (SpO_2) ed i valori di pressione arteriosa (BP). La soglia anaerobica è stata identificata con l'analisi della relazione a V tra l'incremento del consumo di ossigeno ($\dot{V}O_2$) e la produzione di CO_2 ($\dot{V}CO_2$), e confermata con l'analisi del comportamento specifico dell' O_2 ($\dot{V}E/\dot{V}CO_2$), degli equivalenti ventilatori e delle variazioni della pressione di O_2 tele-espiratoria ($PetO_2$).¹ Il punto di compensazione respiratoria è stato identificato laddove il rapporto

LEFT

Portable monitor for haemodynamics evaluation.

SINISTRA

Monitor portatile per valutazioni emodinamiche.

10 min of monitored sitting rest, followed by 3 min of unloaded pedalling and by 30 W load increments every 2 min up to exhaustion. We have recorded breath-by-breath ventilation, respiratory gases, ECG, pulse oximetry (SpO_2) and arterial blood pressure (BP). The anaerobic threshold was identified by V-slope analysis of VO_2 and VCO_2 increases and confirmed by specific behaviours of O_2 (VE/VO_2), ventilatory equivalent and O_2 end-tidal pressure change (PetO_2).¹ The respiratory compensation point was identified when VE over VCO_2 increased and end-tidal pressure changes for CO_2 (PetCO_2) decreased;² VE/VCO_2 slope was measured from the beginning of loaded exercise to the respiratory compensation point.

VENTILATORY RESPONSE TO EXERCISE

Several mechanisms have been reported to play a role in the increase of ventilation during exercise,³ including the amount of carbon dioxide production (VCO_2), acidosis, efficiency of ventilation, gas exchange capacity and so on.^{4,5} At sea level, in an exercise performed with a progressive increase in workload, ventilation kinetics are characterized during a ramp exercise by three progressively steeper slopes; the first from the beginning of exercise to anaerobic threshold, the second from anaerobic threshold to respiratory compensation point, and the third from respiratory compensation point to peak exercise. In the second ventilation phase, body CO_2 stores are used to buffer acidosis owing to lactate production; it has been suggested that this extra CO_2 production drives the ventilation increase. It has been proposed that each ventilation increase slope is owing to the effect on ventilation of a metabolic/acid state balance specific for the exercise phase examined;⁶ however, the reverse has also been suggested.⁷ At high altitude, ventilation at rest and during exercise is higher compared with sea level due to hypoxia,⁸ but the kinetics of ventilation in this condition are not known. We investigated this issue in HIGHCARE-ALPS 2006 participants treated with placebo.

All participants were able to perform a maximal test or what they claimed was a maximal test. Peak exercise respiratory exchange ratio was 1.19 ± 0.06 at sea level and 1.17 ± 0.09 at high altitude test. PetCO_2 was always lower at high altitude. The ventilatory efficiency, measured by means of VE/VCO_2 slope, was 25 ± 2 at sea level and 38 ± 4 at Capanna Regina Margherita

ventilazione minuto/produzione di anidride carbonica (VE/VCO_2) aumentava e le modificazioni della pressione di CO_2 tele-espiratoria (PetCO_2) si riducevano;² la curva VE/VCO_2 è stata misurata dall'inizio dell'esercizio con carico fino al punto di compensazione respiratoria.

RISPOSTA VENTILATORIA ALL'ESERCIZIO

Numerosi meccanismi sono considerati responsabili dell'incremento della ventilazione durante l'esercizio,³ tra i quali la produzione di anidride carbonica (VCO_2), l'acidosi, l'efficienza ventilatoria, la capacità di scambio dei gas, ecc.^{4,5} A livello del mare, durante un esercizio eseguito con aumento progressivo del carico, la cinetica della ventilazione è caratterizzata da tre progressive fasi di pendenza della relazione VE/VCO_2 ; la prima dall'inizio dell'esercizio fino alla soglia anaerobica, la seconda dalla soglia anaerobica fino al punto di compensazione respiratoria, e la terza dal punto di compensazione respiratoria fino al picco dell'esercizio. Nella seconda fase ventilatoria, le riserve di anidride carbonica sono utilizzate per compensare l'acidosi dovuta alla produzione di lattati; è stato suggerito che questa produzione extra di CO_2 sia responsabile dell'aumento della ventilazione. È stato suggerito inoltre che ognuna di queste tre fasi della cinetica di ventilazione sia dovuta all'effetto sulla ventilazione dello stato dell'equilibrio acido/base caratteristico di ciascuna fase di esercizio esaminata;⁶ di fatto, però, è stato suggerito anche l'opposto.⁷ È noto che in alta quota la ventilazione a riposo e durante esercizio sia superiore rispetto al livello del mare a causa dell'ipossia,⁸ ma mancano dati in merito alla cinetica della ventilazione. Questo particolare aspetto è stato dunque indagato nel gruppo dei partecipanti alla spedizione HIGHCARE-ALPS 2006 trattati con placebo.

Tutti i soggetti hanno eseguito un test massimale (o hanno effettuato il più intenso esercizio possibile fino all'esaurimento muscolare). Il rapporto dello scambio respiratorio al picco dell'esercizio era $1,19 \pm 0,06$ a livello del mare e $1,17 \pm 0,09$ in alta quota. La PetCO_2 è sempre rimasta più bassa in alta quota. L'efficienza ventilatoria, misurata attraverso la pendenza della relazione VE/VCO_2 , era 25 ± 2 a livello del mare e 38 ± 4 alla Capanna Regina Margherita ($p < 0,0001$). La capacità di esercizio era minore in alta quota in termini di VO_2 raggiunta, Watts raggiunti e tolleranza allo sforzo (Tabella 1);

($p < 0.0001$). Exercise capacity was lower at high altitude in terms of VO_2 reached, Watts reached and exercise tolerance (Table 1). Indeed, exercise tolerance was 851 ± 240 s at sea level and 586 ± 180 s at high altitude ($p < 0.0001$), and Watts reached were 217 ± 64 W/s at sea level and 150 ± 39 W/s at high altitude ($p < 0.01$). The anaerobic threshold occurred earlier at high altitude (Table 1). The respiratory compensation point was superimposed to the anaerobic threshold (i.e. simultaneous increase in VE/VCO_2 , VE/VO_2 and PetO_2 and reduction in PetCO_2) in all but one participant. In this participant, the time difference between the anaerobic threshold and the respiratory compensation point was not abolished but only reduced, being 301s at sea level and 43s at high altitude. These results show that at high altitude, ventilation in a progressive exercise test has a kinetic characterized by two slopes instead of the three observed at sea level, and that the isocapnic buffering period either disappears or is significantly shortened. The second ventilation phase observed at sea level, known to be associated with the utilization of body CO_2 stores, disappeared or was greatly shortened at altitude. The disappearance at high altitude of the isocapnic buffering period is likely owing to the pre-exercise high ventilation which has reduced the CO_2 body stores available for exercise-induced acidosis buffering.⁹ This finding supports the Wasserman's⁸ hypothesis of an effect on ventilation kinetics during exercise of the metabolic/acid state balance.

EFFECTS OF BETA-BLOCKADE ON EXERCISE PERFORMANCE

Beta-blockers are known to affect exercise capacity in normoxia, mainly through a reduction in peak heart rate (HR) and cardiac output (CO) and in locomotor blood flow, but also by affecting ventilation (VE) control, mitochondrial function, lung gas diffusion and by impairing alveolar-capillary membrane diffusion in case of lung fluid increase.^{10,11,12,13} Exposure to high altitude decreases exercise performance in healthy subjects (decrease in peak exercise VO_2 , CO_2 , and HR) despite the occurrence of adaptive responses to hypoxia such as increase in resting minute ventilation and heart rate.^{14,15} Nonselective beta-adrenoreceptor blockade under acute exposure to hypoxia was reported to decrease exercise performance and without further impairing maximal O_2 uptake despite significant decrease in peak HR and CO. This suggests that, unlike with normoxic exercise, peak HR and peak CO play a minor if any role

infatti, la tolleranza allo sforzo (intesa come durata dell'esercizio) era di 851 ± 240 s a livello del mare e di 586 ± 180 s in alta quota ($p < 0.0001$), mentre i Watts raggiunti erano 217 ± 64 W/s a livello del mare e 150 ± 39 W/s in alta quota ($p < 0.01$). La soglia anaerobica era più precoce in alta quota (Tabella 1). Il punto di compensazione respiratoria era sovrapposto alla soglia anaerobica (cioè, si assisteva a un aumento simultaneo in VE/VCO_2 , VE/VO_2 e PetO_2 e alla riduzione della PetCO_2) in tutti i partecipanti tranne uno. In questo soggetto, la distanza temporale tra soglia anaerobica e punto di compensazione respiratoria non era annullata ma solo ridotta, passando da 301s a livello del mare a 43s in alta quota. Questi risultati mostrano come in alta quota la ventilazione durante uno sforzo progressivo abbia una cinetica caratterizzata da due diverse fasi invece di tre, a differenza di quanto osservato a livello del mare, e come il periodo di tampone isocapnico scompaia - o sia significativamente ridotto - in queste condizioni. La seconda fase ventilatoria osservata a livello del mare, nota per essere associata all'impiego delle riserve dell'organismo di CO_2 , sparisce - o è significativamente ridotta - in alta quota. La scomparsa del periodo di tampone isocapnico in alta quota è verosimilmente attribuibile all'iperventilazione precedente all'esercizio, con conseguente riduzione delle riserve di CO_2 dell'organismo.⁹ Questi risultati supportano l'ipotesi di Wasserman⁸ in merito all'effetto dell'equilibrio acido base sulla cinetica della ventilazione durante esercizio.

EFFETTO DEL BLOCCO DEI RECETTORI β -ADRENERGICI SULLA PERFORMANCE SOTTO SFORZO

È noto come la somministrazione di β -bloccanti riduca la capacità di esercizio in condizioni

Table 1

Exercise capacity and time to anaerobic threshold (AT) and to respiratory compensation point (RC) (* $p < 0.0001$; § $p < 0.05$ sea level vs. high altitude). (modified from Valentini M et al., *Cardiovasc Ther.* 2012²²).

Tolleranza all'esercizio e tempo alla soglia anaerobica (AT) e al punto di compenso respiratorio (RC) (* $p < 0.0001$; § $p < 0.05$ livello mare vs. alta quota). (modificata da: Valentini M et al., *Cardiovasc Ther.* 2012²²).

	SEA LEVEL	HIGH ALTITUDE
EXERCISE TOLERANCE (S)	$851 \pm 240^*$	586 ± 181
TIME TO AT (S)	$337 \pm 118^§$	256 ± 85
TIME TO RC (S)	$654 \pm 185^*$	261 ± 96
TIME DIFFERENCE BETWEEN AT AND RC (S)	$317 \pm 87^*$	5 ± 15
TIME DIFFERENCE BETWEEN AT AND PEAK EXERCISE (S)	$514 \pm 145^§$	330 ± 151
TIME DIFFERENCE BETWEEN RC AND PEAK EXERCISE (S)	$197 \pm 11^§$	324 ± 153

in preserving exercise performance at high altitude. Thus other factors, such as changes in ventilation control, mitochondrial function, lung gas diffusion, and the consequent levels of blood oxygen saturation, might be involved in determining functional capacity during hypoxic exercise at HA.^{16,17}

The objective of this study was to compare, in healthy subjects, the effects of carvedilol (nonselective; 25 mg b.i.d.) and nebivolol (highly β_1 -selective; 5 mg o.d.) versus placebo on cardiorespiratory responses to exercise performed under conditions of high altitude hypoxia, focusing on the change in peak exercise VO_2 . Changes in peak exercise ventilation, absolute peak values of VO_2 , ventilation, HR, and SpO_2 achieved in the various study conditions, PAPs values (pulmonary arterial pressure estimated by echocardiography) and Lake Louise Score of acute mountain sickness were also assessed.

No differences were observed among treatment groups at baseline. At sea level without treatment all subjects performed a maximal or near-maximal exercise with results in the normal range and with no differences among treatment groups. At sea level none of the treatments had any effect on resting and peak VO_2 , ventilation, respiratory rate (RR), SpO_2 , peak workload and peak O_2 pulse. Predictably, both β -blockers induced a comparable reduction in resting HR. There was no significant difference between carvedilol and nebivolol in HR peak as well as in HR reserve i.e. difference between peak exercise HR and resting HR at sea level. Furthermore both SBP and DBP at peak of exercise were not affected by any of the treatments and mean PAPs values did not differ among all groups. At high altitude, compared to sea level without treatment, resting SpO_2 and peak exercise workload decreased significantly with no differences among treatments.

In all groups, peak VO_2 significantly decreased at high altitude compared to sea level. Reductions in peak VO_2 versus baseline was less with nebivolol ($-22.5 \pm 8.0\%$) than with carvedilol ($-37.6 \pm 8.2\%$). The change with placebo was $-32.7 \pm 11.0\%$ (Figure 1). Resting ventilation similarly changed at high altitude in all groups, while peak ventilation was reduced ($-9.3 \pm 13.3\%$) with carvedilol, and increased ($+15.2 \pm 17.1\%$) with nebivolol ($p=0.05$). Resting respiratory rate at high altitude increased only in the placebo group, while peak respiratory rate increased only

di normossia, principalmente attraverso la riduzione della frequenza cardiaca (heart rate, HR) di picco, della gittata cardiaca (CO) e del flusso sanguigno a disposizione dell'apparato locomotore, ma anche alterando il controllo della ventilazione (VE), la funzione mitocondriale, la diffusione polmonare dei gas, e riducendo la diffusione attraverso la membrana alveolo-capillare in caso di aumento dei fluidi a livello polmonare.^{10,11,12,13} L'esposizione all'alta quota riduce la performance fisica in soggetti sani (riduzione di VO_2 , CO_2 e HR al picco dell'esercizio) nonostante la presenza di risposte adattative all'ipossia come l'aumento della HR e della ventilazione minuto a riposo.^{14,15} È stato descritto come il blocco non selettivo dei recettori β -adrenergici durante esposizione acuta all'ipossia riduca la performance durante esercizio, senza ridurre ulteriormente il massimo uptake di O_2 , nonostante una riduzione significativa nella HR e CO_2 di picco. Questo dato suggerisce che, a differenza di quanto accade durante esercizio normossico, la HR e CO_2 di picco giocano un ruolo minore, o addirittura nullo, nel preservare la performance durante esercizio in alta quota. Di conseguenza altri fattori, quali ad esempio modificazioni nel controllo della ventilazione, nella funzione mitocondriale, nella diffusione polmonare dei gas ed i conseguenti livelli di saturazione dell'ossigeno, potrebbero essere coinvolti nel determinare la capacità funzionale durante esercizio ipossico in alta quota.^{16,17}

L'obiettivo di questo studio era paragonare, in soggetti sani, l'effetto di carvedilolo (β -bloccante non-selettivo, 25mg b.i.d.) e nebivololo (altamente β_1 -selettivo; 5mg o.d.) versus placebo sulla risposta cardiorespiratoria all'esercizio, eseguito in condizioni di ipossia da alta quota, con particolare attenzione alle variazioni del VO_2 di picco. Sono state inoltre valutate le variazioni nella ventilazione al picco dell'esercizio, nei valori assoluti del picco di VCO_2 , nella ventilazione, nella HR e nella SpO_2 misurate nelle varie condizioni sperimentali, i valori di PAPs (pressione arteriosa polmonare stimata mediante ecocolorDopplergrafia cardiaca), ed il punteggio totalizzato al questionario Lake Louise Score per la valutazione del male acuto di montagna.

Non sono state osservate differenze tra i gruppi di trattamento al basale. A livello del mare senza trattamento tutti i soggetti hanno effettuato un test massimale o quasi massimale con risultati nel range della normalità, in assenza di differenze



LEFT

Cardiopulmonary exercise test in the scientific laboratory in Regina Margherita Hut.

SINISTRA

Test cardiopolmonare nelle stanze adibite a laboratorio del Rifugio Capanna Regina Margherita.

Figure 1

Upper panel: ΔVO_2 at peak of exercise CPET 1 versus 2 (A), CPET 1 versus 3 (B).

Middle panel: ΔVE at peak of exercise CPET 1 versus 2 (A), CPET 1 versus 3 (B).

Lower panel: ΔHR at peak of exercise CPET 1 versus 2 (A), CPET 1 versus 3 (B). Data are presented as mean $\pm$ SD. (modified from Valentini M et al., *Cardiovasc Ther.* 2012²²).

Sezione superiore:

ΔVO_2 al picco dell'esercizio durante CPET 1 versus 2 (A) e CPET 1 versus 3 (B).

Sezione centrale: ΔVE al picco dell'esercizio durante CPET 1 versus 2 (A) e CPET 1 versus 3 (B).

Sezione inferiore:

ΔHR al picco dell'esercizio durante CPET 1 versus 2 (A) e CPET 1 versus 3 (B). I dati sono espressi come medie $\pm$ DS.

(modificata da: Valentini M et al., *Cardiovasc Ther.* 2012²²).

with nebivolol, such a change being marginally and not significantly greater than that with carvedilol. Peak SpO_2 significantly decreased at high altitude in all groups, this decrease being larger in active treatment groups ($-22.2 \pm 3.7\%$ for carvedilol, $-21.2 \pm 3.5\%$ for nebivolol) than with placebo ($-17.6 \pm 1.9\%$, $p < 0.05$). The reduction in resting HR observed at sea level with carvedilol persisted at high altitude, while it was less pronounced with nebivolol. Reduction in peak HR between sea level and high altitude was significantly larger with carvedilol than with either nebivolol ($p < 0.05$) or placebo ($p < 0.01$), without differences between placebo and nebivolol. Consequently, at high altitude, HR at peak exercise was lower with carvedilol compared to nebivolol (Figure 1).

The VE/VCO_2 slope as well as the VE/VO_2 ratio at the anaerobic threshold increased at HA with no treatment effect as a result of an increase in ventilation. Only the variation in peak ventilation independently predicted changes in peak VO_2 between sea level and high altitude in multivariate analysis ($R = 0.62$, $p < 0.01$). No differences between groups were observed in PAPs or in LLS at high altitude.

These results indicate that, under acute exposure to high altitude hypoxia, exercise performance is better preserved with nebivolol than with carvedilol, despite similarly increased PAPs and comparable LLS. Since at high altitude muscle metabolism is even more dependent on O_2 availability than at sea level, exercise capacity

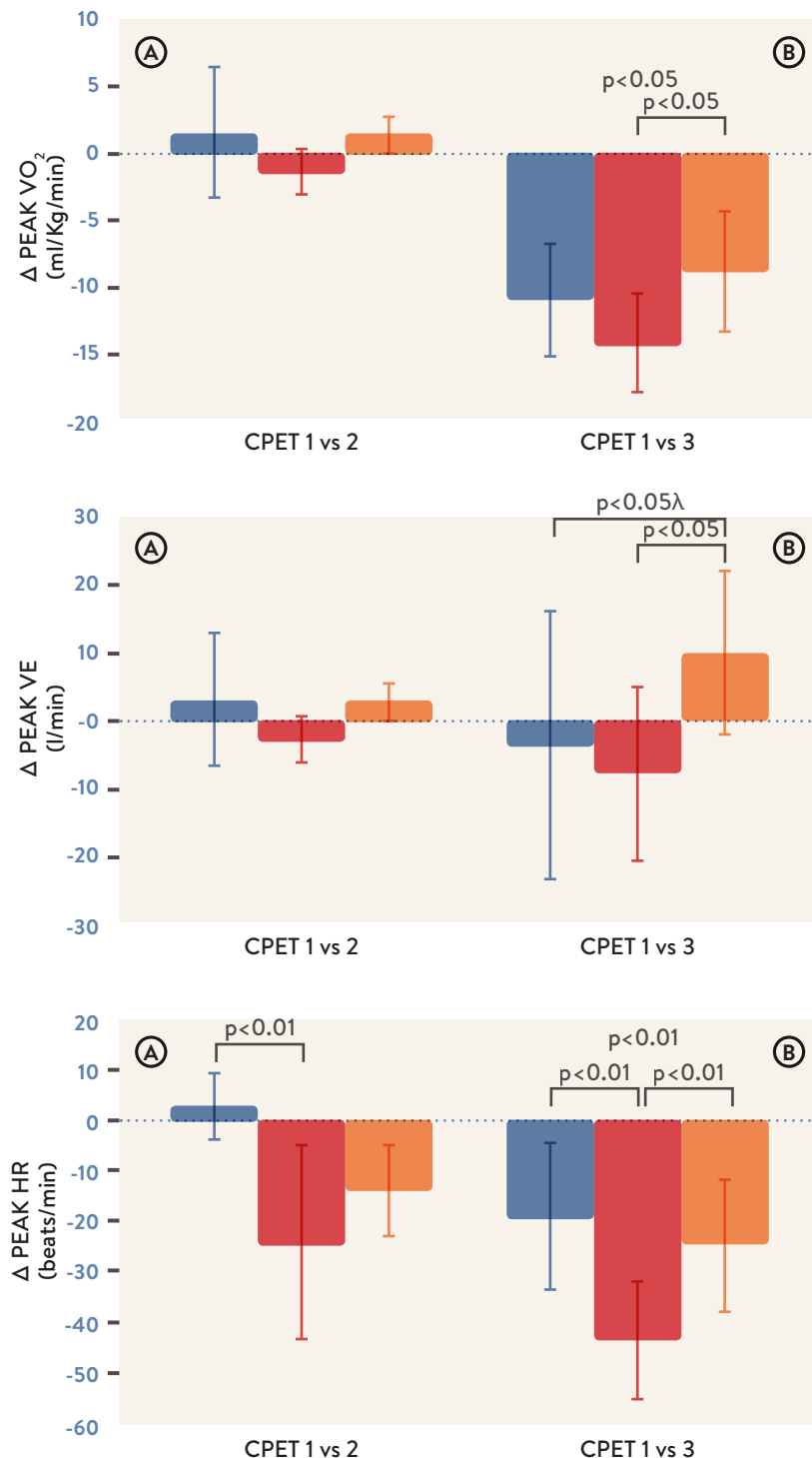
tra i gruppi di trattamento. A livello del mare nessuno dei trattamenti sperimentali ha avuto alcun effetto su VO_2 , ventilazione, frequenza respiratoria (RR), SpO_2 , sia a riposo che di picco, nè sul carico di lavoro massimo raggiunto nè sul polso dell' O_2 di picco. Come ci si aspettava, entrambi i β -bloccanti hanno similmente ridotto la FC a riposo. Non sono state riscontrate differenze significative tra carvedilolo e nebivololo nella HR di picco nè nella riserva di HR (differenza tra HR al picco dell'esercizio e a riposo) a livello del mare. Inoltre, sia SBP che DBP al picco dell'esercizio non erano influenzate da nessuno dei trattamenti, ed i valori di PAPs media non erano differenti tra i gruppi. In alta quota, rispetto a livello del mare in assenza di trattamento, la SpO_2 a riposo ed il carico di esercizio massimo tollerato si sono ridotti significativamente, senza differenze tra i trattamenti.

In entrambi i gruppi la VO_2 di picco si è significativamente ridotta in alta quota rispetto al livello del mare. La riduzione nella VO_2 di picco rispetto al basale era minore con nebivololo ($-22,5 \pm 8,0\%$) che con carvedilolo ($-37,6 \pm 8,2\%$). La variazione con placebo è stata $-32,7 \pm 11,0\%$ (Figura 1). Allo stesso modo, anche la ventilazione a riposo è cambiata in tutti i gruppi, mentre la ventilazione di picco era ridotta ($-9,3 \pm 13,3\%$) con carvedilolo ed aumentata ($+15,2 \pm 17,1\%$) con nebivololo ($p = 0,05$). La frequenza respiratoria a riposo è aumentata solo nel gruppo placebo, mentre

might have been affected by the amount of O_2 made available to the mitochondria.^{18,19} With ventilation unable to maintain arterial haemoglobin oxygen saturation, reduced O_2 flow to the mitochondria will inevitably reduce the capacity to exercise. This possibility is supported by the finding that the reduction in peak VO_2 at HA was independently predicted only by changes in peak VE. Furthermore, the best exercise ventilation was observed in the treatment group with best preserved

la frequenza respiratoria di picco è aumentata solo con nebulololo, ed in modo marginale e non significativamente maggiore che con carvedilolo. La SpO_2 di picco si è significativamente ridotta in alta quota in tutti i gruppi, in modo più marcato nei due gruppi in trattamento attivo ($-22,2 \pm 3,7\%$ per il carvedilolo, $-21,2 \pm 3,5\%$ per il nebulololo) rispetto al gruppo placebo ($-17,6 \pm 1,9\%$, $p < 0,05$) (Figura 1). La riduzione nella HR ottenuta a livello del mare con carvedilolo si è mantenuta anche durante esposizione ad alta quota, mentre era meno evidente col nebulololo. La riduzione nella HR di picco tra il livello del mare e l'alta quota era significativamente maggiore con carvedilolo e nebulololo ($p < 0,05$) rispetto a placebo ($p < 0,01$), senza differenze tra placebo e nebulololo. Di conseguenza, in alta quota, la HR al picco dell'esercizio era più bassa con carvedilolo rispetto a nebulololo. La pendenza della relazione VE/VCO_2 , come anche la relazione VE/VCO_2 alla soglia anaerobica, sono aumentate in alta quota nel gruppo placebo, come risultato dell'aumento nella ventilazione. Solo la variazione nella ventilazione di picco prediceva indipendentemente le variazioni nella VO_2 di picco tra il livello del mare e l'alta quota nelle analisi multivariate ($R = 0,62$, $p < 0,01$). Non sono state osservate differenze tra i gruppi per quanto riguarda PAPs o LLS in alta quota.

Questi risultati indicano che durante esposizione acuta ad alta quota, la performance sotto sforzo è meglio preservata con nebulololo che con carvedilolo, nonostante un incremento nella PAPs e LLS simile nei due gruppi. Poiché il metabolismo muscolare in alta quota è ancora più dipendente dalla disponibilità di O_2 di quanto non sia a livello del mare, la capacità di esercizio può essere ridotta dalla quantità di O_2 disponibile per il metabolismo mitocondriale.^{18,19} Infatti, dato che in questa condizione la ventilazione è incapace di mantenere la saturazione di ossigeno dell'emoglobina, la riduzione del flusso di O_2 ai mitocondri ridurrà inevitabilmente la capacità di esercizio. Questa ipotesi è confermata dall'osservazione che la riduzione nella VO_2 di picco in alta quota era predetta indipendentemente solo dalle variazioni nella VE di picco. Inoltre, la migliore ventilazione durante esercizio è stata osservata nel gruppo di trattamento con capacità di esercizio durante ipossia più conservata, senza differenze a riposo. Infine, poiché il muscolo scheletrico esprime prevalentemente recettori β_2 -adrenergici e dato che tali recettori mediano sia la



exercise capacity under hypoxia, with no resting differences. Moreover, since the skeletal muscle predominantly expresses β 2-adrenoreceptors and as such receptors mediate both the mitochondrial biogenesis and activity triggered by exercise, a nonselective β -blocker like carvedilol might have affected exercise capacity also by attenuating such mitochondrial adaptations.²⁰

In patients with heart failure, β -blockade may improve exercise capacity and this effect may depend on an improvement in ventilatory efficiency during exercise.²¹ However, whereas a decrease of exercise-induced hyperventilation can be beneficial in normoxia, it may be counterproductive when exercising in hypoxia. Although at high altitude we observed a similar decrease in ventilatory efficiency among treatments, nebivolol-treated subjects showed a better preserved exercise performance (higher peak VO_2), which was associated with higher peak ventilation. Our data might thus be clinically relevant in selecting the type of β -blocker to be used in cardiac patients, especially if travelling to altitude. Nebivolol may be preferred to carvedilol whenever hypobaric hypoxia exposure is expected. This suggestion might also apply at sea level, in the case of significant lung diffusion impairment secondary to interstitial oedema, when preserving β -2 mediated alveolar fluid clearance is crucial.

biogenesi che l'attività mitocondriale indotta da esercizio, un β -bloccante non selettivo come il carvedilolo potrebbe avere influenzato la capacità di esercizio anche attenuando questo adattamento mitocondriale.²⁰

In pazienti affetti da insufficienza cardiaca la somministrazione di β -bloccanti può migliorare la capacità di esercizio, e tale effetto può dipendere da un miglioramento nell'efficienza ventilatoria durante esercizio.²¹ Comunque, sebbene una riduzione dell'iperventilazione indotta dall'esercizio possa essere favorevole in condizioni di normossia, essa può essere controproducente in condizioni di ipossia. Per quanto in alta quota si osservi una riduzione nell'efficienza ventilatoria simile nei gruppi di trattamento, i soggetti che assumevano nebivololo hanno mostrato una performance durante esercizio più conservata (maggiore picco di VO_2), associata ad un picco della ventilazione più alto. I nostri dati possono quindi fornire uno strumento per selezionare il tipo di β -bloccante da prescrivere a pazienti cardiologici, in particolare se frequentemente esposti all'alta quota. Infatti, qualora si preveda un'esposizione ad alta quota, il nebivololo sembra essere preferibile al carvedilolo. Questa informazione può anche essere utile per l'impiego a livello del mare, in caso di significativa riduzione nella diffusione polmonare secondaria ad edema interstiziale, quando risulta cruciale preservare la rimozione dei fluidi mediata dai recettori di tipo β -2.

1. Piepoli M, Corrà U, Agostoni P, Belardinelli R, Cohen Solal A, Hambrecht R, Vanhees L. Statement on cardiopulmonary exercise testing in chronic heart failure due to left ventricular dysfunction: recommendation for performance and interpretation. Part I definition of cardiopulmonary exercise testing parameters for appropriate use in chronic heart failure. *Eur J Cardiol Rehabil* 2006; 13:150–164. 2. Wasserman K. Breathing during exercise. Physiology in medicine series. *N Engl J Med* 1978; 298:780–785. 3. Hermansen L, Saltin B. Oxygen uptake during maximal exercise treadmill and bicycle exercise. *J Appl Physiol* 1969; 26:31–37. 4. Jankowska E, Witkowski T, Ponikowska B, Reczuch K, Borodulin-Nadzieja L, Anker S, et al. Excessive ventilation during early phase of exercise. A new predictor of poor long-term outcome in patients with chronic heart failure. *Eur J Heart Fail* 2007; 9:1024–1031. 5. Piepoli M, Ponikowski P, Clark AL, Banasiak W, Capucci A, Coats AJ. A neural link to explain the 'muscle hypothesis' of exercise intolerance in chronic heart failure. *Am Heart J* 1999; 137:1050–1056. 6. Wasserman K, Hansen JE, Sue DY, Casaburi R, Whipp BJ. Principles of exercise testing and interpretation. 4th ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins; 2005. pp. 10–65. 7. Péronnet F, Aguilaniu B. Lactic acid buffering, non metabolic CO2 and exercise hyperventilation: a critical reappraisal. *Respir Physiol Neurobiol* 2006; 150:4–18. 8. Sato M, Severinghaus JW, Powel FL, Xu FD, Spellman MJ Jr. Augmented hypoxic ventilatory response in men at high altitude. *J Appl Physiol* 1992; 73:101–107. 9. Mortola JP. Ventilatory response to hypoxia in mammals. In: Haddad GG, Lister G, editors. Tissue oxygen deprivation. From Molecular to integrated function. Marcel Dekker, Inc.; 1996. pp. 433–477. 10. Agostoni P, Contini M, Magini A, et al. Carvedilol reduces exercise-induced hyperventilation: A benefit in normoxia and a problem with hypoxia. *Eur J Heart Fail* 2006; 8:729–735. 11. Agostoni P, Palermo P, Contini M. Respiratory effects of beta-blocker therapy in heart failure. *Cardiovasc Drugs Ther* 2009; 23:377–384. 12. Gullestad L, Hallen J, Medbo JJ, Gronnerod O, Holme I, Sejersted OM. The effect of acute vs chronic treatment with beta-adrenoceptor blockade on exercise performance, haemodynamic and metabolic parameters in healthy men and women. *Br J Clin Pharmacol* 1996; 41:57–67. 13. Beloka S, Gujic M, Deboeck G, et al. Beta-adrenergic blockade and metabochemo-reflex contributions to exercise capacity. *Med Sci Sports Exerc* 2008; 40:1932–1938. 14. Mollard P, Woorons X, Letournel M, et al. Determinant factors of the decrease in aerobic performance in moderate acute hypoxia in women endurance athletes. *Respir Physiol Neurobiol* 2007; 159:178–186. 15. Lawler J, Powers SK, Thompson D. Linear relationship between VO_2 max and VO_2 max decrement during exposure to acute hypoxia. *J Appl Physiol* 1988; 64:1486–1492. 16. Mollard P, Woorons X, Letournel M, Cornolo J, Lamberto C, Beaudry M, Richalet JP. Role of maximal heart rate and arterial O2 saturation on the decrement of VO_2 max in moderate acute hypoxia in trained and untrained men. *Int J Sports Med* 2007; 28:186–192. 17. Gavin TP, Derchak PA, Stager JM. Ventilation's role in the decline in VO_2 max and SaO_2 in acute hypoxic exercise. *Med Sci Sports Exerc* 1998; 30:195–199. 18. Calbet JA, Lundby C. Air to muscle O2 delivery during exercise at altitude. *High Alt Med Biol* 2009; 10:123–134. 19. Hoppeler H, Vogt M, Weibel ER, Fluck M. Response of skeletal muscle mitochondria to hypoxia. *Exp Physiol* 2003; 88:109–119. 20. Robinson MM, Hamilton KL, Miller BF. The interactions of some commonly consumed drugs with mitochondrial adaptations to exercise. *J Appl Physiol* 2009; 107:8–16. 21. Agostoni P, Apostolo A, Cattadori G, et al. Effects of beta-blockers on ventilation efficiency in heart failure. *Am Heart J* 2010; 159:1067–1073

HIGHCARE REFERENCES - BIBLIOGRAFIA HIGHCARE:

22. Valentini M, Revera M, Bilo G, Caldara G, Savia G, Styczkiewicz K, Parati S, Gregorini F, Faini A, Branzi G, Malfatto G, Magri D, Agostoni P, Parati G. Effects of beta-blockade on exercise performance at high altitude: a randomized, placebo-controlled trial comparing the efficacy of nebivolol versus carvedilol in healthy subjects. *Cardiovasc Ther*. 2012 Aug;30(4):240–8.

BLOOD PRESSURE

PRESSIONE ARTERIOSA

RIGHT

Conventional and beat-to-beat arterial blood pressure measurement.

DESTRA

Misurazione convenzionale e battito-a-battito della pressione arteriosa.

Exposure to high altitude is associated with a number of environmental stimuli such as low temperature, psychophysical stress and, in particular, hypoxia, which can stimulate the sympathetic nervous system. Hypoxia is a potent sympathetic activator via stimulation of the peripheral chemoreceptors, as demonstrated by the increase in heart rate and plasma norepinephrine, observed in this condition. Changes in blood pressure are less evident, especially in the early phase of exposure to high altitude, when the direct vasodilatory effect of hypoxia may prevail.

In the blood pressure study HIGHCARE-ALPS 2006 we hypothesized that a pharmacological blockade of adrenergic system with beta-blockers may have important consequences in terms of blood pressure responses to high altitude exposure. In contrast to a study performed previously,¹ where the short-acting beta-blocker propranolol was used (currently less frequently used in clinical practice), we investigated the effects of two vasodilating beta-blockers, carvedilol and nebivolol, hypothesizing that the differences in their pharmacological properties might translate into significant differences in clinical effects.

The details of study design have been described above. Blood pressure was measured with conventional technique by a validated oscillometric device (OMRON M5-I; Omron, Tokyo, Japan) and through 24 h ambulatory blood pressure monitoring (ABPM). Conventional blood pressure and HR were measured twice in seated position after 5 min rest and the average of the two measurements was used. Twenty-four-hour ABPM was performed using a validated oscillometric device (TM2430; A&D, Tokyo, Japan) applied on the nondominant arm in the morning and removed the following morning. For other information on blood pressure measurement in HIGHCARE projects see Box "Blood pressure measurement in HIGHCARE projects". The primary outcome of this study was the difference in mean 24 h ambulatory systolic blood pressure between treatment groups at high altitude (CRM). Three participants were excluded from



L'esposizione all'alta quota sottopone l'organismo a numerose sollecitazioni ambientali, quali la riduzione nella temperatura, lo stress psicofisico e, soprattutto, l'ipossia. Quest'ultima rappresenta un potente attivatore del sistema simpatico ed esplica la propria azione mediante la stimolazione dei chemocettori, come dimostrato dall'incremento nella frequenza cardiaca. Le variazioni nella pressione arteriosa sono meno evidenti, specialmente nelle fasi più precoci dell'esposizione, quando può prevalere l'effetto diretto di vasodilatazione ipossica.

Nella sezione dello studio HIGHCARE-ALPS 2006 dedicata alla pressione arteriosa, abbiamo ipotizzato che il blocco farmacologico del sistema adrenergico con farmaci β -bloccanti possa influenzare significativamente la risposta pressoria all'esposizione ad alta quota. Contrariamente a quanto fatto in uno studio precedente,¹ nel quale era stato utilizzato il propranololo, un β -bloccante con emivita breve (oramai virtualmente "escluso" dalla pratica clinica), nel nostro progetto abbiamo

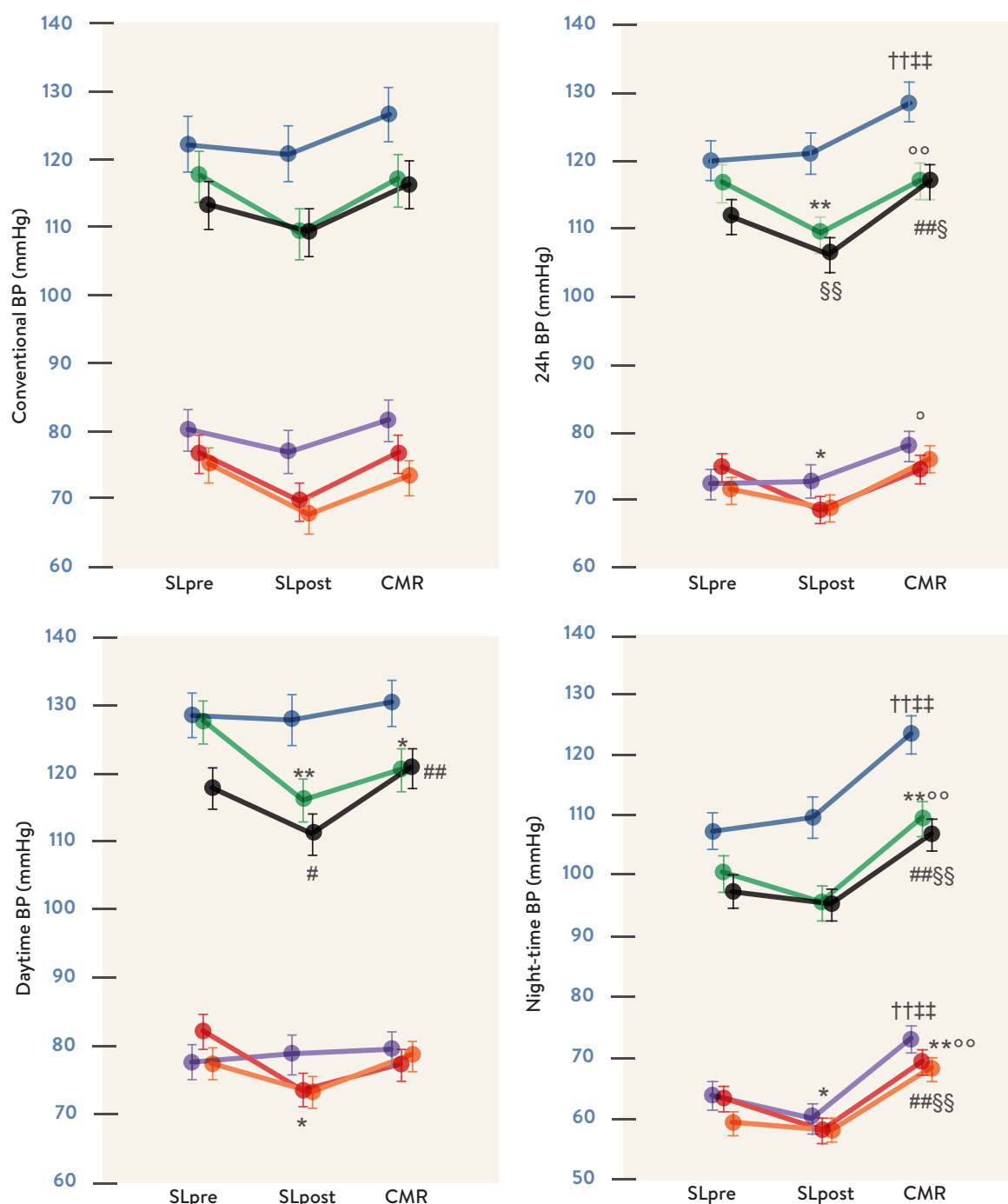


Figure 1

SBP Placebo
SBP Carvedilol
SBP Nebivolol
DBP Placebo
DBP Carvedilol
DBP Nebivolol

Least square means $\pm$ SE of conventional, 24 h, daytime and night-time blood pressure (BP, mmHg) in the three study groups. Data adjusted for age, sex and body mass index (BMI) (modified from: Bilo G et al. *J.Hypertens* 2011²).

Media dei minimi quadrati $\pm$ ES della pressione arteriosa (BP, mmHg) convenzionale, delle 24 ore, diurna e notturna nei tre gruppi in studio. I dati sono aggiustati per età, sesso e indice di massa corporea (BMI) (modificata da: Bilo G et al. *J.Hypertens* 2011²).

Placebo group:
†† - $p < 0.01$ vs. SLpre;
- $p < 0.01$ vs. SLpost;
Carvedilol group:
* - $p < 0.05$ vs. SLpre;
** - $p < 0.01$ vs. SLpre;
° - $p < 0.05$ vs. SLpost;
°° - $p < 0.01$ vs. SLpost; Nebivolol group:
§ - $p < 0.05$ vs. SLpre; §§ - $p < 0.01$ vs. SLpre; ## - $p < 0.01$ vs. SLpost.

the analysis because of elevated baseline ambulatory blood pressure or poor ABPM quality and thus 24 subjects were considered (8 on carvedilol, 9 on nebivolol and 7 on placebo). There were no significant differences in clinical characteristics among the groups at the beginning of the study. Both beta-blockers significantly reduced 24-h and daytime blood pressure at sea level (with a minor influence on night-time blood pressure), whereas no changes were seen in the placebo group. Compared with placebo, after adjustment for baseline values, systolic/diastolic blood

valutato gli effetti di altri due β -bloccanti vasodilatatori, carvedilolo e nebivololo, ipotizzando che le differenze nelle loro proprietà farmacologiche potessero tradursi in significative differenze nell'effetto clinico.

Il disegno dello studio è stato descritto in dettaglio nella parte introduttiva della spedizione. La pressione arteriosa è stata misurata con tecnica convenzionale utilizzando uno strumento oscillometrico validato (OMRON M5-I; Omron, Tokyo, Japan) e mediante monitoraggio ambulatorio della

Figure 2

- Placebo
- Carvedilol
- Nebivolol

Least square means $\pm$ SE of nocturnal fall of systolic blood pressure (BP, mmHg) in the three study groups. Data adjusted for age, sex and body mass index (BMI) (modified from: Bilo G et al. *J.Hypertens* 2011²).

Media dei minimi quadrati $\pm$ ES della caduta notturna della pressione arteriosa (BP, mmHg) nei tre gruppi in studio. I dati sono aggiustati per età, sesso e indice di massa corporea (BMI) (modificata da: Bilo G et al. *J.Hypertens* 2011²).

Placebo group: †† - $p < 0.01$ vs. SLpre; ‡ - $p < 0.05$ vs. SLpost; Carvedilol group: ** - $p < 0.01$ vs. SLpre; °° - $p < 0.01$ vs. SLpost; Nebivolol group: § - $p < 0.05$ vs. SLpre.

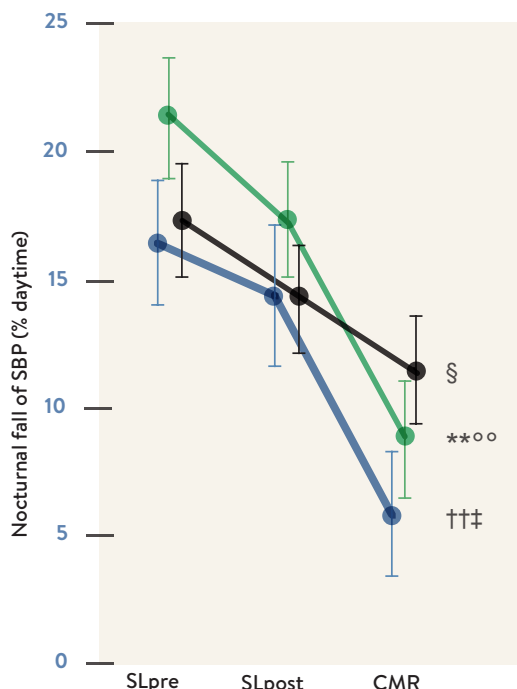


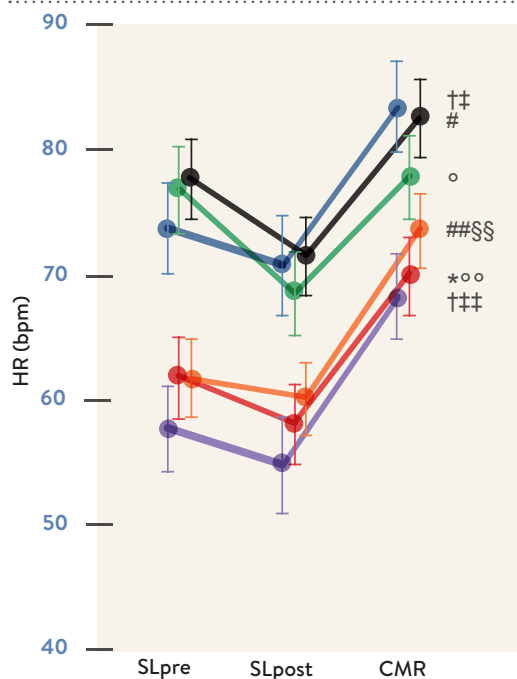
Figure 3

- Day HR Placebo
- Day HR Carvedilol
- Day HR Nebivolol
- Night HR Placebo
- Night HR Carvedilol
- Night HR Nebivolol

Least square means $\pm$ SE of daytime and night-time HR (bpm) in the three study groups. Data adjusted for age, sex and body mass index (BMI) (modified from: Bilo G et al. *J.Hypertens* 2011²).

Media dei minimi quadrati $\pm$ ES della frequenza cardiaca (HR, bpm) diurna e notturna nei tre gruppi in studio. I dati sono aggiustati per età, sesso e indice di massa corporea (BMI) (modificata da: Bilo G et al. *J.Hypertens* 2011²).

Placebo group: † - $p < 0.05$ vs. SLpre; ‡ - $p < 0.05$ vs. SLpost; †† - $p < 0.01$ vs. SLpost; Carvedilol group: * - $p < 0.05$ vs. SLpre; ° - $p < 0.05$ vs. SLpost; °° - $p < 0.01$ vs. SLpost; Nebivolol group: § - $p < 0.05$ vs. SLpre; # - $p < 0.05$ vs. SLpost; ## - $p < 0.01$ vs. SLpost.



pressure was lower by 10.0/7.1 mmHg with carvedilol ($p=0.01$ and $p=0.07$, respectively), and by 8.3/3.2 mmHg with nebivolol ($p=0.07$ and $p=0.36$, respectively) (Figure 1).

At high altitude, 24-h blood pressure increased in all groups (compared with on-treatment values at sea level) and this increase was mainly driven by a marked elevation in night-time blood pressure, whereas daytime blood pressure increased only in participants on nebivolol (reaching significance for systolic blood pressure only). This translated into a

pressione arteriosa delle 24 ore (ABPM). La pressione arteriosa convenzionale e la FC sono state misurate due volte, in posizione seduta e dopo 5 minuti di riposo; per le analisi è stata utilizzata la media delle due misurazioni. L'ABPM delle 24 ore è stato eseguito utilizzando uno strumento oscillometrico validato (TM2430; A&D, Tokyo, Japan), applicato al braccio non dominante di mattina e rimosso la mattina seguente. Ulteriori informazioni sulla misurazione della pressione nei progetti HIGHCARE sono illustrate nel Box "Misurazione della pressione arteriosa nei progetti HIGHCARE". L'outcome primario di questo studio era la differenza nella pressione ambulatoria media delle 24 ore tra i gruppi di trattamento in alta quota (CRM).

Tre partecipanti sono stati esclusi dall'analisi a causa di elevati valori pressori al basale o per scarsa qualità della registrazione dell'ABPM, quindi complessivamente sono stati considerati 24 soggetti (8 in terapia con carvedilolo, 9 con nebivololo e 7 in placebo). Non sono state riscontrate differenze significative nelle caratteristiche cliniche basali dei gruppi all'inizio dello studio. Entrambi i β -bloccanti hanno significativamente ridotto la pressione nelle 24 ore e la pressione diurna a livello del mare (con una influenza minore sulla pressione notturna), mentre non sono state osservate variazioni nel gruppo placebo. In confronto al placebo, dopo aggiustamento per i valori basali, la pressione delle 24 ore - sia diastolica che sistolica - era minore di 10,0 $\pm$ 7,1 mmHg nel gruppo in carvedilolo (rispettivamente $p=0,01$ e $p=0,07$), e di 8,3 $\pm$ 3,2 mmHg nel gruppo in nebivololo (rispettivamente $p=0,07$ e $p=0,36$) (Figura 1).

In alta quota si è osservato un aumento della pressione delle 24 ore in tutti i gruppi (rispetto ai valori in trattamento a livello del mare), dovuto principalmente ad una marcata elevazione della pressione notturna; esclusivamente nel gruppo in nebivololo è stato osservato un aumento della pressione diurna (che ha raggiunto la significatività statistica solo per la pressione sistolica). Ciò si è tradotto in una riduzione della caduta notturna della pressione arteriosa in alta quota rispetto al livello del mare in entrambi i gruppi, in modo minore nel gruppo in nebivololo (Figura 2). La differenza nei valori di pressione arteriosa aggiustata era 9,4 $\pm$ 6,0 mmHg (rispettivamente $p=0,01$ e $p=0,11$) nel gruppo in carvedilolo e 5,1 $\pm$ 1,7 mmHg (rispettivamente $p=0,18$ e $p=0,59$) nel gruppo in nebivololo. Andamenti simili sono



decrease in nocturnal blood pressure fall at high altitude compared with sea level values in all groups, less pronounced in the nebivolol group (Figure 2). The adjusted systolic/diastolic day-night blood pressure differences compared with placebo were 9.4 /6.0 mmHg ($p=0.01$ and $p=0.11$, respectively) in the carvedilol group and 5.1/1.7 mmHg ($p=0.18$ and $p=0.59$, respectively) in the nebivolol group. Similar patterns were seen for daytime blood pressure, while nocturnal blood pressure values at high altitude were almost identical in the nebivolol and carvedilol group. The nocturnal blood pressure fall tended to be less reduced in the nebivolol group compared with the placebo and carvedilol groups and consequently, the rate of nondippers (i.e. those with nocturnal fall $<10\%$) tended to be lower in the nebivolol group (33%) compared with placebo (71%, $p=0.065$) and carvedilol (62%, $p=0.220$) groups.

Conventional blood pressure values were similar to the 24-h ones in all groups but the differences were not statistically significant. Conventional, 24-h and daytime HR tended to be lower in participants on beta-blockers, but again the differences were not significant (Figure 3). The use of beta-blockers (in particular of carvedilol) was associated with higher side effects score, lower SpO_2 and worse exercise performance (see above). In summary, our study demonstrated that

stati osservati nella pressione diurna, mentre i valori di pressione notturna in alta quota erano quasi identici nel gruppo in nebivololo e carvedilolo. La riduzione nella caduta notturna della pressione tendeva a essere minore nel gruppo in nebivololo, sia rispetto al placebo che al carvedilolo; la proporzione di “non dipper” (per es. coloro nei quali la riduzione notturna dei valori pressori era $<10\%$) tendeva quindi a essere minore nel gruppo in nebivololo (33%) rispetto ai gruppi placebo e carvedilolo (rispettivamente 71%, $p=0,065$ e 62%, $p=0,220$).

I valori di pressione arteriosa convenzionale erano simili a quelli misurati nelle 24 ore in tutti i gruppi, ma le differenze non erano statisticamente significative. La frequenza cardiaca convenzionale, delle 24 ore e diurna, era tendenzialmente più bassa nei soggetti in β -bloccante, pur senza aver raggiunto la significatività (Figura 3). L'uso di β -bloccanti (in particolare carvedilolo) era associato con maggiore incidenza di effetti collaterali, SpO_2 più bassa e peggiore performance fisica sotto sforzo.

In conclusione, il nostro studio ha dimostrato come, in soggetti giovani o di mezza età, sia la pressione arteriosa che la frequenza cardiaca aumentino significativamente durante una permanenza relativamente breve (2-3 giorni) in alta quota. Questa variazione è particolarmente

ABOVE

Arterial tonometry in Queen Margherita Hut.

SOPRA

Tonometria arteriosa alla Capanna Regina Margherita.

in healthy young or middle-aged individuals ambulatory blood pressure and HR significantly increases during a relatively short (2–3 days) permanence at high altitude. This increase was mainly evident during night-time, leading to a reduced degree of nocturnal blood pressure fall than at sea level. Both a highly selective (nebivolol) and a nonselective (carvedilol) vasodilating beta-blocker used in our study exerted an expected significant blood pressure-lowering effect at sea level. At high altitude, carvedilol fully maintained the blood pressure-lowering effect achieved at sea level, and thus 24-h blood pressure remained significantly lower in participants taking carvedilol than placebo. In contrast, at high altitude nebivolol lost some of the antihypertensive effect seen at sea level with a particularly marked increase in blood pressure during daytime. Conversely, the increase in night-time systolic blood pressure at high altitude with nebivolol was less pronounced than in placebo or carvedilol group with a lower proportion of participants who shifted to a non-dipping pattern.

Thus, both vasodilating beta-blockers used in our study may partly counteract the increases in BP and HR at high altitude, with carvedilol being more potent than nebivolol. On the other hand these drugs have limited tolerability, with nebivolol being better tolerated than carvedilol at high altitude. This information may have practical implications in patients using beta-blockers because of their clinical condition who plan high altitude exposure. This may be particularly relevant in patients with hypertension or heart failure, where both carvedilol and nebivolol are recommended.

evidente durante le ore notturne, con la conseguenza di una ridotta caduta notturna della pressione arteriosa rispetto al livello del mare. Entrambi i β -bloccanti vasodilatatori usati nel nostro studio, cioè nebivololo (estremamente selettivo) e carvedilolo (non selettivo), hanno significativamente ridotto la pressione arteriosa a livello del mare. In alta quota il carvedilolo ha mantenuto intatta la sua efficacia; infatti, nei soggetti che lo assumevano, la pressione arteriosa delle 24 ore è stata significativamente più bassa che nei soggetti del gruppo placebo. Il nebivololo invece si è rivelato meno efficace in alta quota che a livello del mare, in particolare nel controllo della pressione diurna.

L'incremento nella pressione arteriosa notturna si è rivelato meno pronunciato nei pazienti del gruppo in nebivololo rispetto a quelli in placebo o carvedilolo; inoltre, nei pazienti del gruppo nebivololo, è stata osservata una minore percentuale di soggetti che sono passati a un pattern pressorio notturno di "non dipper". Quindi, entrambi i β -bloccanti impiegati nel nostro studio possono contrastare l'incremento di HR e BP che si verifica in alta quota, il carvedilolo in misura maggiore rispetto al nebivololo. Tuttavia, questi farmaci presentano problemi di tollerabilità; in particolare, in queste condizioni sperimentali, il carvedilolo si è rivelato essere meno tollerabile del nebivololo. Questo dato può essere utile nella gestione di pazienti in terapia cronica con β -bloccanti che programmino un soggiorno in alta quota, in particolare in pazienti affetti da insufficienza cardiaca o ipertensione, condizioni nelle quali l'uso di carvedilolo o nebivololo è raccomandato.

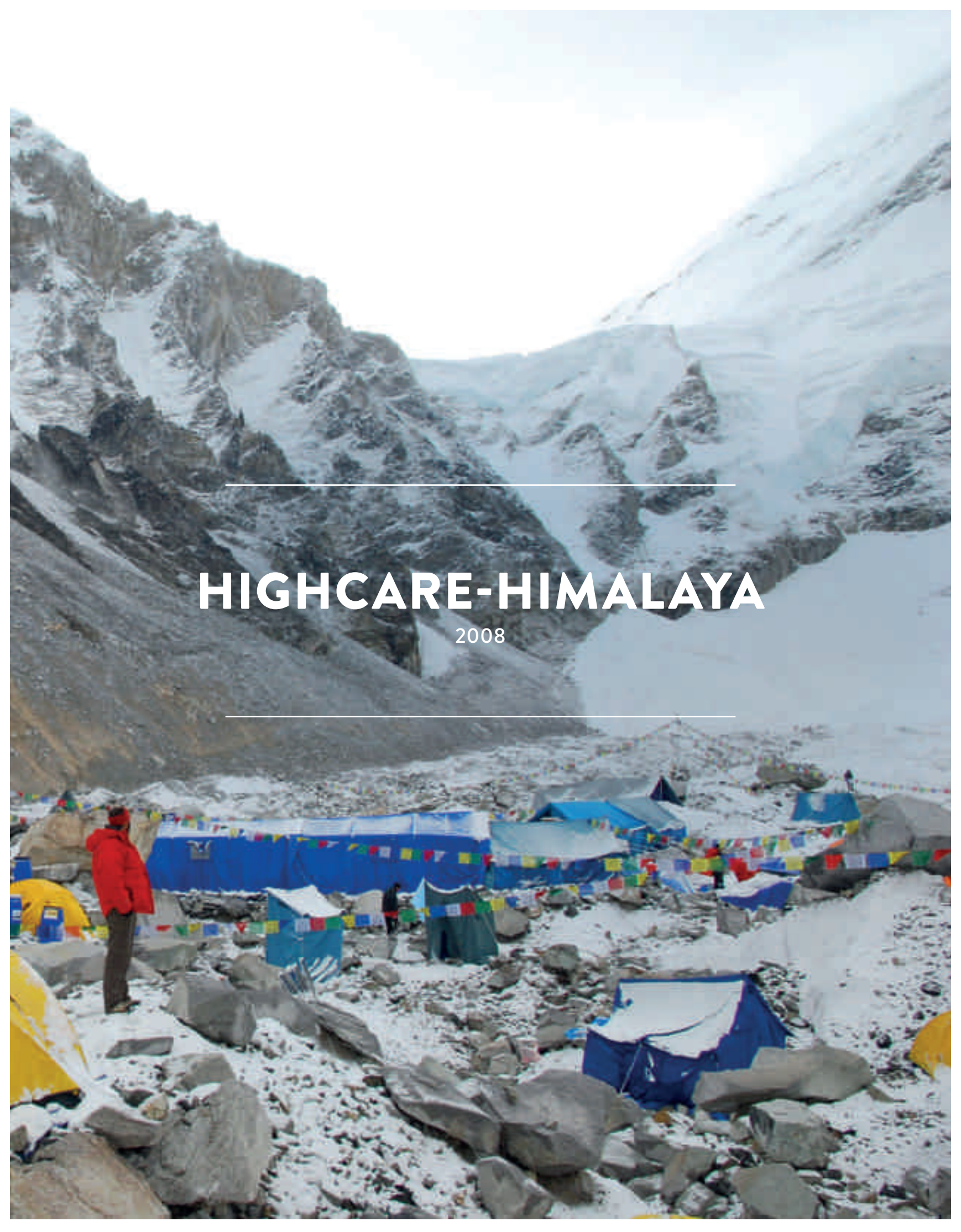
1. Wolfel EE, Selland MA, Mazzeo RS, Reeves JT. Systemic hypertension at 4300m is related to sympathoadrenal activity. *J Appl Physiol* 1994;76:1643–1650

HIGHCARE REFERENCES - BIBLIOGRAFIA HIGHCARE:

2. Bilo G, Caldara G, Styczkiewicz K, Revera M, Lombardi C, Giglio A, Zambon A, Corrao G, Faini A, Valentini M, Mancia G, Parati G. Effects of selective and nonselective beta-blockade on 24-h ambulatory blood pressure under hypobaric hypoxia at altitude. *J Hypertens*. 2011;29:380-7.

Mount Everest Base
Camp (5400m)
Campo Base monte
Everest (5.400m)





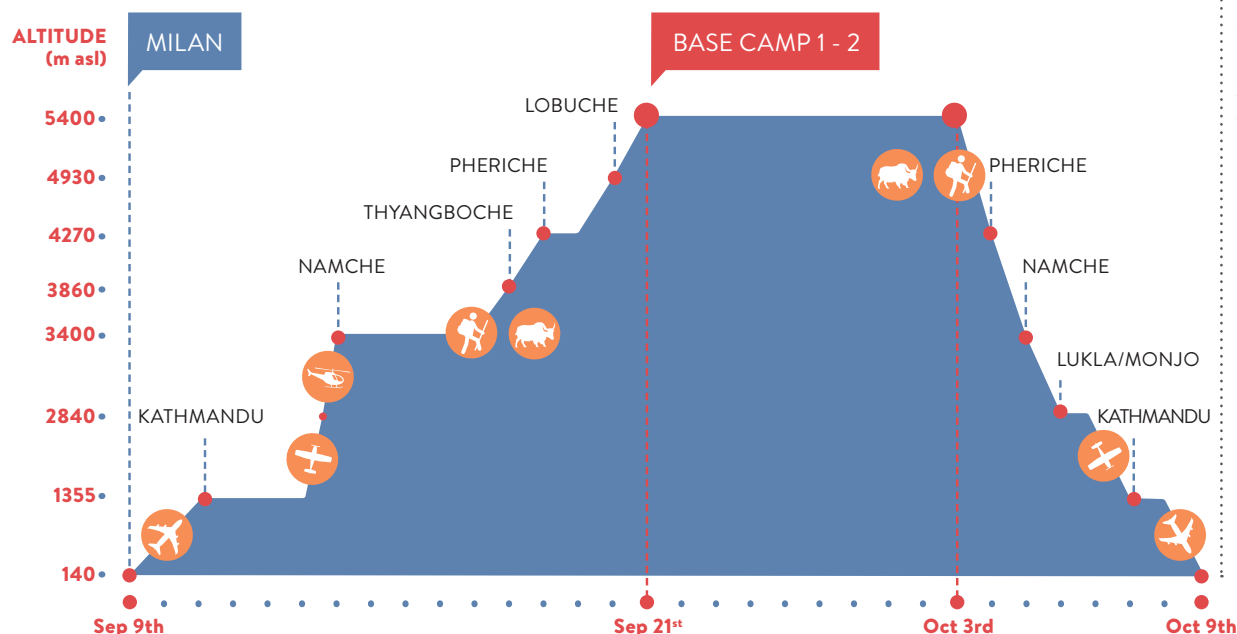
HIGHCARE-HIMALAYA

2008

HIGHCARE-HIMALAYA

NUMBERS, FACTS AND IMAGES

HIGHCARE-HIMALAYA, Numeri, Dati e Immagini della spedizione



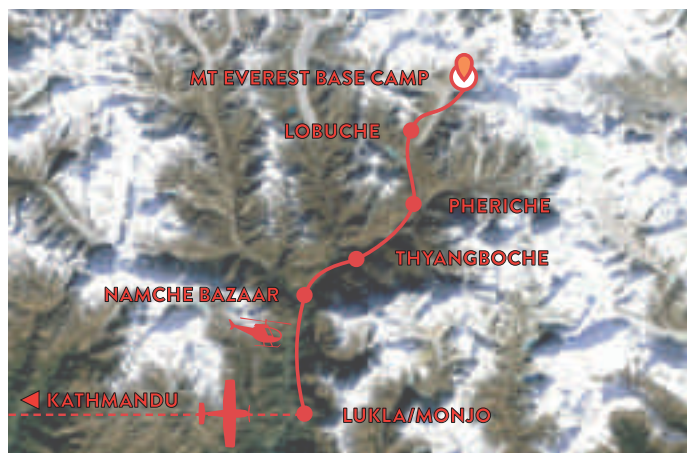
THE EXPEDITION

Timing, altimetry and sites.

LA SPEDIZIONE

Date, altimetria e luoghi della spedizione.

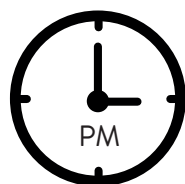
THE ROUTE - Il percorso



EXPEDITION DATA - Numeri della spedizione

- 5400** metres - Base camp altitude
- 3000** Kg - equipment and scientific instruments
- 500** litres - fuel for the power units
- 215** porters and sherpas
- 50** yaks
- 49** participants
- 40** tents for people and portable laboratories
- 10** Kg - Nutella
- 8** participating Countries
- 6** kW - Maximum power supply

WHEN - Quando

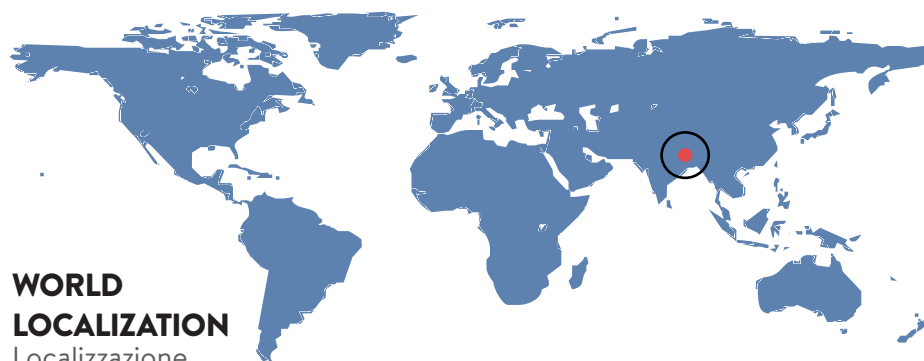


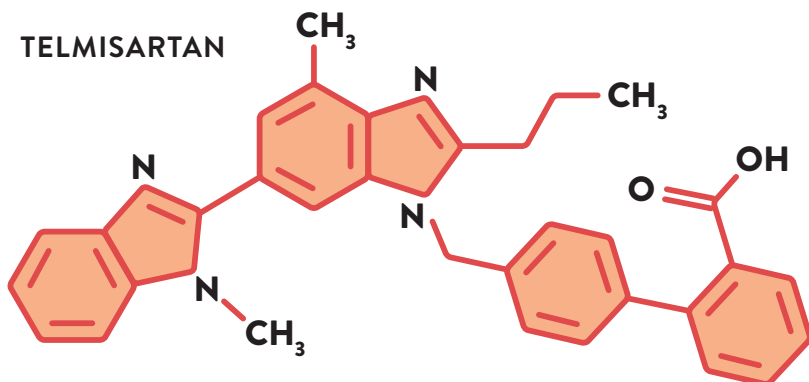
Italy

09/09/2008 - 09/10/2008



Nepal



STUDY DRUG - Farmaco studiato**KEYWORDS** - Parole chiave

BLOOD PRESSURE
SLEEP DISORDERS
ARTERIAL PROPERTIES BREATHING
AMBULATORY BLOOD PRESSURE MONITORING
GAS LUNG DIFFUSION
ERYTHROPOIESIS
LEFT VENTRICULAR FUNCTION
PROTEOMICS

PARTICIPANTS

Partecipanti

32
MEN**17**
WOMEN**26**
Y.O.

TO

62
Y.O.**METHODS** - Metodi

RANDOMIZED TRIAL

TELMISARTAN
VS. PLACEBO

49 HEALTHY VOLUNTEERS

ALTITUDE EXPOSURE:
ACUTE AND PROLONGEDALTITUDE(S) REACHED:
3400M - 5400M - 6800M**ASSESSMENTS** - Valutazioni**CARDIOVASCULAR:**

Conventional and 24h ambulatory blood pressure, echocardiography, arterial properties

**HAEMATOLOGICAL:**

Markers of iron metabolism and erythropoiesis

**HORMONAL:**

Renin-Angiotensin-Aldosterone-System, catecholamines, vasopressin, cortisol, BNP

**NEURAL:**

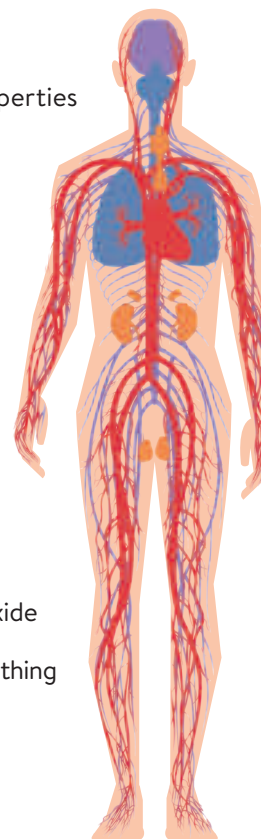
Sleep studies (polysomnography) and neuroreactivity tests (neuropsychological and psychological assessment)

**RESPIRATORY:**

Lung diffusion capacity for carbon monoxide (DLCO); effects of continuous positive airway pressure ventilation and of slow breathing

**MOLECULAR
AND GENETIC:**

Proteomic analysis of plasma/serum and urine, ACE polymorphism



SETTING, RATIONALE AND GENERAL AIMS

SCENARIO, RAZIONALE E OBIETTIVI GENERALI

Himalaya – the highest mountain chain of the world. Here mountains reaching six-seven thousand meters are frequently found; many of them, such as Ama Dablam, are of outstanding beauty (photo). These peaks would be considered giants in other parts of the world, but in Himalaya they are dwarfed by the world's highest summits (higher than 8000m) – Annapurna, Nanga Parbat, Manaslu, Dhaulagiri, Cho Oyu, Makalu, Lhotse, Kanchenjunga, Shisha Pangma and, finally, the rooftop of the world - Mt. Everest, called Chomolungma (“Holy Mother”) in Tibet and Sagaramāthā in Nepal. The slopes of these eight-thousanders are crowded with myths, tales and dramatic histories of fear, courage and sacrifice of people striving to reach world's highest summits. But Himalaya is not just the dream of ambitious climbers. They are home to Tibetan and Sherpa populations, whose resistance to extreme altitudes is legendary. They are also the spiritual centre of Buddhist religion with numerous temples, stupas and monasteries (photo of Tengboche monastery) where the search for wisdom and the dream of nirvana have continued for centuries.

Himalaya is also a unique research laboratory where the responses of human body to extreme altitudes can be studied. One of the most important and largely unanswered questions in high altitude medicine is to what extent one can extrapolate the activity of different drugs used chronically at sea level, considering that the mechanisms involved can be importantly altered at high altitude. In fact, drugs interfering with renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS), such as AT1 angiotensin receptor blockers (ARBs), are beneficial in important and common cardiovascular pathological conditions, including hypertension and heart failure. However, high altitude induces important changes in RAAS and thus, without knowing the efficacy of ARBs at high altitude, one cannot give reasonable recommendations to hypertensive individuals treated with these drugs, who plan to be exposed to high altitude hypoxia. While this was one of the key elements of the rationale for HIGHCARE-Himalaya study, many different aspects were considered including the need to quantify for the first time in a systematic manner the behaviour of ambulatory blood pressure over 24 hours and

Himalaya – la più alta catena montuosa del mondo. Qui si trovano cime che raggiungono sei-settemila metri di altitudine, la maggior parte delle quali, come l'Ama Dablam, di incredibile bellezza (foto). Queste vette sarebbero considerate dei giganti in altre parti del mondo, ma sull'Himalaya sono circondate dalle montagne ancor più alte – Annapurna, Nanga Parbat, Manaslu, Dhaulagiri, Cho Oyu, Makalu, Lhotse, Kanchenjunga, Shisha Pangma e, infine, il tetto del mondo – il Monte Everest, chiamato Chomolungma (“Santa Madre”) in Tibetano e Sagaramāthā in Nepalese. Le pendici di questi ottomila metri sono popolate da miti, leggende e storie drammatiche di coraggio e sacrificio di persone che hanno lottato per raggiungere il punto più alto del mondo. Ma l'Himalaya non è solo il sogno di scalatori ambiziosi. È casa per le popolazioni Tibetana e Sherpa, la cui resistenza alle altitudini estreme è leggendaria, ed è centro spirituale della religione Buddista, con numerosi templi, stupa e monasteri, dove la ricerca della saggezza e il sogno del nirvana sono perseguiti da secoli. L'Himalaya è anche un inestimabile laboratorio di ricerca, dove le risposte del corpo umano alle altitudini estreme possono essere studiate. Uno degli interrogativi più importanti che si pone



LEFT

Ama Dablam
6812m.

SINISTRA

Ama Dablam
6.812m.



ABOVE

Thyangboche
Monastery, Nepal.
3867m.

SOPRA

Monastero di
Thyangboche, Nepal,
3.867m.

the important sleep alterations occurring at high altitude, the potential usefulness of continuous positive airway pressure (CPAP) and of controlled slow breathing in improving ventilation under hypobaric hypoxia and many others.

On this background the principal aims of HIGHCARE-Himalaya project were to assess the physiological changes (in particular in ambulatory blood pressure and in other cardiovascular parameters) induced by the exposure to marked and prolonged hypobaric hypoxia and to determine how these changes may be influenced by the pharmacological blockade of angiotensin AT1 receptors. The study was particularly focused on the responses of cardiovascular, respiratory and nervous systems with a special

la medicina di montagna, e che per ora non ha trovato risposta, è fino a che punto sia possibile predire l'effetto in quota di differenti farmaci, abitualmente utilizzati a livello del mare, quando agiscono su sistemi fortemente influenzati dall'esposizione all'alta quota. In particolare, farmaci che interferiscono con il Sistema Renina Angiotensina Aldosterone (RAAS), tra cui i bloccanti dei recettori AT1 per l'angiotensina (ARBs), sono ampiamente utilizzati in patologie cardiovascolari diffuse e importanti, come l'ipertensione arteriosa e l'insufficienza cardiaca. Tuttavia, l'alta quota induce importanti alterazioni nel RAAS e quindi, non conoscendo l'efficacia degli ARBs in alta quota, non è possibile dare con sicurezza indicazioni a soggetti ipertesi, in cura con questi farmaci, che vogliano programmare

attention dedicated to blood pressure and sleep, but it also investigated changes occurring in endocrine and metabolic regulation, in iron metabolism, erythropoiesis and coagulation, in neuropsychological variables and in proteomics. It also involved the assessment of the effects of two non-pharmacological interventions aimed at counteracting high altitude hypoxia, that is, controlled slow breathing and continuous positive air pressure ventilation (CPAP).

HIGHCARE expedition to Himalaya was initially scheduled to take place in spring 2008 in the Everest North Base Camp in Tibet. However, because of the political unrest in Tibet in the period directly preceding the 2008 Olympic Games in Beijing, and due to the decision by the Chinese Government to take the Olympic flame to the summit of Mount Everest, the release of permits for Western expeditions was suspended and the difficult decision was taken to reschedule the expedition to autumn 2008 with the aim to reach South Base Camp of Mt. Everest from Nepal. A subgroup of participants expert in high altitude climbing were also aimed at reaching Everest summit where some of the scheduled tests were planned to be performed.

After several months of preparations and sea level baseline tests, the expedition departed from Milan, Italy, on 9th September and, after a few days spent in Nepali capital Kathmandu (1400m above sea level), when project logistics were taken care of, on 13th September the participants took off by airplane to the Tenzing-Hillary Airport in Lukla (2860m). In Lukla the researchers, volunteers and filming team boarded a Nepali military helicopter which carried them to a Syangboche Airstrip (3780m). From there, after a short descent, the town of Namche Bazaar (3440m) was reached, the first step where the altitude tests took place. On 17th September the trek to Everest Base Camp started. Step by step, the whole team hiked along the Khumbu Valley, accompanied by Sherpa porters and yaks, stopping to sleep and acclimatize at the towns of Tengboche (3867m), Pheriche (4371m) and Lobuche (4940m) to finally reach, after an endless crossing of Khumbu Glacier moraine, the Everest Base Camp (5400m).

Once there, the scientific equipment was installed in the tents set up at the feet of the Khumbu Icefall, and on September 23rd the first tests were initiated and continued until the 3rd of October. On October 7th the participants could again



un'esposizione all'ipossia da alta quota. Tenendo questo punto come uno degli elementi chiave del rationale dello studio HIGHCARE-Himalaya, sono stati considerati molti differenti aspetti, tra i quali anche le importanti alterazioni del sonno che si verificano in alta quota e la potenziale utilità della pressione positiva continua delle vie aeree (CPAP) e del respiro lento controllato per migliorare la ventilazione in condizione di ipossia ipobarica e non. Su queste basi, i principali obiettivi del progetto HIGHCARE-Himalaya erano la valutazione delle modificazioni fisiologiche indotte dall'esposizione prolungata ad ipossia ipobarica marcata e di come queste modificazioni possano essere influenzate dal blocco farmacologico del recettore AT1 per

ABOVE
Khumbu "icefall"
glacier, detail.

SOPRA
Ghiacciaio "icefall"
del Khumbu,
particolare.

breathe the air of Kathmandu, rich in spices and oxygen, and, after returning to Milan, the final set of tests was performed. A small group of alpinists remained at the Base Camp a few more weeks, attempting to climb Mt. Everest summit, but were prevented from doing so by bad weather. Nonetheless, they were able to collect additional interesting data up to the Advanced Base Camp at 6800m.

STUDY DESIGN

HIGHCARE-Himalaya was designed as a parallel group, randomized, double-blind trial, whose main specific objectives were to determine:

SELECTION CRITERIA OF HIGHCARE-HIMALAYA STUDY

Criteri di selezione per lo studio
HIGHCARE-Himalaya

INCLUSION CRITERIA

- ◇ Males and females
- ◇ Age <65 years
- ◇ Good general health conditions
- ◇ Written informed consent

EXCLUSION CRITERIA

- ◇ History of cardiovascular disease or of arterial hypertension
- ◇ Conventional BP >140/90 mmHg at repeated measurements
- ◇ Any chronic cardiovascular therapy
- ◇ Living at an altitude >500m or repeated exposure to altitudes >3000m above sea level in the preceding 8 months
- ◇ History of severe mountain sickness
- ◇ History of angioedema
- ◇ Pregnancy or lack of use of effective contraceptive methods in women in fertile age

CRITERI DI INCLUSIONE

- ◇ Maschi e femmine
- ◇ Età <65 anni
- ◇ Buone condizioni di salute
- ◇ Consenso informato scritto

CRITERI DI ESCLUSIONE

- ◇ Storia di malattie cardiovascolari o ipertensione arteriosa
- ◇ PA convenzionale >140/90 mmHg a misurazioni ripetute
- ◇ Assunzione di qualunque terapia cardiologica cronica
- ◇ Residenza abituale a un'altitudine >500m o ripetute esposizioni ad altitudini >3000m negli 8 mesi precedenti l'arruolamento
- ◇ Pregressi episodi di male di montagna severo
- ◇ Storia di angioedema
- ◇ Gravidanza o mancato utilizzo di sistemi contraccettivi efficaci in donne in età fertile

l'angiotensina. Lo studio era principalmente incentrato sulla risposta dei sistemi cardiovascolare, respiratorio e nervoso, con speciale attenzione alla pressione arteriosa (PA) e al sonno, ma ha anche indagato le alterazioni della regolazione metabolica ed endocrina, del metabolismo del ferro, dell'eritropoiesi e coagulazione, delle variabili neuropsicologiche e della proteomica. È stato inoltre valutato l'effetto dell'intervento non-farmacologico, mediante CPAP e respiro lento controllato, mirato a contrastare l'ipossia da alta quota. La spedizione HIGHCARE in Himalaya era stata inizialmente programmata per la primavera 2008, al Campo Base Everest Nord in Tibet. A causa delle agitazioni politiche in Tibet nel periodo immediatamente precedente i Giochi Olimpici 2008 a Pechino, e data la decisione del Governo Cinese di portare la fiamma Olimpica in vetta all'Everest, non vennero rilasciati i permessi per le spedizioni occidentali; si rese quindi necessario riprogrammare la spedizione per l'autunno 2008, questa volta mirata a raggiungere il Campo Base Sud del Monte Everest. Era stato inoltre programmato, in un sottogruppo di partecipanti esperti alpinisti, un tentativo di raggiungere la cima del Monte Everest con l'obiettivo di effettuare sul tetto del mondo alcuni dei test in programma. Dopo una preparazione durata alcuni mesi e l'esecuzione di tutti i test basali al livello del mare, la spedizione è partita da Milano il 9 settembre. Dopo alcuni giorni trascorsi nella capitale del Nepal, Kathmandu (1.400m sul livello del mare), durante i quali è stata ultimata l'organizzazione logistica, il 13 settembre i partecipanti sono decollati verso l'aeroporto Tenzing-Hillary di Lukla (2.860m). A Lukla i ricercatori, i volontari e la troupe per le riprese video sono stati imbarcati su un elicottero militare nepalese e portati alla pista di atterraggio Syangboche (3.780m). Da lì, dopo una breve discesa, è stata raggiunta la città di Namche Bazaar (3.440m), prima tappa per l'esecuzione dei test. Il 17 settembre è iniziata la scalata verso il Campo Base del Monte Everest. Passo dopo passo, l'intera squadra ha attraversato la Valle del Khumbu, accompagnata da portatori Sherpa e yak, fermandosi per riposare e acclimatarsi nelle città di Tengboche (3.867m), Pheriche (4.371m), Lobuche (4.940m) per raggiungere infine, dopo l'interminabile attraversamento della morena del ghiacciaio Khumbu, il campo base (5.400m). Una volta là, l'equipaggiamento scientifico è stato montato nelle tende ai piedi del ghiacciaio "Icefall" (cascata di ghiaccio) del Khumbu e, dal 23 settembre al 3 ottobre, sono

1) the changes in conventional BP and 24h ambulatory (A) ABP when moving from sea level to progressively higher altitudes and 2) whether the efficacy of antihypertensive treatment in lowering conventional BP and ABP was maintained in these conditions. The study initially included 50 healthy volunteers of whom 1 withdrew his consent before the study start and 2 could not participate in data collection for medical reasons. Thus 49 volunteers (32 males, 17 females) were included according to criteria listed in Box “Selection criteria of HIGHCARE-Himalaya study”. Subjects enrolled in the study were stratified by age and sex and randomized in blocks of four to receive either telmisartan 80 mg or placebo once daily in the morning in 1:1 ratio. The study drugs were distributed as identical capsules containing telmisartan 40 mg or placebo. Randomization and distribution of drug containers were done by two persons not otherwise involved in the study and the randomization list has not been disclosed to any of the participants and research team members throughout the study. Subjects started treatment with one morning capsule of telmisartan 40 mg or placebo, moving to two morning capsules or the corresponding placebo after two weeks in absence of adverse effects or marked abnormalities in serum potassium, plasma creatinine or sitting BP. All subjects underwent a comprehensive medical examination before the expedition, and gave written informed consent to participate. The protocol was approved by the Ethics Committee of Istituto Auxologico Italiano. The study was registered in EU Clinical Trials Register (www.clinicaltrialsregister.eu) with EudraCT number 2008-000540-14.

A NUMBER OF DIFFERENT TESTS WERE PERFORMED DURING THE STUDY INCLUDING:

- Basic measurements –symptoms assessment (Lake Louise Score), body temperature, SpO₂, fluid balance
- Cardiovascular investigations: conventional blood pressure and heart rate measurement, 24 h ambulatory BP monitoring (ABPM), beat by beat non-invasive continuous blood pressure and pulse interval monitoring, echocardiography, arterial properties assessment
- Endocrine and metabolic investigations
- Neural investigations: sleep studies (polysomnography) and neuroreactivity tests (neuropsychological and psychological assessment). An innovative smart garment was



stati svolti i test. Il 7 ottobre i partecipanti hanno nuovamente potuto respirare l'aria di Kathmandu, ricca di spezie e ossigeno; una volta ritornati a Milano, è stata eseguita l'ultima parte dei test. Un piccolo gruppo di alpinisti è rimasto al Campo Base alcune settimane in più per tentare di scalare il Monte Everest, ma questo non è stato possibile a causa delle condizioni metereologiche sfavorevoli. Ciononostante, essi hanno potuto raccogliere ulteriori interessanti dati durante la salita fino al Campo Base Avanzato a 6.400m.

DISEGNO DELLO STUDIO

HIGHCARE-Himalaya è stato disegnato come uno studio a gruppi paralleli, randomizzato e in doppio cieco, i cui obiettivi principali erano determinare: 1) le modificazioni nella PA convenzionale e ambulatoria durante l'ascesa dal livello del mare verso quote via via più alte; 2) se la capacità di alcuni farmaci antipertensivi nel ridurre la PA viene mantenuta in queste condizioni. Il campione di soggetti inizialmente comprendeva 50 volontari sani, dei quali 3 hanno ritirato il proprio consenso prima dell'inizio dello studio. Quindi, 49 volontari (32 maschi, 17 femmine) sono stati inclusi, rispettando i criteri elencati nel Box 1 “Criteri di selezione per lo studio HIGHCARE-Himalaya”. I soggetti arruolati nello studio sono stati stratificati per sesso ed età e randomizzati in blocchi di 4 a ricevere telmisartan 80mg o placebo, da assumere una volta al giorno

ABOVE

Conventional BP measurement and compilation of the Lake Louise Score at Base Camp.

RIGHT

Sherpa porters during ascent toward Everest Base Camp.

BELOW RIGHT

Wearable textile sensors for recording the main cardiorespiratory parameters (Magic Vest).

SOPRA

Misurazione della PA convenzionale e compilazione del Lake Louise Score al Campo Base.

DESTRA

Portatori Sherpa durante l'ascesa al Campo Base Everest.

SOTTO A DESTRA

La Magic Vest, strumento dotato di sensori tessili indossabili per la registrazione dei principali parametri cardiorespiratori.

used for the monitoring of ECG, respiration, and movements during the night (Magic Vest)

- Haematologic investigations
- Molecular and genetic investigations
- Pulmonary investigations
- Climatic data

A huge amount of information has been thus collected and the analyses of many aspects are still ongoing. The principal results obtained so far are summarized in the next paragraphs of this chapter.



di mattina, con un rapporto di 1:1.

I farmaci sono stati confezionati in capsule identiche nell'aspetto, contenenti telmisartan 40mg o placebo. La randomizzazione e la distribuzione dei contenitori dei farmaci sono state fatte da due operatori non coinvolti in nessun'altra fase dello studio, e la lista di randomizzazione non è stata rivelata ad alcuno dei volontari e dei ricercatori per tutta la durata dello studio. I soggetti hanno iniziato il trattamento con una capsula al giorno di telmisartan 40 o placebo, aumentando successivamente la dose a due capsule ogni mattina dopo due settimane di assunzione, in assenza di eventi avversi o marcate alterazioni del potassio sierico, creatinina o PA misurata in posizione seduta. Tutti i soggetti sono stati sottoposti a una valutazione medica completa prima della spedizione e hanno fornito il proprio consenso informato scritto. Il protocollo sperimentale è stato approvato dal Comitato Etico dell'Istituto Auxologico Italiano. Lo studio è stato registrato nel Registro Europeo dei Trial Clinici (www.clinicaltrialsregister.eu) con numero EudraCT 2008-000540-14.

DURANTE LO STUDIO SONO STATI ESEGUITI NUMEROSI TEST, TRA I QUALI:

- Misurazioni di base – valutazione dei sintomi (Lake Louise Score), temperatura corporea, SpO_2 , bilancio dei fluidi;
 - Valutazioni cardiovascolari: misurazione convenzionale di PA e frequenza cardiaca, monitoraggio ambulatorio della PA delle 24 ore, misurazione non invasiva della PA battito-a-battito e misura della variabilità di polso, ecocardiogramma, valutazione delle proprietà delle arterie;
 - Valutazioni endocrine e metaboliche;
 - Valutazioni neurologiche: studio del sonno (polisonnografia) e test di neuroreattività (valutazione neuropsicologica e psicologica).
- Uno strumento innovativo, basato sull'utilizzo di Vest, è stato utilizzato per il monitoraggio di ECG, respirazione e movimenti durante la notte
- Valutazioni ematologiche;
 - Valutazioni molecolari e genetiche;
 - Valutazioni pneumologiche;
 - Dati meteorologici.

Una enorme mole di dati è stata raccolta, e per questo motivo molte analisi sono ancora in corso. I principali risultati ottenuti fino a oggi sono riassunti nei prossimi paragrafi di questo capitolo.

BLOOD PRESSURE AND CONTROL MECHANISMS

PRESSIONE ARTERIOSA E MECCANISMI DI REGOLAZIONE

The assessment of blood pressure responses to high altitude and their modulation by angiotensin receptor blockade was among the principal aims of HIGHCARE-Himalaya. In fact 24 hour blood pressure constituted the primary outcome of the trial. Methods used to evaluate blood pressure in HIGHCARE projects have been described in detail in the following Box: Blood pressure measurement in HIGHCARE projects. In HIGHCARE-Himalaya we performed conventional blood pressure measurement with Microlife A100Plus device (Microlife, Windau, Switzerland) and 24 hour ambulatory blood pressure monitoring (ABPM) with Spacelabs 90207 and 90217 devices (Spacelabs, USA). Central BP was also assessed (see the section dedicated to arterial properties assessment below). Our study addressed several mechanisms potentially involved in regulating BP responses to high altitude. We assessed neurohumoral BP control through measurement of plasma adrenalin and noradrenalin (HPLC - reagents: CHROMSYSTEMS Instruments & Chemicals, Munich, Germany; instrumentation: HPLC Cromat, BioRad Laboratories, Hercules, CA); plasma renin (LIAISON Direct Renin CLIA, DiaSorin, Italy); serum angiotensin (RIA, Buhlmann Laboratories, Switzerland) and aldosterone (RIA, DiaSorin, Italy).



Tra gli obiettivi del progetto HIGHCARE-Himalaya si annoveravano la valutazione delle risposte pressorie all'esposizione ad alta quota e la valutazione della loro modulazione mediata dal blocco dei recettori per l'angiotensina II. Infatti, modificazioni della pressione delle 24 ore rappresentavano il risultato principale dello studio. I metodi utilizzati per la valutazione della pressione arteriosa (PA) nei progetti HIGHCARE sono stati descritti in dettaglio nel Box: Misurazione della pressione arteriosa nei progetti HIGHCARE (a fianco). Nello studio HIGHCARE-Himalaya abbiamo ottenuto misurazioni convenzionali della pressione arteriosa con strumenti Microlife A100Plus (Microlife, Windau, Switzerland) e monitoraggi della pressione arteriosa delle 24 ore con strumenti Spacelabs 90207 e 90217 (Spacelabs, USA). Inoltre, è stata stimata anche la PA centrale (si veda la sezione sottostante dedicata alla valutazione delle proprietà delle arterie). Il nostro studio ha indagato numerosi meccanismi coinvolti nella regolazione della risposta pressoria all'alta quota. Per valutare la regolazione della PA abbiamo misurato adrenalina e noradrenalina plasmatiche (reagenti HPLC: CHROMSYSTEMS Instruments & Chemicals, Munich, Germany; strumentazione: HPLC Cromat, BioRad Laboratories, Hercules, CA), renina plasmatica (LIAISON Direct Renin CLIA, DiaSorin, Italia); angiotensina sierica (RIA, Buhlmann Laboratories, Svizzera) e aldosterone (RIA, DiaSorin, Italia).

EFFETTI DELL'ALTA QUOTA

I dati raccolti nel gruppo placebo hanno confermato precedenti osservazioni, raccolte sia dal nostro che da altri gruppi, che indicano un aumento della PA associato con l'esposizione acuta e prolungata in alta quota.^{1,2} Infatti, nel gruppo placebo l'esposizione alla quota (sia a 3.400 che a 5.400m) era associata con un progressivo aumento della pressione arteriosa sistolica (PAS) e diastolica (PAD), sia convenzionale che ambulatoria. Questa risposta persisteva dopo un prolungato soggiorno a 5.400m, con ritorno ai valori

LEFT

A happy volunteer after removal of 24 hour ambulatory blood pressure monitoring.

SINISTRA

Un volontario felice alla rimozione del monitoraggio ambulatorio della PA nelle 24 ore.

BLOOD PRESSURE MEASUREMENT IN HIGHCARE PROJECTS

Misurazione della pressione arteriosa
nei progetti HIGHCARE

CONVENTIONAL BLOOD PRESSURE was measured using validated oscillometric devices (OMRON M5-I, Omron, Tokyo, Japan; Microlife A100Plus, Microlife, Windau, Switzerland; AND UA-767 and UA-767Plus AND, Tokyo, Japan).

24 HOUR AMBULATORY BLOOD PRESSURE MONITORING (ABPM) is a technique commonly used in diagnosis and management of arterial hypertension. Normally is performed using oscillometric monitors and thus allows discontinuous (typically at intervals of 15-30 minutes) monitoring of blood pressure (BP) over 24 hours. Its main advantages compared with conventional include: better reproducibility; lack of alarm reaction (white coat effect); lack of placebo effect; possibility to assess nocturnal BP and circadian BP profile; possibility to assess the effects of BP lowering treatment over 24 hours. In HIGHCARE studies we used validated ABPM devices: AND TM-2430 (AND, Tokyo, Japan) and Spacelabs 90207 and 90217 (Spacelabs, USA).

CENTRAL BLOOD PRESSURE MEASUREMENT. A relatively accurate estimate of central (aortic) blood pressure can be obtained by arterial tonometry and pulse wave analysis. This approach is described more in detail in the section dedicated to arterial properties assessment.

BEAT-BY-BEAT BLOOD PRESSURE MONITORING is a technique which allows continuous measurement of blood pressure on finger level using vascular unloading technique. The analysis of beat-by-beat BP and heart rate (HR) values provides insight in the autonomic regulation of cardiovascular system through the analysis of BP and HR variability and of arterial baroreflex sensitivity (by assessing the degree of pulse interval changes in response to changes in BP). In HIGHCARE a portable device for beat-by-beat BP monitoring was used (Portapres, Finapres Medical Systems, Amsterdam, The Netherlands).

LA PRESSIONE ARTERIOSA CONVENZIONALE è stata misurata utilizzando strumenti oscillometrici validati (OMRON M5-I, Omron, Tokyo, Giappone; Microlife A100Plus, Microlife, Windau, Svizzera; AND UA-767 e UA-767Plus AND, Tokyo, Giappone).

IL MONITORAGGIO AMBULATORIO DELLA PRESSIONE DELLE 24 ORE (ABPM) è una tecnica comunemente utilizzata nella diagnosi e gestione dell'ipertensione arteriosa. Viene solitamente eseguito con strumenti oscillometrici che consentono quindi un monitoraggio discontinuo (tipicamente a intervalli di 15-30 minuti) della pressione arteriosa (PA) nelle 24 ore. Presenta significativi vantaggi rispetto alla misurazione convenzionale, tra i quali: migliore riproducibilità; assenza di reazione d'allarme (effetto camice bianco); assenza di effetto placebo; possibilità di valutare la PA notturna e il profilo circadiano della PA; possibilità di valutare gli effetti dei farmaci antipertensivi durante le 24 ore. Negli studi HIGHCARE sono stati utilizzati strumenti ABPM validati: AND TM-2430 (AND, Tokyo, Japan) e Spacelabs 90207 e 90217 (Spacelabs, USA).

MISURAZIONE DELLA PRESSIONE ARTERIOSA CENTRALE. Una stima relativamente accurata della pressione arteriosa centrale (aortica) può essere ottenuta grazie alla tonometria arteriosa e all'analisi dell'onda di polso. Questo approccio è descritto più dettagliatamente nella sezione dedicata alla valutazione delle proprietà delle arterie.

LA MISURAZIONE DELLA PRESSIONE BATTITO-A-BATTITO è una tecnica che permette la misurazione continua della PA a livello delle dita, utilizzando una tecnica di scarico vascolare. Questa tecnica, tramite l'analisi della variabilità della PA e della FC, fornisce informazioni sulla regolazione autonoma del sistema cardiovascolare e, tramite l'analisi del grado di variazioni negli intervalli di polso in risposta a variazioni della PA, fornisce anche informazioni sulla sensibilità dei barocettori arteriosi. In HIGHCARE è stato utilizzato uno strumento portatile per la misurazione della PA battito-a-battito (Portapres, Finapres Medical Systems, Amsterdam, Olanda).

EFFECTS OF HIGH ALTITUDE

Previous findings from our and other research groups indicating that high altitude exposure is associated with BP increase^{1,2} were confirmed by the results obtained in the placebo group where the exposure to either 3400 and 5400m altitude was associated with a progressive increase in conventional and ambulatory systolic (SBP) and diastolic (DBP) blood pressure. This response persisted after prolonged sojourn

basali una volta ritornati al livello del mare (Figura 1). L'incremento osservato nella pressione ambulatoria era maggiore rispetto all'incremento nella PA convenzionale e, alla quota più alta raggiunta, più marcato durante la notte. Nei soggetti che hanno riferito qualità del sonno scadente, è stata osservata a 5.400m una minore riduzione fisiologica della PA nelle ore notturne, che non è stata invece riscontrata nei soggetti che riferivano una qualità del sonno ottimale.

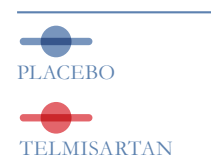
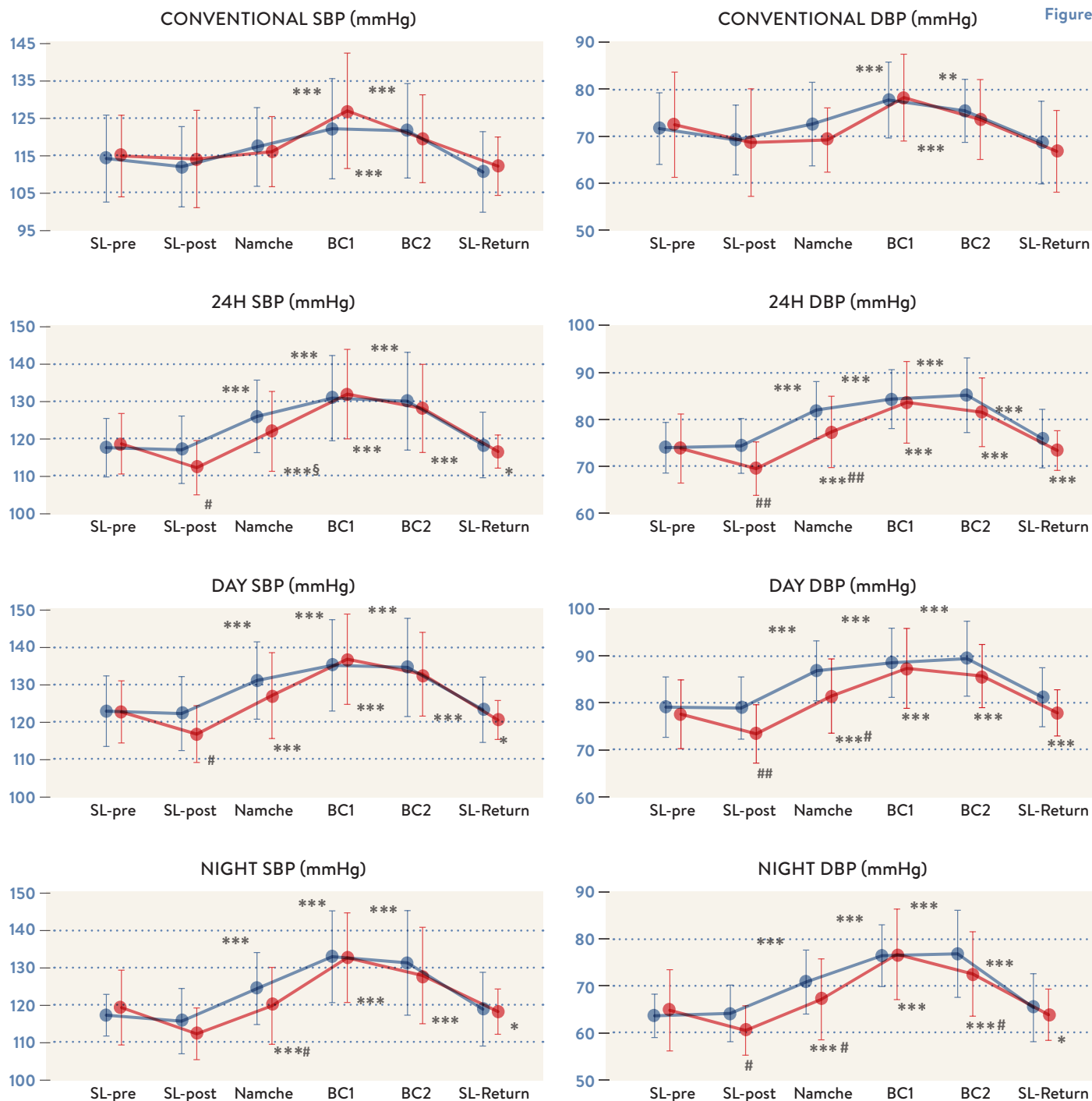


Figure 1



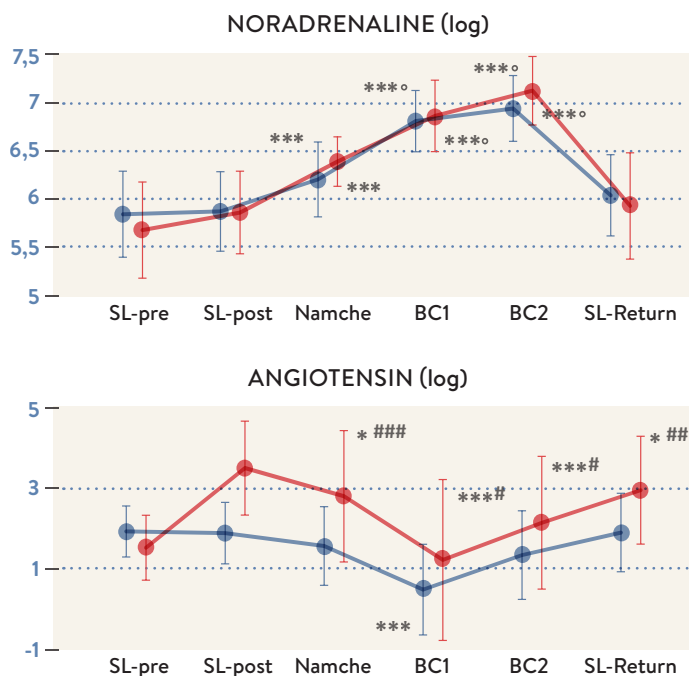


Figure 1

Conventional, 24h, daytime and night-time systolic blood pressure (SBP) and diastolic blood pressure (DBP) for the different study conditions.

Valori di pressione arteriosa sistolica (SBP) e diastolica (DBP) convenzionali, delle 24 ore, notturni e diurni, nelle differenti condizioni sperimentali.

(*** $p < 0.001$ vs. SLpost; ** $p < 0.01$ vs. SL-post; * $p < 0.05$ vs. SL-post; ## $p < 0.01$ vs. Placebo; # $p < 0.05$ vs. Placebo; § $p = 0.56$ vs. Placebo) (modified from, modificata da: Parati G et al., *Eur. Heart J*, 2014⁹).

Figure 2

Plasma noradrenaline (log[ng/L]) and renin (log[mU/L]), serum angiotensin (log[pg/mL]) and aldosterone (log[ng/L]) levels in both treatment groups throughout the study.

Livelli di noradrenalina (log[ng/L]) e renina (log[mU/L]) plasmatiche, angiotensina (log[pg/mL]) e aldosterone sierici (log[ng/L]) nei due gruppi nelle varie tappe dello studio.

(Noradrenaline: ° $p < 0.001$ vs. Namche; *** $p < 0.001$ vs. SL-post. Others: *** $p < 0.001$ vs. SL-post; ** $p < 0.01$ vs. SL-post; * $p < 0.05$ vs. SL-post; ### $p < 0.001$ vs. Placebo; ## $p < 0.01$ vs. Placebo; # $p < 0.05$ vs. Placebo) (modified from, modificata da: Parati G et al., *Eur. Heart J*, 2014⁹).

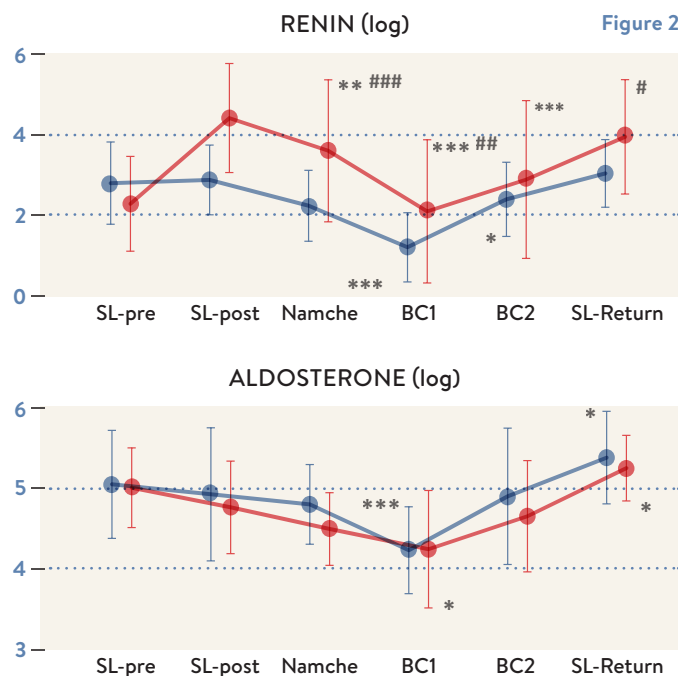


Figure 2

at the higher altitude, with BP falling to the initially lower values when subjects returned to sea level (Figure 1). The ambulatory BP increase was greater than the conventional BP increase and, at the highest altitude reached, it was particularly marked during the night-time. This resulted in a less pronounced nocturnal BP dipping phenomenon, which, during prolonged exposure to 5400m altitude, appeared to be present only in subjects with reduced quality of sleep, but not in those who reported optimal sleep quality. Exposure to the two high altitude levels was also associated with a progressive persistent increase in either conventional or ambulatory heart rate (HR) as well. There were no differences in terms of pressor response to altitude or in terms of nocturnal BP fall size between subjects with or without acute mountain sickness, while BP increase at altitude of 5400m was particularly pronounced in subjects aged over 50 years.

EFFECTS OF TREATMENT

Telmisartan did not have a significant lowering effect on conventional BP, while it caused a significant ambulatory BP reduction at sea level and at the altitude of 3400m, without modifying significantly the size of the pressor response to high altitude. At 5400m, however, the BP lowering effect of the drug was no longer evident upon arrival and after 12 days of permanence at this altitude, with only some recovery of treatment effect on night-time DBP. Telmisartan did not have any significant effect on

Inoltre, l'esposizione ai due differenti livelli di altitudine era associata con un aumento progressivo e persistente nella frequenza cardiaca (FC), sia convenzionale che ambulatoria. Non sono state riscontrate differenze in termini di risposta pressoria all'altitudine, né in termini di entità della caduta notturna della PA, tra i soggetti con e senza male acuto di montagna. L'aumento della PA a 5.400m è stato particolarmente pronunciato nei soggetti con più di 50 anni.

EFFETTI DEL TRATTAMENTO

Telmisartan non ha mostrato un significativo effetto di riduzione della PA convenzionale, ma ha significativamente ridotto la PA ambulatoria nelle 24 ore sia a livello del mare che a 3.400m, senza modificare significativamente l'entità della risposta pressoria all'alta quota (Figura 1). Comunque, sin dall'arrivo a 5.400m, l'effetto di telmisartan sulla riduzione della PA non era più evidente e, dopo 12 giorni di permanenza a questa altitudine, si osservava solo un piccolo recupero dell'effetto anti-ipertensivo sulla PA notturna. L'assunzione di telmisartan non ha avuto effetti significativi sulla FC né a livello del mare, né in alta quota. Durante lo studio sono stati riportati pochi eventi avversi. Un soggetto ha sviluppato edema al volto dopo alcuni giorni di trattamento con telmisartan, per cui il farmaco è stato sospeso. Un altro soggetto nel gruppo di trattamento attivo ha sviluppato ipotensione sintomatica al Campo Base, che si è risolta dopo

HR both at sea level and at high altitudes. Few adverse events were reported during the study. In the telmisartan group one subject reported facial oedema after a few days of treatment, leading to drug withdrawal. Another subject had symptomatic hypotension at Base Camp, which disappeared after halving the drug dose. There were no between-group differences at high altitude in either SpO₂ or in Lake Louise Score.

MECHANISMS

As shown in Figure 2, in the placebo group noradrenaline showed a marked progressive increase with exposure to the 3400 and 5400m altitude, with a tendency to return to baseline values upon return to sea level. No changes in adrenaline levels were observed. In contrast, renin, angiotensin II, and aldosterone levels were reduced at high altitude and the changes were significant ($p < 0.05$ for all) at 5400m. These reductions were most evident soon after reaching Everest base camp, while after 12 days there was a tendency for renin, angiotensin II, and aldosterone levels to rise again. Interestingly, after adjusting for BP values at sea level, BP at high altitude was higher in subjects who were DD homozygous for angiotensin converting enzyme (ACE) I/D polymorphism (Figure 3). This genotype is known to be associated with higher blood pressure and with adverse cardiovascular prognosis, but it was also shown to correlate with worse

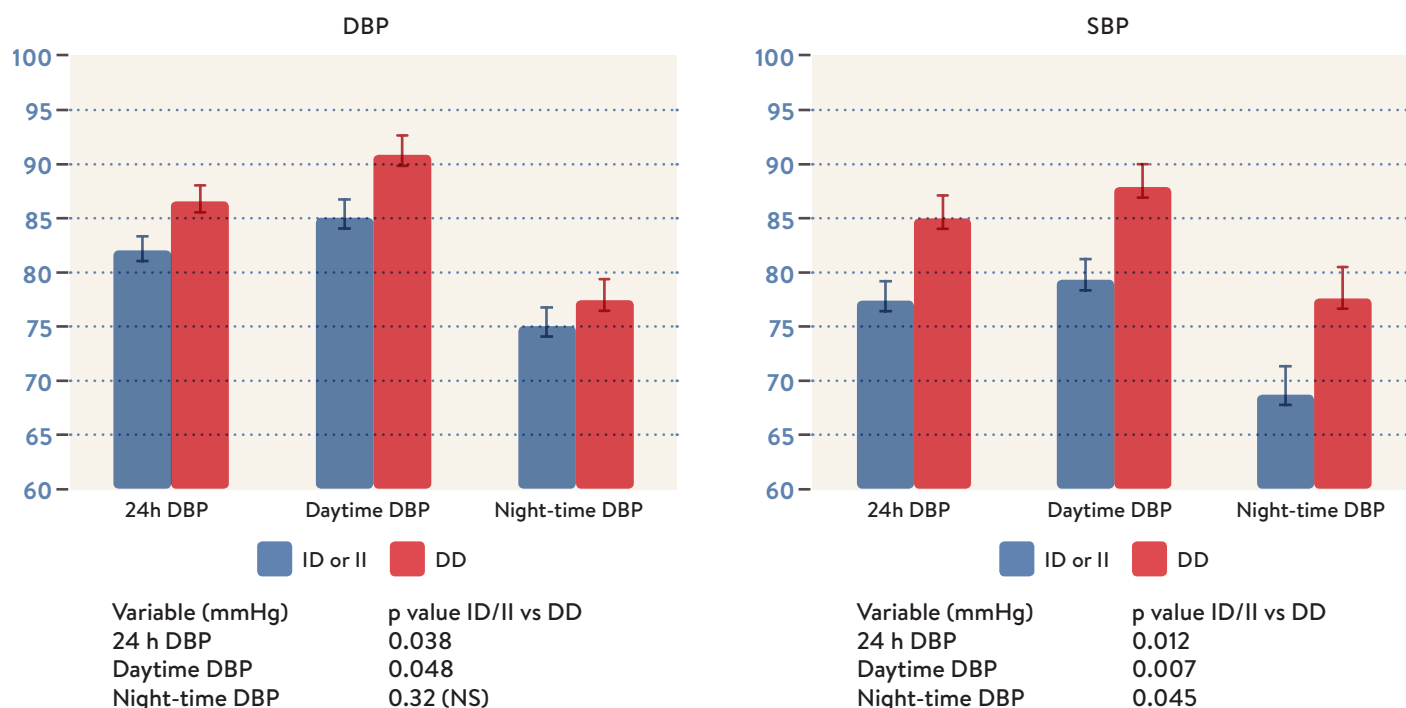
il dimezzamento della dose del farmaco. Non c'è stata differenza tra i gruppi in alta quota, né nella saturazione periferica dell'ossigeno, né nel punteggio totalizzato al questionario Lake Louis.

MECCANISMI

Come mostrato in Figura 2, nel gruppo placebo i livelli plasmatici di noradrenalina sono aumentati progressivamente durante l'esposizione a 3.400 e 5.400m e hanno mostrato una tendenza al ritorno ai valori basali dopo la discesa a livello del mare. Non sono state osservate variazioni nei livelli di adrenalina a nessuna delle quote in esame. Al contrario, renina, angiotensina II e aldosterone si sono significativamente ridotti a 5.400m ($p < 0,05$ per tutte e tre). La riduzione dei valori rispetto al basale era più marcata subito dopo l'arrivo al Campo Base, mentre dopo 12 giorni di permanenza si è osservata un'inversione di tendenza nei trend di tutte le tre sostanze testate. È interessante notare che, aggiustando i valori per la PA a livello del mare, la PA in quota era più alta nei soggetti omozigoti DD per il polimorfismo D dell'enzima convertitore dell'angiotensina I (ACE) (Figura 3). È nota l'associazione di questo genotipo con valori di PA più alta e con prognosi cardiovascolare più sfavorevole, oltre che con una performance peggiore durante l'esposizione ad alta quota.³ Era stato inoltre precedentemente suggerito il suo

Figure 3
Blood pressure mean 24 hours, day-time and night-time values in relation to D polymorphism of angiotensin I converting enzyme.

Valori di pressione media delle 24 ore, diurna e notturna in relazione al polimorfismo D dell'enzima convertitore dell'angiotensina I.



performance during high altitude exposure³ and previous reports implied its possible involvement in hypertension development during prolonged altitude permanence.⁴ Interestingly, we found no differences between II/ID subjects and DD homozygotes in terms of circulating angiotensin II levels, which suggests that local angiotensin conversion might be more relevant in this setting.

SUMMARY AND INTERPRETATION

HIGHCARE-Himalaya provided new insights into the features and determinants of BP responses to high altitude. The data have shown that high altitude may modify the effects of cardiovascular drugs, in this case of an angiotensin receptor blocker, thereby affecting their efficacy. In our subjects, exposure to progressively higher altitude was associated with a progressive, marked increase of systolic and diastolic ambulatory BP. This increase: 1) occurred immediately after the high altitude was reached; 2) persisted during prolonged altitude exposure; 3) involved the daytime ambulatory BP values, but was particularly pronounced for the night-time ones, with a consequent reduction of the nocturnal dipping phenomenon at the higher altitude; and 4) disappeared after return to sea level. In HIGHCARE-Himalaya the BP lowering effect of telmisartan observed at sea level was preserved at an altitude of 3400m, but disappeared when the altitude of 5400m was reached. In practical terms this implies that, in subjects already under angiotensin II receptor blockade, treatment efficacy will likely be maintained up to 3400m, that is at altitudes that can be reached by trekkers, climbers, skiers or workers, but the antihypertensive effect of angiotensin II receptor blockade will likely be lost at very high altitudes. At variance from what observed in HIGHCARE-Alps 2010, where the administration of beta-blockers was accompanied by a lower SpO₂ and worse exercise capacity and tolerability,^{2,5} telmisartan was well tolerated at high altitude with no negative impact on SpO₂ or acute mountain sickness severity.

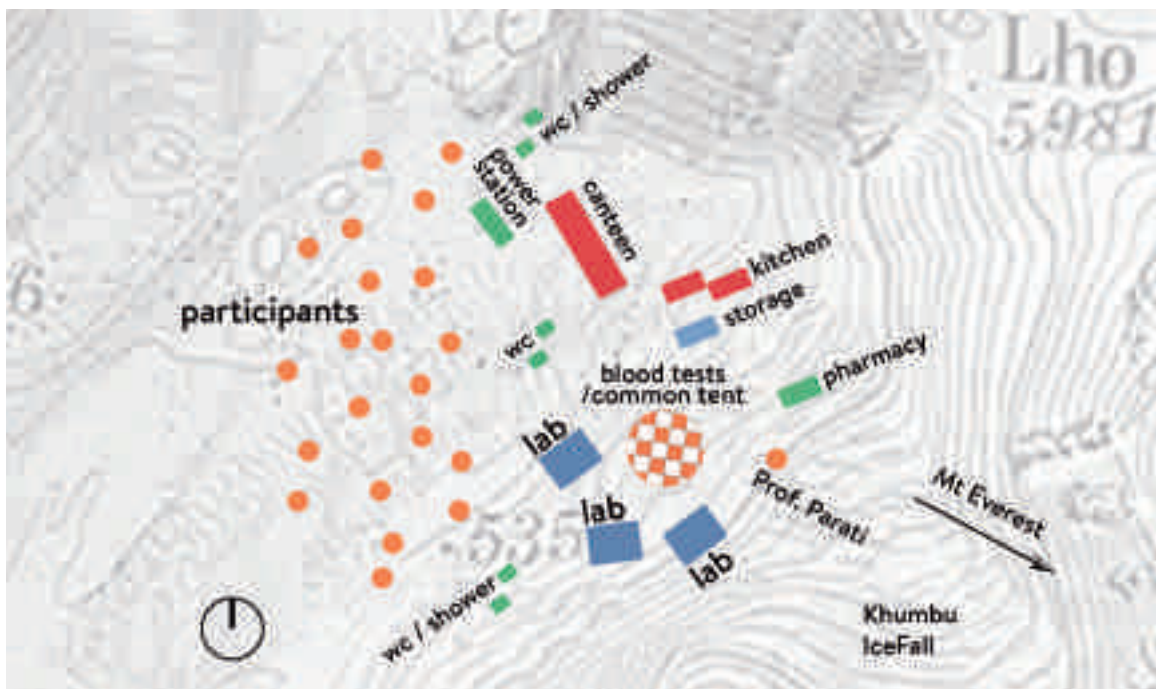
Sympathetic activation is likely to be the primary reason for the observed pressor response to high altitude as documented by a progressive increase in plasma noradrenaline (but not adrenaline) at progressively higher altitude, in parallel with both the BP increase and the SpO₂ reduction. Our results do not support the hypothesis that BP increase was due to

possibile ruolo nello sviluppo di ipertensione durante la permanenza prolungata in quota.⁴ È interessante notare che dai nostri dati non risulta alcuna differenza tra i soggetti II/ID e gli omozigoti DD in termini di livelli di angiotensina II circolante, il che suggerisce che la conversione locale di angiotensina possa essere più rilevante in questo setting.

RIASSUNTO E INTERPRETAZIONE

HIGHCARE-Himalaya ha fornito nuovi elementi per la caratterizzazione dell'andamento della PA e dei suoi determinanti durante l'esposizione all'alta quota. I dati raccolti hanno mostrato che l'alta quota può interferire con gli effetti dei farmaci cardiologici, in questo caso un bloccante del recettore per l'angiotensina, e quindi comprometterne l'efficacia. Nei nostri soggetti l'esposizione ad altitudini via via crescenti era associata con un incremento marcato e progressivo nei valori di PA ambulatoria sistolica e diastolica. Questo incremento: 1) è comparso immediatamente al raggiungimento della quota; 2) si è mantenuto stabile durante l'esposizione prolungata; 3) coinvolgeva anche i valori pressori diurni, ma era particolarmente marcato durante le ore notturne, con una conseguente riduzione alla quota più alta del fisiologico fenomeno di riduzione notturna della PA; 4) è scomparso dopo il ritorno a livello del mare. In HIGHCARE-Himalaya l'effetto ipotensivo di telmisartan osservato a livello del mare si è mantenuto a 3.400m, ma è scomparso quando è stata raggiunta l'altitudine di 5.400m. In pratica questo dato implica che, in soggetti già in terapia con bloccanti dei recettori per l'angiotensina II, l'efficacia del trattamento sarà verosimilmente mantenuta fino a 3.400m, cioè a una quota che può essere raggiunta da escursionisti, scalatori, sciatori o lavoratori, ma a quote più alte l'effetto antipertensivo sarà verosimilmente perso. Differentemente da quanto osservato in HIGHCARE-Alps 2010, dove la somministrazione di β -bloccante è stata accompagnata da una ridotta saturazione periferica dell'ossigeno, peggiore capacità di esercizio e ridotta tollerabilità,^{2,5} telmisartan è stato ben tollerato in alta quota, senza effetti negativi sulla saturazione dell'ossigeno o sulla gravità del male acuto di montagna.

L'attivazione simpatica è verosimilmente il principale meccanismo della risposta pressoria che si osserva in alta quota, come documentato dall'incremento progressivo nella noradrenalina plasmatica (ma non nell'adrenalina) a quote via



LEFT

The HIGHCARE Himalaya Camp map (South Everest Base Camp).

SINISTRA

Mappa del campo HIGHCARE Himalaya (Campo Base Sud Everest).

stress related to acute mountain sickness as no such relationship was observed. However, the pressor effect of high altitude may not have just a single responsible mechanism: blood viscosity might be involved as indirectly supported by an observed increase in haematocrit levels during high altitude permanence (see below for more details); increase in endothelin-1 levels may contribute to vasoconstriction.⁶ Importantly, no contribution to the pressor effect could have come from the renin-angiotensin-aldosterone system, the activity of which was suppressed at very high altitude (5400m), in line with previous data.⁷ This suppression presumably explains the concomitant reduction of the antihypertensive effect of telmisartan, a hypothesis supported by a tendency of telmisartan to partially recover its efficacy after almost 2 weeks of permanence at 5400m, in parallel with a partial recovery of the RAAS activity. It seems reasonable to speculate that not only angiotensin receptor antagonists, but all renin-angiotensin-aldosterone system antagonists (ACE inhibitors, antialdosterone drugs and renin inhibitors) are less or not at all effective at very high altitudes.

The reasons behind the observed reduction in nocturnal dipping at the altitude of 5400m are less clear, but several plausible mechanisms may be proposed. One, poor sleep quality seems to have played an important role, at least during prolonged exposure to high altitude. Two, while we found no direct relationship with sleep breathing disorders, nocturnal SpO_2 reduction may have contributed to the disproportionate

via maggiori, in parallelo con l'incremento di PA e la riduzione di SpO_2 . I nostri risultati non hanno supportato l'ipotesi che l'incremento nella PA fosse dovuto allo stress legato al male acuto di montagna, poiché non è stata osservata alcuna relazione tra i due dati. L'effetto sulla PA dell'alta quota potrebbe quindi essere determinato da più di un meccanismo: la viscosità del sangue potrebbe avere un ruolo, come indirettamente suggerito dall'osservazione che i livelli di ematocrito aumentano durante la permanenza in alta quota (vedi oltre per maggiori dettagli); inoltre, l'incremento nei livelli di endotelina-1 potrebbe contribuire alla vasocostrizione.⁶ È importante notare come nessun effetto sulla risposta pressoria possa essere attribuito al sistema renina angiotensina aldosterone, la cui attività era soppressa ad altitudini molto alte (5.400m), in linea con i dati precedenti.⁷ Questa soppressione presumibilmente spiega la concomitante riduzione dell'effetto antipertensivo con telmisartan, come dimostrato dalla tendenza di tale farmaco a recuperare parzialmente la propria efficacia dopo circa 2 settimane di permanenza a 5.400m, in parallelo con una parziale ripresa dell'attività del sistema RAA. Sembra ragionevole ipotizzare che non solo l'antagonista del recettore dell'angiotensina, ma tutti gli antagonisti del sistema renina angiotensina aldosterone (ACE inibitori, farmaci antialdosteronici e inibitori della renina) siano, a vari livelli, non completamente efficaci a quote estremamente alte. I fattori che determinano la riduzione della fisiologica variazione notturna dei valori

RIGHT

The HIGHCARE
Himalaya team.

DESTRA

Il Team HIGHCARE
Himalaya.



increase in nocturnal BP values through a greater night-time hypoxic chemoreceptor stimulation (see section dedicated to sleep). Three, baroreflex function may also be altered at high altitude⁸ possibly affecting BP responses to supine position during sleep. Importantly, HIGHCARE-Himalaya involved normotensive volunteers and therefore its results cannot be directly extrapolated also to hypertensive individuals. This limitation was addressed by HIGHCARE-ANDES Lowlanders Study (discussed later).

pressori osservata a 5.400m sono meno chiari, ma sono stati proposti numerosi meccanismi plausibili: 1) la scarsa qualità del sonno sembra giocare un ruolo importante, almeno nelle fasi di esposizione prolungata all'alta quota; 2) nonostante non abbiamo trovato alcuna relazione diretta con i disturbi respiratori del sonno, la riduzione della SpO₂ può aver contribuito all'incremento sproporzionato nei valori notturni di PA attraverso una maggiore stimolazione ipossica dei chemocettori durante la notte (vedi sezione dedicata al sonno); 3) la funzione dei barocettori può essere anch'essa alterata in alta quota,⁸ eventualmente influenzando la risposta pressoria alla posizione supina durante il sonno. È importante notare che nello studio HIGHCARE-Himalaya sono stati esaminati soggetti normotesi, e quindi i risultati potrebbero non essere direttamente applicabili ai soggetti ipertesi. Questa limitazione è stata superata dallo studio HIGHCARE-ANDES Lowlanders (discusso in seguito).

1. Wolfel EE, Selland MA, Mazzeo RS, Reeves JT. Systemic hypertension at 4,300 m is related to sympathoadrenal activity. *J Appl Physiol.* 1994;76:1643-50 2. Bilo G, Caldara G, Styczkiewicz K, Revera M, Lombardi C, Giglio A, Zambon A, Corrao G, Faini A, Valentini M, Mancina G, Parati G. Effects of selective and nonselective beta-blockade on 24-h ambulatory blood pressure under hypobaric hypoxia at altitude. *J Hypertens.* 2011;29:380-7 3. Thompson J, Raitt J, Hutchings L, Drenos F, Bjargo E, Loset A, Grocott M, Montgomery H; Caudwell Xtreme Everest Research Group. Angiotensin-converting enzyme genotype and successful ascent to extreme high altitude. *High Alt Med Biol.* 2007;8:278-85. 4. Kumar R, Qadar Pasha MA, Khan AP, Gupta V, Grover SK, Norboo T, Srivastava KK, Selvamurthy W, Brahamchari SK. Association of high-altitude systemic hypertension with the deletion allele-of the angiotensin-converting enzyme (ACE) gene. *Int J Biometeorol.* 2003;48:10-4 5. Valentini M, Revera M, Bilo G, Caldara G, Savia G, Styczkiewicz K, Parati S, Gregorini F, Faini A, Branzi G, Malfatto G, Magri D, Agostoni P, Parati G. Effects of beta-blockade on exercise performance at high altitude: a randomized, placebo-controlled trial comparing the efficacy of nebivolol versus carvedilol in healthy subjects. *Cardiovasc Ther.* 2012;30:240-8 6. Modesti PA, Vanni S, Morabito M, Modesti A, Marchetta M, Gamberi T, Sofi F, Savia G, Mancina G, Gensini GF, Parati G. Role of endothelin-1 in exposure to high altitude: Acute Mountain Sickness and Endothelin-1 (ACME-1) study. *Circulation.* 2006;114:1410-6 7. Zaccaria M, Rocco S, Noventa D, Varnier M, Opocher G. Sodium regulating hormones at high altitude: basal and post-exercise levels. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998;83:570-4 8. Bernardi L, Passino C, Spadacini G, Calciati A, Robergs R, Greene R, Martignoni E, Anand I, Appenzeller O. Cardiovascular autonomic modulation and activity of carotid baroreceptors at altitude. *Clin Sci (Lond).* 1998;95:565-73

HIGHCARE REFERENCES - BIBLIOGRAFIA HIGHCARE:

9. Parati G, Bilo G, Faini A, Bilo B, Revera M, Giuliano A, Lombardi C, Caldara G, Gregorini F, Styczkiewicz K, Zambon A, Piperno A, Modesti PA, Agostoni P, Mancina G. Changes in 24 hour ambulatory blood pressure and effects of angiotensin II receptor blockade during acute and prolonged high altitude exposure. A randomized clinical trial. *Eur Heart J.* 2014 (in press)

10. Revera M, Bilo G, Giuliano A, Caldara G, Savia G, Mainini V, Mencarelli M, Piccinno L, Di Blasio AM, Piperno A, Liuzzi A, Mancina G, Parati G. Angiotensin converting enzyme insertion/deletion polymorphism is related to pressor response to high altitude hypoxia. Results of HIGHCARE project. *J Hypertens.* 2010;28 8 (eSuppl A):e346 [abstract ESH 2010]

ALTERATIONS IN ARTERIAL PROPERTIES DURING ACUTE AND PROLONGED EXPOSURE TO HIGH ALTITUDE

ALTERAZIONI DELLE PROPRIETÀ DELLE ARTERIE DURANTE ESPOSIZIONE ACUTA E PROLUNGATA IN ALTA QUOTA

High altitude exposure leads to a number of alterations, depending on ascent rate and modality, which involve not only the cardiovascular system but also other organs. These alterations contribute to body's adaptation to unfavourable environmental conditions. Among the systems primarily involved in the adaptation to high altitude, sympathetic nervous system plays an important role. Its activation depends on chemoreceptors activation by hypoxic stimulus and on stress response. Distensibility of large arteries depends on vessels' intrinsic structural characteristics (in different vascular districts, prevalence of elastic versus muscular components), and on transient functional alterations of vascular wall itself; thus, sympathetic activity may directly affect arterial wall properties, leading to its stiffening. Despite the growing number of pathophysiologic studies at high-altitude, data about the relationship among cardiac function, systemic circulation, arterial properties, sympathetic activation, and RAAS activity are scant. The aim of HIGHCARE-Himalaya arterial properties substudy was to assess the effects of acute and prolonged high altitude hypobaric hypoxia exposure on the properties of muscular and elastic arteries, and to investigate how RAAS inhibition with an angiotensin II receptor blocking agent may counteract alterations induced by hypoxia.

METHODS

Arterial viscoelastic properties assessment was performed through the measurement of carotid-femoral arterial pulse wave velocity (cf-PWV) and carotid-radial PWV (cr-PWV), augmentation Index (AIx) and Subendocardial Viability Ratio (SEVR).¹ Wave form acquisition and parameters calculation were performed with a validated tonometric instrument: PulsePen® device (DiaTecne srl, Milan, Italy).² Heart rate was directly derived from electrocardiographic signal. Blood pressure values, needed to calculate arterial properties, were obtained during the examination using a

L'esposizione ad alta quota determina nell'organismo una serie di alterazioni, dipendenti dalle modalità e dalle tempistiche di ascesa, a carico non solo del sistema cardiopolmonare, ma anche di altri apparati; tali alterazioni sono atte a permettere un adattamento dell'organismo a condizioni ambientali che potremmo definire sfavorevoli. Tra i sistemi primariamente coinvolti rientra il sistema nervoso simpatico, la cui attivazione è determinata dalla risposta chemocettoriale, specifica in relazione allo stimolo ipossico e dalla risposta allo stress. Poiché la distensibilità delle grandi arterie dipende sia da caratteristiche strutturali intrinseche del vaso (prevalente componente elastica o prevalente componente muscolare, a seconda del distretto arterioso considerato), sia da transitorie alterazioni di tipo funzionale della parete dell'arteria stessa, l'azione del sistema simpatico può essere coinvolta nel determinare un cambiamento nelle proprietà della parete arteriosa, con conseguente irrigidimento delle stesse. Sebbene siano ormai numerosi gli studi sulla fisiopatologia d'alta quota, a tutt'oggi sono pochi i dati disponibili sulle alterazioni della funzione cardiaca e della circolazione sistemica, ed in particolare sulle alterazioni delle proprietà delle arterie in relazione alle alterazioni dell'attività simpatica e dell'attività del RAAS. Scopo del sottostudio sulle proprietà delle arterie del progetto HIGHCARE-Himalaya è stato quello di valutare gli effetti in esposizione acuta ed in esposizione cronica ad ipossia ipobarica da alta quota sulle proprietà di arterie muscolari ed elastiche, e investigare come l'inibizione del RAAS, ad opera di un antagonista del recettore dell'angiotensina II, possa bilanciare tali alterazioni indotte dall'ipossia.

METODI

La valutazione delle proprietà viscoelastiche delle arterie è stata eseguita mediante il calcolo della PWV carotido-femorale (cf-PWV), della PWV carotido-radiale

AUGMENTATION INDEX (Alx)

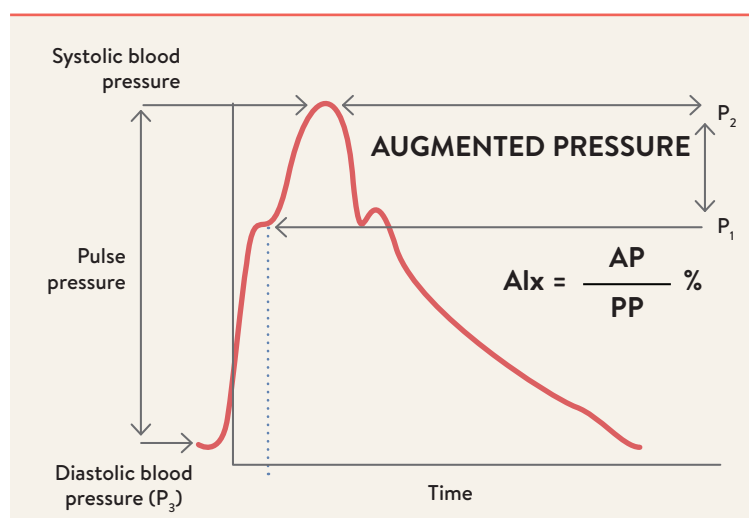
Augmentation Index (Alx)

AUGMENTATION INDEX (Alx) represents wave reflection, which is one of the main determinants of the pressure wave form and strongly contributes to the definition of pulse pressure values. Reflex waves origin from specific sites in the vascular tree, such as bifurcations, arterial asymmetric zones, small areas of arterial stiffness and atherosclerosis, terminal arterioles; these sites are responsible for peripheral vascular resistances. The Alx depends on the amplitude and timing of reflected waves and is expressed as percentage of the ratio between amplification pressure (difference between the second systolic peak, due to reflected wave, and first systolic peak, the incident wave) and pulse pressure (PP) and may be derived from the formula:

$$\text{Alx (\%)} = \text{AP} / \text{PP}$$

Thus, Alx gives information about the extent of reflex wave influence on the pulse pressure amplitude. Conventionally, it has a negative value when the direct and reflex waves meet after the systolic peak; conversely, it has a positive value if the meeting waves point precedes the systolic peak. It is well known that heart rate is one of the main determinants of Alx values; therefore, in order to standardize the data obtained at different heart rate levels, Alx values may be normalized for an hypothetic heart rate of 75 bpm (Alx@75), using the following formula:

$$\text{Alx@75 (\%)} = \text{Alx} - 0.39 \cdot (75 - \text{FC})\%$$



L'Augmentation Index (Alx) rappresenta uno dei parametri fondamentali che caratterizzano la morfologia della curva pressoria e determina i valori di pressione pulsatoria. A livello vascolare esistono dei siti ben precisi da cui si originano le onde riflesse, quali le biforcazioni, le zone di asimmetria delle arterie, le aree circoscritte di rigidità arteriosa e di aterosclerosi e le arteriole terminali; tali siti determinano le resistenze vascolari periferiche. La precocità di ritorno dell'onda di riflessione (Alx) è espressa come la percentuale del rapporto tra la pressione di amplificazione (differenza tra il secondo picco sistolico, dovuto all'onda di riflessione, ed il primo picco sistolico, che rappresenta l'onda incidente) e la pressione differenziale (PP) e si ricava dalla formula:

$$\text{Alx (\%)} = \text{AP} / \text{PP}$$

L'Alx rappresenta quindi un parametro che fornisce indicazioni su quanto l'onda riflessa incida sul totale della pressione pulsatoria. Per convenzione, assume un valore negativo quando il punto di incontro tra l'onda diretta e le onde riflesse cade dopo il picco sistolico; viceversa, è positivo se tale punto precede il picco sistolico. Poiché la frequenza cardiaca rappresenta uno dei principali parametri che influiscono sui valori di Alx, per uniformare i dati è possibile normalizzarli per una frequenza cardiaca standard di 75bpm (Alx@75) applicando la formula:

$$\text{Alx@75 (\%)} = \text{Alx} - 0.39 \cdot (75 - \text{FC})\%$$

validated oscillometric device, with subjects in supine position, performing 3 consecutive measurements at 3 minute intervals. PWV values were obtained by acquiring sequentially two different wave-form series in a short time (carotid to femoral and carotid to radial arteries), and subsequently synchronising the acquired tracings through ECG gating technique. As recently suggested¹, in order to calculate cf-PWV, 80% of the measured distance between carotid and femoral site of acquisition has been considered. According to PulsePen[®] software settings, PWV readings were considered acceptable if heart rate and peripheral blood pressure recorded in the

(cr-PWV), dell'Augmentation Index (Alx) e del Subendocardial Viability Ratio (SEVR).¹ Per l'acquisizione della forma d'onda pressoria ed il calcolo dei parametri è stato usato uno strumento tonometrico validato: PulsePen[®] device (DiaTecne srl, Milano).²

La frequenza cardiaca è stata derivata direttamente dal segnale elettrocardiografico dal software dello strumento. I valori di pressione arteriosa inseriti nel software della PulsePen[®] per il calcolo dei parametri inerenti le proprietà delle arterie sono stati misurati nel corso dell'esame, con il soggetto in posizione supina, ripetendo le misurazioni

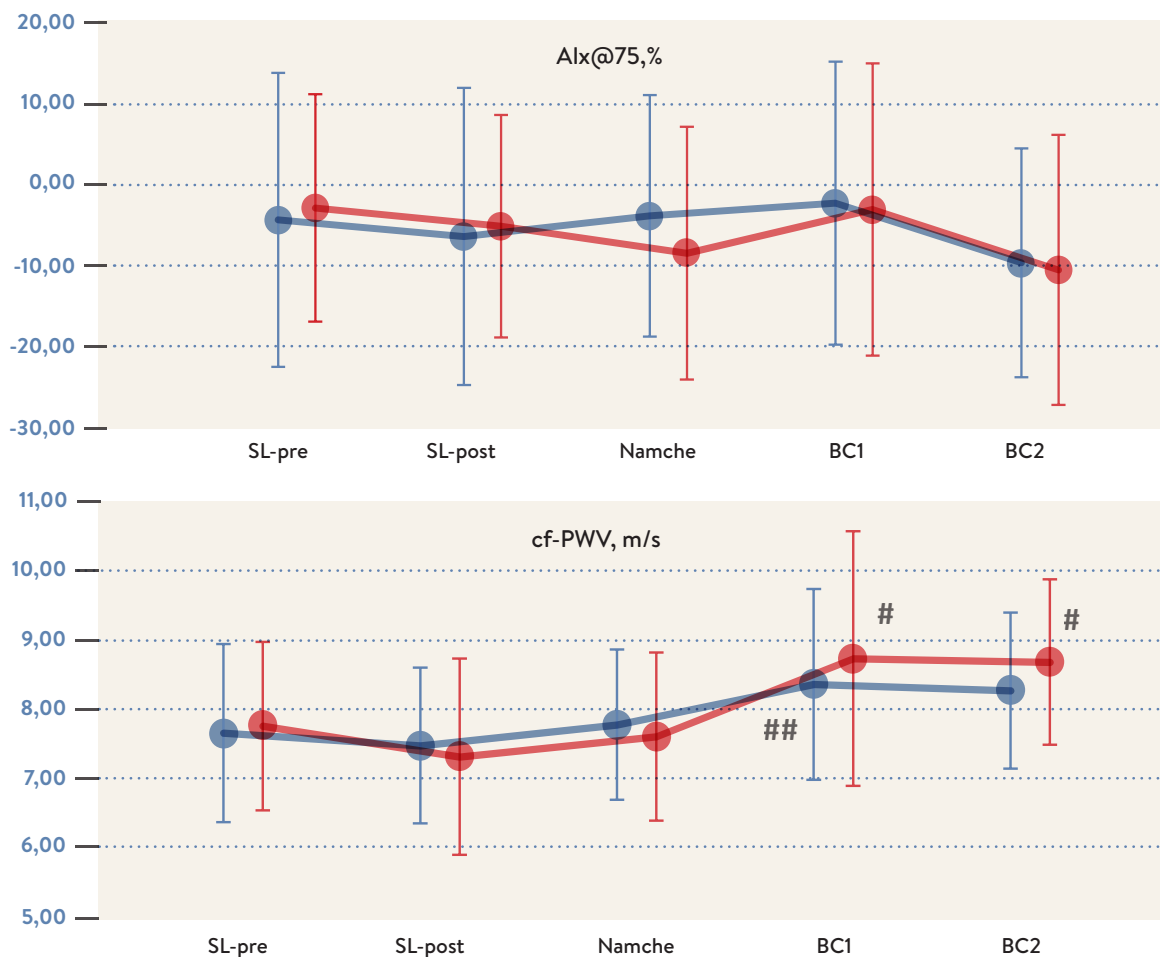


Figure 1

Alx@75

Augmentation index value, normalized for a theoretical heart rate of 75 bpm.

Valore di Augmentation Index normalizzato per una frequenza teorica di 75 bpm.

PLACEBO

TELMISARTAN

Figure 2

cf-PWV

Carotid-femoral artery pulse wave velocity (#=p<0.05 vs. SL-pre e vs. SL-post).

Pulse Wave Velocity carotido-femorale (#=p<0,05 vs. SL-pre e vs. SL-post).

two different sites did not differ by $\geq 10\%$. Measurements were obtained twice for each subject, and the mean value was used for statistical analysis. PulsePen® software calculates central arterial blood pressure value on the basis of carotid wave shape calibrated by brachial arterial blood pressure. Augmentation index is altered by heart rate, which clearly increases during high altitude hypobaric hypoxia exposure; therefore this parameter was normalized for a theoretical heart rate of 75bpm (Alx@75) by conventional formula. In each subject, arterial oxygen saturation was measured by a pulse oximeter (Ohmeda Tuff Sat with sensor OxyTip Finger 6051-0000-160, GE Healthcare-Finland). End diastolic left ventricle pressure (EDLVP) was non-invasively determined by Doppler echocardiography (portable device Vivid I, probe 3S-RS General Electric Company, GE Healthcare, Milwaukee, WI, USA).

RESULTS

Alx@75 (Figure 1) did not change at different altitudes, and no difference was observed between treatment groups. Compared to sea

per 3 volte, utilizzando uno strumento oscillometrico validato (AND UA-767PC, AND® Company Ltd, Tokyo, Giappone). Le 3 misure sono state effettuate ad intervalli di 3 minuti. Le misure di PWV sono state calcolate mediante registrazione in rapida successione delle due distinte forme d'onda (carotide-femorale e carotide-radiale) sincronizzando le tracce acquisite mediante il tracciato ECG registrato contemporaneamente all'acquisizione della forma d'onda. Come recentemente raccomandato in letteratura¹, per il calcolo della cf-PWV la variabile di distanza tra i due punti di acquisizione della forma d'onda è stata calcolata utilizzando l'80% della misura diretta tra i due siti. Come impostato nel software della PulsePen®, per tutti i calcoli di PWV non sono state ritenute valide misurazioni in cui tra i due siti di acquisizione vi fosse una differenza nella frequenza cardiaca o nella pressione arteriosa periferica $\geq 10\%$. In ogni soggetto la misura è stata eseguita due volte consecutivamente, e per le analisi statistiche è stata utilizzata la media dei due valori. Mediante acquisizione della forma d'onda a livello della carotide comune il software della PulsePen® ha fornito, sulla base dei valori

level, cf-PWV (Figure 2) significantly increased when subjects reached 5400m asl (7.66 ± 1.2 m/sec at sea level, 8.36 ± 1.37 m/sec at BC1; $p < 0.05$ for subjects in placebo group, and 7.76 ± 1.21 m/sec at sea level 8.73 ± 1.83 m/sec at BC1 for subjects in telmisartan group) and remained elevated after prolonged exposure (8.27 ± 1.12 m/sec in placebo group and 8.68 ± 1.19 m/sec

di pressione periferica, i valori di pressione centrale. Poiché l'Augmentation Index risulta alterato dalla frequenza cardiaca, parametro che incrementa durante l'esposizione ad ipossia ipobarica in alta quota, i valori ottenuti sono stati normalizzati per una frequenza teorica di 75bpm ($AIx@75$) attraverso la formula convenzionale. In tutti i soggetti, la saturazione arteriosa

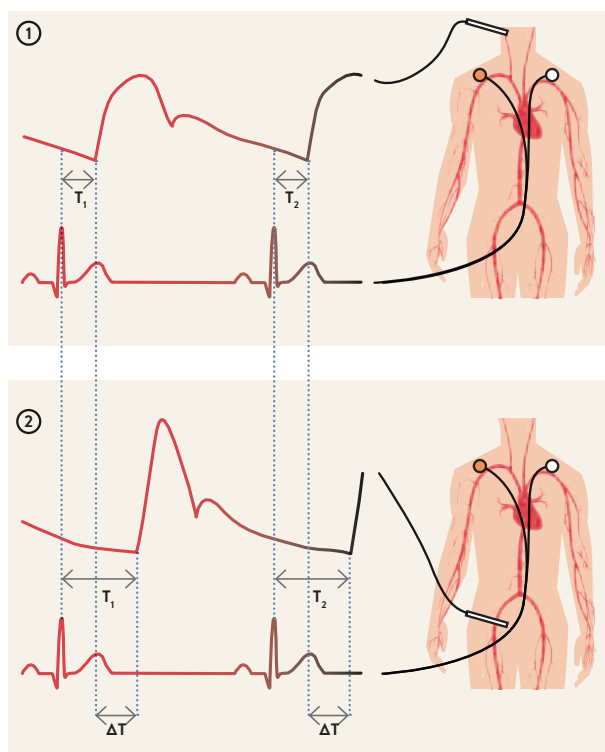
PULSE WAVE VELOCITY (PWV)

Pulse wave velocity (PWV)

Pulse wave velocity (PWV) allows the evaluation of the stiffness of a specific arterial segment (elasticity = reciprocal of distensibility); it is calculated as the ratio of the distance of two arterial sites and time needed for the pulse wave to cross that distance:

$$PWV(m/sec) = \text{Distance} / \Delta \text{Time}$$

Carotid-femoral district evaluation (cf-PWV) is the gold standard for arterial stiffness because it describes the aortic rigidity and thus represents the afterload of left ventricle; moreover, it is an independent predictor of cardiovascular events.^{1,2,3} While carotid-femoral PWV is an index of large arteries distensibility (i.e. aorta), carotid-brachial PWV (cr-PWV) represents the distensibility of muscular arteries (axillo-brachial axis). Tonometric technique allows a single operator to quickly acquire pulse wave form in the two vascular sites, by a probe synchronized with an ECG recorder.



La velocità di propagazione dell'onda di polso (pulse wave velocity, PWV) rappresenta un metodo per la misura della rigidità di uno specifico segmento arterioso (elasticità = inverso della distensibilità); viene calcolata mediante il rapporto tra la distanza di due punti dell'albero arterioso ed il tempo impiegato dall'onda di polso a percorrere tale distanza:

$$PWV(m/sec) = \text{Distanza} / \Delta \text{Tempo}$$

Il distretto carotido-femorale (cf-PWV) rappresenta il "gold standard" per questo parametro, in quanto descrive il post-carico del ventricolo sinistro e la rigidità aortica, ed è un predittore indipendente di eventi cardiovascolari.^{1,2,3}

La PWV del segmento carotido-femorale rappresenta un indice di distensibilità delle arterie a prevalente componente elastica (aorta), di contro la PWV carotido-radiale (cr-PWV) rappresenta la distensibilità di arterie a prevalente componente muscolare (asse axillo-brachiale). La tecnica tonometrica con strumenti che necessitano di un solo operatore prevede l'acquisizione della forma d'onda nei due siti in due tempi in rapida successione, utilizzando una sonda abbinata ad un segnale ECG utilizzato per sincronizzare i tracciati acquisiti a livello arterioso.

Non-simultaneous wave form acquisition in two different vascular sites and ECG synchronization.

Acquisizione non simultanea della forma d'onda da due siti e sincronizzazione con segnale ECG.

1. Perk J, De Backer G, Gohlke H, Graham I, Reiner Z, Verschuren WM, Albus C, Benlian P, Boysen G, Cifkova R, Deaton C, Ebrahim S, Fisher M, Germanò G, Hobbs R, Hoes A, Karadeniz S, Mezzani A, Prescott E, Ryden L, Scherer M, Scholte Op Reimer WJ, Vrints C, Wood D, Zamorano JL, Zannad F; Comitato per Linee Guida Pratiche (CPG) dell'ESC. European Guidelines on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (version 2012). The Fifth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and other societies on cardiovascular disease prevention in clinical practice (constituted by representatives of nine societies and by invited experts). *G Ital Cardiol (Rome)*. 2013 May;14(5):328-92. 2. Laurent S, Boutouyrie P, Asmar R, Gautier I, Laloux B, Guize L, Ducimetiere P, Benetos A. Aortic stiffness is an independent predictor of all-cause and cardiovascular mortality in hypertensive patients. *Hypertension*. 2001;37:1236-1241. 3. Mancia G, Fagard R, Narkiewicz K, Redon J, Zanchetti A, Böhm M, Christiaens T, Cifkova R, De Backer G, Dominiczak A, Galderisi M, Grobbee DE, Jaarsma T, Kirchhof P, Kjeldsen SE, Laurent S, Manolis AJ, Nilsson PM, Ruilope LM, Schmieder RE, Sirnes PA, Sleight P, Viigimaa M, Waeber B, Zannad F. 2013 ESH/ESC Practice Guidelines for the Management of Arterial Hypertension. *Blood Press*. 2014 Feb;23(1):3-16

SUBENDOCARDIAL VIABILITY RATIO (SEVR)

SubEndocardial Viability Ratio (SEVR)

Myocardial perfusion is not constant, but it varies in different tissue layers and cardiac cycle phases; subendocardial layer, differently from the epicardial one, is perfused only during diastolic phase, because of two extravascular compressive forces which prevent systolic perfusion: intracavitary ventricular pressure and vascular occlusion, caused by ventricular contraction. Central pulse wave form analysis provides a useful index of myocardial perfusion: the SubEndocardial Viability Ratio (SEVR). This parameter represents oxygen supply/demand ratio, because it estimates subendocardial perfusion related to left ventricle workload. Myocardial oxygen consumption depends on heart rate (systolic time), ejection pressure and myocardial contractility; all these parameters are represented in the area underlying the systolic phase of the aortic or ventricular pressure wave (systolic pressure-time index, SPTI).^{1,2} Conversely, the diastolic pressure-time index (DPTI) evaluates the three main determinants of subendocardial perfusion: coronary arteries diastolic pressure, (which, in healthy coronaries, is the same of ascending aorta diastolic pressure), diastolic coronary-left ventricle pressure gradient in diastole and diastolic time.^{3,4,5}

Thus, SEVR may be calculated by the following formula:

$$\text{SEVR} = \text{DPTI} / \text{SPTI}$$

That is:

$$\text{SEVR} = [(\text{MDBP} - \text{LVEDP}) \cdot \text{DT}] / [\text{MSBP} \cdot \text{LVET}]$$

MDBP and MSBP are mean diastolic blood pressure and mean systolic blood pressure, respectively, of a central pressure wave form (aortic, carotid), DT is diastolic time, LVET is left ventricular ejection time and LVEDP is the late diastolic left ventricle pressure (measurable with ultrasonographic techniques). Subendocardial oxygen delivery is determined not only by coronary blood flow, but also by oxygen blood content; if the latter is reduced (as under high altitude hypoxia), a correction in the SEVR formula is necessary, multiplying DPTI for arterial oxygen content (CaO_2), obtained from the following formula:

$$\text{CaO}_2 = [1.34 \cdot \text{Hb (g/dL)} \cdot \text{O}_2\text{Sat (\%)}] + [0.003 \cdot \text{pO}_2 \text{ (mmHg)}]$$

And thus:

$$\text{SEVR} \times \text{CaO}_2 = [\text{O}_2 \text{ content} \cdot \text{DPTI}] / \text{SPTI}$$

La perfusione del miocardio non è costante, dipende dallo strato di tessuto considerato e dalla fase cardiaca; gli strati subendocardici, diversamente dagli strati sub epicardici, sono perfusi solo durante la diastole cardiaca, in quanto durante la fase sistolica l'apporto è limitato da due forze compressive extravascolari: la pressione intracavitaria del ventricolo sinistro e l'occlusione vascolare causata dalla contrazione ventricolare. L'analisi della curva pressoria centrale permette di ricavare un indice utile per valutare la perfusione miocardica: il SubEndocardial Viability Ratio (SEVR). Tale parametro rappresenta il rapporto tra la richiesta e l'apporto di ossigeno poiché tiene conto della perfusione subendocardica in relazione al carico di lavoro a cui è sottoposto il ventricolo sinistro. Il consumo miocardico di ossigeno dipende dalla frequenza cardiaca (tempo sistolico), dalla pressione di eiezione e dalla contrattilità miocardica, parametri racchiusi nell'area che sottende la fase sistolica della curva pressoria in aorta o in ventricolo sinistro ("systolic pressure-time index", SPTI).^{1,2} Di contro, il "diastolic pressure-time index" (DPTI) prende in considerazione i tre principali fattori che influenzano il flusso subendocardico: la pressione diastolica nelle coronarie (che a coronarie integre è uguale alla pressione diastolica in aorta ascendente), il gradiente tra la pressione nelle coronarie e la camera ventricolare sinistra durante la fase diastolica, e la durata del periodo diastolico.^{3,4,5}

Il SEVR può quindi essere calcolato con la seguente formula:

$$\text{SEVR} = \text{DPTI} / \text{SPTI}$$

Ovvero:

$$\text{SEVR} = [(\text{MDBP} - \text{LVEDP}) \cdot \text{DT}] / [\text{MSBP} \cdot \text{LVET}]$$

ove MDBP (mean diastolic blood pressure) e MSBP (mean systolic blood pressure) sono rispettivamente la media dei valori pressori della fase diastolica e della fase sistolica della curva pressoria centrale (aortica, carotidea), DT la durata della diastole, LVET (left ventricular ejection time) la durata della sistole e LVEDP la pressione telediastolica in ventricolo sinistro (parametro misurabile mediante metodica ultrasonografica). L'apporto di ossigeno al subendocardio, tuttavia, non dipende solamente dal flusso ematico a livello coronarico, ma anche dal contenuto di ossigeno; è opportuno quindi correggere la formula che definisce il SEVR moltiplicando il DPTI per il contenuto di ossigeno del sangue arterioso (CaO_2), determinato mediante la formula:

$$\text{CaO}_2 = [1.34 \cdot \text{Hb (g/dL)} \cdot \text{O}_2\text{Sat (\%)}] + [0.003 \cdot \text{pO}_2 \text{ (mmHg)}]$$

Da cui si ricava:

$$\text{SEVR} \times \text{CaO}_2 = [\text{contenuto di O}_2 \cdot \text{DPTI}] / \text{SPTI}$$

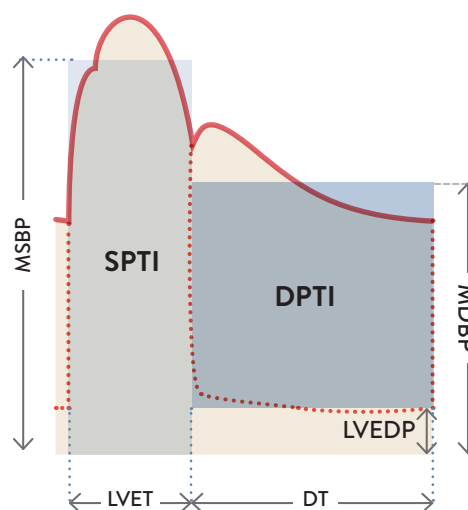


Table 1

pSBP: peripheral systolic blood pressure; cSBP: central systolic blood pressure; PL: placebo; TS: telmisartan; * p<0.05 vs. SL-pre and SL-post.

pSBP: pressione arteriosa sistolica periferica; cSBP: pressione arteriosa sistolica; PL: placebo; TS: telmisartan; *p<0.05 vs. SL-pre e SL-postcentrale.

PARAMETERS	TREATMENT	SL-pre	SL-post	3400m NAMCHE	5400m BC1	5400m BC2
pSBP, mmHg	PL	114.3±11.6	113.7±11.1	117.4±10.5	122.3±13.1	121.7±12.6
	TS	115.0±10.9	114.1±12.7	116.1±9.4	127.0±15.4	122.2±14.1
cSBP, mmHg	PL	104.0±11.7	103.3±10.4	106.0±9.4	111.0±11.2 *	111.9±12.1 *
	TS	104.5±10.9	103.6±11.9	105.5±8.7	116.4±13.9 *	112.3±12.6 *

in telmisartan group; p<0.05). Of note, accordingly to study plan, 5400m altitude was reached after a total of 8 days of high altitude exposure, according to the previously set trekking schedule, so the initial exposure cannot be considered as pure acute exposure, but rather as a prolonged exposure. No alterations were observed in cr-PWV at high altitude, either in placebo or telmisartan group (Figure 3) compared to sea level. Both peripheral and central systolic pressure significantly increased during high altitude exposure in both groups, and this increase persisted during the whole stay at Base Camp; no differences were found between placebo and telmisartan group at any step of the study (Table 1). Compared to sea level, SEVR significantly decreased in the placebo group during acute exposure to 3400m (Namche Bazaar) (p<0.005) and during exposure to very high altitude (p<0.05). Similar changes were observed in the telmisartan group: compared to sea level, SEVR significantly decreased at 3400m (p<0.005) and during acute exposure to 5400m (p<0.05) (Table 2). Table 2 shows haematocrit and oxygen arterial blood saturation values, used to correct SEVR for arterial oxygen content

di ossigeno nel sangue è stata misurata attraverso un pulsossimetro (Ohmeda Tuff Sat con sensore OxyTip Finger 6051-0000-160, GE Healthcare-Finlandia). La pressione telediastolica ventricolare sinistra (LVEDP) è stata determinata in modo non invasivo mediante metodica ecocolorDoppler, utilizzando un ecografo cardiovascolare Vivid I portatile, con una sonda 3S-RS (General Electric Company, GE Healthcare, Milwaukee, WI, USA).

RISULTATI

L'Alx@75 (Figura 1) non si modifica in modo significativo al variare della quota raggiunta, né si sono osservate differenze tra i diversi gruppi in trattamento. Rispetto al livello del mare, la cf-PWV (Figura 2) aumenta in modo significativo quando i soggetti raggiungono la quota di 5.400m (da 7,66±1,28m/sec a livello del mare a 8,36±1,37m/sec a BC1; p<0,05 per i soggetti nel gruppo placebo e da 7,76±1,21m/sec a 8,73±1,83m/sec nel gruppo telmisartan), e rimane elevata durante un'esposizione prolungata ad alta quota (8,27±1,12 per placebo e 8,68±1,19 per telmisartan; p<0,05). Da considerare che, nel disegno dello studio, la

Table 2

SEVR values (the effect of altitude vs. SL-post and SL-pre, *=p<0.05; #=p<0.005), SEVR normalized for O₂ arterial content (the effect of altitude vs. SL-post and SL-pre, *=p<0.05; #=p<0.005), oxygen saturation, hemoglobin and O₂ arterial content PL: placebo; TS: telmisartan.

Valori di SEVR (Effetto quota vs. SL-post e SL-pre, *=p<0,05; #=p<0,005), SEVR corretto per contenuto arterioso di O₂ (Effetto quota vs. SL-post e SL-pre, *=p<0,05; #=p<0,005), saturazione, emoglobina e contenuto arterioso di ossigeno PL: placebo; TS: telmisartan.

PARAMETERS	TREATMENT	SL-pre	SL-post	3400m NAMCHE	5400m BC1	5400m BC2
O ₂ SAT, %	PL	98.1±1.1	98.1±1.2	90.8±2.7	77.3±5.9	85.5±4.4
	TS	98.0±1.0	98.0±1.0	90.8±2.8	78.0±5.3	86.1±3.1
Hb, Mg/dL	PL	14.58±1.19	14.55±1.19	14.84±1.62	16.51±1.86	17.74±1.64
	TS	14.19±1.28	14.19±1.32	13.57±1.46	15.66±2.29	17.07±2.08
CaO ₂	PL	19.49±1.66	19.46±1.66	18.24±2.1	17.23±2.44	20.49±2.23
	TS	18.95±1.67	18.96±1.73	16.68±1.82	16.50±2.70	19.86±2.67
SEVR	PL	1.76±0.37	1.77±0.29	1.45±0.23 #	1.59±0.36	1.51±0.2 *
	TS	1.72±0.27	1.65±0.3	1.37±0.31 #	1.46±0.29 *	1.55±0.3 *
SEVRxCaO ₂	PL	34.49±9.01	34.49±6.82	26.27±4.41 *	27.54±8.63 #	31.02±5.79
	TS	32.77±6.17	32.22±6.39	23.26±5.92 #	24.55±6.97 *	32.03±8.52

(SEVRx CaO_2); also for this parameter a significant difference between sea level and altitude was found ($p<0.005$ and $p<0.05$ for 3400m and 5400m acute exposure, respectively), both for telmisartan and placebo group. During prolonged exposure to high altitude, SEVRx CaO_2 returned toward sea level values (Figure 4).

CONCLUSIONS

Our data indicate that during high altitude hypobaric hypoxia exposure, properties of large arteries, especially PWV, behave differently in different arteries. In fact, cr-PWV, an index of distensibility of muscular arteries, does not change, whilst cf-PWV increases (suggesting a decreased aortic distensibility) during prolonged exposure to high altitude. These data suggest an impact of altitude adaptation mechanisms on viscoelastic properties of large arteries, during prolonged exposure. Alx@75 does not seem to be affected by high altitude exposure; we hypothesize that this is the result of a balance between local vasodilation due to hypoxia and vasoconstriction due to sympathetic activation. Considering that the behaviour of these parameters does not follow that of heart rate and blood pressure, we hypothesize that prolonged exposure to high altitude determines an increase in aortic arterial stiffness independently from these explanatory variables. SEVR, which reflects subendocardial blood supply/demand ratio, is significantly reduced in both groups during acute exposure, mainly because of heart rate increase, which reduces systolic/diastolic time ratio. From a clinical perspective, SEVRx CaO_2 is more interesting, because it reflects true oxygen arterial blood content and not only blood supply; it recovers to basal values after prolonged high altitude exposure due to the increase in haemoglobin (due to medullary hematopoiesis) and haematocrit (due also to dehydration and fluid redistribution and consequently hypovolemia). These adaptive mechanisms partly compensate for the reduction in diastolic/systolic time ratio due to heart rate increase, allowing a better oxygen supply to myocardium and thereby a better exercise tolerance. We did not find significant differences between placebo and telmisartan group with regard to the evaluated variables (central and peripheral arterial blood pressure, PWV, wave form analysis-derived parameters). From our data, RAAS does not seem to be involved in haemodynamic changes during short- and long-term very high altitude exposure.

quota di 5.400m è stata raggiunta all'ottavo giorno di permanenza in alta quota, mediante tappe prefissate via trekking, e non rappresenta dunque un'esposizione acuta all'alta quota, ma piuttosto un'esposizione prolungata.

Non sono state osservate alterazioni nella cr-PWV in alta quota in nessuno dei due gruppi (Figura 3), né in relazione al trattamento, né in relazione alla quota. La pressione sistolica centrale, così come la periferica, è aumentata significativamente in quota in entrambi i gruppi in analisi, mantenendosi elevata durante l'intera permanenza al Campo Base; non sono state osservate differenze significative tra i gruppi in trattamento attivo e in placebo in nessuna tappa dello studio (Tabella 1). Il SEVR diminuisce in modo significativo nei soggetti in placebo in esposizione acuta alla quota di 3.400m (Namche Bazar) rispetto alle misurazioni effettuate a livello del mare ($p<0,005$), ed in esposizione prolungata ad altissima quota rispetto al basale ($p<0,05$). Un simile andamento si osserva nel gruppo in trattamento attivo con una significatività per le quote di 3.400m ($p<0,005$) e di 5.400m ($p<0,05$) in acuto vs. il livello del mare (Tabella 2).

In Tabella 2 sono inoltre riportati i valori di ematocrito e saturazione di O_2 , utilizzati per ricavare i valori di SEVR corretti per contenuto arterioso di ossigeno (SEVRx CaO_2); come per il SEVR, si osserva una significatività verso il livello del mare in esposizione acuta a 3.400m ($p<0,005$) e in esposizione acuta a 5.400m ($p<0,05$), sia per i soggetti in placebo che per i soggetti in trattamento ($p<0,05$), mentre in esposizione prolungata i valori di SEVRx CaO_2 ritornano simili ai valori basali (Figura 4).

CONCLUSIONI

In conclusione, per quanto riguarda l'effetto netto dell'esposizione ad ipossia ipobarica da alta quota sui parametri che descrivono le proprietà delle arterie, abbiamo osservato un andamento differente della PWV in relazione alla diversa tipologia di arteria valutata; non sono state osservate differenze nella cr-PWV, che rappresenta un indice di distensibilità delle arterie a prevalente componente muscolare, mentre si è osservato un aumento della cf-PWV, indice di distensibilità aortica, che di fatto suggerisce una minore distensibilità aortica in esposizione prolungata ad alta quota. Tale dato suggerisce inoltre che meccanismi di adattamento all'alta quota possano comportare,

Figure 3
cr-PWV

Carotid-radial artery
pulse wave velocity

Pulse wave velocity
carotido-radiale



PLACEBO



TELMISARTAN

Figure 4
SEVR_ CaO_2

SEVR normalized for O_2
arterial content. (Altitude's
effect vs. SL-post e SL-pre,
*= $p<0.05$; #= $p<0.005$).

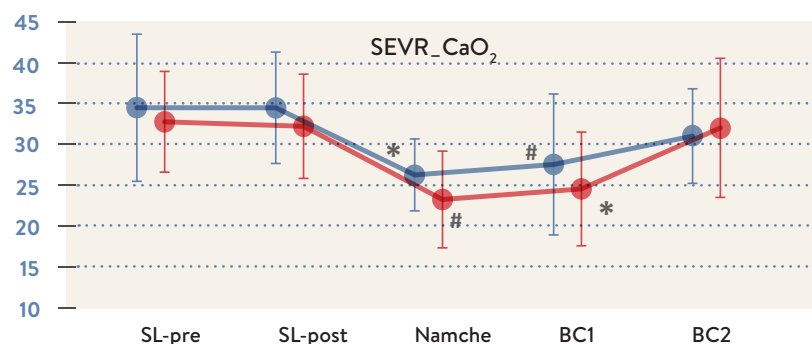
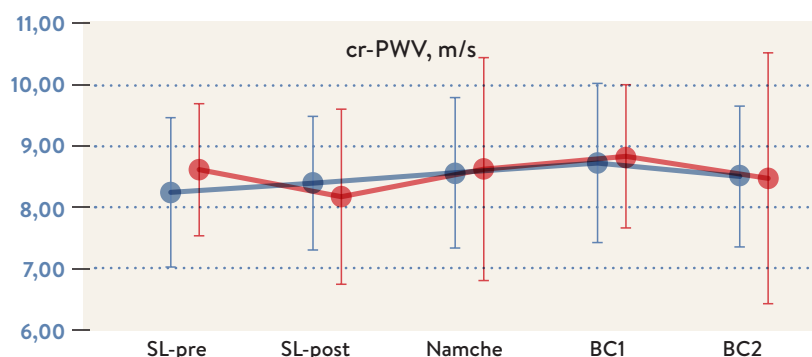
SEVR corretto per
contenuto arterioso di
 O_2 . (Effetto quota vs. SL-
post e SL-pre, *= $p<0.05$;
#= $p<0.005$).

RIGHT

Arterial properties
evaluation by
tonometric technique
in a laboratory tent at
Everest Base Camp.

DESTRA

Valutazione delle
proprietà delle arterie
mediante tecnica
tonometrica nella tenda
laboratorio al Campo
Base Everest.



in esposizione più prolungata, alterazioni delle proprietà viscoelastiche dei grandi vasi. Per quanto riguarda l'Alx@75, non sono state osservate differenze statisticamente significative; alla base di tale risultato si può ipotizzare un bilanciamento tra i vari fattori in grado di alterare le resistenze periferiche in quota, ovvero la vasodilatazione locale secondaria all'ipossia e la vasocostrizione indotta dal sistema simpatico.

Poiché tali risultati nei parametri emodinamici non seguono l'andamento dei valori di pressione arteriosa né della frequenza cardiaca, si può presupporre che una esposizione prolungata ad alta quota determini un incremento della rigidità arteriosa aortica in modo indipendente da queste variabili. Il SEVR, che riflette il rapporto offerta/domanda di flusso ematico al subendocardio, si riduce in modo significativo in entrambi i gruppi in esposizione acuta, in particolare per effetto dell'aumento di frequenza cardiaca che modifica il rapporto tra tempo sistolico e tempo diastolico. Dal punto di vista clinico è di maggiore interesse il SEVR_{CaO₂} (che riflette il reale contenuto arterioso di ossigeno e non solo l'apporto ematico), il quale ritorna a valori simili al basale dopo esposizione prolungata in quota come risultante di un aumento sia della saturazione di emoglobina, sia dell'ematocrito causato da una diminuzione della volemia (disidratazione e redistribuzione dei fluidi) e da un aumento dell'eritropoiesi midollare. Tali fenomeni di adattamento compensano, almeno in parte, la diminuzione del rapporto tra la durata della fase diastolica e la durata della fase sistolica legati alla frequenza cardiaca permettendo un maggior apporto di ossigeno al muscolo cardiaco ed una maggiore tolleranza allo sforzo fisico. Non abbiamo riscontrato alcuna differenza tra i soggetti trattati con placebo o telmisartan nei parametri emodinamici valutati in questo studio (valori di pressione arteriosa centrali e periferici, PWV e parametri ottenuti dall'analisi dell'onda di polso). Da questo studio non emerge quindi alcun ruolo del RAAS nel breve periodo sulle alterazioni emodinamiche durante l'esposizione acuta e prolungata ad altissima quota.

1. Salvi P, Safar ME, Parati G. Arterial Applanation Tonometry: Technical Aspects Relevant for Its Daily Clinical Use, *Journal of Hypertension* 31, n. 3 (marzo 2013): 469–71.
 2. Salvi P, Lio G, Labat C, Ricci E, Pannier B, Benetos A. Validation of a new non-invasive portable tonometer for determining arterial pressure wave and pulse wave velocity: the PulsePen device. *J Hypertens*. 2004 Dec;22(12):2285-93.

NOCTURNAL CARDIO-RESPIRATORY MONITORING AT HIGH-ALTITUDE

MONITORAGGIO NOTTURNO CARDIORESPIRATORIO IN ALTA QUOTA

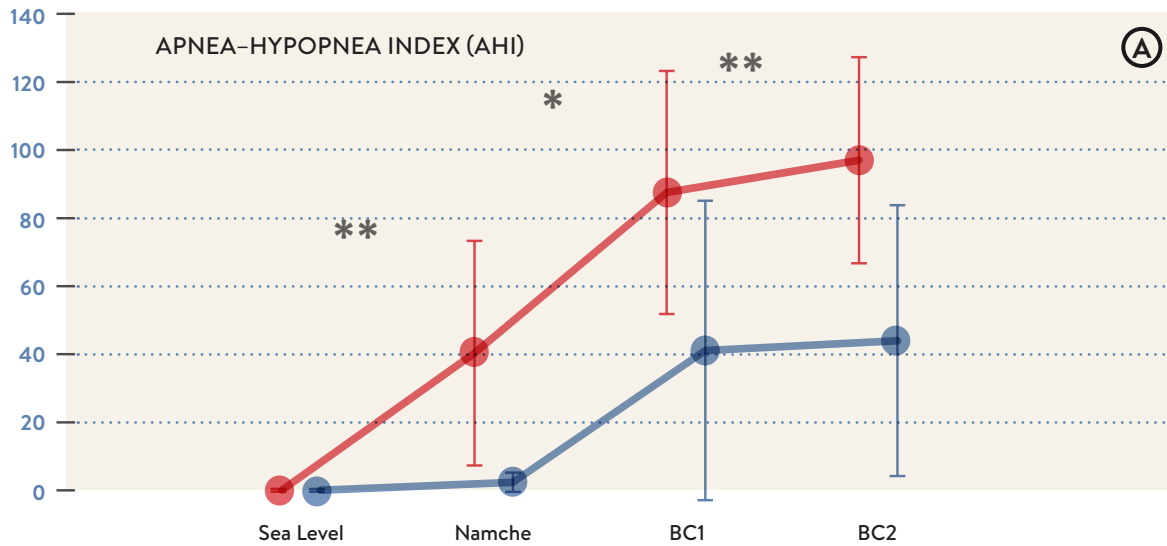
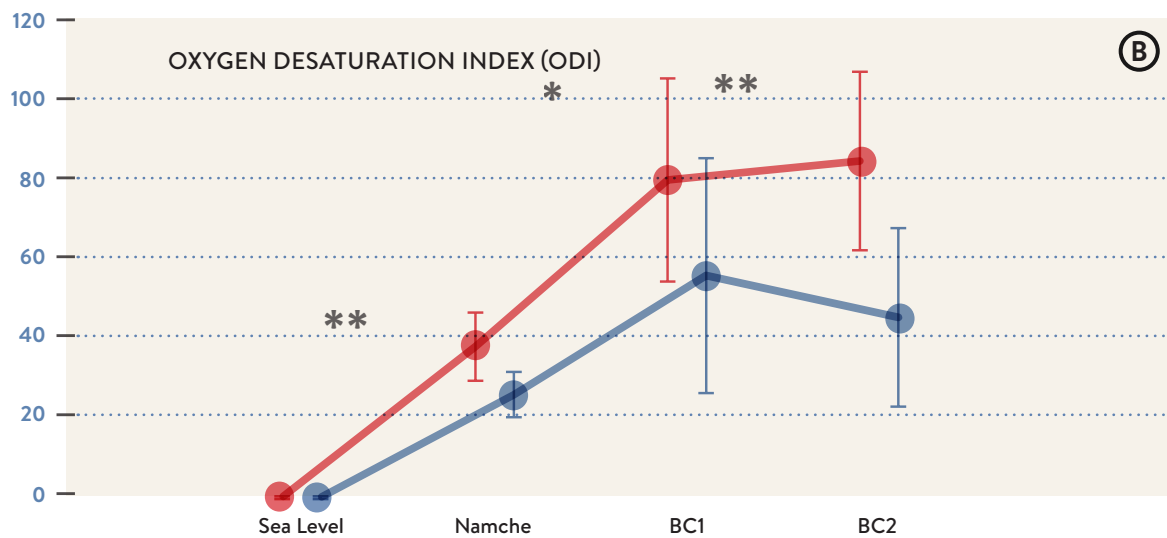


Figure 1

A) APNEA - HYPOPNEA INDEX (AHI)

B) OXYGEN DESATURATION INDEX (ODI)

at sea level, Namche Bazaar 3400m, Base Camp 5400m, during the first 2 days (HA1) and after 10 days (HA2) in males and females, respectively. ANOVA test: ** $p < 0.01$; * $p < 0.05$. (modified from: Lombardi C, et al., *J Sleep Res.* 2013⁸).



A) APNEA - HYPOPNEA INDEX (AHI)

B) OXYGEN DESATURATION INDEX (ODI)

a livello del mare, Namche Bazaar 3400m, Campo Base 5400m, entro i primi 2 giorni dall'arrivo (HA1) e dopo 10 giorni di permanenza (HA2), rispettivamente in maschi e femmine. Test ANOVA: ** $p < 0,01$, * $p < 0,05$. (modificata da: Lombardi C, et al., *J Sleep Res.* 2013⁸).

High-altitude exposure is characterized by the appearance of periodic breathing during sleep.^{1,2} The study of breathing patterns during sleep was one of the principal aims of HIGHCARE-Himalaya. In particular, the analyses focused on gender differences in periodic breathing at high altitude, an aspect on which only limited evidence was available.^{3,4,5}

Respiratory patterns at night were evaluated in a subgroup of 37 participants (23 males: 11 on placebo and 12 on telmisartan; and 14 females: 7 on placebo and 7 on telmisartan). Nocturnal cardio-respiratory monitoring was

L'esposizione all'alta quota è caratterizzata dalla comparsa di respiro periodico durante il sonno.^{1,2} Lo studio dei pattern respiratori durante il sonno è stato uno degli obiettivi principali dello studio HIGHCARE-Himalaya. In particolare, le analisi si sono incentrate sulle differenze di genere nel respiro periodico in alta quota, aspetto sul quale erano disponibili solo poche evidenze scientifiche.^{3,4,5}

I pattern respiratori notturni sono stati valutati in un sottogruppo di 37 partecipanti (23 maschi: 11 nel gruppo placebo e 12 nel gruppo telmisartan; 14 femmine: 7 nel gruppo placebo e 7 nel gruppo telmisartan).

—●—
FEMALE
—●—
MALE

performed by a standard device (Embletta, Embla Broomfield, USA; n=19, 11 males) or via a validated textile-based wearable system (Magic vest, Biomedical Technology Department, Fondazione Don Gnocchi, Milan, Italy; n=18, 12 males). Each subject always made use of the same device throughout the study.

During nocturnal sleep, oro-nasal air flow (Embletta only), thoraco-abdominal movements, blood oxygen saturation by pulse oximetry (SpO_2), body position and movement, and electrocardiogram were continuously monitored. Mean and minimum SpO_2 during the night, number of central and obstructive apneas, oxygen desaturation index (ODI), apnea-hypopnea index (AHI), time (%) of SpO_2 <90%, <80% and 70%, movement time (%) and length of respiratory cycle during periodic breathing sequences (apnea-hypopnea time interval) were calculated. Following current guidelines⁶, apnea was defined as a breathing event with complete upper airways obstruction (obstructive) or complete respiratory arrest (central), lasting at least 10 s. Hypopnea was defined as a breathing event with a reduction of airflow or respiratory movement amplitude between 70 and 20% of the preceding period of stable breathing. ODI was defined as the number of blood oxygen desaturations >3% per hour of sleep, and AHI as the number of apneas plus hypopneas per hour of sleep. All subjects filled-in a daily sleep diary during the expedition, with a sleep subjective report including quantitative and qualitative data. Subjective reports of sleep quality and duration showed a progressive worsening with altitude (male and female, $p<0.01$), but there were no gender-related differences in these parameters.

Data were obtained at sea level (Milan), in Namche Bazaar (3400m), early after reaching Everest Base Camp (5400m), and after prolonged sojourn at Base Camp. Throughout the permanence at Mount Everest Base Camp, the subjects remained always at the same altitude without any major physical exercise. Telmisartan treatment and menstrual phase did not affect breathing patterns in any condition, so that all data were grouped regardless of these factors.

At sea level no subject showed abnormal breathing patterns during sleep (all subjects presented an AHI <5). Cardio-respiratory sleep parameters were significantly affected by altitude exposure with relevant gender

Il monitoraggio notturno cardio-respiratorio è stato effettuato utilizzando uno strumento standard (Embletta, Embla Broomfield, USA; n=19, 11 maschi) oppure uno strumento validato basato su sensori tessili indossabili (Magic vest, Biomedical Technology Department, Fondazione Don Gnocchi, Milano; n=18, 12 maschi). Ogni soggetto ha utilizzato lo stesso strumento per tutta la durata dello studio.

Durante il sonno nelle ore notturne sono stati costantemente monitorati il flusso d'aria oro-nasale (solo nei soggetti che hanno utilizzato Embletta), i movimenti toraco-addominali, la saturazione dell'ossigeno (mediante pulsossimetria, SpO_2), la posizione e i movimenti del corpo e l'elettrocardiogramma. Sono stati inoltre calcolati la SpO_2 media e minima durante la notte, il numero di apnee centrali e ostruttive, l'indice di desaturazione di ossigeno (ODI), l'indice apnea-ipopnea (AHI), il tempo (%) di SpO_2 <90%, <80% e 70%, la durata dei movimenti (%) e la lunghezza dei cicli respiratori durante le sequenze di respiro periodico (intervallo apnea-ipopnea). Come da ultime linee guida⁶, si definisce apnea un evento respiratorio con ostruzione completa delle vie aeree (apnea ostruttiva) o un arresto respiratorio completo (apnea centrale), che duri almeno 10 secondi. Si definisce invece ipopnea un evento respiratorio caratterizzato dalla riduzione del flusso d'aria, o dell'ampiezza del movimento respiratorio, compreso tra il 70% ed il 20% del periodo di respiro stabile precedente. L'ODI è definito come il numero di desaturazioni di ossigeno >3% per ora di sonno, l'AHI rappresenta il numero di apnee più ipopnee per ora di sonno. Tutti i soggetti durante la spedizione hanno compilato un diario del sonno, comprensivo di una valutazione soggettiva della qualità e quantità del sonno. Dalle valutazioni soggettive è emerso un peggioramento progressivo di qualità e quantità del sonno all'aumentare della quota (maschi e femmine, $p<0,01$), senza evidenziare, in questi parametri, differenze legate al genere.

Le registrazioni cardio-respiratorie notturne sono state ottenute a livello del mare (Milano), a Namche Bazaar (3.400m), subito dopo l'arrivo al Campo Base del Monte Everest (5.400m) e dopo un soggiorno prolungato al Campo Base. Durante la permanenza al Campo Base i soggetti sono rimasti alla stessa quota, senza sottoporsi ad esercizio fisico intenso. Il trattamento con telmisartan e il ciclo mestruale non hanno influenzato il pattern del respiro in alcuna

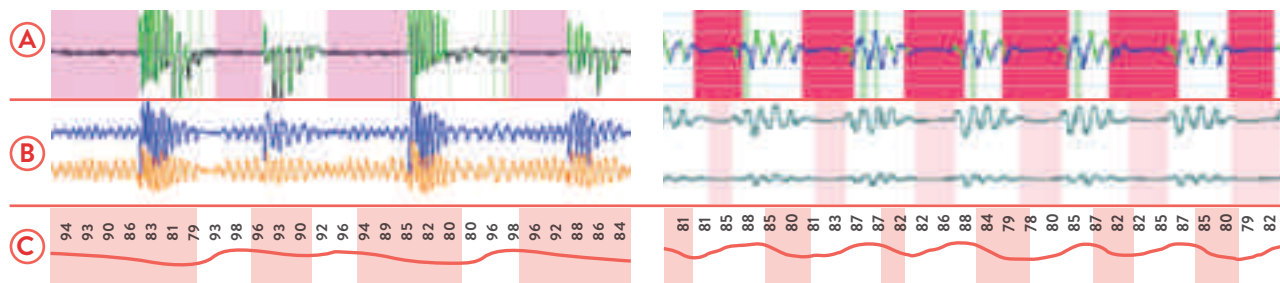
differences. At 3400m, AHI was 40.3 ± 33.0 in males and 2.4 ± 2.8 in females ($p < 0.01$), due to a much higher number of central sleep apneas and hypopneas in males. A corresponding gender difference in ODI was also observed (37.9 ± 25.8 versus 8.6 ± 5.7 in males and females, respectively; $p < 0.01$). During the first/second night at very high altitude, AHI increased further in both genders, remaining significantly higher in males (87.5 ± 35.7) than in females (41.1 ± 44.0 ; $p < 0.05$). Similarly to what was found at lower altitude, the difference was due to a higher frequency of central sleep apneas and hypopneas in males. Consequently, ODI values were 79.9 ± 25.6 and 55.8 ± 29.6 in males and females, respectively ($p < 0.05$) (all data in Figure 1). The above pattern persisted after a prolonged exposure of 12 days at 5400m: during the last night at 5400m, AHI and ODI were $97.0 \pm 30.3/44.0 \pm 39.8$ and $84.7 \pm 22.5/45.3 \pm 22.5$ in males/females, respectively ($p < 0.01$). No obstructive sleep apnea events were observed in any condition.

condizione, quindi tutti i dati sono stati analizzati insieme, senza tener conto di questi fattori.

A livello del mare nessun soggetto ha mostrato un pattern respiratorio notturno anomalo (tutti i soggetti presentavano un AHI < 5); tuttavia, l'esposizione all'alta quota ha profondamente influenzato i parametri cardiorespiratori notturni, con significative differenze tra i generi. A 3.400m, infatti, l'AHI (media $\pm$ deviazione standard) era $40,3 \pm 33,0$ nei maschi e $2,4 \pm 2,8$ nelle femmine ($p < 0,01$); tale differenza era determinata da un numero maggiore di apnee ed ipopnee centrali nei maschi. Parallelamente è stata osservata una analoga differenza tra generi nell'ODI ($37,9 \pm 25,8$ versus $8,6 \pm 5,7$ rispettivamente in maschi e femmine; $p < 0,01$). Durante la prima/seconda notte ad altissima quota, l'AHI mostrava un ulteriore incremento in entrambi i generi, pur rimanendo significativamente più alto nei maschi ($87,5 \pm 35,7$) che nelle femmine ($41,1 \pm 44,0$; $p < 0,05$). Similmente a quanto riscontrato a

HIGH ALTITUDE SLEEP APNEA

Apnea notturna in alta quota



A: nasal flow (purple and red areas identify flow interruptions); **B:** thoracic and abdominal movements; **C:** O_2 saturation by pulse oximetry (pink areas identifies oxygen desaturations)

Example of obstructive sleep apnea detected by nocturnal polygraphy: Purple highlighted areas (tracing a) identify the periodic interruptions of airway flow associated with preserved respiratory effort (i.e. thoraco-abdominal movements persisting during apneas, tracing b), determining deeply negative intrathoracic pressure.

Example of central sleep apnea detected by nocturnal polygraphy: Contrary to the obstructive ones, central apneas are characterized by interruption of airway flow (red areas in tracing a) in the absence of thoraco-abdominal movements, due to the temporary lack of nervous stimuli to respiratory muscles.

A: flusso nasale (le bande viola e rosse indicano assenza di flusso); **B:** movimenti torace e addome; **C:** saturazione O_2 al pulsossimetro (in rosa sono evidenziate le desaturazioni)

Esempio alla poligrafia notturna di apnea di tipo ostruttivo: si notino i periodi di assenza di flusso a livello delle vie aeree (in viola su traccia a) associati ad uno sforzo inspiratorio conservato (movimenti toraco-addominali conservati in corso di apnea, traccia b) con generazione di elevate pressioni negative intratoraciche.

Esempio alla poligrafia notturna di apnea di tipo centrale: diversamente dall'esempio precedente si noti l'assenza di flusso nasale (in rosso su traccia a) associata ad una assenza di movimenti toraco-addominali per sospensione temporanea degli impulsi nervosi diretti alla muscolatura respiratoria.

Table 1

SpO₂ NOCTURNAL PARAMETERS(data are presented as means $\pm$ standard deviation).(modified from: Lombardi C, et al., *J Sleep Res.* 2013⁸).**PARAMETRI DI SATURAZIONE NOTTURNA**(dati espressi come media $\pm$ deviazione standard).(modificata da: Lombardi C, et al., *J Sleep Res.* 2013⁸).

	GENDER	SpO ₂ mean (%)	SpO ₂ min (%)
SEA LEVEL	MALE	97.3 $\pm$ 0.8	93.0 $\pm$ 1.0
	FEMALE	97.4 $\pm$ 0.9	92.9 $\pm$ 1.5
NAMCHE	MALE	82.1 $\pm$ 3.8	73.7 $\pm$ 5.1
	FEMALE	84.9 $\pm$ 3.0	75.5 $\pm$ 4.2
BC1	MALE	73.1 $\pm$ 4.2	62.2 $\pm$ 4.7
	FEMALE	72.5 $\pm$ 4.9	61.8 $\pm$ 6.2
BC2	MALE	76.5 $\pm$ 2.9	66.1 $\pm$ 6.0
	FEMALE	78.0 $\pm$ 2.3	68.7 $\pm$ 3.8

Mean and minimum values of SpO₂ at night were progressively and significantly lower on going from sea level to 3400m and to 5400m ($p < 0.05$), but no between-gender differences were observed (Table 1). With increasing altitude, there was also a progressive reduction in respiratory cycle length during central apneas in males (26.9 $\pm$ 3.4 s at 3400m and 22.6 $\pm$ 3.7 s at 5400m). Females, who displayed a significant number of central apneas only at the highest reached altitude, were characterized by longer cycle length than males at similar altitude (30.1 $\pm$ 5.8 s at 5400m). The difference between cycle length in males at 3400m and 5400m, and the cycle length difference between males and females at 5400m were both statistically significant ($p < 0.01$).

HIGHCARE-Himalaya data indicate thus that at high altitude nocturnal periodic breathing affects males to a larger degree than females: women had nocturnal central sleep apneas and hypopneas less often than men and at 3400m few women developed periodic breathing at all. Thus, female subjects seem to require stronger hypobaric and/or hypoxic stimulations than male subjects to trigger sleep-related breathing disorders. After 12 days at 5400m gender differences in the apnea-hypopnea index similar to those observed after acute exposure were still observed, accompanied by differences in respiratory cycle length. The genesis of nocturnal periodic breathing at high altitude is related to a complex interaction between a hypoxia-induced hyperventilation low PaCO₂ and greater chemoreflex sensitivity, all leading to ventilatory control system instability. We were not able to investigate in detail the mechanisms responsible for the gender-related differences in hypobaric hypoxia-induced periodic breathing observed in our subjects; a different chemoreflex response to pO₂ and

quote più basse, la differenza era attribuibile ad una maggiore frequenza di apnee ed ipopnee centrali nei soggetti di sesso maschile. I valori di ODI sono stati 79,9 $\pm$ 25,6 e 55,8 $\pm$ 29,6 rispettivamente nei maschi e nelle femmine ($p < 0,05$) (tutti i dati sono riportati in Figura 1). Il pattern sopradescritto si è mantenuto anche dopo esposizione prolungata a 5.400m: durante l'ultima notte al Campo Base, AHI e ODI sono stati rispettivamente 97,0 $\pm$ 30,3/44,0 $\pm$ 39,8 e 84,7 $\pm$ 22,5/45,3 $\pm$ 22,5, in maschi e femmine ($p < 0,01$). Non sono state registrate apnee di tipo ostruttivo in alcuna delle condizioni sperimentali.

Salendo dal livello del mare a 3.400m e poi a 5.400m, la SpO₂ minima e media durante la notte si sono progressivamente e significativamente ridotte ($p < 0,05$), senza differenze tra i generi (Tabella 1). Con l'aumentare della quota, si è osservata una progressiva riduzione nella lunghezza dei cicli respiratori durante le apnee centrali nei maschi (26,9 $\pm$ 3,4 sec. a 3.400m e 22,6 $\pm$ 3,7 sec. a 5.400m). I pattern respiratori dei soggetti di sesso femminile, che presentavano un numero significativo di apnee centrali solo in altissima quota, erano caratterizzati da cicli di maggiore lunghezza rispetto agli uomini (30,1 $\pm$ 5,8 sec. a 5.400m). Sia le differenze tra la durata dei cicli respiratori a 3.400m e a 5.400m, che la differenza di durata dei cicli tra maschi e femmine a 5.400m, si sono rilevate statisticamente significative ($p < 0,01$).

I dati dello studio HIGHCARE-Himalaya hanno mostrato come il respiro periodico in alta quota interessi i maschi in misura maggiore rispetto alle femmine; solo un numero molto ridotto di donne, infatti, ha sviluppato respiro periodico alla quota di 3.400m. Da ciò si può dedurre che i soggetti di sesso femminile necessitano di stimoli ipobarici e/o ipossici più intensi per sviluppare disturbi del respiro legati al sonno. Dopo 12 giorni di permanenza a 5.400m, le differenze di genere nell'indice apnea-ipopnea sono rimaste simili a quelle osservate durante esposizione acuta, accompagnate da differenze nella lunghezza del ciclo respiratorio. L'origine del respiro periodico notturno in alta quota è da ricercarsi nell'interazione complessa tra iperventilazione, indotta dall'ipossia e ridotta PaCO₂, e maggiore sensibilità del chemoriflesso, fattori che favoriscono l'instabilità del sistema di controllo ventilatorio. Utilizzando solo i dati in nostro possesso non è stato possibile studiare in modo approfondito i meccanismi responsabili delle differenze di genere nel respiro periodico indotto da ipossia ipobarica

pCO₂ changes at altitude between males and females could be suggested as a possible explanation for the gender-related differences in the nocturnal breathing behaviour that we observed. Such differences could be related to an effect of sex hormones either directly affecting respiratory centers or indirectly, through changes in mechanics of ventilation and/or cerebral blood flow regulation.

Telmisartan administration did not affect respiratory patterns in our study, probably because angiotensin receptor blockade, although potentially able to interfere with peripheral chemoreceptor activity, might not significantly modulate the interaction between central and peripheral chemoreceptor influences, which could be one of the hypothesized mechanisms of periodic breathing at high altitude. Periodic breathing at high altitude is a complex phenomenon and its relationship with other physiologic alterations induced by hypoxia exposure is not clear. For instance, while it is usually present in subject with acute mountain sickness (AMS), it does not seem to predict AMS occurrence or severity.⁷ In fact, despite a major difference in AHI and ODI between males and females, there were no significant differences in Lake Louise Score, a widely used index of AMS. The study of periodic breathing at high altitude may be important for a better understanding of the mechanisms and relevance of this phenomenon in some clinical conditions, in particular in congestive heart failure, where it is a frequent finding, associated with poor outcome.

osservato nei nostri soggetti; verosimilmente, una possibile spiegazione potrebbe risiedere nella differente risposta del chemoriflesso alle variazioni di pO₂ e pCO₂ tra maschi e femmine. Tale differenza potrebbe essere correlata all'effetto degli ormoni sessuali, che influenzerebbero i centri respiratori direttamente o indirettamente, attraverso modificazioni nella meccanica ventilatoria e/o della regolazione del flusso ematico cerebrale.

La somministrazione di telmisartan non ha influito sui pattern respiratori nel nostro studio, probabilmente perché il blocco dei recettori dell'angiotensina, pur potenzialmente capace di interferire con l'attività dei chemocettori, potrebbe non modulare significativamente l'interazione tra chemocettori centrali e periferici, uno dei meccanismi ipotizzati come responsabili del respiro periodico in alta quota. Il respiro periodico in alta quota è un fenomeno complesso e la sua relazione con altre alterazioni fisiologiche indotte dall'esposizione all'ipossia non è ancora del tutto chiara. Ad esempio, nonostante la presenza di respiro periodico sia usualmente presente nei soggetti con "male acuto di montagna" (AMS), essa non sembra predire lo sviluppo di AMS, né la sua severità.⁷ A conferma di questo dato, nonostante la differenza significativa tra AHI e ODI tra maschi e femmine, non sono state riscontrate differenze significative nel Lake Louise Score, un indice di AMS ampiamente utilizzato. Lo studio del respiro periodico in quota può essere rilevante per una comprensione più profonda dei meccanismi e della prevalenza di questo fenomeno in alcune condizioni cliniche, in particolare nell'insufficienza cardiaca congestizia, ove rappresenta un reperto frequente ed associato ad una prognosi più severa.

-
1. Bloch, K. E., Latshang, T. D., Turk, A. J. et al. Nocturnal periodic breathing during acclimatization at very high altitude at Mount Muztagh Ata (7,546 m). *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2010, 182: 562–568. 2. Fowler, A. C. and Kalamangalam, G. P. Periodic breathing at high altitude. *IMA J. Math. Appl. Med. Biol.*, 2002, 19: 293–313.
 3. Behan, M. and Wenninger, J. M. Sex steroidal hormones and respiratory control. *Respir. Physiol. Neurobiol.*, 2008, 164: 213–221. 4. Rowley, J. A., Sanders, C. S., Zahn, B. R. and Badr, M. S. Gender differences in upper airway compliance during NREM sleep: role of neck circumference. *J. Appl. Physiol.*, 2002, 92: 2535–2541 5. Zhou, X. S., Shahabuddin, S., Zahn, B. R., Babcock, M. A. and Badr, M. S. Effect of gender on the development of hypocapnic apnea/hypopnea during NREM sleep. *J. Appl. Physiol.*, 2000, 89: 192–199. 6. Iber, C., Ancoli-Israel, S., Chesson, A. et al. The AASM Manual for the Scoring of Sleep and Associated Events: Rules, Terminology, and Technical Specifications. *American Academy of Sleep Medicine*, Westchester, IL, 2007. 7. Erba P, Anastasi S, Senn O, Maggiorini M, Bloch KE. Acute mountain sickness is related to nocturnal hypoxemia but not to hypoventilation. *Eur Respir J.* 2004;24:303-8
-

HIGHCARE REFERENCES - BIBLIOGRAFIA HIGHCARE:

8. Lombardi C, Meriggi P, Agostoni P, Faini A, Bilo G, Revera M, Caldara G, Di Rienzo M, Castiglioni P, Maurizio B, Gregorini F, Mancia G, Parati G; HIGHCARE Investigators. High-altitude hypoxia and periodic breathing during sleep: gender-related differences. *J Sleep Res.* 2013 Jun;22(3):322-30. doi: 10.1111/jsr.12012. Epub 2013 Jan 7.
9. Di Rienzo, M., Meriggi, P., Rizzo, F. et al. Textile technology for the vital signs monitoring in telemedicine and extreme environments. *IEEE Trans. Inf Technol. Biomed.*, 2010b, 14: 711–717

CHANGES IN CARDIAC STRUCTURE AND FUNCTION

VARIAZIONI NELLA STRUTTURA E FUNZIONE CARDIACA

High altitude exposure is known to have important effects on pulmonary circulation, leading to pulmonary hypertension, and may cause right ventricular failure in some cases of long permanence. Echocardiography is an extremely useful instrument to assess pulmonary pressure in this condition, but it also allows a detailed assessment of left ventricular structure and function.¹⁻³ Considering that myocardial hypoxia has important effects on the left ventricle, in HIGHCARE-Himalaya we focused on these variables with a particular attention to left ventricle contraction mechanics, described by its twist and torsion. Echocardiography in HIGHCARE-Himalaya was performed with Vivid 7 device at sea level and with a portable Vivid I device at

È noto come l'esposizione all'alta quota induca degli importanti effetti sulla circolazione polmonare, favorendo lo sviluppo di ipertensione polmonare e, in alcuni casi di esposizione prolungata, anche insufficienza ventricolare destra. In queste condizioni, l'ecocolorDopplergrafia cardiaca rappresenta un prezioso strumento, utile per la valutazione della pressione polmonare oltre che per una valutazione dettagliata della struttura ventricolare sinistra e della sua funzione.¹⁻³ Considerando che l'ipossia a carico del tessuto miocardico determina importanti alterazioni a carico della funzione ventricolare, nel progetto HIGHCARE-Himalaya ci siamo focalizzati su queste variabili con particolare attenzione alla meccanica di contrazione del ventricolo sinistro, descritta attraverso la sua rotazione e torsione.

STANDARD ECHOCARDIOGRAPHIC PARAMETERS OBTAINED IN HIGHCARE-HIMALAYA

Parametri ecocardiografici standard ottenuti in HIGHCARE-Himalaya

- ◇ End diastolic and end systolic endocardial (Di) and epicardial diameters (Do)
- ◇ Sphericity index (ratio of long to short left ventricle axis)
- ◇ Systolic and diastolic ventricular volumes (truncated ellipsoid formula)
- ◇ Left ventricular mass (Devereux formula)
- ◇ Natural circumferential strain and systolic wall stress
- ◇ Mitral valve inflow velocities
- ◇ Right ventricular-atrial gradient
- ◇ Presystolic acceleration systolic velocity (s), its isovolumic acceleration (IVA)
- ◇ Early(e') and late(a') diastolic velocities

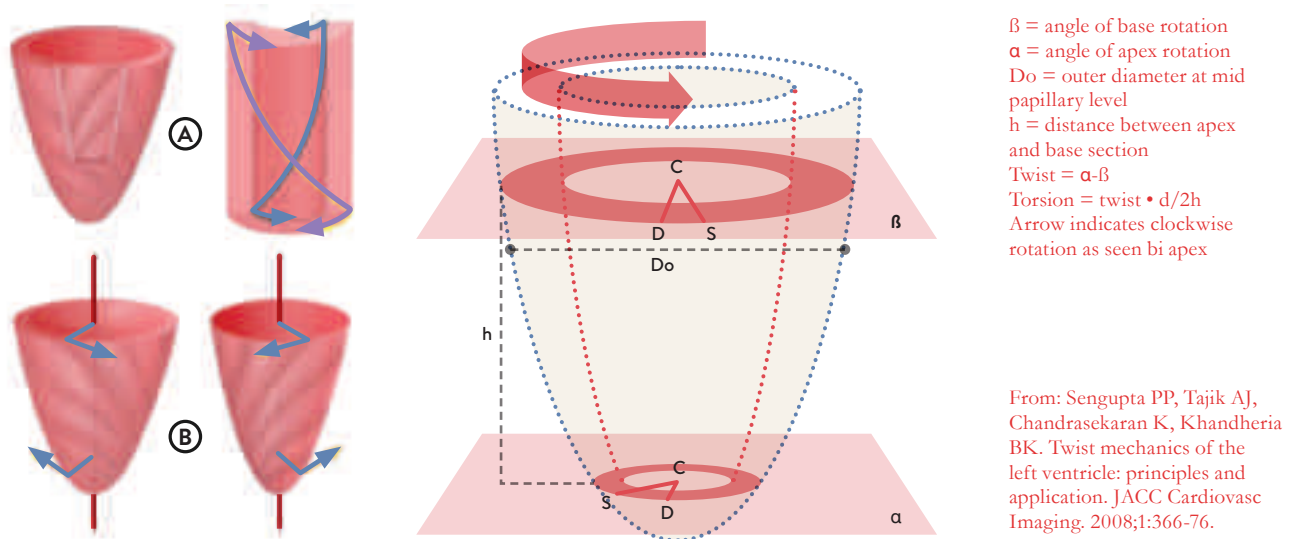
- ◇ Diametro telediastolico e telesistolico endocardico ed epicardico
- ◇ Indice di sfericità (rapporto tra asse lungo e corto del ventricolo sinistro)
- ◇ Volumi ventricolari sistolico e diastolico (calcolati tramite la formula per ellissoide troncato)
- ◇ Massa ventricolare sinistra
- ◇ Strain naturale circonferenziale e stress di parete sistolico
- ◇ Velocità di flusso valvolare mitralico
- ◇ Gradiente atrio ventricolare destro
- ◇ Accelerazione presistolica della velocità sistolica S e sua accelerazione isovolumetrica
- ◇ Velocità proto- (e') e tele- (a') diastolica

Gli esami del progetto HIGHCARE-Himalaya sono stati eseguiti con un ecocardiografo Vivid-7 a livello del mare e con un ecocardiografo portatile Vivid-I in alta quota (entrambi strumenti GE Healthcare). I parametri ecocardiografici standard sono stati ottenuti dalle proiezioni parasternale asse corto a 4 camere, utilizzando la modalità B-mode, le misurazioni convenzionali Doppler ed il Tissue Doppler Imaging (TDI) (vedi Box 1. "Parametri ecocardiografici standard ottenuti in HIGHCARE-Himalaya). È stato inoltre eseguito lo *speckle tracking* (STE) nella proiezione 4 camere apicale, tecnica che consente di ottenere numerosi indici di funzione ventricolare sinistra tra i quali la *deformazione* (in seguito *strain*) longitudinale sistolica, la velocità della deformazione (in seguito *strain rate*) sistolica, nonché lo strain rate longitudinale proto- e telediastolico e la velocità di movimento dell'anulus mitralico. Inoltre, la rotazione dei segmenti apicali e basali del ventricolo sinistro è stata ottenuta dalle proiezioni in asse corto. Sono state calcolate anche le velocità di rotazione e di rilasciamento, ed il rapporto semplificato torsione/velocità di accorciamento (sTSR). Questi parametri forniscono delle nuove prospettive sui meccanismi di contrazione del ventricolo sinistro, con particolare riguardo al contributo relativo degli strati sub-

LEFT VENTRICULAR TWIST AND TORSION – MECHANISM AND CALCULATION OF INDICES

Rotazione e torsione del ventricolo sinistro -
meccanismo e calcolo degli indici

- ◇ Myocardium of left ventricle (LV) is functionally composed of two layers with helically distributed muscle fibers: subendocardial (right-handed helix) and subepicardial (left-handed helix) (A).
- ◇ Such structure creates torque forces about the long axis of the cylinder during LV contraction.
- ◇ Subepicardial fibers have larger torsional moment and this determines a clockwise rotation at the base and an anticlockwise rotation at the apex (B).
- ◇ Together, these opposing rotations determine the torsion of left ventricle.
- ◇ Any reduction in subendocardial contraction results in an increase in LV torsion.



- ◇ Il miocardio del ventricolo sinistro (LV) è funzionalmente composto da due strati, nei quali le fibre muscolari seguono una disposizione elicoidale: il subendocardio (elica orientata verso destra) e il subepicardio (elica orientata verso sinistra) (A).
- ◇ Durante la contrazione del LV, queste strutture creano una forza di torsione lungo l'asse longitudinale del cilindro.
- ◇ Le fibre subepicardiche hanno un momento di torsione maggiore e questo determina una rotazione in senso orario alla base e in senso antiorario all'apice (B).
- ◇ Insieme, queste rotazioni contrarie determinano la torsione del ventricolo sinistro.
- ◇ Ogni riduzione nella contrazione subendocardica si traduce in un aumento della torsione del LV.

high altitude (both GE Healthcare). Standard echocardiographic parameters were obtained using parasternal short axis and four chambers views using B mode, conventional Doppler measurements and Tissue Doppler Imaging (TDI) (see Box 1. "Standard echocardiographic parameters obtained in HIGHCARE-Himalaya"). Additionally speckle tracking echocardiography (STE) was performed in the 4 chamber apical projection. This technique allowed to obtain several indices of left ventricular function including longitudinal systolic strain, systolic strain rate as well as longitudinal diastolic early and late strain rates and mitral annulus motion velocities. Moreover, LV apical and

endocardico e sub-epicardico del miocardio (per spiegazioni più approfondite vedi Box 2. "Torsione e rotazione del ventricolo sinistro – meccanismi e calcolo degli indici").

Dopo aver escluso le registrazioni ecocardiografiche di qualità insufficiente, 39 soggetti (di età media 39 anni, intervallo 25-65 anni, 25 uomini) sono stati inclusi nelle analisi. Non sono state riscontrate differenze significative tra i gruppi, né nelle dimensioni cardiache, né nella rotazione del ventricolo sinistro, per cui i dati di tutti i soggetti sono stati analizzati insieme, indipendentemente dal braccio di trattamento.

Figure 1

Left Ventricular (LV) geometrical variables at the different study conditions. End diastolic (ED), end-systolic (ES) and stroke (S) LV volumes (vol); sphericity index (Sper Ind) and epicardial/endocardial diameter ratio (Do/Di) are shown for the following study conditions: at sea level before treatment (SL1); at Namche Bazar (Nam, 3400m); at Everest Base Camp (EBC, 5400m) within the 3rd day after arrival (acute exposure, a) and between the 9th and the 11th sojourn day (prolonged exposure, p); at sea level immediately after return (SL3). Data are shown as means (•) $\pm$ se. * refers to a p level at least <0.05 as compared to SL1.

Variabili geometriche del ventricolo sinistro (LV) nelle diverse condizioni sperimentali. Sono rappresentati i volumi telediastolico (EDV), telesistolico (ESV) e gittata pulsatoria (SV); indice di sfericizzazione (Sper Ind) e rapporto tra i diametri epicardico/endocardico (Do/Di) nelle varie condizioni sperimentali: a livello del mare prima del trattamento (SL1); a Namche Bazar (Nam, 3400m); al Campo Base dell'Everest (EBC, 5400m) entro tre giorni dall'arrivo (esposizione acuta, a) e tra il 9° e l'11° giorno di permanenza (esposizione prolungata, p); a livello del mare immediatamente dopo il rientro (SL3). I dati sono espressi come medie (•) $\pm$ es. * indica un p level almeno <0,05, in confronto al livello del mare.

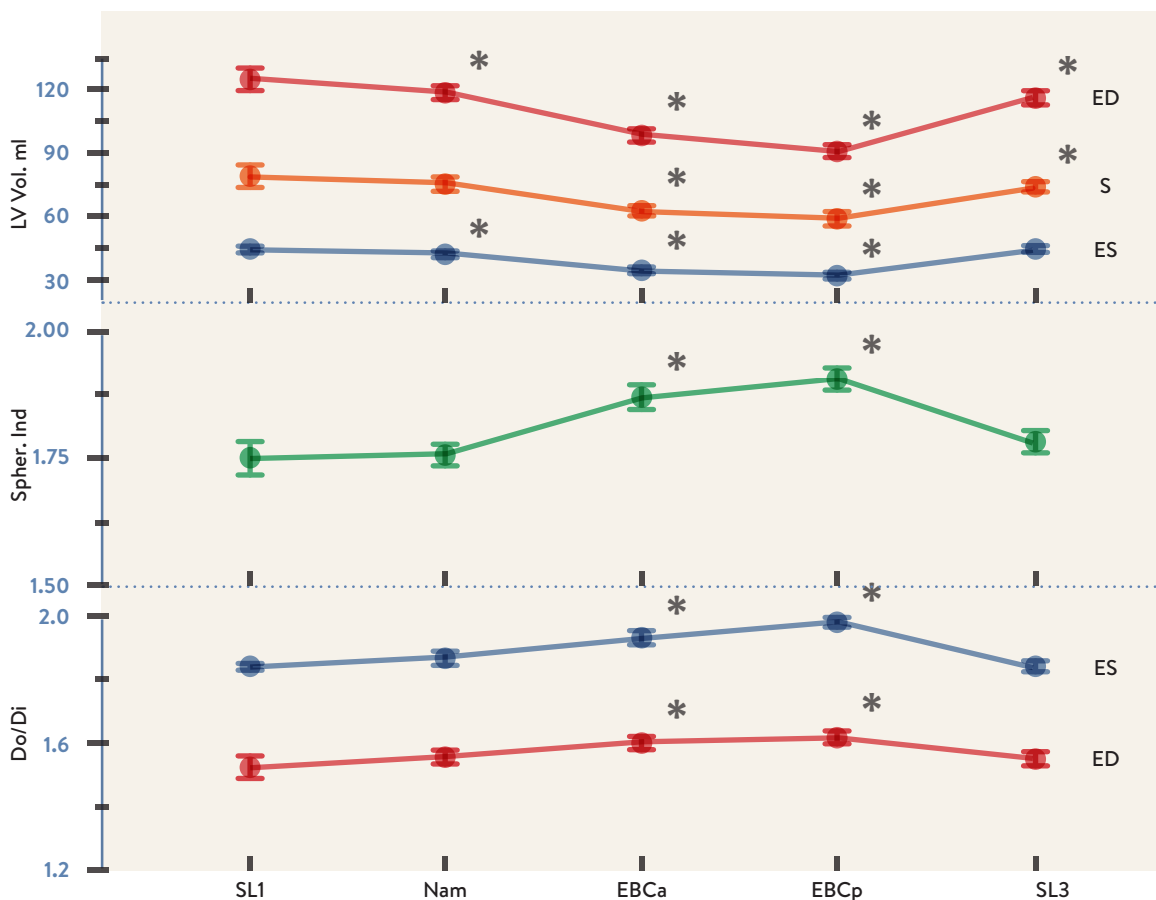
basal rotation were also obtained from short axis projections. Twist, untwisting rate and a simplified torsion to shortening ratio (sTSR) were then calculated. These parameters provide a more profound insight into the mechanics of left ventricle contraction, in particular on the relative contribution of subendocardial and subepicardial layers of the myocardium (see Box 2. "Left ventricular twist and torsion – mechanism and calculation of indices" for more detailed explanation).

After excluding echocardiographic recordings of inadequate quality, 39 subjects (mean age 39 y, range 25-65 y, 25 males) were included in the analyses. No significant difference were found in heart dimensions and LV twist between treatment groups and therefore all subjects data were pooled regardless of treatment allocation.

The left ventricle diastolic and systolic short and long axis diameters, and, consequently, also diastolic and systolic left ventricle volumes and stroke volume decreased with altitude. At 5400m these reductions were of 27%, 28% and 21%, respectively. The ratios of epicardial to endocardial diameters at end diastole and end systole both increased as well as the sphericity index (Figure 1). These changes influenced

I diametri degli assi corto e lungo del ventricolo sinistro, sia diastolici che sistolici, si sono ridotti con l'altitudine e, di conseguenza, anche il volume diastolico e sistolico e la gittata pulsatoria del ventricolo sinistro. A 5.400m queste riduzioni sono state rispettivamente del 27%, 28% e 21% rispetto al basale. Il rapporto tra i diametri epicardico ed endocardico in telediastole e telesistole è aumentato, così come l'indice di sfericizzazione (Figura 1). Queste variazioni influenzano la geometria del ventricolo sinistro, così che in alta quota la sua cavità diventa più piccola, le sue pareti più spesse e la sua forma maggiormente ellissoidale. Queste modificazioni si accompagnano ad una riduzione dello stress sistolico del ventricolo sinistro e della massa ventricolare sinistra. La frazione di eiezione e lo *strain* sistolico, sia circumferenziale che longitudinale, non sono cambiati significativamente in alta quota, mentre il picco di velocità dell'onda S registrata a livello dell'anulus mitralico, la sua accelerazione presistolica (IVA) e lo *strain rate* longitudinale, sono aumentati (rispettivamente del 27%, 65% e 21% durante l'esposizione prolungata a 5.400m).

Il picco dell'onda di velocità E al doppler transmitralico si è ridotto durante l'esposizione



the left ventricle geometry so that its cavity became smaller at high altitude, its walls thicker and its shape more ellipsoidal. This was accompanied by a decrease in left ventricular systolic stress and in left ventricular mass. Ejection fraction, and both circumferential and longitudinal systolic strains did not change significantly at high altitude, while S wave peak velocity recorded at mitral annulus level, its presystolic acceleration (IVA), and longitudinal strain rate (SSR) increased (by 27%, 65%, and 21% during prolonged permanence at 5400m).

Doppler trans-mitral peak E wave velocity decreased at both altitudes, while peak A wave velocity increased significantly only during acute exposure to 5400m, while deceleration time of E wave did not change. Right ventricle to atrial pressure gradient (an indicator of pulmonary artery pressure) started to increase at 3400m and reached 13.8 mmHg at 5400m. The early diastolic mitral annulus velocity decreased by about 10%, during prolonged permanence at 5400m, while the rate of early positive diastolic longitudinal strain did not change. On the contrary the same variables recorded in late diastole showed a significant increment at high altitude. LV twist was greater already at 3400m and further increased at 5400 during acute and prolonged exposure (24%, 33%, and 31%, respectively; Figure 2). These changes were due to increments in the rotation at the apex level, since the base rotation did not change. The simplified twist to shortening ratio (sTSR) also increased at high altitude. The timing of both peak twist and peak untwisting rate did not change at any altitude.

To assess the relationship between the degree of hypoxia and the observed changes, we estimated the arterial pO_2 (calculated arterial pO_2 , $capO_2$) according to the Ellis' inverse solution of the Severinghaus equation.⁴ Both LV twist and sTSR showed an inverse linear relationship with $capO_2$ (Pearson $r = -0.27$, and -0.18 , respectively). Further analyses revealed a relationship between twist and the ratio between systolic epicardial and endocardial diameter (geometrical factor), and with changes in contractility (longitudinal strain rate). Only the former relationship remained significant in a multivariate model, and was additive to the effect of hypoxia.

The main novel findings of HIGHCARE-Himalaya with regard to left ventricular structure and function may be summarized as follows:

ad entrambe le altitudini. Il picco dell'onda di velocità A è aumentato significativamente soltanto durante l'esposizione acuta a 5.400m, mentre il tempo di decelerazione dell'onda E non è variato. Il gradiente di pressione tra atrio e ventricolo destro (un indice della pressione arteriosa polmonare) ha iniziato ad aumentare a 3.400m rispetto al basale, ed ha raggiunto i 13,8mmHg a 5.400m. La velocità protodiastolica dell'anulus mitralico si è ridotta di circa il 10% durante l'esposizione prolungata a 5.400m, mentre lo *strain* diastolico longitudinale nella fase di riempimento rapido, non è mutato. Al contrario, le stesse variabili in telediastole (onda tardiva) hanno mostrato un significativo incremento ad alta quota. La torsione del ventricolo sinistro era aumentata già a 3.400 metri, ed è ulteriormente aumentata durante l'esposizione acuta e prolungata a 5.400 metri (rispettivamente del 24%, 33% e 31%; Figura 2). Poiché la rotazione a livello della base cardiaca è rimasta invariata, queste alterazioni sono da attribuirsi all'incremento della rotazione a livello dell'apice. Anche il rapporto semplificato torsione/accorciamento è aumentato ad alta quota. Le velocità di picco della torsione e del rilasciamento non si sono

BELOW

Echocardiography in laboratory tents at Everest Base Camp.

SOTTO

EcocolorDopplergrafia cardiaca nelle tende laboratorio al Campo Base Everest.



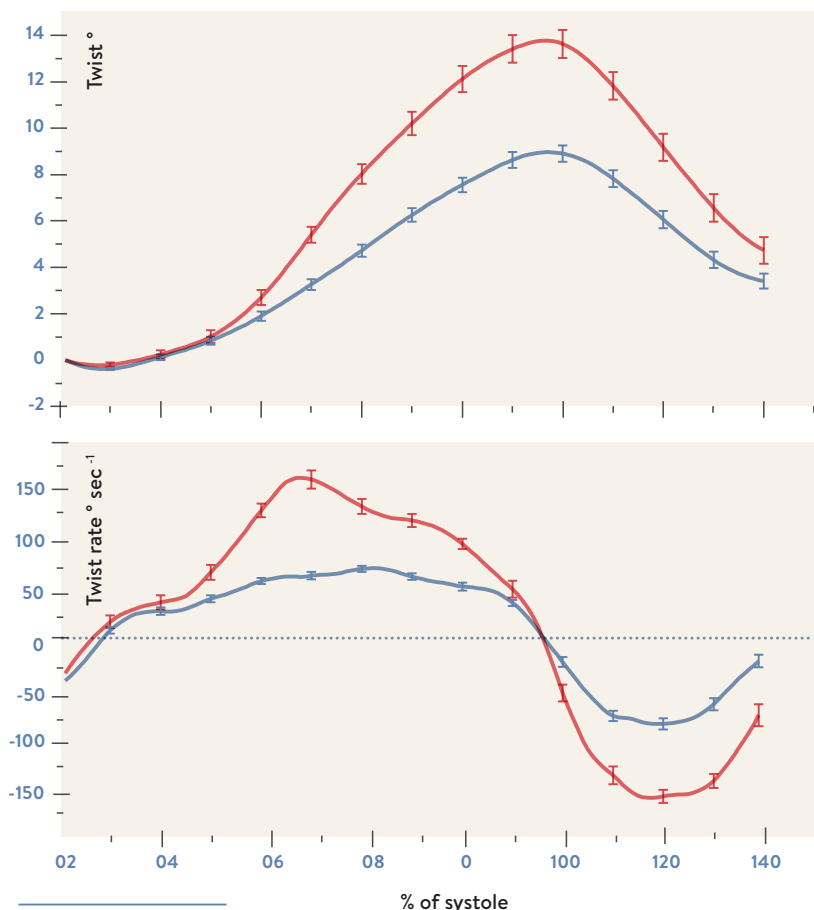


Figure 2

Mean values ($\pm$ standard error) of left ventricular twist and twist rate at sea level (blue lines) and during prolonged exposure to altitude of 5400m (Everest base Camp; red lines). Values on the horizontal axis indicate percent of systole duration.

Variabili medie ($\pm$ deviazione standard) della torsione e della velocità di torsione al livello del mare (linee blu) e durante esposizione prolungata a 5.400m di altitudine (Campo Base dell'Everest; linee rosse). I valori sull'asse orizzontale indicano la percentuale della durata della sistole.

1) left ventricle twist increases at high altitude compared with sea level, 2) this increased twist is related to the effect of hypoxia combined with the geometrical changes intervening in this condition. In fact, in line with previous reports, we have shown that left ventricle cavity shrinks at high altitude, and assumes a more ellipsoidal shape. These changes can be mostly attributed to dehydration and the consequent reduction of plasma volume.

On the other hand, ejection fraction, circumferential and longitudinal systolic strains were not modified. Consequently, since LV diastolic dimensions were smaller at high altitude, also the absolute changes in LV dimensions from diastole to systole, and thus the absolute degree of myocardial fibers shortening, were reduced. The decrease in systolic dimensions of left ventricle offset the increase in systolic pressure, so that systolic wall stress decreased in this condition. These dimensional changes occurred together with an increased inotropic influence on the heart by catecholamines, with consequently increased contractility, as documented by the substantial increase of S wave velocity, longitudinal strain rate and IVA. Each of above

invece modificate a nessuna altitudine. Per valutare la relazione tra il grado di ipossia e le modificazioni osservate, abbiamo stimato la pressione arteriosa dell'ossigeno (pO_2 arteriosa calcolata, $capO_2$) secondo la soluzione inversa di Ellis dell'equazione di Severinghaus.⁴ Sia la torsione del ventricolo sinistro che il sTRS hanno mostrato una relazione lineare inversa con la $capO_2$ (Pearson $r=0,27$ e $-0,18$, rispettivamente). Successive analisi hanno mostrato una correlazione tra la torsione ed il rapporto tra il diametro sistolico epicardico ed endocardico (fattore geometrico) e con le modificazioni nella contrattilità (*strain rate* longitudinale). Solo quest'ultima correlazione è rimasta significativa in un modello multivariato, ed era additiva all'effetto dell'ipossia.

Le principali scoperte innovative del progetto HIGHCARE-Himalaya, in relazione alla struttura e funzione del ventricolo sinistro, possono essere riassunte come segue: 1) la torsione del ventricolo sinistro aumenta ad alta quota rispetto al livello del mare; 2) questo aumento della torsione è correlato all'effetto dell'ipossia, combinato con le modificazioni geometriche che si verificano in questa condizione. Abbiamo dimostrato infatti, coerentemente con dati precedenti raccolti, come la cavità del ventricolo sinistro si riduca ad alta quota, assumendo una forma più ellissoidale. Queste alterazioni possono essere attribuite prevalentemente alla disidratazione e alla conseguente riduzione del volume plasmatico.

La frazione di eiezione e lo *strain* sistolico longitudinale e circonferenziale non erano invece modificati. Di conseguenza, poiché le dimensioni del ventricolo sinistro erano più piccole durante l'esposizione ad alta quota, anche la variazione assoluta nelle dimensioni del ventricolo sinistro dalla diastole alla sistole, e quindi il grado assoluto di accorciamento delle fibre miocardiche, era ridotta. La riduzione nelle dimensioni sistoliche del ventricolo sinistro superava l'aumento della pressione sistolica, così che lo stress di parete si è ridotto. Queste variazioni dimensionali si verificano in associazione all'azione inotropica delle catecolamine sul cuore, che comportano un aumento della contrattilità (come dimostrato dal significativo aumento della velocità dell'onda S dello *strain rate* longitudinale e dall'IVA). Ognuna delle modificazioni sopra menzionate potrebbe aver influenzato la torsione del ventricolo sinistro, pur con meccanismi ed intensità differenti.

changes could have influenced LV twist in different ways and to different extents. Our data suggest that the increase in total left ventricular twist was favoured by the increase in the ratio between epicardial and endocardial systolic diameters, leading to a larger increase in sub-epicardial than in sub-endocardial torque moment. On the other hand, left ventricular contractility did not show any additive effect, on top of dimensional changes, in determining left ventricular twist increase at high altitude. The second independent determinant of left ventricular twist was hypoxia, as documented by its independent inverse relationship with capO_2 . This relationship could be explained by hypoxia-induced subendocardial dysfunction: in presence of subendocardial fibers dysfunction the normal, uniform LV strain distribution is altered, the counterclockwise effect of epicardial fibers is enhanced, and LV twist increases. A subendocardial fibers dysfunction was also suggested by the concomitant increase in sTSR which is prevalently influenced from left ventricular subendocardial function, remaining relatively uninfluenced by geometrical and mechanical variables.

Our observations of possibly adverse effects of hypobaric hypoxia exposure on systolic and diastolic cardiac function suggest that caution is needed when individuals with ischemic heart disease, even if asymptomatic, plan to be acutely exposed to HA either for leisure or work. Our data also have methodological implications, indicating that analysis of LV twist may provide useful information on cardiac performance in situations in which subtle alterations of subendocardial function are suspected, even when global LV function appears to be normal.

I nostri dati suggeriscono che l'incremento nella torsione totale del ventricolo sinistro sia stata favorita dall'aumento nel rapporto tra i diametri sistolici epicardico ed endocardico, che ha portato ad un maggiore aumento nel movimento di torsione subepicardica rispetto al subendocardio. Dall'altra parte, la contrattilità del ventricolo sinistro non ha mostrato alcun effetto additivo, rispetto alle variazioni dimensionali, nel determinare l'aumento della torsione del ventricolo sinistro ad alta quota. L'ipossia è risultata essere il secondo determinante indipendente della torsione del ventricolo sinistro, come documentato dalla sua relazione inversa con il capO_2 . Questa relazione può essere spiegata dalla disfunzione subendocardica determinata dall'ipossia: in presenza di fibre subendocardiche disfunzionali, la normale distribuzione uniforme dello *strain* del ventricolo sinistro risulta alterata, la rotazione antioraria delle fibre epicardiche è aumentata, e quindi la torsione del ventricolo sinistro aumenta. Una disfunzione delle fibre subendocardiche è stata inoltre suggerita dal concomitante aumento del sTSR, parametro che è prevalentemente influenzato dalla funzione subendocardica del ventricolo sinistro e sostanzialmente non sensibile a variabili geometriche e meccaniche.

Le nostre indagini in merito ai possibili effetti indesiderati dell'esposizione all'ipossia ipobarica sulla funzione cardiaca, sistolica e diastolica, suggeriscono che è necessaria cautela quando soggetti con cardiopatia ischemica, anche asintomatica, pianifichino per lavoro o per scopi ricreativi una esposizione acuta all'alta quota. I nostri dati hanno inoltre implicazioni metodologiche, poiché mostrano come l'analisi della torsione del ventricolo sinistro possa fornire informazioni utili sulla performance cardiaca anche in situazioni in cui siano ipotizzabili minime alterazioni della funzione subendocardica, e perfino quando la funzione globale del ventricolo sinistro sembra essere normale.

1. Reeves JT, Groves BM, Sutton JR, Wagner PD, Cymerman A, Malconian MK, Rock PB, Young PM, Houston CS. Operation Everest II: preservation of cardiac function at extreme altitude. *J Appl Physiol.* 1987;63:531-9. 2. Kjaergaard J, Snyder EM, Hassager C, Olson TP, Oh JK, Johnson BD. The effect of 18 h of simulated high altitude on left ventricular function. *Eur J Appl Physiol.* 2006;98:411-8. 3. Huez S, Retaillieu K, Unger P, Pavelescu A, Vachier JL, Derumeaux G, Naeije R. Right and left ventricular adaptation to hypoxia: a tissue Doppler imaging study. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2005;289:H1391-H1398. 4. Ellis RK. Determination of PO_2 from saturation. *J Appl Physiol.* 1989;67:902.

HIGHCARE REFERENCES - BIBLIOGRAFIA HIGHCARE:

5. Osculati G, Revera M, Branzi G, Faini A, Ciambellotti F, Bilo G, Mancina, Parati; on behalf of HIGHCARE investigators. Increased left ventricle apical rotation under exposure to hypobaric hypoxia at very high altitude: a sign of subendocardial ischemia? Data from the HIGHCARE project. *J Hypertens.* 2011;29 suppl. A:e47 [abstract ESH Meeting 2011]

RESPIRATORY PHYSIOLOGY AND NON PHARMACOLOGICAL INTERVENTIONS

FISIOLOGIA RESPIRATORIA E INTERVENTI NON FARMACOLOGICI

RIGHT

Respiratory function tests and pulmonary gas diffusion (DLCO), Everest Base Camp.

DESTRA

Prove di funzionalità respiratoria e diffusibilità dei gas (DLCO), Campo Base Everest.



Increase in ventilation is the most immediate adaptative response to hypoxia. However, with elapsing time, a number of other changes in respiratory system occur, some of them potentially maladaptive, such as uneven pulmonary vasoconstriction, which may lead to high altitude pulmonary oedema (HAPE). HIGHCARE-Himalaya addressed several aspects of respiratory response to high altitude, in particular the changes in lung diffusion capacity, and evaluated the response to two nonpharmacological interventions aimed at improving ventilatory parameters in this setting: continuous positive airway pressure (CPAP) and slow deep breathing.

LUNG DIFFUSION CHANGES

High altitude ascent leads to arterial oxygen desaturation, which lessens over time with adaptation to the hypoxic environment. Its principal determinant is a lower inspired pO_2 . However, over the first days of permanence at altitude gas exchange impairment may contribute, due to ventilation-perfusion mismatch because of pulmonary

La più immediata risposta adattativa all'ipossia è l'aumento della ventilazione, seguita da numerose altre modificazioni nel sistema respiratorio. Alcune di queste sono maladaptive, come la vasocostrizione polmonare disomogenea, fenomeno che può portare all'edema polmonare da alta quota (High Altitude Pulmonary Edema, HAPE). Nello studio HIGHCARE-Himalaya sono stati indagati i numerosi aspetti della risposta respiratoria all'alta quota, con particolare attenzione alle variazioni nella capacità di diffusione polmonare dei gas; inoltre, è stata valutata la risposta dell'organismo ad interventi non farmacologici mirati a migliorare i parametri ventilatori in condizioni di ipossia ipobarica, quali la ventilazione non invasiva con pressione positiva continua (CPAP) ed il respiro lento profondo.

MODIFICAZIONI DELLA CAPACITÀ DI DIFFUSIONE POLMONARE DEI GAS

L'ascesa in alta quota comporta una riduzione della saturazione arteriosa dell'ossigeno, maggiormente nelle prime fasi, con tendenza a migliorare durante l'adattamento all'ambiente ipossico. La riduzione nella pO_2 inspirata ne rappresenta il principale determinante, ma anche altri fattori giocano un ruolo. In particolare, soprattutto durante i primi giorni di permanenza in quota, si osserva una riduzione nella capacità di scambio dei gas, dovuta al disaccoppiamento ventilazione-perfusione determinato dalla vasocostrizione polmonare e, in alcuni casi, anche dall'accumulo di fluidi nell'interstizio. Tra i meccanismi di acclimatamento ventilatorio, una aumentata efficienza nello scambio polmonare dei gas può avere un ruolo significativo. La capacità di diffusione polmonare del monossido di carbonio (DLCO) è un indice, relativamente facile da misurare, dell'efficienza degli scambi gassosi polmonari. La DLCO in alta quota è stata misurata in numerosi precedenti studi, concordi nel riscontrarne la stabilità nei primi giorni di esposizione ed un aumento dopo alcune settimane di esposizione continuativa.^{1,2} In HIGHCARE-Himalaya abbiamo voluto verificare

	MILAN (102m)	MOUNT EVEREST South Base Camp (5400m)
DLCO measured, ml*mmHg ⁻¹ *min ⁻¹	23.8 ± 5.3	35.1 ± 8.3*
DLCO adjusted for Hb (ml*mmHg ⁻¹ *min ⁻¹) to a standard Hb concentration of 14.6 g/dl	23.8 ± 4.9	32.7 ± 6.9*
DLCO adjusted for Hb and PO ₂ (ml*mmHg ⁻¹ *min ⁻¹) to a standard Hb concentration of 14.6 g/dl and inspired PO ₂	23.6 ± 4.4	25.1 ± 5.3†

vasoconstriction and, possibly, also due to fluid accumulation in lung interstitium. Among the mechanisms of ventilatory acclimatization, an increase in pulmonary gas exchange efficiency might play a role. One, relatively easily measured index of gas exchange efficiency is the carbon monoxide diffusing capacity of the lung (DLCO). Several previous studies have measured DLCO at high altitude, and found that DLCO does not increase in the first few days, but begins to rise within several weeks.^{1,2} In HIGHCARE-Himalaya we verified whether, in high altitude-acclimatized healthy lowlanders, changes in DLCO play a role in high-altitude adaptation and what components of the diffusing capacity contribute to its improvement.

Lung diffusion measurements were performed at sea level and at Mount Everest South Base Camp 12–14 days after arrival. Several additional parameters were considered, including heart rate, systemic blood pressure, respiratory rate, oxygen saturation (SpO₂) and pulmonary artery systolic pressure (PAPs) by Doppler echocardiography. Acute mountain sickness (AMS) was assessed by means of the Lake Louise Score. DLCO was measured twice in each condition with the single breath-constant expiratory flow technique (exhalation rate 0.5 l/s; Sensor Medics 2200, Yorba Linda, CA). DLCO at high altitude was corrected for inspired pO₂ and for haemoglobin concentration. Diffusion subcomponents, membrane component (D_M, describing the alveolar-capillary membrane) and V_C (describing red cell resistance) are also evaluated. Alveolar Ventilation (VA) was

se in soggetti sani, residenti in pianura, ma acclimatati all'alta quota, le variazioni della DLCO abbiano un ruolo nell'adattamento all'alta quota, e quali componenti della capacità di diffusione contribuiscano al suo miglioramento.

Le misurazioni della diffusione polmonare sono state effettuate al livello del mare e al Campo Base Sud del Monte Everest 12-14 giorni dopo l'arrivo. Numerosi parametri addizionali sono stati misurati, quali frequenza cardiaca, pressione arteriosa sistemica, frequenza respiratoria, saturazione dell'ossigeno (SpO₂) e pressione arteriosa polmonare sistolica (PAPs) misurata all'ecocardiogramma colorDoppler. Il "male acuto di montagna" (AMS) è stato valutato tramite il punteggio del Lake Louise Score. La DLCO è stata misurata due volte in ogni condizione ambientale con la tecnica del respiro singolo a flusso espiratorio costante (rapporto di esalazione 0,5 l/s; Sensor Medics 2200, Yorba Linda, CA). La DLCO misurata in alta quota è stata corretta per la pO₂ inspirata e per la concentrazione di emoglobina. Sono stati inoltre valutati i subcomponenti della diffusione, i componenti di membrana (D_M, che descrive la membrana alveolo-capillare) e la V_C (che descrive la resistenza dei globuli rossi). La ventilazione alveolare (VA) è stata misurata con la curva di decadimento del CH₄ durante la misura del flusso espiratorio costante di un singolo respiro.

In quattro soggetti che hanno sviluppato "male acuto di montagna" (Acute Mountain Sickness, AMS), la DLCO si è ridotta da 24,3±5,6 predetto a Milano fino a 16,3±4,9 al Campo Base Sud del Monte Everest (p<0,05). Poiché l'obiettivo era lo studio dell'adattamento appropriato all'alta quota, questi soggetti non sono stati considerati nelle analisi. Il trattamento con telmisartan non ha influenzato la DLCO né a Milano né in quota, quindi i dati ottenuti dai due gruppi sono stati analizzati insieme. Nei 33 soggetti che non hanno sofferto di "male acuto di montagna" con misurazioni adeguate della DLCO, l'acclimatamento è stato documentato dal miglioramento nel punteggio del questionario Lake Louise Score, dall'incremento nell'emoglobina e nella SpO₂ e dal decremento nel contenuto venoso globale di anidride carbonica. La Tabella 1 mostra la DLCO a Milano e dopo 12 giorni a 5.400m. Correggendo questi dati per emoglobina e differenza di pO₂, in alta quota, la DLCO risultava significativamente aumentata da 23,6±4,4 a 25,1±5,3 ml x min⁻¹ x mmHg⁻¹ (p=0,033). La D_M

Table 1

Comparison of DLCO at low and high altitude after adaptation with adjustments for hemoglobin and inspired pO₂ differences. Data are expressed as mean±SD. *p<0.01 vs. Milan. †p<0.03 vs. Milan. DLCO measurements were obtained at Mount Everest South Base Camp (5400m) after a 9-day trek plus 2 wk of sojourn. (modified from: Agostoni P, et al., *J Appl Physiol* 2011 ⁶).

Confronto tra DLCO misurata a bassa e ad alta quota (dopo adattamento), aggiustata per l'emoglobina e le differenze nella pO₂ inspirata. I dati sono espressi come medie ± DS. *p< 0,01 vs. Milano. †p< 0,03 vs. Milano. Le misurazioni sono state effettuate al Campo Base dell'Everest (5.400m) dopo 9 giorni di cammino più due settimane di soggiorno. (modificata da: Agostoni P, et al., *J Appl Physiol* 2011 ⁶).



ABOVE

Laboratory tents of 2008 expedition at Everest Base Camp, 5400m.

SOPRA

Le tende laboratorio della Spedizione 2008 al Campo Base Everest, 5400m.

measured by CH_4 decay slope during single breath constant expiratory flow measurements.

In four subjects who developed acute mountain sickness (AMS), DLCO decreased from 24.3 ± 5.6 predicted in Milan to 16.3 ± 4.9 at Mount Everest South Base Camp ($p < 0.05$). Since the objective was to study appropriate high altitude adaptation, these subjects were not considered. Telmisartan treatment did not influence DLCO in Milan or at high altitude, and therefore data from both treatment groups were analyzed together. In the 33 AMS-free subjects with adequate DLCO measurement, acclimatization was documented by improved Lake Louise Score, an increase in haemoglobin and SpO_2 , and decreases in venous total carbon dioxide. Table 1 shows the DLCO in Milan and after 12 days at 5400m. When corrected for both haemoglobin and pO_2 differences, at high altitude the DLCO increased significantly from 23.6 ± 4.4 to $25.1 \pm 5.3 \text{ ml} \times \text{min}^{-1} \times \text{mmHg}^{-1}$ ($p = 0.033$). D_M increased from 63 ± 34 to $102 \pm 65 \text{ ml} \times \text{min}^{-1} \times \text{mmHg}^{-1}$ ($p < 0.01$), while V_C was unchanged (67.8 ± 20.0 and $70.8 \pm 33.3 \text{ ml}$; $p = 0.88$) in Milan and at 5400m, respectively.

risultava aumentata da 63 ± 34 a $102 \pm 65 \text{ ml} \times \text{min}^{-1} \times \text{mmHg}^{-1}$ ($p < 0.01$), mentre la V_C era invariata (67.8 ± 20.0 e $70.8 \pm 33.3 \text{ ml}$; $p = 0.88$, a Milano ed a 5.400m, rispettivamente). Riassumendo, questo studio ha dimostrato come un adeguato acclimatamento durante un periodo di alcune settimane si associ ad un rilevante incremento nella capacità diffusiva dei polmoni, e come quest'ultimo dipenda in gran parte dall'aumento nella capacità diffusiva della membrana alveolo capillare (D_M). Un meccanismo ipotizzabile alla base di tale fenomeno è l'incremento dell'attività simpatica, che nel nostro studio abbiamo dimostrato persistere durante tutta la permanenza in alta quota (vedi risultati sulla pressione arteriosa descritti in precedenza in questo capitolo). La stimolazione simpatica infatti controlla numerosi meccanismi attivi di trasporto del Na^+ sullo strato epiteliale della barriera alveolo capillare, e può contribuire all'ispessimento del contatto cellula-cellula nell'endotelio vascolare con una conseguente riduzione della permeabilità capillare e del flusso di fluido nell'interstizio polmonare. In questo modo, la quantità di fluidi nella membrana alveolo capillare

In summary, this study demonstrated that adequate high altitude acclimatization over several weeks is associated with a relevant increase in diffusing capacity of the lungs, and that the increase in diffusing capacity is in large part related to an increase in the membrane diffusing capacity (D_M). This might be due to increased sympathetic activity that we have demonstrated to persist throughout high altitude permanence in our study (see results on blood pressure described previously in this chapter). Sympathetic stimulation controls several active Na^+ transport mechanisms on the epithelial layer of the alveolar-capillary barrier and may contribute to tightening of cell to cell contacts in the vascular endothelium, which would act to reduce capillary permeability and fluid flux into the lung interstitium, thus reducing the amount of fluid in the alveolar-capillary membrane. This hypothesis is supported by a correlation we found between norepinephrine and D_M/V_A increase.

EFFECTS OF CONTINUOUS POSITIVE AIRWAY PRESSURE VENTILATION

High-altitude pulmonary oedema (HAPE) is observed in 2–5% of lowlanders when climbing and, most frequently, within 1–3 days after arrival at altitude. It is, at least at its onset, a haemodynamic hydrostatic oedema characterized by high pulmonary artery pressure, thus, in a way, similar to cardiogenic oedema. Continuous positive airway pressure ventilation (CPAP) is effective

sarebbe ridotta. Questa ipotesi è supportata dalla correlazione che abbiamo trovato tra norepinefrina ed aumento del rapporto D_M/V_A .

EFFETTO DELLA VENTILAZIONE CON PRESSIONE POSITIVA CONTINUA

L'edema polmonare da alta quota (HAPE) colpisce il 2-5% dei residenti a bassa quota durante ascesa in quota e, più frequentemente, si verifica nei primi 1-3 giorni dall'arrivo. Almeno nelle prime fasi, si tratta di un edema emodinamico idrostatico caratterizzato da elevata pressione polmonare e quindi, in un certo senso, simile all'edema cardiogenico. La ventilazione delle vie aeree con pressione positiva continua (CPAP) è efficace nel trattamento dell'edema polmonare cardiogenico ed i suoi effetti positivi sono stati descritti anche nell'HAPE.³ Infatti, in presenza di aumentato fluido extravascolare polmonare, la CPAP migliora il trasporto di ossigeno attraverso la membrana alveolo-capillare grazie alla rimozione meccanica del liquido accumulato negli alveoli. In HIGHCARE-Himalaya abbiamo valutato l'effetto della CPAP sulla saturazione di ossigeno dell'emoglobina durante esposizione prolungata ad alta quota. I dati sono stati pubblicati insieme a quelli ottenuti nella spedizione HIGHCARE-Alps 2005 alla Capanna Regina Margherita (CRM, 4.559m, vedi sezioni precedenti) e si concentrano sul paragone degli effetti di CPAP sulla saturazione di ossigeno dell'emoglobina (SpO_2) nell'esposizione acuta versus prolungata all'ipossia da alta quota.



LEFT

Gas bottles used during high altitude tests.

SINISTRA

Bombole dei gas utilizzati durante gli esperimenti in quota.

in treating cardiogenic pulmonary oedema and its beneficial effects have also been reported in HAPE.³ Indeed, CPAP in the presence of increased extravascular lung fluid, improves oxygen transport across the alveolar-capillary membrane by mechanical removal of accumulated alveolar fluid. In HIGHCARE-Himalaya we assessed the effects of CPAP on arterial haemoglobin oxygen saturation during prolonged high altitude exposure. The data were published together with those obtained in HIGHCARE-Alps 2005 expedition to Capanna Regina Margherita (CRM, 4559m, see previously), and focused on the comparison of the effects of CPAP on haemoglobin oxygen saturation (SpO_2) between acute and prolonged exposure to high-altitude hypoxia. Sixteen subjects, randomly selected among 47 HIGHCARE-Himalaya participants, were assigned to CPAP study. Continuous positive airways pressure was applied for 30 minutes on 10th day after arrival at Mount Everest South Base Camp (5400m) using a nasal mask (HC405 Fisher & Pikel, Auckland, New Zealand) in a sitting position using a standard commercial instrument (S8 ResMed, Bella Vista, Australia) regulated to administer a pressure of 7cm H_2O . SpO_2 was measured constantly before, during, and after CPAP application. Pulmonary artery pressure was measured before and immediately after CPAP application by means of Doppler echocardiography (Vivid I; General Electric, Tirat Carmel, Israel). Systemic blood pressure, heart rate, and respiratory frequency were also recorded at the same times.

Telmisartan and placebo-treated subjects did not differ in terms of relevant variables and were pooled for the analyses. Short-term high-altitude exposure at CMR (for details see above), where the CPAP application induced an increase in SpO_2 from 80 to 91% ($p < 0.001$), reduced heart rate and systolic pulmonary artery pressure but did not influence systemic blood pressure. In contrast, at 5400m none of the above-reported parameters was modified by CPAP (Table 2). In particular, SpO_2 was 81% before and 80% after 30 min of CPAP application. Also in four subjects in whom 15cm H_2O CPAP was attempted, SpO_2 did not increase. Thus, while CPAP application after short-term high altitude exposure improved SpO_2 , it had no such effect after prolonged high-altitude exposure, even though baseline SpO_2 was similar in both conditions. These findings suggest

Sedici soggetti, randomizzati tra i 47 partecipanti alla spedizione HIGHCARE-Himalaya, sono stati assegnati allo studio CPAP. La ventilazione a pressione continua è stata applicata per 30 minuti il 10° giorno di permanenza al Campo Base Sud del Monte Everest (5.400m) usando una maschera nasale (HC405 Fisher & Pikel, Auckland, Nuova Zelanda), in posizione seduta, utilizzando uno strumento commerciale standard (S8 ResMed, Bella Vista, Australia) regolato per esercitare una pressione di 7cm H_2O . La SpO_2 è stata misurata costantemente prima, durante e dopo l'applicazione di CPAP. La pressione polmonare è stata misurata prima e immediatamente dopo l'applicazione di CPAP tramite ecocardiografia Doppler (Vivid I; General Electric, Tirat Carmel, Israel). Contemporaneamente sono state registrate anche la pressione arteriosa sistemica, la frequenza cardiaca e la frequenza respiratoria.

I soggetti del gruppo placebo e quelli che assumevano telmisartan non hanno mostrato significative differenze in nessuno dei parametri in oggetto, e sono stati quindi analizzati insieme. Nell'esposizione acuta alla quota in CRM (vedere paragrafi precedenti per dettagli) l'utilizzo di CPAP ha portato ad un incremento di SpO_2 dall'80% al 91% ($p < 0,001$), ha ridotto la frequenza cardiaca e la pressione polmonare sistolica, ma non ha avuto effetto sulla pressione arteriosa sistemica. Al contrario, a 5.400m nessuno dei parametri descritti ha subito variazioni in seguito all'utilizzo di CPAP (Tabella 2). In particolare, la SpO_2 media era 81% prima dell'applicazione di CPAP e 80% dopo. La SpO_2 non è aumentata neanche in 4 soggetti a cui è stata erogata una pressione continua pari a 15 cm H_2O . Quindi, mentre la CPAP ha un effetto benefico sulla SpO_2 se applicata nella fase acuta di esposizione all'alta quota, questo effetto si perde dopo esposizione prolungata alla quota, pur partendo da SpO_2 sovrapponibili.

Questi risultati suggeriscono che, nelle fasi iniziali dell'esposizione ad alta quota, un qualche grado di edema polmonare interstiziale sia presente e contribuisca all'ipossiemia mentre, dopo esposizione prolungata, i meccanismi di adattamento portano all'eliminazione del fluido extravascolare dalla membrana alveolo capillare, e quindi la CPAP non può più avere alcun effetto significativo. I nostri dati implicano anche che la vasocostrizione polmonare ipossica non sia più presente dopo 10 giorni di permanenza in alta quota, come dimostrato dalla normalizzazione della pressione polmonare. Sembra quindi poco

that, initially during high altitude exposure, some degree of interstitial pulmonary oedema is present and contributes to hypoxemia, but after prolonged high-altitude exposure, adaptation mechanisms lead to elimination of extravascular fluid on the alveolar-capillary membrane, and thus CPAP can no longer have any meaningful effect. Our data also imply that pulmonary hypoxic vasoconstriction was no longer present after 10 days of permanence at high altitude since pulmonary pressure was no longer elevated. This mechanism was thus unlikely to prevent the CPAP effects on SpO_2 . A practical implication of our findings is that CPAP application could represent a useful manoeuvre for the treatment of some mountain sickness symptoms related to low blood oxygen saturation under acute exposure to high-altitude hypobaric hypoxia (and possibly also in HAPE), even if its effects are no longer visible in acclimatized subjects after longer high altitude exposure.

EFFECTS OF SLOW DEEP BREATHING

A possible approach to improve gas exchange at high altitude may be through improved respiratory pattern, aimed at optimizing the partitioning between alveolar ventilation and dead space ventilation. Controlled breathing with low rate and high tidal volume ("slow deep breathing") has been shown to improve the efficiency of ventilation and may also be beneficial in terms of gas exchange at the alveolar capillary membrane level when interstitial lung fluid accumulation occurs. Indeed, slow deep breathing improves blood

probabile che questo meccanismo sia alla base del mancato effetto della CPAP sulla SpO_2 . Un'implicazione pratica dei nostri risultati è che l'applicazione di CPAP può rappresentare una manovra utile per il trattamento di alcuni sintomi del "male acuto di montagna" correlati a una bassa saturazione dell'ossigeno durante esposizione acuta all'ipossia ipobarica da alta quota (ed eventualmente anche nell'HAPE), anche se i suoi effetti non sono più significativi in soggetti acclimatati dopo lunghe permanenze in quota.

EFFETTI DEL RESPIRO LENTO PROFONDO

Il miglioramento del pattern respiratorio potrebbe essere un possibile valido approccio non farmacologico in grado di migliorare lo scambio gassoso in alta quota, allo scopo di ottimizzare il rapporto tra la ventilazione alveolare e la ventilazione dello spazio morto. È stato dimostrato che il respiro controllato, a bassa frequenza e con un alto volume di corrente ("respiro lento profondo"), migliora l'efficienza ventilatoria e possa avere anche effetti positivi sullo scambio dei gas a livello della membrana alveolo capillare in caso di accumulo di liquido nell'interstizio polmonare. Infatti, il respiro lento profondo migliora l'ossigenazione del sangue in soggetti cronicamente esposti all'alta quota⁴ e in pazienti affetti da insufficienza cardiaca congestizia.⁵ Mentre nella spedizione HIGHCARE-Alps 2005 (vedi capitolo precedente) abbiamo dimostrato un miglioramento significativo nella saturazione di ossigeno dell'emoglobina

Figure 1

Changes in SpO_2 during slow breathing exercise and recovery. Differences vs. baseline with $p < 0.05$ are identified with * (Study A - HIGHCARE-Alps 2005) or ° (Study B - HIGHCARE-Himalaya) symbols. Vertical bars denote 95% CI of the mean. (modified from: Bilo G, et al., *PLoS One*. 2012⁸).

Variazioni nella SpO_2 durante l'esercizio di respiro lento e nel recupero. Le differenze rispetto al baseline con una $p < 0.05$ sono identificate con il simbolo * (Studio A - HIGHCARE-Alps 2005) o ° (Studio B - HIGHCARE-Himalaya). Le barre verticali indicano il 95% CI della media. (modificata da: Bilo G, et al., *PLoS One*. 2012⁸).

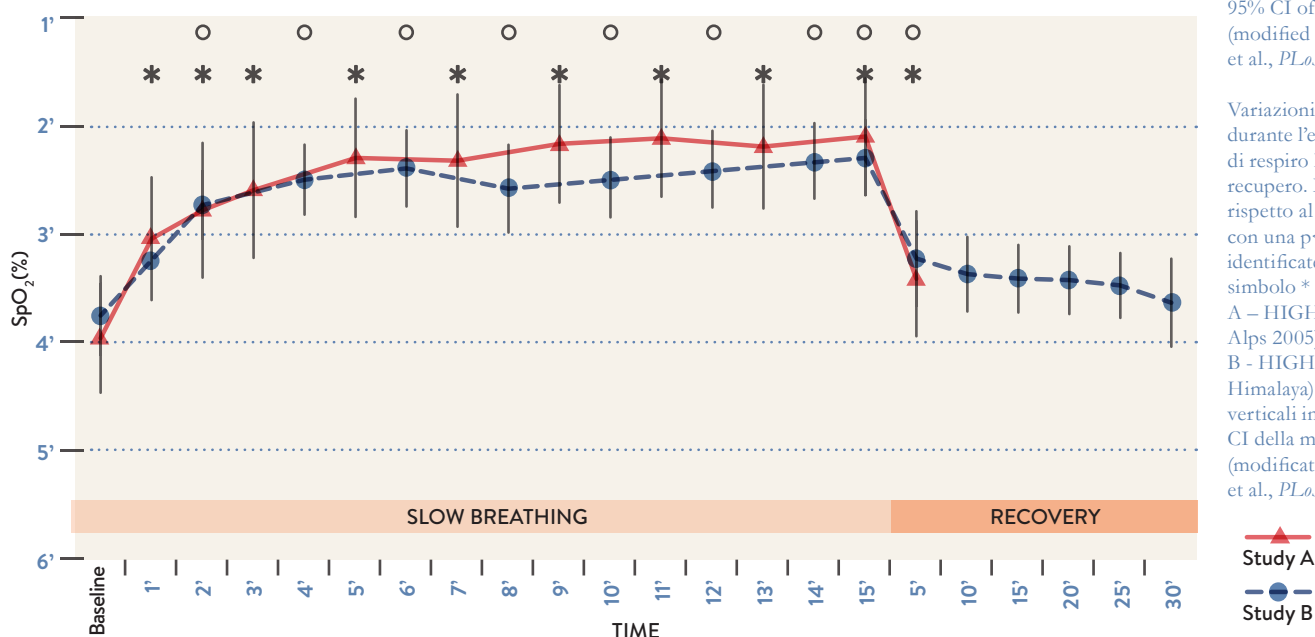


Table 2

Cardiorespiratory parameters before and after 30 minutes of continuous positive airway pressure application after 10 days permanence at Mount Everest South Base Camp (5400m). Data are reported as median and inter-quartile range (first and third quartiles). CPAP, continuous positive airway pressure; SpO₂, transcutaneous haemoglobin oxygen saturation; HR, heart rate; RR, respiratory rate; SBP, systolic blood pressure; DBP, diastolic blood pressure; PAPs, pulmonary artery systolic pressure. (modified from: Agostoni P, et al., *Eur Heart J*. 2010⁷).

Parametri cardiorespiratori prima e dopo 30 minuti di ventilazione positiva continua delle vie aeree, dopo 10 giorni di permanenza al Campo Base Sud del Monte Everest (5.400m). I dati sono espressi come mediane e interquartili (primo e terzo interquartile). CPAP, pressione positiva continua delle vie aeree; SpO₂, saturazione periferica transcutanea di ossigeno dell'emoglobina; HR, frequenza cardiaca; RR, frequenza respiratoria; SBP, pressione arteriosa sistolica; DBP, pressione arteriosa diastolica. (modificata da: Agostoni P, et al., *Eur Heart J*. 2010⁷).

	Pre-CPAP	30 min CPAP	P-value
SpO ₂ (%)	81 (78–85)	80 (78–85)	0.80
HR (b.p.m.)	76 (68–91)	73 (63–85)	0.01
RR (b.p.m.)	13 (11–17)	13 (10–17)	0.52
SBP (mmHg)	131 (119–144)	132 (111–140)	0.23
DBP (mmHg)	80 (71–88)	84 (74–92)	0.26
PAPs (mmHg)	32 (27–40)	37 (33–38)	0.60

oxygenation in subjects chronically exposed to HA⁴ and in patients with congestive heart failure.⁵ While in HIGHCARE-Alps 2005 (see previous chapter) we have demonstrated a significant improvement of arterial blood oxygen saturation (SpO₂) with slow deep breathing in subjects acutely exposed to high altitude, in HIGHCARE-Himalaya we assessed whether this respiratory technique improves ventilation efficiency during prolonged high altitude exposure and attempted to provide some insight into the mechanisms involved.

The assessment of the effects of slow deep breathing took place on the 5–9th day of permanence at Mt. Everest Base Camp 5400m. Each subject underwent: a) baseline resting assessment after 15 minutes at a spontaneous breathing rate, b) 15 minutes of slow (6 breaths per minute) deep breathing exercise, and c) 30 minutes recovery at a spontaneous breathing rate. The variables measured included SpO₂ (Tuffsat, GE Healthcare, USA), arterial blood pressure (BP), heart rate (HR), respiratory frequency (RF), systolic pulmonary artery pressure (PAPs) by Doppler echocardiography, end tidal CO₂ level in the exhaled air (PETCO₂), thoracic fluid content (TFC) by impedance cardiography, tidal volume (VT), minute ventilation (VE), alveolar volume (VA), and pulmonary CO diffusion (DLCO). Twenty-eight randomly selected HIGHCARE-Himalaya participants were included in the slow breathing study. At high altitude all subjects achieved the required respiratory frequency during slow breathing exercise. Compared with baseline value, at the end of the exercise SpO₂ increased from 81.0±64.2% to 88.6±64 (p<0.001), in line with what previously observed during acute high altitude exposure (Figure 1). During slow breathing a proportional increase

(SpO₂) con il respiro lento profondo in soggetti acutamente esposti all'alta quota, nello studio HIGHCARE-Himalaya abbiamo valutato se questa tecnica respiratoria migliora l'efficienza ventilatoria durante l'esposizione prolungata ad alta quota, ed abbiamo provato a formulare delle ipotesi riguardo ai meccanismi coinvolti.

La valutazione degli effetti del respiro lento profondo è stata eseguita tra il 5° e il 9° giorno di permanenza al Campo Base del Monte Everest. Ogni soggetto è stato sottoposto a: a) valutazione basale a riposo, dopo 15 minuti di respiro spontaneo a frequenza libera; b) 15 minuti di esercizio di respiro lento (6 atti al minuto) profondo, e c) 30 minuti di recupero a frequenza respiratoria spontanea. Le variabili misurate includevano SpO₂ (Tuffsat, GE Healthcare, USA), pressione arteriosa sistemica (PA), frequenza cardiaca (FC), frequenza respiratoria (FR), pressione arteriosa polmonare sistolica (PAPs) valutata all'ecocardiografia Doppler, concentrazione di CO₂ di fine espirazione (PETCO₂), contenuto toracico di fluidi misurato tramite l'impedenzometria cardiaca, il Tidal Volume (VT), la ventilazione minuto (VE), il volume alveolare (VA) e la diffusione polmonare del monossido di carbonio (DLCO).

Ventotto soggetti randomizzati tra i partecipanti alla spedizione HIGHCARE-Himalaya sono stati inclusi nello studio del respiro lento profondo. In quota, tutti i soggetti hanno raggiunto la frequenza respiratoria richiesta durante l'esercizio di respiro lento. In confronto ai valori basali, alla fine dell'esercizio la SpO₂ è aumentata da 81,0±64,2% a 88,6±64 (p<0,001), in accordo con quanto precedentemente osservato durante l'esposizione acuta all'alta quota (Figura 1). Durante il respiro lento è stato osservato un incremento proporzionale nel volume inspiratorio e, di conseguenza, la ventilazione minuto risultava invariata, così come VA e DLCO. Durante il periodo di recupero la SpO₂ è rimasta elevata per i primi 5 minuti, tornando successivamente ai valori basali (Figura 1). Alla fine della seduta di respiro lento, è stata riscontrata una significativa riduzione nella pressione arteriosa sistolica (da 125,2±15,4 a 115,0±14,5 mmHg, p<0,001), mentre la frequenza cardiaca ha mostrato una tendenza alla riduzione durante l'esercizio di respiro lento (da 87,6±11,4 a 83,1±12,3 bpm, p=0,09). Alla fine dell'esercizio, la pressione arteriosa polmonare era significativamente ridotta (da 33,1±10,9 a 29,2±10,3 mmHg, p=0,001). Non sono state osservate variazioni

in tidal volume was observed and, consequently, minute ventilation was unchanged, nor were VA and lung diffusion capacity (DLCO) modified. During the recovery SpO_2 remained somewhat higher after 5 minutes of recovery returning later to baseline values (Figure 1). A significant reduction in systolic BP (from 125.2 ± 15.4 to 115.0 ± 14.5 mmHg, $p < 0.001$) occurred at the end of the slow breathing session, while heart rate tended to decrease during slow deep breathing (from 87.6 ± 11.4 to 83.1 ± 12.3 bpm, $p = 0.09$). Pulmonary artery pressure was significantly reduced at the end of slow deep breathing exercise (from 33.1 ± 10.9 to 29.2 ± 10.3 mmHg, $p = 0.001$). No significant changes occurred in thoracic fluid content as quantified by impedance cardiography (from 36.1 ± 6.4 to 36.0 ± 6.0 ml/kg, $p = 0.25$).

The only variable which significantly predicted the increase of SpO_2 induced by slow deep breathing was the SpO_2 baseline value: the lower the baseline SpO_2 , the higher was the increase in SpO_2 with the slow breathing exercise. When combining these data with HIGHCARE-Alps data during acute exposure, we found no major differences in response to slow deep breathing at high altitude. Thus, independently on the duration of exposure to hypoxia, the change in breathing pattern from a spontaneous rate to a paced frequency of 6 breaths per minute was associated with a rapid improvement of ventilation efficiency, as shown by the significant increase in SpO_2 . This increase was maintained as long as slow breathing continued, and the effect of the manoeuvre was lost shortly after restoration of spontaneous breathing pattern.

The observed changes in additional variables suggest that the effects of slow deep breathing on SpO_2 are likely independent from lung fluid content and possible mechanical removal of interstitial fluid by increased alveolar wall stretching (no changes in thoracic fluid content or DLCO). They are also not due to changes in minute ventilation or to alveolar recruitment, as VE and VA remained unchanged. It seems instead, that slow deep breathing improves the efficiency of ventilation through reducing dead space minute ventilation and the dead space to tidal volume ratio. Possibly pulmonary perfusion improvement followed, as suggested by PAPs reduction. The acute blood pressure lowering which occurred during slow deep breathing may be related to increased baroreflex



LEFT

SpO_2 monitoring.
Prof. Gianfranco Parati

SINISTRA

Monitoraggio della saturazione del sangue in ossigeno (SpO_2).
Il Prof. Gianfranco Parati.

significative nel contenuto di fluidi intratoracici quantificati tramite l'impedenzometria cardiaca (da $36,1 \pm 6,4$ a $36,0 \pm 6,0$ ml/kg, $p = 0,25$).

L'unica variabile in grado di predire significativamente l'aumento della SpO_2 indotta dal respiro lento profondo è stata la SpO_2 basale: più essa era bassa, maggiore è stato l'incremento durante l'esercizio respiratorio. Dal raffronto di questi dati con quelli ottenuti durante l'esposizione acuta nella spedizione HIGHCARE-Alps, non abbiamo riscontrato significative differenze nella risposta al respiro lento prolungato in alta quota. Infatti, indipendentemente dalla durata dell'esposizione all'ipossia, la variazione nel pattern respiratorio da una frequenza spontanea a una frequenza controllata di 6 atti al minuto era associata ad un rapido miglioramento dell'efficienza ventilatoria, come dimostrato dal significativo incremento nella SpO_2 . Questo incremento veniva mantenuto per tutto il tempo dell'esercizio, ma veniva perso poco tempo dopo la sua interruzione.

Le modifiche osservate nelle altre variabili suggeriscono che l'effetto del respiro lento profondo sulla SpO_2 sia indipendente dal contenuto di fluido intratoracico e dalla possibile rimozione di liquido interstiziale mediata dallo stretching alveolare (non sono state infatti osservate variazioni nel contenuto toracico di fluidi né nella DLCO). Esso, inoltre, non dipende da variazioni nella ventilazione minuto o dal reclutamento alveolare, poiché VE e VA rimangono invariati. Sembra invece che il respiro lento prolungato migliori l'efficienza della ventilazione attraverso la riduzione della ventilazione minuto dello spazio morto e il rapporto spazio morto/Tidal Volume. Inoltre, probabilmente, a ciò consegue un

and reduced chemoreflex sensitivity and to a direct chemoreceptors inhibition with increased blood oxygenation.

In conclusion, slow deep breathing is an easily available and cheap intervention, effectively and immediately counteracting hypoxemia at high altitude. Its potential practical use in this condition should be tested in further studies.

miglioramento della perfusione polmonare, come suggerito dalla riduzione nella PAPs. La riduzione acuta della PA che si verifica durante il respiro lento prolungato può essere correlata all'incremento nella sensibilità dei barocettori, alla riduzione della sensibilità dei chemocettori e ad una inibizione diretta dei chemocettori data dall'aumento dell'ossigenazione del sangue.

In conclusione, il respiro lento prolungato rappresenta una tecnica economica e facilmente disponibile, che contrasta efficacemente e immediatamente l'ipossiemia da alta quota. Il suo potenziale impiego nella pratica in questa condizione andrà valutato in studi successivi.

1. Dehnert C, Luks AM, Schendler G, Menold E, Berger MM, Mairbaur H, Faoro V, Bailey DM, Castell C, Hahn G, Vock P, Swenson ER, Bartsch P. No evidence for interstitial lung oedema by extensive pulmonary function testing at 4559 m. *Eur Respir J*. 2010;35: 812–820. 2. Kreuzer F, van Lookeren Campagne P. Resting pulmonary diffusion capacity for CO and O₂ at high altitude. *J Appl Physiol*. 1965;20: 519–524. 3. Koch RO, Hinterhuber L, Faulhaber M, Gatterer H, Graupner S, Muenzel K, Burtscher M. A successful therapy of high-altitude pulmonary edema with a CPAP helmet on Lenin Peak. *Clin J Sport Med*. 2009;19:72-3. 4. Keyl C, Schneider A, Gamboa A, Spicuzza L, Casiraghi N, et al. Autonomic cardiovascular function in high-altitude Andean natives with chronic mountain sickness. *J Appl Physiol*. 2003;94: 213–219. 5. Parati G, Malfatto G, Boarin S, Branzi G, Caldara G, et al. Device guided paced breathing in the home setting: effects on exercise capacity, pulmonary and ventricular function in patients with chronic heart failure: a pilot study. *Circ Heart Fail*. 2008;1: 178–183.

HIGHCARE REFERENCES - BIBLIOGRAFIA HIGHCARE:

6. Agostoni P, Swenson ER, Bussotti M, Revera M, Meriggi P, Faini A, Lombardi C, Bilo G, Giuliano A, Bonacina D, Modesti PA, Mancina G, Parati G. High altitude exposure of three weeks duration increases lung diffusing capacity in humans. *J Appl Physiol*. 2011;110:1564-1571
7. Agostoni P, Caldara G, Bussotti M, Revera M, Valentini M, Gregorini F, Faini A, Lombardi C, Bilo G, Giuliano A, Veglia F, Savia G, Modesti PA, Mancina G, Parati G; on behalf of the HIGHCARE Investigators. Continuous positive airway pressure increases haemoglobin O2 saturation after acute but not prolonged altitude exposure. *Eur Heart J*. 2010;31:457-63
8. Bilo G, Revera M, Bussotti M, Bonacina D, Styczkiewicz K, Caldara G, Giglio A, Faini A, Giuliano A, Lombardi C, Kawecka-Jaszcz K, Mancina G, Agostoni P, Parati G, on behalf of the HIGHCARE investigators. Effects of slow deep breathing at high altitude on oxygen saturation, pulmonary and systemic hemodynamics. *PLoS ONE*. 2012;7:e49074

MODULATION OF HEPCIDIN PRODUCTION DURING HYPOXIA-INDUCED ERYTHROPOIESIS

MODULAZIONE DELLA PRODUZIONE DI EPCIDINA DURANTE L'ERITROPOIESI INDOTTA DA IPOSSIA

Iron is an essential element required as a cofactor for proteins managing oxygen transport such as haemoglobin, myoglobin and cytochromes. Both hypoxia and anemia induce the synthesis of erythropoietin (EPO) and are the two main signals which increase iron absorption independently of iron stores.¹ Thus, iron metabolism is tightly connected to oxygen homeostasis and erythropoiesis.² The liver peptide hepcidin is the key regulator of iron homeostasis;³ it acts by inhibiting intestinal iron absorption and release by macrophages and its production is regulated by different stimuli including inflammatory cytokines, iron, erythropoietic activity, anemia and hypoxia mainly at the transcriptional level.⁴ The nature of the erythropoietic regulator of hepcidin is still uncharacterised, but may include one or more proteins released during active erythropoiesis. One of these regulators, GDF15⁵, has been identified also as an oxygen-regulated transcript responding to hypoxia, suggesting that some homeostatic systems for iron and oxygen are responsive to both stimuli.

Healthy subjects exposed to high altitude represent a convenient model to study these changes after acute or chronic exposure to hypoxia;⁶ in HIGHCARE-Himalaya we investigated the modifications induced by acute and chronic exposure to hypobaric hypoxia in iron metabolism, focusing in particular on its modulation by hepcidin. For the analyses of iron metabolism we excluded subjects who were iron deficient because of menstrual blood losses or blood donations. Blood samples were always obtained in the morning (between 7 and 9.30 a.m.) at fast, after the subject has been sitting for at least 15 minutes. Samples were immediately centrifuged and sera stored at -80° C in nitrogen vapor containers.

In the present study we investigated the modifications in serum iron, transferrin and ferritin (standard methods), erythropoietin (EPO; Immulite EPO, Siemens Solutions

Il ferro è un elemento essenziale, necessario come cofattore per le proteine deputate al trasporto di ossigeno come emoglobina, mioglobina e citocromi. Sia l'ipossia che l'anemia inducono la sintesi di eritropoietina (EPO) e sono i due segnali principali che aumentano l'assorbimento di ferro, indipendentemente dalla quantità presente nei depositi.¹ Il metabolismo del ferro è, quindi, strettamente legato all'omeostasi dell'ossigeno ed all'eritropoiesi.² Il peptide epatico epcidina rappresenta la chiave della regolazione del metabolismo epatico del ferro;³ esso agisce inibendo l'assorbimento intestinale e la liberazione macrofagica di ferro e la sua

BELOW

Liquid nitrogen refill of containers for biological samples storage at low temperature (-150° C).

SOTTO

Refill dell'azoto liquido nei criocontenitori per lo stoccaggio del materiale biologico a bassa temperatura (-150° C).



Diagnostic Ltd, UK), soluble transferrin receptor (s-TFR) and GDF15 (Quantikine Human Immunoassay, R&D Systems, Inc. MN, USA) as markers of erythropoietic activation, interleukin-6 (IL-6) as a marker of inflammation and hepcidin (immunoassay developed by Intrinsic LifeSciences LLC, La Jolla, CA 23). All these tests were performed at the laboratory of the Consortium for Human Molecular Genetics located in the University of Milano-Bicocca, Faculty of Medicine building, in Monza (Italy). Hematocrit was measured with a portable instrument (Radiometer ABL77, Copenhagen). As expected, hematocrit, serum ferritin, and hepcidin were lower in women than in men. All the changes that occurred at high altitude had disappeared by the time of measurement at sea level, 3 months after return.

We observed overall a significant increase of hematocrit from baseline (42.1%; 95% confidence interval, 40.9%-43.4%) to Base Camp (after prolonged exposure: 54.1%; 95% confidence interval, 52.7%-55.6%). This increase was evident both in men (from

produzione è regolata da differenti stimoli, prevalentemente a livello trascrizionale, tra i quali le citochine infiammatorie, il ferro stesso, l'attività di eritropoiesi, l'anemia e l'ipossia.⁴ La natura della regolazione dell'epcidina da parte dell'eritropoiesi non è stata ancora completamente descritta, ma verosimilmente può includere una o più proteine prodotte durante la fase attiva di eritropoiesi. Uno di questi regolatori, il GDF15⁵, è stato riconosciuto anche come una molecola la cui trascrizione è regolata dalla quantità di ossigeno, in particolare aumenta in condizioni di ipossia, suggerendo di conseguenza che alcuni dei sistemi omeostatici del ferro e dell'ossigeno siano responsivi ad entrambi gli stimoli.

I soggetti sani esposti all'alta quota rappresentano un modello pratico per studiare le modifiche indotte dall'ipossia, acuta o cronica⁶; nello studio HIGHCARE-Himalaya abbiamo investigato le modificazioni indotte dall'esposizione acuta e cronica all'ipossia ipobarica a carico del metabolismo del ferro, concentrandoci in particolare sulla sua modulazione mediata dall'epcidina. Abbiamo escluso dalle analisi sul metabolismo del ferro i soggetti che erano sideropenici per perdite ematiche mestruali o per donazioni di sangue. I campioni di sangue sono sempre stati ottenuti di mattina (tra le 7 e le 9,30) a digiuno, dopo che il soggetto era rimasto seduto almeno 15 minuti. I campioni sono stati immediatamente centrifugati e conservati a -80°C in contenitori di azoto liquido.

Nel presente studio abbiamo indagato le modificazioni nel ferro, transferrina e ferritina sierici (metodi standard), eritropoietina (EPO; Immulite EPO, Siemens Solutions Diagnostic Ltd, UK), recettore solubile per la transferrina (s-TFR) e GDF15 (Quantikine Human Immunoassay, R&D Systems, Inc. MN, USA) come marker di attivazione eritropoietica, interleuchina-6 (IL-6) come marker di infiammazione ed epcidina (metodica immunoenzimatica sviluppata da Intrinsic LifeSciences LLC, La Jolla, CA 23). Tutti questi test sono stati eseguiti nel Laboratorio del Consorzio per la Genetica Umana Molecolare dell'Università Milano-Bicocca, nell'edificio della Facoltà di Medicina e Chirurgia, a Monza. L'ematocrito è stato misurato con uno strumento portatile (Radiometer ABL77, Copenhagen). Coerentemente con quanto atteso, l'ematocrito, la ferritina sierica e l'epcidina



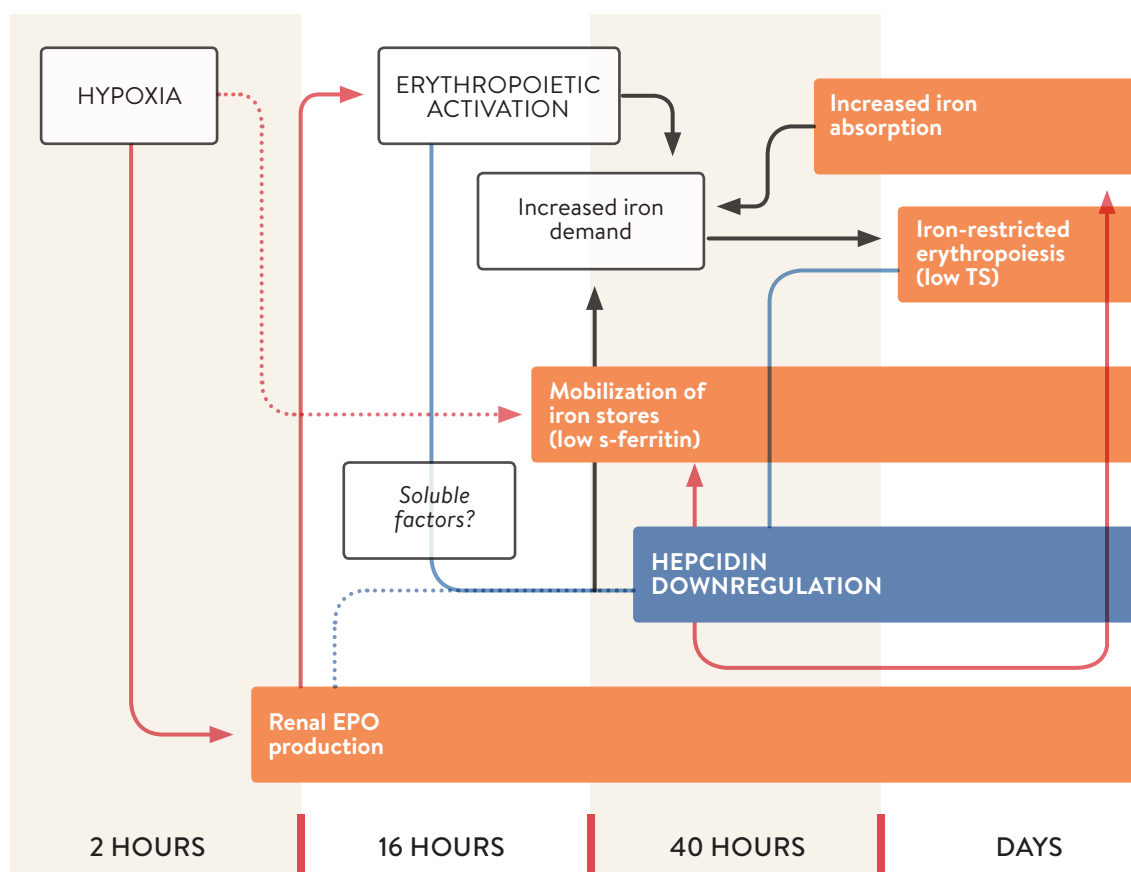


Figure 1

Hypoxia-induced modification of iron homeostasis. (modified from: Piperno A et al., *Blood*, 2011⁷).

Modificazioni indotte dall'ipossia all'omeostasi del ferro. (modificata da: Piperno A et al., *Blood*, 2011⁷).

43.5% to 55.5%) and women (from 38.2% to 50.4%), but women always maintained significantly lower values than men.

Hepcidin levels significantly decreased after acute exposure to hypoxia (Namche, 3400m), reaching the nadir at Everest Base Camp (5400m), when its levels were reduced by more than 80%. Although males and females started from different baseline values, their decreasing profile did not differ significantly according to the longitudinal analysis. EPO rapidly increased at Namche, maintaining a plateau at 5400m during acute exposure and beginning to decrease after prolonged exposure. Transferrin saturation increased at Namche, solely as a result of a transient increase in serum iron, because serum transferrin showed a rapid and gradual increase probably related to iron depletion. It significantly decreased at Everest Base Camp because of the increased iron use by the bone marrow, and remained virtually unchanged during prolonged stay at 5400m. Serum ferritin showed a rapid and progressive decrease that was already evident at Namche, indicating massive mobilization of iron from stores. This progressive decrease was similar in males and females so that a significant difference by sex

erano più bassi nelle donne che negli uomini. Tutte le variazioni che sono state osservate ad alta quota sono regredite entro 3 mesi dal ritorno a livello del mare. Si è osservato un incremento significativo dell'ematocrito misurato al Campo Base (dopo esposizione prolungata: 54,1%; intervallo di confidenza 95%, 52,7%-55,6%), rispetto al basale (42,1%; intervallo di confidenza 95%, 40,9%-43,4%). Questo incremento era evidente sia negli uomini (da 43,5% a 55,5%) che nelle donne (da 38,2% a 50,4%), ma queste ultime hanno sempre mantenuto valori significativamente più bassi degli uomini. I livelli di epcidina si sono significativamente ridotti dopo l'esposizione acuta a ipossia (Namche, 3.400m), raggiungendo il nadir al Campo Base (5.400m), quando i suoi livelli si sono ridotti di più dell'80% rispetto al basale. Sebbene maschi e femmine partissero da valori basali differenti, il profilo di riduzione valutato alle analisi longitudinali non differiva significativamente.

A Namche, l'EPO è rapidamente aumentata, mantenendo un plateau a 5.400m durante esposizione acuta e iniziando a ridursi dopo esposizione prolungata. La saturazione della transferrina è aumentata unicamente a causa dell'incremento di ferro sierico; la transferrina ha, infatti, mostrato un aumento rapido e

was maintained in the longitudinal profile. The three remaining parameters did not behave differently by sex, but were affected by altitude. Specifically, soluble transferrin receptor showed a marked increase from 3400 to 5400m altitude according to erythropoietic expansion, whereas GDF15 showed a progressive, but slight, increase from sea level to 3400m and 5400m, both maintaining a plateau during prolonged exposure to 5400m. IL-6 levels increased at Namche and remained elevated at 5400m.

During the 20-day period of high altitude exposure, we observed a marked increase of hematocrit which required about 700mg iron in men and 400mg in women. To compensate for such a massive demand of iron by erythropoietic precursors, iron release from stores and intestinal absorption had to increase dramatically. Our results strongly suggest that hepcidin down-regulation was central to these modifications. Hepcidin suppression began some hours after acute hypoxia exposure, reaching its nadir in the following week of exposure to high altitude. Hypoxia generated a detectable increase in serum EPO, which peaked within 2 days and thereafter declined over a period of 1 to 2 weeks in volunteers exposed to high altitude. Considering that hepcidin is a fast-responding hormone and that the timing of hepcidin suppression was gradual, we suggest that it could be mediated by circulating factor(s) released by cells in response to hypoxia-induced erythropoietic activation.

Recent observations have indicated that GDF15 (which is highly expressed in thalassemia, congenital diserythropoietic, and sideroblastic anemias, and less in other forms of ineffective erythropoiesis) and twisted gastrulation 1 (TWG1) could be erythropoietic regulators of hepcidin; in our volunteers we observed a progressive GDF15 increase, which reached highest values during prolonged exposure to 5400m. This was probably the result of the combined action of erythropoiesis activation, iron depletion, but also of tissue hypoxia, inflammation, or enhanced oxidative stress induced by high altitude exposure. However, GDF15 levels did not show any correlation with hepcidin, suggesting that GDF15 could cooperate to hepcidin suppression but cannot be a main regulator in this setting.

Among all the parameters analyzed, serum ferritin was the one showing the best correlation with hepcidin at each point during the study,

graduale verosimilmente legato alla carenza marziale. La saturazione della transferrina si è poi significativamente ridotta al Campo Base, a causa dell'aumento nell'uso di ferro da parte del midollo osseo, ed è rimasta virtualmente stabile durante il soggiorno prolungato a 5.400m. La ferritina sierica ha mostrato una riduzione rapida e progressiva, che era già evidente a Namche, dato che indicava una mobilitazione massiva di ferro dai depositi. Questa riduzione progressiva era simile nei maschi e nelle femmine, così che la differenza tra i generi era mantenuta nel profilo longitudinale. I tre parametri rimanenti non hanno mostrato differenze di comportamento tra i generi, sebbene influenzati dall'altitudine. In particolare, il recettore solubile della transferrina è significativamente aumentato tra i 3.400 e i 5.400m di altitudine, coerentemente con l'espansione eritropoietica, mentre GDF15 ha mostrato un lieve e progressivo aumento dal livello del mare a 3.400m e a 5.400m; entrambi sono rimasti a plateau dopo l'esposizione prolungata a 5.400m. I livelli di IL-6 sono aumentati a Namche, e sono rimasti elevati a 5.400m.

Durante un periodo complessivo di 20 giorni di esposizione all'alta quota, abbiamo osservato un incremento marcato nell'ematocrito, che ha richiesto l'impiego di circa 700mg di ferro negli uomini e 400mg nelle donne. Per compensare questo impiego massivo di ferro da parte dei precursori eritroidi, il rilascio dal fegato e l'assorbimento intestinale sono dovuti aumentare marcatamente. I nostri risultati suggeriscono che l'inibizione della trascrizione dell'hepcidina abbia avuto un ruolo centrale in questi meccanismi. La soppressione dell'hepcidina è iniziata alcune ore dopo l'esposizione acuta all'ipossia, raggiungendo il suo nadir nelle settimane successive di esposizione alla quota. L'ipossia ha generato un aumento riscontrabile di EPO sierica, che ha raggiunto il suo picco in 2 giorni, e successivamente si è ridotto in un periodo di 1-2 settimane nei volontari esposti all'alta quota. Considerando che l'hepcidina è un ormone a risposta rapida, e che la soppressione è avvenuta in tempi gradualmente, la nostra ipotesi è che quest'ultima possa essere mediata da uno o più fattori circolanti, rilasciati dalle cellule in risposta all'attivazione eritropoietica indotta dall'ipossia.

Osservazioni recenti indicano il GDF15 (che probabilmente è altamente espresso nella talassemia, nelle diseritropoiesi congenite, nelle

suggesting that iron itself, or the kinetics of iron use in response to hypoxia, may signal the suppression of hepcidin. Throughout the permanence at 5400m the increased rate of erythropoiesis was paralleled by the marked decrease of tissue iron stores and increased iron use by the erythropoietic bone marrow, as shown by the marked reduction of serum ferritin and transferrin saturation, which probably cooperated to further suppress hepcidin synthesis. Our results provide new insights into the interaction between hypoxia, erythropoiesis, and iron metabolism in humans. In Figure 1, we summarize the physiologic modifications induced by acute and chronic hypoxia exposure on iron homeostasis aimed at supplying enough iron to the bone marrow, mainly based on the findings of HIGHCARE-Himalaya.



anemie sideroblastiche e, in misura minore, in altre forme di eritropoiesi inefficace) e la “twisted gastrulation 1” (TWG1) come potenziali regolatori eritropoietici dell’epcidina; nei nostri volontari abbiamo osservato un aumento progressivo di GDF15, che ha raggiunto il suo massimo valore durante esposizione prolungata a 5.400m. Questo è stato probabilmente il risultato dell’azione combinata dell’attivazione eritropoietica e della deplezione marziale, ma anche dell’ipossia tissutale, dell’inflammazione o dell’aumentato stress ossidativo indotto dall’esposizione all’alta quota. Ciononostante, i livelli di GDF15 non hanno mostrato alcuna correlazione con l’epcidina, suggerendo che GDF15 possa cooperare alla soppressione dell’epcidina, ma non possa esserne un fattore principale, almeno non in queste condizioni.

Tra tutti i vari parametri analizzati, la ferritina sierica ha mostrato una delle migliori correlazioni con l’epcidina ad ognuno dei punti dello studio, suggerendo che il ferro stesso, o la cinetica dell’uso del ferro in risposta all’ipossia, possano far parte del signaling di soppressione dell’epcidina. Durante tutta la permanenza a 5.400m, il tasso di incremento nell’eritropoiesi è stato parallelo con la marcata riduzione dei depositi marziali tissutali e con l’aumento dell’uso di ferro da parte del midollo osseo, come mostrato dalla marcata riduzione nella ferritina sierica e nella saturazione della transferrina, che probabilmente partecipano ulteriormente alla soppressione della sintesi di epcidina. I nostri risultati forniscono nuove prospettive nell’interazione tra ipossia, eritropoiesi e metabolismo marziale nell’uomo. Nella Figura 1 abbiamo riassunto, basandoci principalmente sui risultati dello studio HIGHCARE-Himalaya, le modificazioni fisiologiche indotte dall’esposizione a ipossia acuta e cronica sull’omeostasi del ferro, volte a fornire la quantità adeguata di ferro per il midollo osseo.

LEFT

Trekking in Khumbu valley.

SINISTRA

Trekking nella valle del Khumbu.

1. Nemeth E. Iron regulation and erythropoiesis. *Curr Opin Hematol.* 2008;15(3):169-175. 2. Finch C. Regulators of iron balance in humans. *Blood.* 1994;84(6):1697-1702.
3. Piperno A, Mariani R, Trombini P, Girelli D. Hepcidin modulation in human diseases: from research to clinic. *World J Gastroenterol.* 2009;15(5):538-551. 4. Richalet JP, Souberbielle JC, Antezana AM, et al. Control of erythropoiesis in humans during prolonged exposure to the altitude of 6542 m. *Am J Physiol.* 1994;266(32):R756-R764.
5. Tanno T, Bhanu NV, Oneal PA, et al. High levels of GDF15 in thalassemia suppress expression of the iron regulatory protein hepcidin. *Nat Med.* 2007;13(9):1096-1101.
6. Eckardt KU, Boutellier U, Kurtz A, Schopen M, Koller EA, Bauer C. Rate of erythropoietin formation in humans in response to acute hypobaric hypoxia. *J Appl Physiol.* 1989;66(4):1785-1788

HIGHCARE REFERENCES - BIBLIOGRAFIA HIGHCARE:

7. Piperno A, Galimberti S, Mariani R, Pelucchi S, Ravasi G, Lombardi C, Bilo G, Revera M, Giuliano A, Faini A, Mainini V, Westerman M, Ganz T, Valsecchi MG, Mancia G, Parati G; HIGHCARE investigators. Modulation of hepcidin production during hypoxia-induced erythropoiesis in humans in vivo: data from the HIGHCARE project. *Blood.* 2011;117:2953-9.

COGNITIVE FUNCTION UNDER EXPOSURE TO HYPOBARIC HYPOXIA AT ALTITUDE

FUNZIONI COGNITIVE IN CONDIZIONI DI IPOSSIA IPOBARICA DA ALTA QUOTA

RIGHT

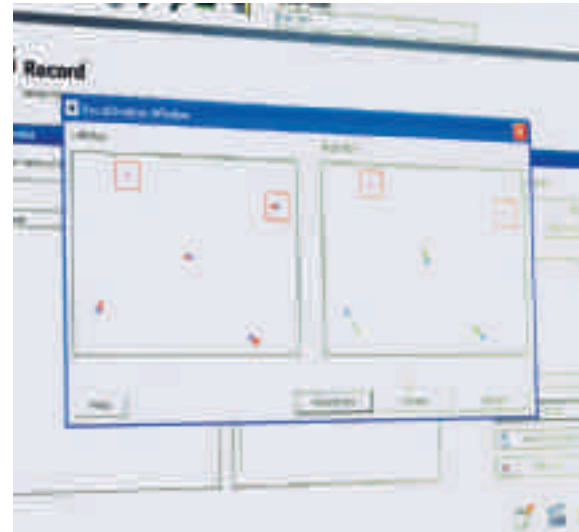
Screenshot of the application used for neuropsychological tests.

DESTRA

Schermata del programma per l'esecuzione dei test neurocognitivi.

Hypobaric-hypoxia exposure leads to a reduction in haemoglobin oxygen saturation, and consequently to a reduction in oxygen availability to the organs. Central nervous system (CNS) susceptibility to even slight variations in oxygen saturation may lead to a wide range of neurological and cognitive disorders.¹ In order to better understand this phenomenon, neuropsychological and cognitive aspects have been evaluated in the framework of HIGHCARE-Himalaya study.

45 of HIGHCARE-Himalaya participants (35 males, mean age 39.9 ± 10.0) underwent cognitive performance assessment thorough neuropsychological and psychodiagnostic tests; both conventional (paper and pen tests) and computerized tests (X50 eye-tracking device) were performed. Data were obtained during the three main protocol stages: at sea level, soon after arrival at Namche Bazar (3400 m, days 1-3), and at Mount Everest Base Camp. Psychological conditions were assessed with validated tests commonly used in clinical practice.



L'esposizione ad ipossia ipobarica da alta quota determina una riduzione della saturazione di ossigeno ematica e, di conseguenza, una riduzione della quantità di ossigeno disponibile per organi e tessuti. Particolarmente sensibile anche a minime variazioni di questo parametro è il sistema nervoso centrale (SNC); tale fenomeno può condurre ad una vasta gamma di disturbi cognitivi.¹ Per meglio comprendere questo fenomeno, nel corso della spedizione 2008 in Himalaya sono state valutate le performance neuropsicologiche dei volontari partecipanti alla spedizione.

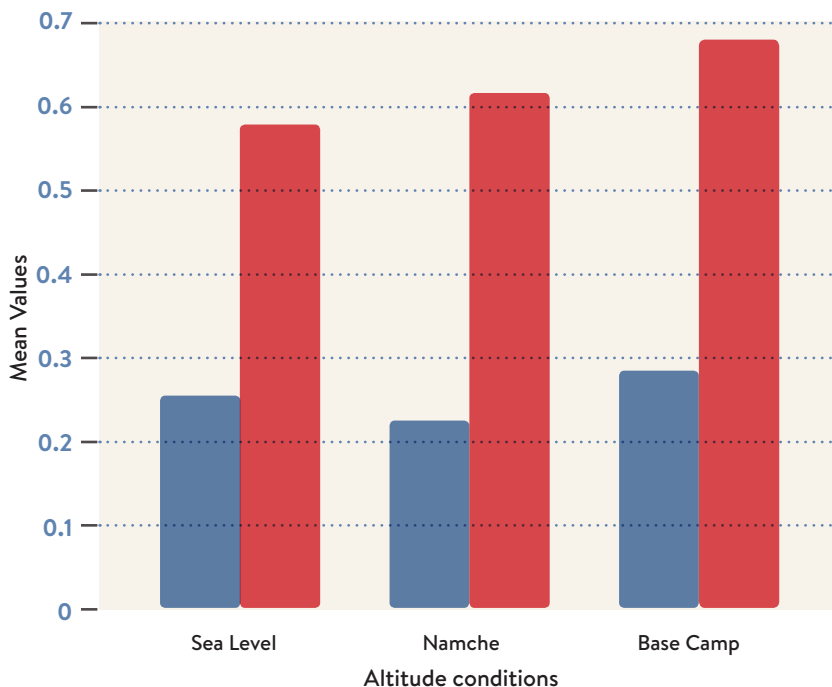
In 45 soggetti (di cui 35 maschi, età media $39,9 \pm 10,0$) sono state determinate le funzioni cognitive mediante valutazioni estensive neuropsicologiche e psicodiagnostiche; i volontari sono stati sottoposti sia a prove convenzionali (test che prevedevano l'utilizzo di carta e penna), sia a prove con strumenti computerizzati (X50 eye-tracking device). I dati sono stati raccolti nelle tre principali tappe altimetriche previste dal protocollo: a livello del mare, all'arrivo a Namche Bazar a 3.400m (giorni 1-3) ed al Campo Base a 5.400m. Lo stato psicologico è stato determinato mediante checklist comunemente utilizzate nella pratica clinica.

Figure 1

Eye reaction time and keyboard reaction time.

Tempo di reazione visiva e test computerizzati psicomotori.

KRT
ERT

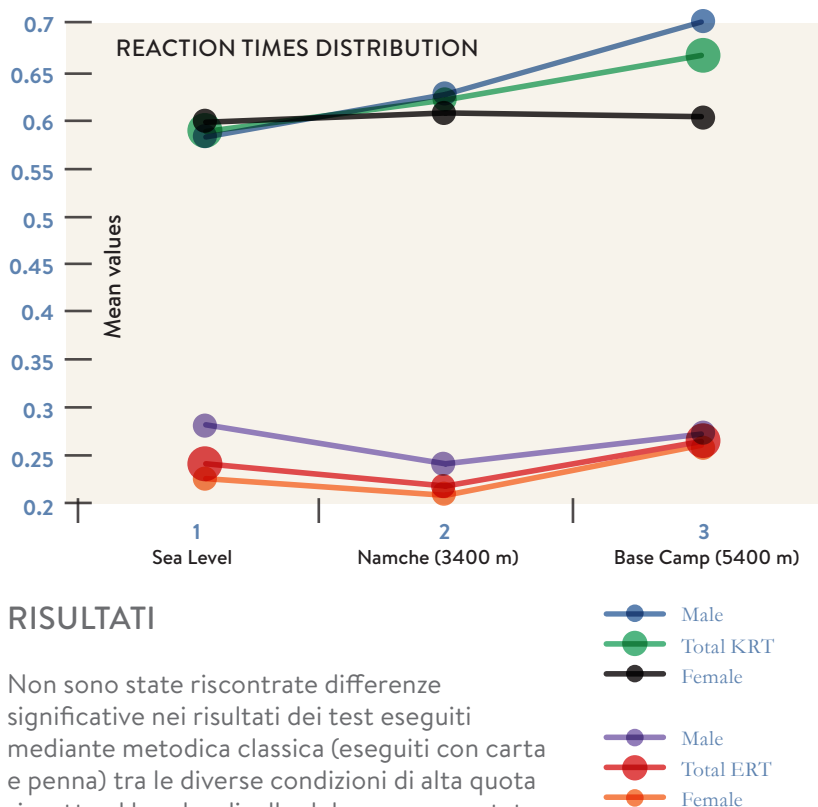


RESULTS

No significant differences were detected among conventional tests undertaken at three different altitudes; on the contrary, computerized psychomotor tests (keyboard reaction time, KRT) and eye reaction time tests showed worse performance at high altitude (Figure 1). Psychomotor tests results correlated with breathing rate. Moreover, a gender related pattern was detected: females showed better results at KRT tests than males, at 5400m (Figure 2).

In conclusion, high altitude exposure induces cognitive impairment, particularly at 5400m; frontal cortex efficiency seems to be significantly involved (saccadic eye movements). Discordant data between conventional and computerized tests suggest that the latter may be more sensitive in detecting slight alterations induced by hypoxia.

Our study represents a useful model for studying patients affected by disorders leading to cerebral hypoxia and chronic hypoxemia, i.e. sleep breathing disturbances, pulmonary and cardiovascular diseases. In clinical practice, these innovative tests may help in identifying even minor cognitive impairment.



RISULTATI

Non sono state riscontrate differenze significative nei risultati dei test eseguiti mediante metodica classica (eseguiti con carta e penna) tra le diverse condizioni di alta quota rispetto al basale a livello del mare; sono state invece osservate differenze nei risultati dei test computerizzati psicomotori (keyboard reaction times, KRT) e nei tempi di reazione visiva (eye reaction times, ERT) con riscontro di peggiori performance in alta quota (Figura 1). I test

Figure 2

Distribution of reaction times in computerized psychomotor tests (KRT) and eye reaction time tests (ERT).

Distribuzione dei tempi di reazione nei test computerizzati psicomotori (KRT) e nei tempi di reazione visiva (ERT).

LEFT

Neuropsychological tests performed at Everest Base Camp.

SINISTRA

Esecuzione dei test neurocognitivi al Campo Base Everest.



NEUROPSYCHOLOGICAL TEST

Test neuropsicologici

◇ Eye Tracker – Computerized Battery (PVA)

- Antisaccade
- Visual Attention task

◇ Traditional Neuropsychological Tests

- Psychomotor efficiency, attention, executive functions, cognitive flexibility, language, episodic and short-term memory, visuo-spatial pianification, constructive praxis and visual discrimination.

◇ Psychological and Personality Assessment

- Symptom Checklist (SCL-90), Profile of Mood States (POMS), Beck Depression Inventory (BDI), State-Trait Anxiety Inventory-Y (STAI-Y), Minnesota Multiphasic Personality Inventory (MMPI).

◇ Tracciamento oculare - batteria computerizzata (PVA)

- Antisaccade
- Prove di attenzione visiva

◇ Test neuropsicologici tradizionali

- Efficienza psicomotoria, attenzione, funzioni esecutive, flessibilità cognitiva, linguaggio, memoria episodica e a breve termine, pianificazione visuo-spaziale, prassi costruttiva e discriminazione visiva.

◇ Valutazione psicologica e della personalità

- Checklist dei Sintomi (SCL-90), Profilo degli Stati dell'Umore (POMS), Inventario per la Depressione di Beck (BDI), Inventario per l'Ansia di Stato/di Tratto (STAI-Y), Inventario Multifasico Minnesota per la Personalità (MMPI).

psicomotori sono risultati correlati alla frequenza respiratoria del soggetto. È stata inoltre riscontrata una significatività rispetto al genere: le donne hanno mostrato migliori performance nelle prove KRT rispetto ai soggetti di sesso maschile, a quota 5.400m (Figura 2).

In conclusione, è stato riscontrato come l'esposizione ad alta quota induca specifiche alterazioni cognitive, particolarmente evidenti alla quota di 5.400m; l'efficienza frontale sembra essere maggiormente coinvolta in tale condizione (movimenti oculari saccadici). I dati discordanti tra test convenzionali e nuove metodiche computerizzate suggeriscono, inoltre, come queste ultime possano rilevarsi più sensibili nel riscontrare anche minime variazioni indotte dall'ipossia.

Tale studio rappresenta un modello traslabile a pazienti affetti da condizioni cliniche che determinano una riduzione dell'apporto di ossigeno all'encefalo, ovvero di ipossiemia cronica, quali ad esempio i disturbi respiratori nel sonno, patologie polmonari e cardiovascolari; il ricorso a tali metodiche, nella pratica clinica, permetterebbe di rilevare in questi pazienti disturbi cognitivi anche lievi.

1. Wilson MH, Newman S, Imray CH. The cerebral effects of ascent to high altitude. *Lancet Neurol.* 2009, 8 175-91

HIGHCARE REFERENCES - BIBLIOGRAFIA HIGHCARE:

2. B. Poletti, P. Meriggi, C. Lombardi, G. Bilo, M. Revera, A. Faini, G. Caldara, F. Maringelli, A. Lafronza, G. Mancia, V. Silani, G. Parati. Cognitive function under exposure to hypobaric hypoxia at altitude: data from the HIGHCARE project. *Journal of Hypertension*: June 2010 - Volume 28 - Issue - p e89

CHANGES IN URINARY PEPTIDOME

MODULAZIONE DEL PEPTIDOMA URINARIO

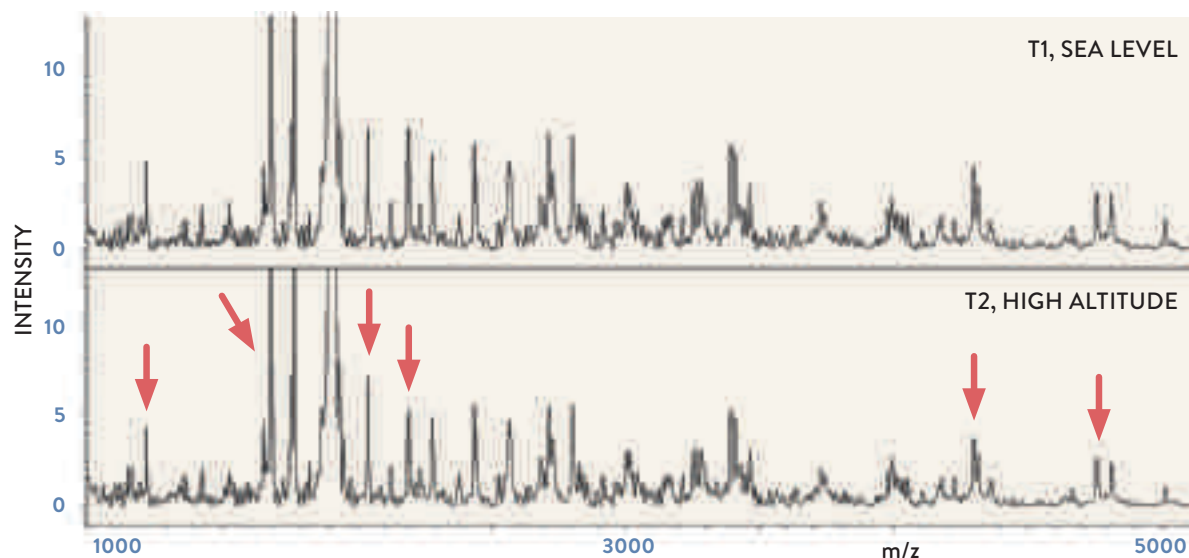


Figure 1

Mass range between 1000 and 5000 m/z of the average protein profile of patients before and after the telmisartan treatment at the sea level; no significant differences in the intensity of the signals between the profiles in the whole mass range (1000 to 10000 m/z). Comparable results were obtained by the comparison between volunteers randomized to placebo and subjects randomized to telmisartan both at high (T2) and very high altitudes (T3) (data not shown). Red arrows indicate the areas where peptides were detected as differentially expressed between T1, T2 and T3. (modified from: Mainini V, et al., *Mol Biosyst*, 2012 ⁸).

Intervallo delle masse dei profili proteici medi comprese tra 1.000 e 5.000 m/z prima e dopo il trattamento con telmisartan a livello del mare; non sono state evidenziate differenze nell'intensità del segnale tra i profili dell'intera ampiezza di masse (da 1.000 a 10.000 m/z). Risultati sovrapponibili sono stati ottenuti dal paragone tra volontari randomizzati a placebo e a telmisartan, sia ad alta (T2) che ad altissima (T3) altitudine (dati non presenti in questa figura). Le frecce rosse indicano le aree nelle quali l'espressione dei peptidi è risultata differente tra T1, T2 e T3. (modificata da: Mainini V, et al., *Mol Biosyst*, 2012 ⁸).

The physiological processes characterizing acclimatization to acute and prolonged hypobaric hypoxia exposure at high altitude include pulmonary, cardiac, renal and hematological changes. The processes of acclimatization are likely to reflect reactive changes in protein synthesis.¹ The urinary protein content originates largely from kidneys (70%) and less so (30%) from plasma. Urinary proteome changes in different pathological conditions, e.g. cancer, endometriosis, preeclampsia, cardiovascular diseases and diabetic nephropathy. The investigation of the modulation of the urinary proteome can be of interest to clarify mechanisms of acclimatization to hypobaric hypoxia, both at the local, kidney level, and at the peripheral level.² In HIGHCARE-Himalaya we evaluated whether and how the urinary peptidome is modulated by the exposure to hypobaric hypoxia and how it is affected by the administration of telmisartan both at the sea level and at high altitude. Urinary peptides were extracted from urine samples collected at different project stages (at sea level, 3400 and 5400m) by hydrophobic interaction of magnetic beads based on an automated procedure with a robot (ClinProt Robot, Bruker Daltonics GmbH, Bremen, DE, a method that allows the extraction from biological preparations of specific groups of proteins/peptides³) and then the samples were prepared for MALDI analysis of protein and peptide profiles. (MALDI-TOF instrument, Reflex IV, Bruker Daltonics, GmbH, Bremen,

I distretti cardiaco, renale, respiratorio ed ematologico sono coinvolti nei processi fisiologici di acclimatamento in corso di esposizione, sia acuta che prolungata, all'ipossia ipobarica; verosimilmente, tale processo riflette anche alterazioni reattive nella sintesi proteica.¹ Poiché il contenuto urinario di proteine origina prevalentemente dai reni (70%) e in minor misura dal plasma (30%), e poiché la modulazione del contenuto proteico urinario è influenzata da malattie sistemiche (come ad esempio neoplasie, endometriosi, preeclampsia, patologie cardiovascolari e nefropatia diabetica), lo studio del proteoma urinario rappresenta un fattore determinante per chiarire i meccanismi di acclimatamento all'ipossia ipobarica, sia a livello renale che periferico.² Nello studio HIGHCARE-Himalaya si è cercato di capire se, e in che misura, l'esposizione all'ipossia ipobarica influisca sul peptidoma urinario e come quest'ultimo possa essere influenzato, sia in alta quota che a livello del mare, dalla somministrazione di telmisartan. I peptidi urinari sono stati estratti da campioni di urine raccolti in differenti fasi del protocollo (a livello del mare, a 3.400 ed a 5.400m) mediante procedura robotizzata automatica che sfrutta l'interazione idrofobica tra componenti magnetiche (ClinProt Robot, Bruker Daltonics GmbH, Bremen, Germania, metodica che permette l'estrazione di specifici gruppi di proteine/peptidi da materiale biologico³); i campioni così ottenuti sono stati sottoposti

DE⁴). All the spectra processing and multiple spectra comparison were performed through ClinProTools 2.2 Software. Identifications of urinary peptides were performed on a Proxeon EasynLC System (Proxeon Biosystems, Odense, Denmark) coupled with a MaXis hybrid UHR-QToF system (Bruker Daltonics, Bremen, DE).

Effects of telmisartan administration on urinary peptidome were evaluated by: 1) comparing the peak intensities in the protein profiles obtained from urine of the same subjects randomized to telmisartan collected at sea level before and after the treatment; 2) comparing the average protein profile of urine samples collected at Namche (3400m) and Everest Base Camp (5400m) from study participants randomized to placebo or telmisartan. Neither of these two analyses revealed significant differences in peak intensities attributable to telmisartan treatment at sea level or at high altitude.

The effect of the exposure to hypobaric hypoxia at high and very high altitudes on urinary peptidome was evaluated by comparison of the average protein profile of samples collected at different study steps. Urinary peptidome was modified by the exposure to hypobaric hypoxia; in particular, six signals among the 90 observed in the urinary profile were differentially modulated by the exposure to high altitude (m/z 1165, 1683, 1953, 2194, 4298, 4757) (Figure 1). The intensity of signals at m/z 1683 and 2194 decreased significantly when subjects were acutely exposed to hypobaric hypoxia at 3400m and their expression remained reduced at 5400m. Signals at m/z 4298 and 4757 showed a different trend - the intensity of these two signals was significantly decreased at Namche, when subjects were acutely exposed to hypoxia at high altitude, and returned to levels observed at sea level in samples collected at 5400m. The intensity of the signal at m/z 1165 was comparable between samples collected at sea level and those collected at Namche, while at very high altitude (5400m) it showed a significant increase. The signal at m/z 1953, instead, showed a decrease of the intensity between sea level and acute exposure to 3400m (Namche), but at 5400m showed a significant up-regulation compared to both previous time points.

To identify the molecules of interest we performed an LC-ESI MS/MS analysis, identifying the peptide with an altered urinary expression with Mr 1679.9 as the fragment Val592IDQSRVNLGPITArg606 of the human

all'analisi MALDI dei profili proteici e peptidici (MALDI-TOF instrument, Reflex IV, Bruker Daltonics, GmbH, Bremen, Germania⁴).

L'analisi degli spettri e la comparazione degli spettri multipli sono state effettuate con il software ClinProTools 2.2. Successivamente, l'identificazione dei peptidi urinari è stata eseguita con il Sistema Proxeon EasynLC (Proxeon Biosystems, Odense, Danimarca), associato al sistema MaXis hybrid UHR-QToF (Bruker Daltonics, Bremen, Germania).

L'effetto di telmisartan sul peptidoma urinario è stato valutato nelle seguenti condizioni:

1) comparando il picco di intensità nei profili proteici ottenuti dai campioni di urina dei soggetti randomizzati a telmisartan raccolti a livello del mare prima e dopo il trattamento; 2) confrontando le medie del profilo proteico dei campioni di urina raccolti a Namche (3.400m) ed al Campo Base Everest (5.400m) dei soggetti randomizzati a placebo o a telmisartan. Nessuna di queste analisi ha mostrato differenze attribuibili al trattamento con telmisartan nei picchi di intensità, né a livello del mare né in alta quota.

L'effetto sul peptidoma urinario dell'esposizione acuta all'ipossia ipobarica a quote alte ed altissime è stato valutato mediante comparazione delle medie dei profili proteici ottenuti dai campioni raccolti alle diverse quote. Questa analisi ha evidenziato un'alterazione del peptidoma urinario dopo esposizione ad ipossia ipobarica, in particolare si modificavano 6 tra i 90 segnali analizzati nel profilo urinario (m/z 1.165, 1.683, 1.953, 2.194, 4.298, 4.757) (Figura 1). L'intensità dei segnali a m/z 1.683 e 2.194 diminuisce in modo significativo nei soggetti acutamente esposti ad ipossia ipobarica a 3.400m, e la loro espressione si mantiene ridotta a 5.400m. I segnali m/z 4.298 e 4.757 mostrano un andamento differente; la loro intensità diminuisce in modo significativo a Namche, in esposizione acuta ad alta quota, ma ritorna a valori paragonabili al basale nei campioni raccolti a 5.400m. L'intensità del segnale a m/z 1.165 è simile nei campioni raccolti a livello del mare e a Namche, mentre aumenta significativamente alla quota più alta (5.400m). L'intensità del segnale m/z 1.953, invece, si riduce a Namche rispetto al livello del mare, mentre aumenta in modo significativo a 5.400m rispetto alle quote precedenti.

Allo scopo di identificare le molecole di interesse è stata eseguita una analisi LC-ESI MS/MS, che ha permesso di identificare il peptide con alterata

glycoprotein uromodulin. Interestingly, other 17 fragments of this protein were identified by the same approach with unaltered urinary levels.

In summary, our data indicate that, for these specific conditions and in the reported mass range, the urinary peptidome is not modulated by the administration of telmisartan, neither at the sea level nor at high and very high altitudes. On the other hand high altitude exposure induced significant changes in several elements of urinary peptidome, of different character: the ions at m/z 1683 and 2194 showed a persistent down-regulation in response to hypobaric hypoxia; the ions at m/z 4298, 4757 and 1953 only decreased during acute exposure to 3400m to return to baseline values after longer altitude exposure, with the latter ion showing a kind of rebound increase; finally ions at m/z 1165 remained initially stable at 3400m to increase subsequently (Figure 2). Such biphasic changes in the urinary peptides suggest their relationship with adaptation mechanisms active during prolonged stay at high altitude. The identification of endogenous peptides represents the most critical aspect of the peptidomic studies. In our work we identified one among the six above described ions of interest (m/z 1683) as a fragment of the human glycoprotein uromodulin. This protein, also known as Tamm-Horsfall protein (THP), is a glycosylphosphatidylinositol (GPI) anchored protein. Uromodulin has been widely investigated, but its biological role is not fully understood. This protein has been reported to interact with lymphoid cells and molecules of cell adhesion and signal transduction; moreover, it is involved in oxalate crystal formation and urinary osmoregulation in the thick ascending limb of Henle's loop. Mutations of the uromodulin gene

espressione urinaria, identificato con Mr 1679.9, frammento Val592IDQSRVLNLGPITArg606 della glicoproteina umana "uromodulina". È interessante notare che altri 17 frammenti di questa proteina sono stati identificati con la stessa metodica, senza osservare alterazioni nelle concentrazioni urinarie.

In conclusione, i nostri dati indicano che, in queste specifiche condizioni e nell'intervallo di massa considerato, il peptidoma urinario non viene modificato dall'assunzione di telmisartan, né a livello del mare, né in alta o altissima quota. D'altra parte, l'esposizione ad alta quota induce alterazioni significative a carico di alcuni elementi del peptidoma urinario con comportamenti differenti: gli ioni a m/z 1.683 e 2.194 mostrano una persistente down-regulation in risposta all'ipossia ipobarica; gli ioni a m/z 4.298, 4.757 e 1.953 diminuiscono solo in esposizione acuta a 3.400m e ritornano ai livelli basali dopo esposizione prolungata, con l'ultimo di essi che mostra una specie di incremento rebound; infine, gli ioni a m/z 1.165 rimangono inizialmente stabili a 3.400m per aumentare solo in seguito ad esposizione prolungata (Figura 2). Queste alterazioni bifasiche nei peptidi urinari suggeriscono una qualche relazione con i meccanismi di adattamento che si verificano durante esposizione prolungata da alta quota.

L'identificazione di peptidi endogeni rappresenta il punto più critico degli studi sui peptidomi. Nel nostro lavoro abbiamo identificato numerosi peptidi endogeni, ma solo uno tra i sei ioni descritti in precedenza (m/z 1.683) corrisponde ad un frammento della glicoproteina umana uromodulina. Questa proteina, nota anche come proteina di Tamm-Horsfall (THP), è legata ad un gruppo glicosilfosfatidilinositolico.

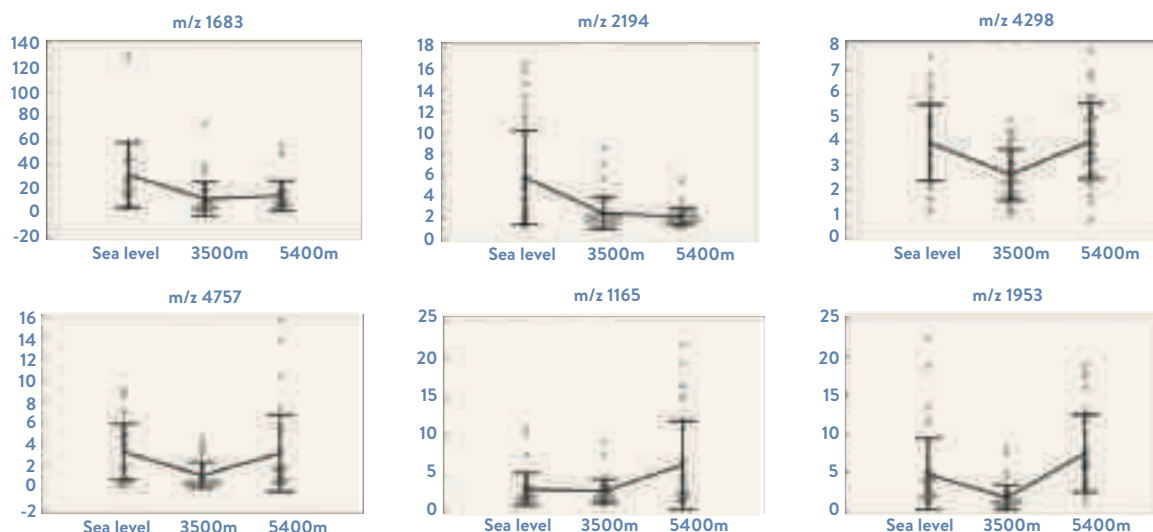


Figure 2

Signals differentially modulated by the exposure to hypobaric hypoxia: distribution of the intensity of the signals in the samples of each class, based on the one-way ANOVA test. (modified from: Mainini V, et al., *Mol Biosyst*, 2012 ⁸).

Segnali modulati diversamente dall'esposizione a ipossia ipobarica: distribuzione dell'intensità dei segnali nei campioni di ogni classe, basata sul test ANOVA a una coda. (modificata da: Mainini V, et al., *Mol Biosyst*, 2012 ⁸).



ABOVE

Collection and labeling of blood samples.

SOPRA

Raccolta e classificazione dei campioni di sangue.

(UMOD) have been demonstrated as associated with a number of pathologies characterized by an altered urinary osmoregulation.^{5,6} Finally, uromodulin may also be involved in blood pressure regulation and pathogenesis of hypertension.⁷

Database search based on the MS/MS spectrum of the ion at m/z 2194 returned a possible peptide identification with a score above the homology threshold. This peptide could be the Glu354AIPMSIPPEVKFNKPFVPh372 fragment of the α 1-antitrypsin (A1AT), an abundant plasma protein that is active against many proteases. Increases in serum A1AT level have been previously reported in acute phase response and in diseases associated with an inflammatory component, such as vasculitis and infections. Some Authors suggested that the prevention of A1AT inactivation could lead to a protective effect during oxidative stress. The oxidative stress injury induced by the exposure to high altitude hypoxia is probably due to decreased anti-oxidative capacity. Transcriptional regulation of gene expression induced by hypoxia is one of the mechanisms by which humans can adapt to low oxygen concentration. In conclusion, HIGHCARE-Himalaya provided for the first time evidence on proteomic profile of biological fluids collected under hypobaric hypoxia conditions.

L'uromodulina è stata ampiamente studiata, ma il suo ruolo biologico non è ancora del tutto chiaro. È noto che questa proteina interagisce con le cellule linfoidi e con le molecole di adesione e trasduzione cellulare, ed è inoltre coinvolta nella formazione di cristalli di ossalato e nell'osmoregolazione urinaria nella parte ascendente spessa dell'ansa di Henle. Mutazioni nel gene dell'uromodulina (UMOD) sono associate a patologie caratterizzate da un'alterata osmoregolazione urinaria.^{5,6} Infine, l'uromodulina può essere coinvolta nella regolazione della pressione arteriosa e nella patogenesi dell'ipertensione.⁷

La ricerca nel database, basato sullo spettro MS/MS, dello ione a m/z 2194, ha consentito una possibile identificazione del peptide, con uno score al di sopra della soglia di omologia. Questo peptide potrebbe essere il frammento Glu354AIPMSIPPEVKFNKPFVPh372 dell'antitripsina- α 1 (A1AT), una proteina abbondante nel sangue che agisce contro molte proteasi. L'aumento nei livelli sierici di A1AT è stato precedentemente identificato nella risposta di fase acuta e in patologie associate a una componente infiammatoria, come vasculiti e infezioni. Alcuni Autori hanno inoltre suggerito che la prevenzione dell'inattivazione di A1AT possa esercitare un effetto protettivo durante lo stress ossidativo. Il danno ossidativo indotto dall'esposizione all'ipossia da alta quota è quindi probabilmente dovuto alla riduzione della capacità antiossidante, e la regolazione trascrizionale dell'espressione genica indotta dall'ipossia è uno dei meccanismi coinvolti nell'adattamento del corpo umano alla ridotta concentrazione di ossigeno. Lo studio HIGHCARE-Himalaya rappresenta il primo studio incentrato sul profilo proteomico di liquidi biologici raccolti in condizioni di ipossia ipobarica.

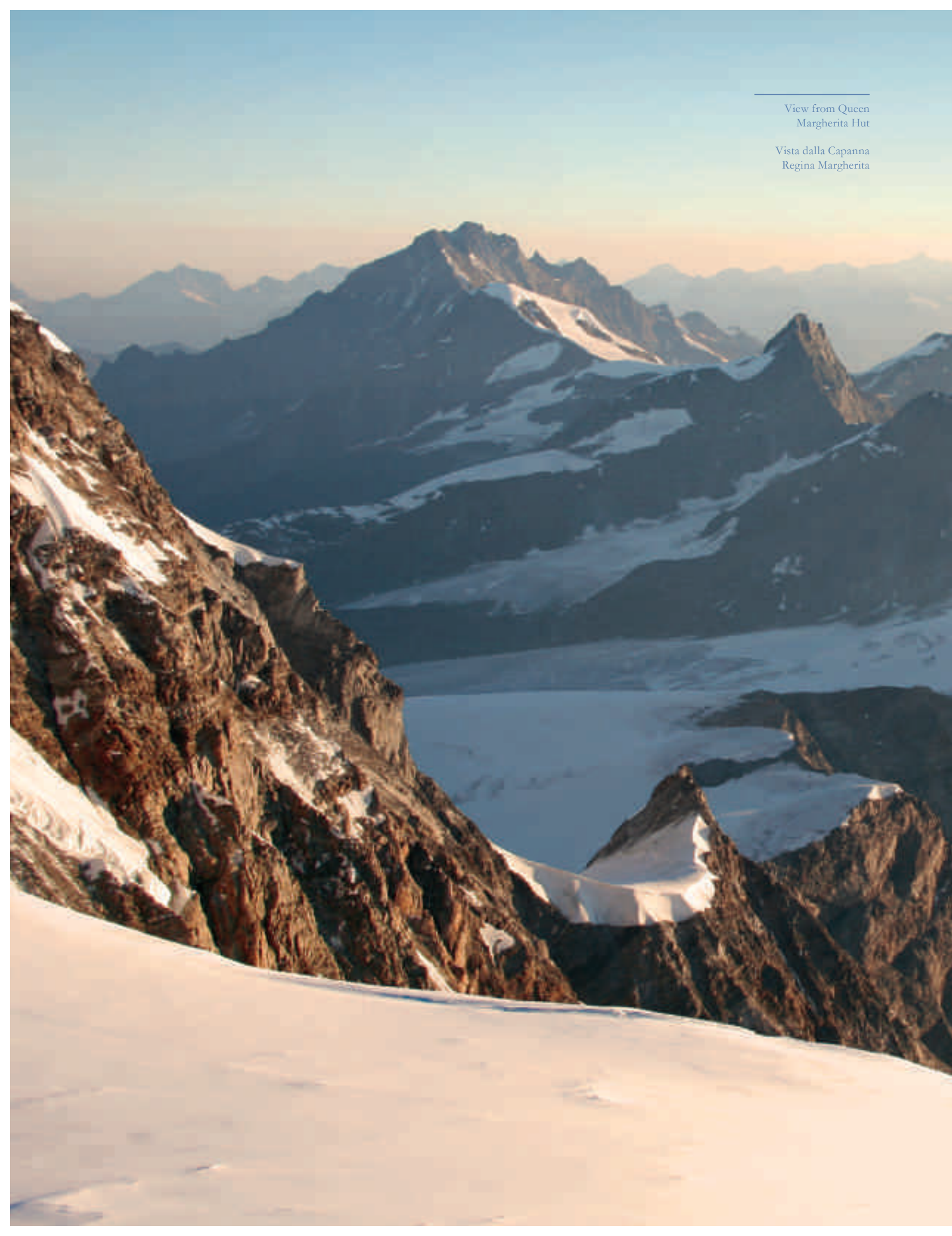
1. A. Viganò, et al., Proteins modulation in human skeletal muscle in the early phase of adaptation to hypobaric hypoxia, *Proteomics*, 2008, 8(22), 4668–4679. 2. F. Magni, et al., Biomarkers discovery by peptide and protein profiling in biological fluids based on functionalized magnetic beads purification and mass spectrometry, *Blood Transfus.*, 2010, 8(Suppl 3), s92–s97. 3. N. Bosso, et al., Human urine biomarkers of renal cell carcinoma evaluated by ClinProt, *Proteomics: Clin. Appl.*, 2008, 2(7–8), 1036–1046. 4. C. Chinello, et al., Serum biomarkers of renal cell carcinoma assessed using a protein profiling approach based on a ClinProt technique, *Urology*, 2010, 75(4), 842–847. 5. T. C. Hart, et al., Mutations of the UMOD gene are responsible for medullary cystic kidney disease 2 and familial juvenile hyperuricemic nephropathy, *J. Med. Genet.*, 2002, 39(12), 882–892. 6. J. J. Turner, et al., UROMODULIN mutations cause familial juvenile hyperuricemic nephropathy, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2003, 88(3), 1398–1401. 7. Padmanabhan S, Graham L, Ferreri NR, Graham D, McBride M, Dominiczak AF. Uromodulin, an Emerging Novel Pathway for Blood Pressure Regulation and Hypertension. *Hypertension*. 2014 Aug 4.

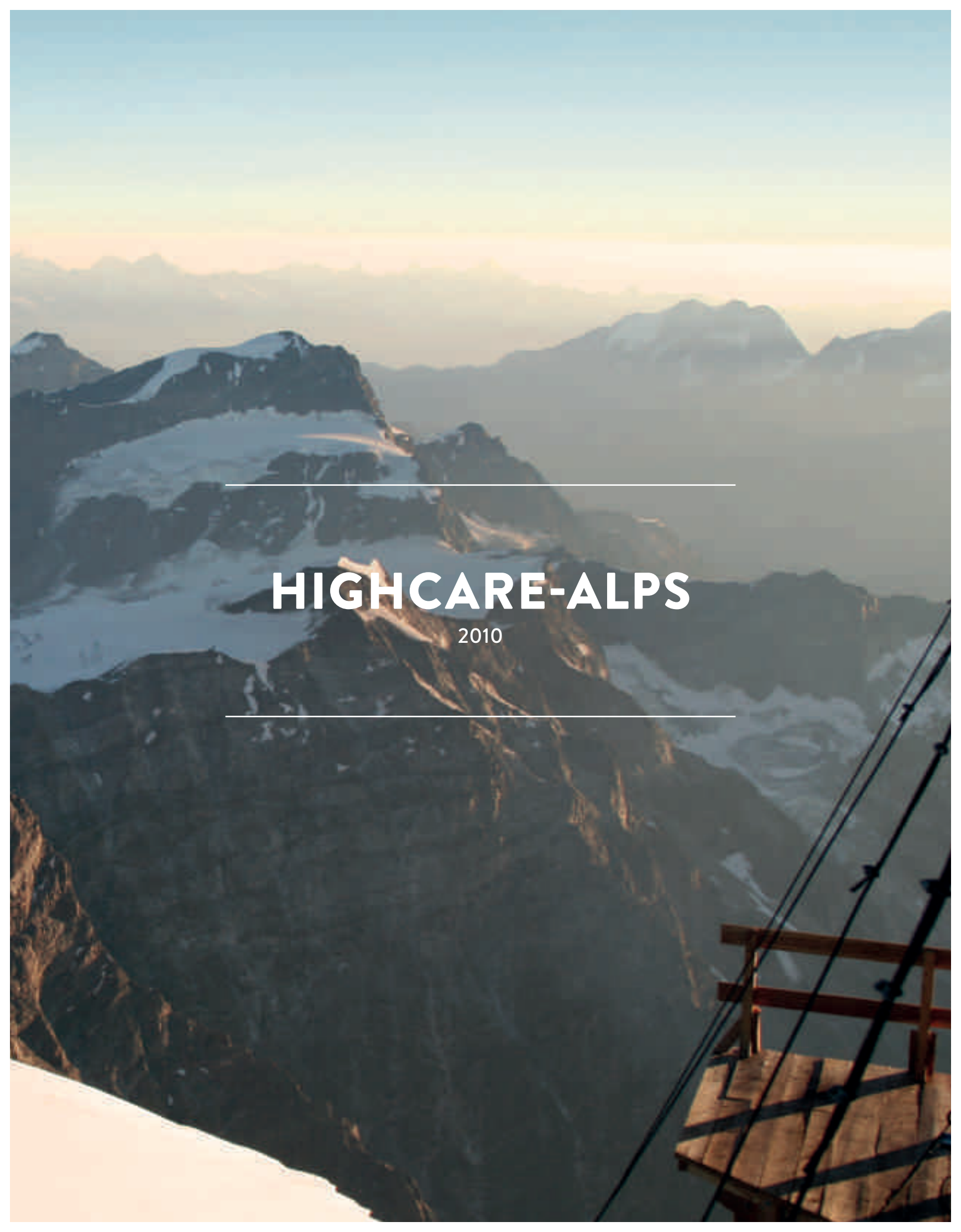
HIGHCARE REFERENCES - BIBLIOGRAFIA HIGHCARE:

8. Mainini V, Gianazza E, Chinello C, Bilo G, Revera M, Giuliano A, Caldara G, Lombardi C, Piperno A, Magni F, Parati G. Modulation of urinary peptidome in humans exposed to high altitude hypoxia. *Mol Biosyst.* 2012 Apr;8(4):959-66.

View from Queen
Margherita Hut

Vista dalla Capanna
Regina Margherita





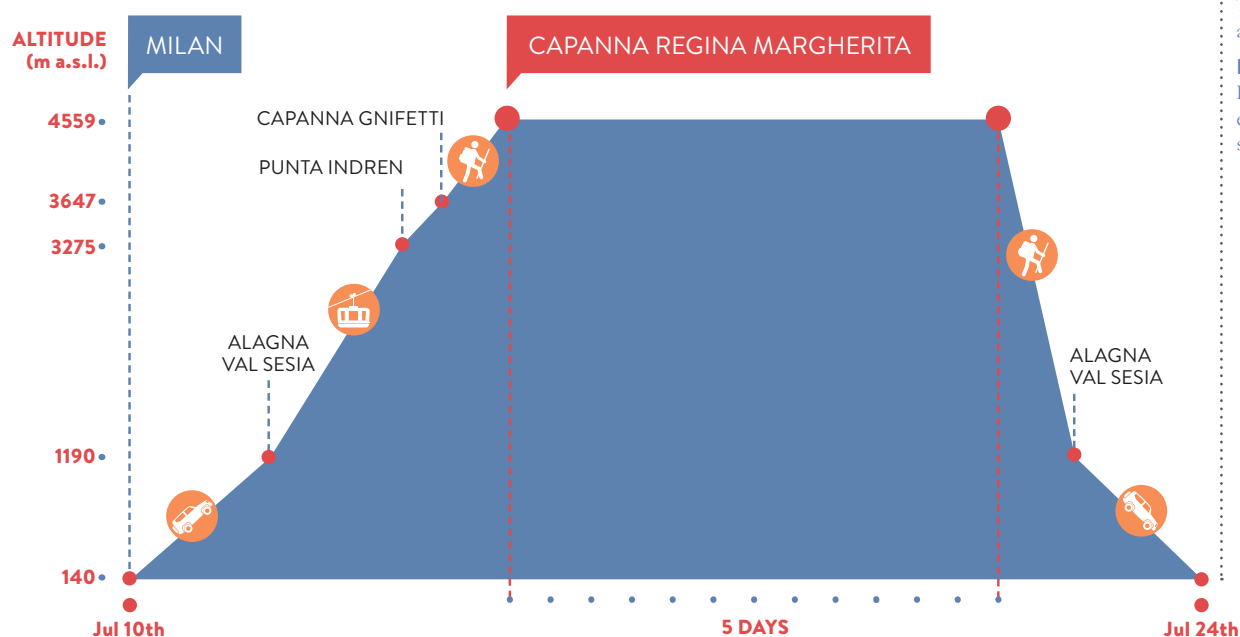
HIGHCARE-ALPS

2010

HIGHCARE-ALPS 2010

NUMBERS, FACTS AND IMAGES

HIGHCARE-ALPI 2010, Numeri, Dati e Immagini della spedizione



THE EXPEDITION

Timing, altimetry and sites.

LA SPEDIZIONE

Date, altimetria e luoghi della spedizione.

THE ROUTE - Il percorso

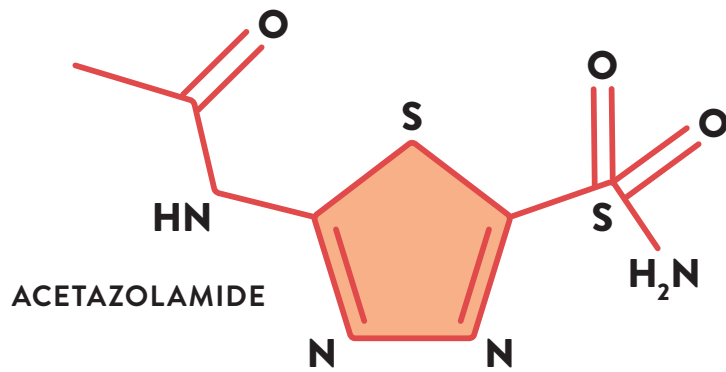


EXPEDITION DATA - Numeri della spedizione

- 4** required helicopter rides for scientific equipment
- 12** days: permanence of researchers at the Capanna Margherita
- 49** participants
- 320** pills of acetazolamide used
- 4438** meters – altitude difference covered within 24 hours
- 2.5h** trekking time from Gnifetti hut to Capanna Regina Margherita for the fastest group
- 7h** trekking time from Gnifetti hut to Capanna Regina Margherita for the slowest group



WORLD LOCALIZATION
Localizzazione

STUDY DRUG - Farmaco studiato**KEYWORDS** - Parole chiave

PERIODIC BREATHING
CHEMOREFLEX
ACETAZOLAMIDE
BLOOD PRESSURE
ARTERIAL PROPERTIES

PARTICIPANTS
partecipanti

21
MEN

23
WOMEN

24
Y.O.

TO

59
Y.O.

METHODS - Metodi

RANDOMIZED TRIAL



**ACETAZOLAMIDE
VS. PLACEBO**



44 HEALTHY VOLUNTEERS



**ALTITUDE EXPOSURE:
ACUTE**



**ALTITUDE REACHED:
4559 M**

ASSESSMENTS - Valutazioni**CARDIOVASCULAR:**

Conventional BP measurement,
24 hours ambulatory blood pressure
monitoring, echocardiography,
arterial properties evaluation

**HAEMATOLOGICAL:**

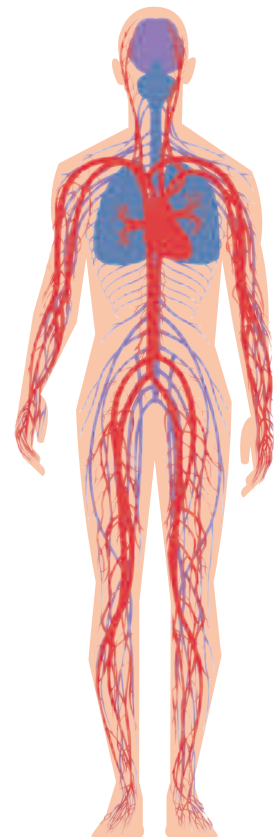
Blood rheology

**NEURAL:**

Neuroreactivity tests

**RESPIRATORY:**

Sleep study by cardiorespiratory
polisomnography, DLCO, chemoreflex
assessment, arterial gasses analysis



SETTING, RATIONALE AND GENERAL AIMS

SCENARIO, RAZIONALE E OBIETTIVI GENERALI



A huge amount of data on cardiovascular and respiratory physiology during high altitude exposure and physiological adaptation mechanisms were obtained during 2008 HIGHCARE-Himalaya expedition. Moreover, we confirmed the usefulness of studying healthy subjects exposed to hypobaric hypoxia as a model for chronic hypoxic pathologies. On the other hand, many new questions arose during data analysis, prompting new high altitude expeditions.

During HIGHCARE-Himalaya 2008 we evaluated the effects of very high altitude exposure, slowly and laboriously reached by trekking. But many people, both for recreational and professional purposes, reach very high altitudes by a quick and more or less effortless ascent, without previous acclimatization and for short sojourns. Therefore in HIGHCARE-Alps 2010 we decided to focus on this particular modality of high altitude exposure.

La spedizione HIGHCARE-Himalaya del 2008 ha fornito molte risposte sulle alterazioni della fisiologia cardiovascolare e respiratoria in alta quota, sui fenomeni di adattamento e su alcuni dei meccanismi coinvolti in questi processi. Inoltre, lo studio di soggetti sani in condizioni di ipossia ipobarica si è confermato come un fattibile modello traslabile per lo studio di patologie condizionanti l'ipossiemia cronica. Di contro, l'analisi critica dei dati raccolti ha fornito lo spunto per numerosi ulteriori interrogativi, lasciando aperta la strada a nuove spedizioni di ricerca in alta quota.

A fronte dei dati raccolti nel 2008 in esposizione a quote molto elevate raggiunte via trekking con ascesa graduale, è emersa la necessità di valutare in modo più intensivo gli effetti di una esposizione molto rapida a quote molto elevate, condizione comune a numerose persone che, per motivi di svago o per lavoro, si espongono in

ABOVE

Ascent from Regina Margherita Hut to Zumstein peak (4563m).

SOPRA

Ascesa dalla Capanna Regina Margherita alla cima Zumstein (4.563m).

Acetazolamide stands among the drugs used to prevent and counteract acute mountain sickness. It is a diuretic from the carbonic anhydrase inhibitors class, which acts in the proximal glomerular tubule, forcing the kidney to excrete bicarbonate (urine alkalosis). Up to now, despite its wide use during high altitude exposure, the

modo acuto all'alta quota, senza un precedente periodo di acclimatazione e per brevi periodi.

Tra i farmaci cardine nella prevenzione e nel trattamento del male di montagna rientra l'acetazolamide, farmaco diuretico, inibitore dell'enzima anidasi carbonica, che agisce a livello del tubulo contorto prossimale del glomerulo determinando l'eliminazione attraverso il rene degli ioni bicarbonato (alcalinizzazione delle urine). Ad oggi, sebbene di comune utilizzo in alta quota, non sono ben noti i suoi effetti sulle complesse interazioni cardiorespiratorie. L'obiettivo principale del progetto HIGHCARE ALPS 2010 è stato quello di valutare: 1) la prevalenza ed i meccanismi patogenetici del respiro periodico durante il sonno in soggetti sani esposti ad alta quota; 2) le differenze sesso-correlate nello sviluppo dei disturbi del respiro nel sonno e durante esercizio in condizione di ipossia ipobarica; 3) gli effetti acuti e cronici di un trattamento con acetazolamide.

DISEGNO DELLO STUDIO

Il progetto HIGHCARE ALPS 2010 è uno studio randomizzato, in doppio cieco, a gruppi paralleli, controllato con placebo, condotto al livello del mare e durante esposizione acuta ad alta quota (Capanna Regina Margherita, Monte Rosa, 4.559m). Nello studio sono stati arruolati 44 soggetti (21 maschi, età $36,8 \pm 8,9$) secondo i criteri di inclusione ed esclusione descritti nel Box "Criteri di selezione per lo studio HIGHCARE-Alps 2010". Tutti i soggetti inclusi nello studio sono stati sottoposti preventivamente ad uno screening cardiovascolare e ad un test da sforzo al cicloergometro per escludere condizioni sconosciute di malattia. Lo studio è stato approvato dal comitato etico dell'Istituto Auxologico Italiano; tutti i partecipanti hanno firmato il consenso informato. Lo studio è stato registrato nel Registro Europeo dei Trial Clinici (www.clinicaltrialsregister.eu) con il numero EudraCT 2010-019986-27. I partecipanti allo studio sono stati randomizzati in doppio cieco a ricevere placebo oppure acetazolamide, in capsule identiche per i due gruppi, che venivano assunte due volte al giorno (per gruppo in trattamento attivo: capsule contenenti acetazolamide 250mg). Dopo l'esecuzione degli esami basali, la terapia è stata assunta per tre giorni consecutivi a livello del mare per poter eseguire i test

SELECTION CRITERIA OF HIGHCARE-ALPS 2010 STUDY

Criteri di selezione per lo studio
HIGHCARE- Alpi 2010

INCLUSION CRITERIA

- ◇ Male and female
- ◇ Age between 20 and 65 years
- ◇ Good general health conditions
- ◇ Lowlanders
- ◇ Absence of known contraindications to acetazolamide administration
- ◇ Written informed consent

EXCLUSION CRITERIA

- ◇ Chronic cardiovascular pharmacological treatment, treatment with β -agonists and other drugs the administration of which could be unsafe during high altitude exposure or which could interfere with the evaluated pathophysiological mechanisms
- ◇ Pregnancy
- ◇ Repeated exposures to altitudes above 2000m asl during the last 8 months before expedition
- ◇ History of previous severe acute mountain sickness (in particular, cerebral or pulmonary edema)
- ◇ Preexisting significant chronic pathologies (in particular cardiovascular, infectious and renal diseases and conditions which might reduce functional capacity)
- ◇ Preexisting relevant medical conditions (in particular pneumothorax, severe thoracic trauma, major surgery, etc.)

CRITERI DI INCLUSIONE

- ◇ Maschi e femmine
- ◇ Età compresa tra 20 e 65 anni
- ◇ Buone condizioni di salute generale
- ◇ Residenti a bassa quota
- ◇ Assenza di controindicazioni all'assunzione di acetazolamide
- ◇ Consenso informato scritto

CRITERI DI ESCLUSIONE

- ◇ Terapia cronica con farmaci cardiovascolari, β -agonisti ed altri farmaci che possono essere dannosi in condizioni di alta quota o che possono interferire con i meccanismi fisiologici studiati
- ◇ Gravidanza
- ◇ Esposizioni ripetute a quote >2.000 m slm negli 8 mesi precedenti la spedizione
- ◇ Storia di forme gravi di "male acuto di montagna" (soprattutto edema cerebrale o polmonare)
- ◇ Importanti malattie croniche (in particolare malattie cardiovascolari, malattie renali, malattie che possono ridurre la capacità funzionale, malattie infettive)
- ◇ Importanti malattie pregresse (in particolare pneumotorace, traumi toracici importanti, interventi chirurgici maggiori, etc.).

effects of acetazolamide on cardiorespiratory systems are not completely understood. Main objectives of HIGHCARE-Alps 2010 were the evaluation of 1) the pathogenetic mechanisms of periodic breathing in healthy subjects acutely exposed to high altitude, 2) gender-related patterns of sleep disturbances in such conditions, 3) gender-related different response to physical exercise during hypobaric hypoxia exposure, 4) acute and chronic effects of acetazolamide administration in such condition.

STUDY PLAN

HIGHCARE-Alps 2010 was a randomized, double blind, parallel groups, placebo controlled study. Subjects were evaluated at sea level and during acute high altitude exposure (Capanna Regina Margherita, Monte Rosa, 4559m). 44 subjects were enrolled, accordingly to inclusion/exclusion criteria shown in the Box "HIGHCARE Alps 2010 subject selection criteria". All the study participants underwent a cardiovascular examination and cardiopulmonary testing in order to identify unrecognized preexisting cardiovascular conditions. Study protocol was approved by Ethics Committee of Istituto Auxologico Italiano; all participants gave informed consent to participate in the study. The study was registered in the European Register for Clinical Trial (www.clinicaltrialsregister.eu) with the EudraCT number 2010-019986-27. Subjects were randomized in double-blind to placebo versus acetazolamide administration. In both groups pills, visually identical (placebo versus acetazolamide 250mg), were administered twice a day. Baseline examinations were performed before randomization and after three days of treatment. Drug administration was then stopped, to be resumed the day preceding the ascent to Capanna Regina Margherita and continued up to the return to sea level. Examinations were performed during high altitude sojourn and immediately after return to sea level. After the last tests session, treatment was stopped.

Ascent from Milan (121m) to the high altitude laboratory (Capanna Regina Margherita - Monte Rosa, 4559m) took less than 28 hours. Route to Capanna Regina Margherita started from Alagna Valsesia, then Punta Indren (3275 m) was reached by cable car. After a one-night stay in Gnifetti Refuge (3647m), subjects trekked up to the final destination. In order to minimize possible interference

basali in trattamento; successivamente l'assunzione è stata sospesa e ripresa il giorno della partenza per poi concludersi la mattina del rientro, al termine di tutti i test.

La salita da Milano (121m) al laboratorio in alta quota (Capanna Regina Margherita - Monte Rosa, 4.559m) è stata completata in meno di 28 ore. La Capanna Regina Margherita è stata raggiunta da Alagna Valsesia (1.130m) tramite funivia fino a Punta Indren (3.275m) e poi a piedi dopo una notte di permanenza al Rifugio Gnifetti (3.647m).

Per minimizzare interferenze da parte dell'attività fisica richiesta per raggiungere la quota di destinazione nei confronti dei dati raccolti, i primi test sono iniziati almeno 4 ore dopo l'arrivo e sono stati proseguiti durante i 4 giorni di permanenza al rifugio in assenza di attività fisica. I dati venivano sempre ottenuti in ambienti mantenuti ad una temperatura

BELOW

Lyskamm ridge.

SOTTO

La cresta del Lyskamm.





ABOVE

Some of the 2010 expedition participants in front of Regina Margherita Hut.

SOPRA

Alcuni dei partecipanti alla spedizione 2010 davanti al Rifugio Capanna Regina Margherita.

from the physical effort needed to reach Capanna Regina Margherita, tests started at least 4 hours after arrival and were carried on over 4 days of mild physical activity. Data were collected with a room temperature of 19-20°C. Each day all the subjects filled in a standardized questionnaire for acute mountain sickness evaluation (Lake Louise Score).

AS DURING THE PREVIOUS HIMALAYAN EXPEDITION, A NUMBER OF PHYSIOLOGICAL VARIABLES WERE COLLECTED:

- ◇ Vital signs and Lake Louise Score
- ◇ Sleep study by cardiorespiratory polysomnography
- ◇ Lung diffusion by DLCO and chemoreflex assessment
- ◇ Complete blood pressure assessment (conventional BP measurement and 24 hours ambulatory monitoring)
- ◇ Echocardiography
- ◇ Arterial properties evaluation
- ◇ Blood rheology and arterial gas analysis
- ◇ Neuropsychological evaluation

stabile di 19-20°C. Ogni giorno i partecipanti compilavano un questionario standardizzato per la valutazione clinica di AMS (Lake Louise Score).

COSÌ COME PER IL PROGETTO PRECEDENTE IN HIMALAYA, SONO STATI INOLTRE RACCOLTI NUMEROSI DATI DI INTERESSE FISIOLOGICO, IN PARTICOLARE SULLA FUNZIONALITÀ CARDIOVASCOLARE:

- ◇ Parametri vitali e Lake Louise Score
- ◇ Studio del sonno mediante poligrafia cardiorespiratoria
- ◇ Diffusione polmonare mediante DLCO e studio del chemoriflesso
- ◇ Analisi completa del profilo pressorio (misurazione convenzionale di PA e monitoraggio ambulatorio della PA nelle 24 ore)
- ◇ EcocolorDopplergrafia cardiaca
- ◇ Valutazione delle proprietà delle arterie
- ◇ Parametri ematochimici (compresa emogasanalisi arteriosa)
- ◇ Valutazione neuropsicologica

GENDER AND ACETAZOLAMIDE EFFECTS ON CHEMOREFLEX AND PERIODIC BREATHING DURING SLEEP AT ALTITUDE

EFFETTI DI ACETAZOLAMIDE SUL CHEMORIFLESSO E SUL RESPIRO PERIODICO DURANTE IL SONNO AD ALTA QUOTA IN MASCHI E FEMMINE

Acute high altitude exposure induces periodic breathing during sleep (PBS) in healthy subjects.^{1,2} Several mechanisms, including an increased chemoreflex sensitivity, may be involved in the genesis of PBS in this condition and in sleep-related disorders associated to other diseases (i.e. heart failure).^{3,4} In HIGHCARE-Himalaya Study on Mount Everest, we have shown that healthy males exposed to high altitude are characterized by a higher frequency and severity of PBS than females.² This finding is in line with the gender-related difference in the epidemiology of sleep-related breathing disorders in patients with chronic heart failure.⁵ Acetazolamide has been shown to reduce the burden of PBS in different conditions, including heart failure, idiopathic central sleep apnea and high altitude exposure, but while its efficacy has been extensively proven in males, its effect on central sleep apneas in female subjects has been reported very rarely.^{6,7} It is currently unknown whether acetazolamide differently influences the respiratory control in relation to gender, and whether this might translate into different effects on PBS at high altitude in males and in females. Principal aim of HIGHCARE-Alps 2010 was to investigate some yet poorly explored aspects of the pathophysiology of PBS under exposure to hypobaric hypoxia at high altitude, by focusing on gender-related differences in chemoreflex sensitivity as well as in the effects of acetazolamide on respiratory control at altitude.

METHODS

Resting ventilation

Ventilatory parameters were recorded in all subjects enrolled in this study at rest on three occasions: 1) at sea level, off-treatment; 2) at sea level on the third day of treatment; 3) on the third day of stay at high altitude, on randomized treatment. As a composite measure of acetazolamide effect on ventilatory control, we calculated the ratio between the increase in minute ventilation

È noto come l'esposizione acuta ad alta quota induca respiro periodico durante il sonno ("periodic breathing during sleep", PBS) in soggetti sani.^{1,2} Numerosi meccanismi, tra i quali l'aumento della sensibilità del chemoriflesso, possono essere correlati all'origine del PBS, sia durante esposizione ad alta quota che in pazienti affetti da patologie che si associano a disturbi del respiro durante il sonno (per esempio, l'insufficienza cardiaca).^{3,4} Nella nostra precedente spedizione sul monte Everest abbiamo dimostrato, durante esposizione all'alta quota, una frequenza di PBS superiore nei maschi sani rispetto alle femmine.² Questo risultato è in linea con i dati epidemiologici di maggiore prevalenza dei disturbi del respiro legati al sonno in pazienti di sesso maschile con insufficienza cardiaca cronica.⁵ È nota la capacità dell'acetazolamide nel ridurre l'incidenza di PBS in numerose condizioni patologiche, tra le quali insufficienza cardiaca, apnee centrali idiopatiche, e anche in caso di esposizione ad alta quota. Tuttavia, nonostante la sua efficacia sia stata ampiamente provata nei maschi, ci sono scarsi dati relativi al suo utilizzo nella gestione delle apnee centrali in soggetti di sesso femminile.^{6,7} Attualmente non è noto se ci sia una differenza legata al genere nell'effetto dell'acetazolamide sul controllo del respiro, né se questo farmaco possa agire diversamente in maschi e femmine in relazione al PBS. Lo scopo di questo lavoro è stato quello di esplorare alcuni aspetti ancora poco conosciuti della fisiopatologia del PBS durante esposizione ad ipossia ipobarica ad alta quota, concentrandosi sulle differenze legate al genere nella sensibilità del chemoriflesso e nell'effetto dell'acetazolamide sul controllo del respiro in alta quota.

METODI

Ventilazione a riposo

I parametri ventilatori a riposo sono stati registrati in tutti i soggetti arruolati in questo studio in tre occasioni: 1) al livello del mare, in assenza di trattamento (SL off-treatment);

and the reduction in end-tidal partial pressure of CO₂ (PetCO₂) as an effect of treatment, both measured at sea level and corrected for the changes occurring in the placebo group.

Chemoreflex tests

Chemoreflex testing, i.e. the measurement of the ventilatory responses to isocapnic hypoxia (i.e. a stimulus for peripheral chemoreceptors) and to hyperoxic hypercapnia (i.e. a stimulus for central chemoreceptors) was performed at sea level, both off- and on-treatment. Hypoxic Ventilatory Response (HVR) was defined as the ratio between the maximum ventilation and minimum blood oxygen saturation (SpO₂) attained during the hypoxic stimulus. Hypercapnic Ventilatory Response (HCVR) during hypercapnic stimulus was obtained as the slope of the best-fit line that related ventilation to PetCO₂, calculated by least-square linear regression analysis.

Cardio-respiratory sleep studies

Cardio-respiratory sleep studies were performed by a standard device (Embletta, Embla Broomfield, USA) in two steps: 1) at sea level, off-treatment and 2) during the first night at high altitude, under randomized treatment. Scoring of sleep-related disordered breathing was calculated in accordance with current guidelines.⁸

2) a livello del mare il terzo giorno di trattamento (SL in-treatment); 3) il terzo giorno di permanenza in alta quota durante assunzione di trattamento secondo randomizzazione. Come misura composita dell'effetto di acetazolamide sul controllo ventilatorio, abbiamo considerato come effetto del trattamento il rapporto a livello del mare tra l'aumento della ventilazione minuto e la riduzione nella pressione parziale di CO₂ a fine espirazione (PetCO₂), entrambe corrette per le modificazioni che si sono sviluppate nel gruppo placebo.

Test del chemoriflesso

Il test del chemoriflesso, cioè la misurazione della risposta ventilatoria all'ipossia isocapnica (intesa come uno stimolo diretto verso i chemocettori periferici) e all'iperossia ipercapnica (intesa come uno stimolo diretto verso i chemocettori centrali), è stato eseguito a livello del mare sia off- che on-treatment. La risposta ventilatoria ipossica ("Hypoxic Ventilatory Response", HVR) è stata definita come il rapporto tra la massima ventilazione e la minima saturazione ematica dell'ossigeno (SpO₂) ottenuti durante lo stimolo ipossico. La risposta ventilatoria ipercapnica ("Hypercapnic Ventilatory Response", HCVR) durante stimolo ipercapnico è stata ottenuta dalla pendenza della migliore linea che metteva in correlazione la ventilazione con la PetCO₂, calcolata mediante analisi di regressione lineare (least square linear regression analysis).

Studio cardiorespiratorio del sonno

Lo studio cardiorespiratorio del sonno è stato eseguito utilizzando uno strumento standard (Embletta, Embla Bloomfield, USA) in due momenti dello studio: 1) a SL off-treatment; 2) durante la prima notte ad alta quota, durante assunzione del trattamento secondo randomizzazione. Il punteggio per la quantificazione dei disturbi del respiro durante il sonno è stato calcolato in accordo con le linee guida attuali.⁸

RISULTATI

Rispetto ai 44 soggetti arruolati, la raccolta dati è stata completata in 20 soggetti che assumevano acetazolamide (10 femmine) e in 21 soggetti del braccio placebo (10 femmine). Al basale non sono state riscontrate differenze significative nelle caratteristiche demografiche e ventilatorie tra i gruppi.

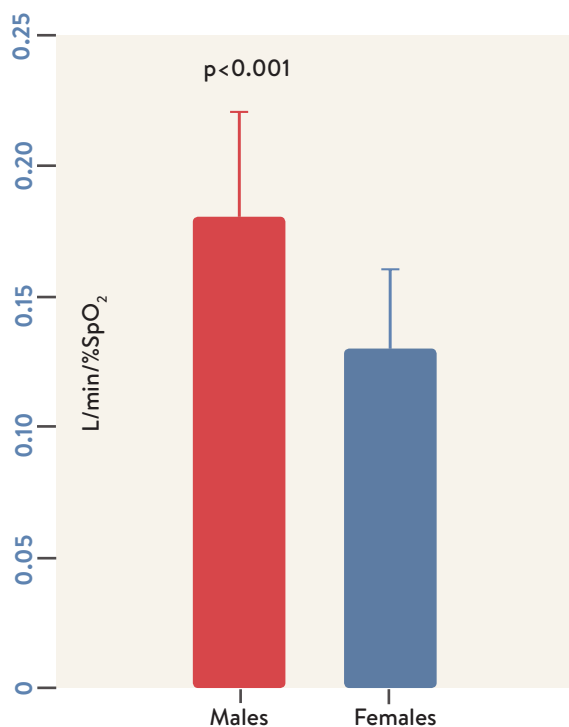
RIGHT

A volunteer wearing "Magic Vest" and "Embletta" devices for cardiopulmonary monitoring.

DESTRA

Partecipante alla spedizione strumentato con la "Magic Vest" e l'"Embletta" per il monitoraggio dei parametri cardiorespiratori.





RESULTS

Of the 44 enrolled subjects complete data were obtained in 20 subjects on acetazolamide (10 females) and in 21 on placebo (10 females). At baseline there were no significant differences in demographics and in ventilatory characteristics between groups.

Resting ventilation

Males had slightly higher ventilation than females at SL off-treatment, but this difference was no longer evident after correction for body height. Acetazolamide did not significantly increase minute ventilation corrected for body height at SL on-treatment compared to placebo. The net effect of acetazolamide on minute ventilation, after correction for the changes occurred in the placebo group, was an increase of 0.9 L/min. Mean SpO₂ at SL (both off- and on-treatment) was not different among genders and study groups. At SL off-treatment, PetCO₂ was not different between males and females.

At SL on-treatment, acetazolamide reduced PetCO₂ compared to placebo. The net effect of acetazolamide on PetCO₂, after correction for the changes occurring in the placebo group, was a reduction of 4.2 mmHg. At high altitude, resting ventilation was higher in males than in females, with no differences between acetazolamide and placebo. After correction for

Ventilazione a riposo

A SL off-treatment i soggetti di sesso maschile hanno mostrato una ventilazione leggermente superiore delle femmine, non più rilevabile dopo correzione per l'altezza corporea.

A SL on-treatment la ventilazione minuto dei soggetti in acetazolamide, corretta per l'altezza corporea, non era significativamente maggiore di quella dei soggetti del gruppo placebo. L'effetto netto della somministrazione di acetazolamide sulla ventilazione, dopo la correzione per le modificazioni che si sono sviluppate nel gruppo placebo, è stato un aumento di 0,9 L/min. La SpO₂ media a SL (sia off-treatment che on-treatment) non è risultata differente in base al genere né in base al gruppo di randomizzazione. La PetCO₂ a SL off-treatment non era differente tra maschi e femmine.

A SL on-treatment l'acetazolamide ha ridotto la PetCO₂ in confronto al gruppo placebo. Quindi, l'effetto netto di acetazolamide sulla PetCO₂, dopo correzione per le modifiche verificatesi nel gruppo placebo, è stata una riduzione di 4,2 mmHg. In alta quota la ventilazione a riposo era maggiore nei maschi che nelle femmine, in assenza di differenze tra gruppi di trattamento. Dopo correzione per l'altezza corporea, la ventilazione minuto in alta quota è risultata simile tra i generi e nei diversi gruppi di trattamento.

L'aumento della ventilazione da SL on-treatment all'alta quota (p < 0,001) era in media 4,6 ± 2,1 L/min, indipendentemente dal genere e dal trattamento. La PetCO₂ in alta quota era più bassa nel gruppo in acetazolamide che nel gruppo placebo, senza che siano state evidenziate differenze legate al genere. La riduzione nella PetCO₂ osservata tra SL on-treatment e alta quota (p < 0,001) era più marcata nel gruppo che assumeva acetazolamide rispetto al gruppo placebo (9,2 ± 3,2 vs 7,7 ± 3,3 mmHg, p = 0,041). La riduzione in SpO₂ da SL on-treatment all'alta quota (p < 0,001) era più marcata nel gruppo placebo che nel gruppo in acetazolamide (20,5 ± 6,8 vs 12,6 ± 3,7%, p < 0,01), senza differenze legate al genere.

Test del chemoriflesso

Test dell'ipossia isocapnica

Durante i test, la saturazione minima dell'ossigeno a SL (sia off- che on-treatment)

Figure 1

Hypoxic Ventilatory Response (HVR). HVR values for males and females at SL off-treatment are shown. (modified from: Caravita S, et al., *Chest* 2014⁹).

Risposta ventilatoria all'ipossia (HVR). Sono mostrati i valori di HVR in maschi e femmine a livello del mare in assenza di terapia. (modificata da: Caravita S, et al., *Chest* 2014⁹).

body height, minute ventilation at high altitude was similar among genders and treatments. The increase in ventilation from SL on-treatment to high altitude ($p<0.001$) was on average 4.6 ± 2.1 L/min, irrespective of gender and treatment. PetCO₂ at high altitude was lower on acetazolamide than on placebo, with no gender-related differences. PetCO₂ reduction from SL on-treatment to high altitude ($p<0.001$) was more marked under acetazolamide than on placebo (9.2 ± 3.2 vs 7.7 ± 3.3 mmHg, $p=0.041$). The reduction of SpO₂ from SL on-treatment to high altitude ($p<0.001$) was more marked on placebo than on acetazolamide (20.5 ± 6.8 vs $12.6\pm3.7\%$, $p<0.001$), without gender-related differences.

Chemoreflex testing

Isocapnic hypoxic test

During the test, average minimum SpO₂ at SL (both off- and on-treatment) was not different among genders and study groups. Maximal minute ventilation during isocapnic hypoxia was higher in males than in females, but not after correction for body height. HVR was higher in males than in females at SL off- and on-treatment, respectively ($p<0.001$ and $p=0.001$). Such difference persisted after correction of minute ventilation for body height ($p=0.023$ and $p=0.026$ at SL off- and on-treatment, respectively). Acetazolamide administration at SL on-treatment did not affect HVR or HVR corrected for body height.

non è stata differente tra i generi né tra i gruppi di randomizzazione. La massima ventilazione minuto durante ipossia isocapnica è stata maggiore nei maschi che nelle femmine ma, dopo correzione per l'altezza corporea, questa differenza si è annullata. HVR è stato più alto nei maschi che nelle femmine (rispettivamente $p<0,01$ e $p=0,001$ a SL off- e on-treatment) (Figura 1). Queste differenze si sono mantenute dopo la correzione della ventilazione minuto per l'altezza corporea (rispettivamente $p=0,023$ e $p=0,026$ a SL off- e on-treatment). La somministrazione di acetazolamide a SL on-treatment non ha influenzato HVR, nè HVR corretto per l'altezza corporea.

Test dell'iperossia ipercapnica

Al picco dello stimolo, la PetCO₂ a SL off- e on-treatment non era differente tra gruppi di randomizzazione. A SL off-treatment la massima ventilazione durante lo stimolo era più alta nei maschi che nelle femmine, ma tale differenza scompariva dopo la correzione della ventilazione per l'altezza corporea. A SL on-treatment la ventilazione massima era più alta nei soggetti che assumevano acetazolamide rispetto ai soggetti del gruppo placebo, anche dopo correzione per l'altezza corporea. HCVR non differiva tra maschi e femmine (rispettivamente $p=0,226$ e $p=0,810$ a SL off- e on-treatment). Inoltre, HCVR non era influenzato dal trattamento in studio, ma questa relazione era spostata verso

Table 1
SPO₂ NOCTURNAL PARAMETERS
(data are presented as means $\pm$ standard deviation).
(modified from: Caravita S, et al., *Chest* 2014 ⁹).
PARAMETRI DI SATURAZIONE NOTTURNA
(dati espressi come media $\pm$ deviazione standard).
(modificata da: Caravita S, et al., *Chest* 2014 ⁹).

	SL, off-treatment			SL, on-treatment		
	MALES	FEMALES	P	ACZ	PL	p
VE[L/min]	7.7 $\pm$ 2.2	6.5 $\pm$ 2.0	0.042	6.9 $\pm$ 2.0	6.7 $\pm$ 1.4	0.855
VE/h[L/min/m]	4.3 $\pm$ 1.2	3.9 $\pm$ 1.3	1.000	4.0 $\pm$ 1.1	3.9 $\pm$ 0.7	1.000
PetCO ₂ [mmHg]	37.3 $\pm$ 5.5	36.0 $\pm$ 2.9	0.609	34.1 $\pm$ 3.3	37.6 $\pm$ 3.7	0.021
SpO ₂ [%]	97.4 $\pm$ 1.4	98.1 $\pm$ 1.0	0.081	97.8 $\pm$ 0.7	97.7 $\pm$ 0.8	1.000
	HA					
	MALES	FEMALES	P	ACZ	PL	p
VE[L/min]	12.2 $\pm$ 2.8	10.5 $\pm$ 1.7	0.033	11.7 $\pm$ 2.2	11.0 $\pm$ 2.7	0.258
VE/h[L/min/m]	6.8 $\pm$ 1.5	6.4 $\pm$ 1.9	0.344	6.8 $\pm$ 1.2	6.4 $\pm$ 1.4	0.297
PetCO ₂ [mmHg]	27.8 $\pm$ 3.8	27.1 $\pm$ 3.9	0.441	24.9 $\pm$ 2.7	29.9 $\pm$ 3.0	0.52
SpO ₂ [%]	81.0 $\pm$ 6.4	81.2 $\pm$ 7.3	0.932	85.2 $\pm$ 3.8	77.1 $\pm$ 6.6	0.23

Hyperoxic hypercapnic test

At the peak of the stimulus, PetCO_2 at SL off- and at SL on-treatment was not different among study groups. At SL off-treatment maximal ventilation during the stimulus was higher in males than in females, but such difference disappeared after ventilation was corrected for body height. At SL on-treatment maximal ventilation was higher on acetazolamide than on placebo, even after correction for body height. HCVR did not differ between males and females ($p=0.226$ and $p=0.810$ at SL off- and on-treatment respectively). Moreover, HCVR was not affected by study treatment, but such relationship was leftward-shifted by acetazolamide. Consequently, minute ventilation for every value of PetCO_2 in the acetazolamide group was higher than in the placebo group.

Cardio-respiratory sleep studies

At SL no subject showed abnormal breathing patterns during sleep. High altitude exposure significantly affected breathing patterns during sleep (due to the appearance of central sleep apneas/PBS, while no obstructive events were observed) with relevant gender- and treatment-related differences (Figure 2). In particular, at high altitude males on placebo displayed an apnea-hypopnea index higher than females on placebo (40.9 ± 27.8 vs 7.3 ± 4.0 events/hour, $p=0.008$). Acetazolamide, compared to placebo, was associated with a lower apnea-hypopnea index in treated subjects, both males (3.8 ± 3.8 events/hour, $p=0.002$) and females (2.9 ± 3.5 events/hour, $p=0.069$), so that no gender difference for apnea-hypopnea index under active treatment was evident ($p=0.847$). Apnea-hypopnea index values in males on acetazolamide were not different from apnea-hypopnea index values in females on placebo ($p=0.241$) (Table 1).

The mean night-time SpO_2 was higher on acetazolamide than on placebo (78.2 ± 2.6 vs $71.4 \pm 4.3\%$, $p<0.001$), without gender-related differences ($p=0.797$). Similarly, the minimum SpO_2 during nighttime was higher in the acetazolamide as compared with placebo group (69.4 ± 3.9 vs $61.1 \pm 5.1\%$, $p<0.001$), without gender-related differences ($p=0.679$). In the placebo group, the effect of HVR on the incidence of PBS was studied using a linear regression analysis. A significant correlation was found between the apnea/hypopnea index and HVR ($R_2=0.82$ $p<0.001$,

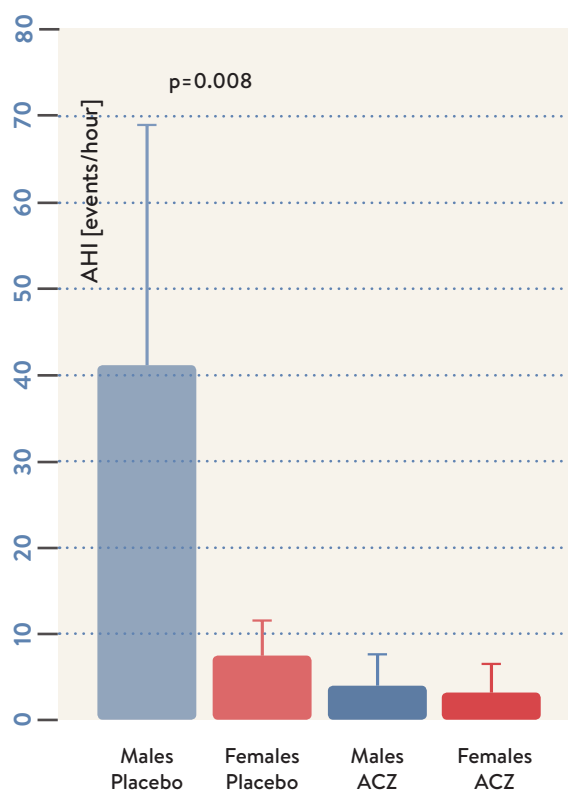


Figure 2

Apnea-hypopnea index (AHI) at high altitude in males and females, either on acetazolamide (ACZ) or placebo. (modified from: Caravita S, et al., *Chest* 2014⁹).

Indice apnea-ipopnea (AHI) in alta quota in maschi e femmine, sia in acetazolamide (ACZ) che in placebo. (modificata da: Caravita S, et al., *Chest* 2014⁹).

sinistra dall'acetazolamide. Di conseguenza la ventilazione minuto per ogni dato valore di PetCO_2 nel gruppo in acetazolamide era più alta che nel gruppo placebo.

Studio cardio-respiratorio del sonno

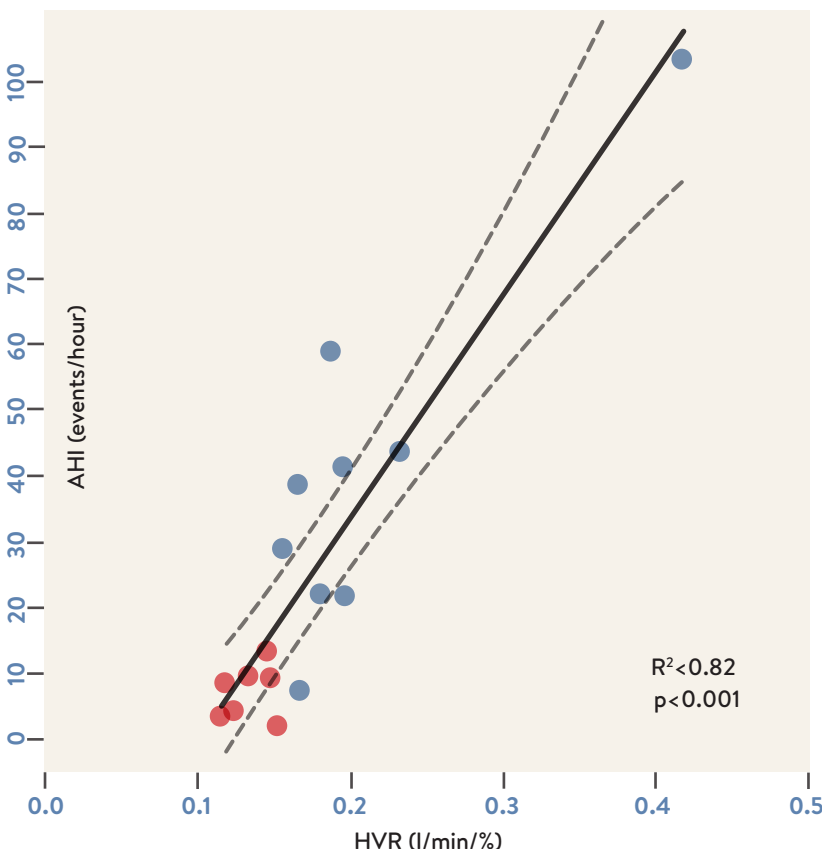
A SL nessun soggetto ha mostrato un pattern respiratorio anomalo durante il sonno. L'esposizione all'alta quota influisce significativamente sul pattern respiratorio durante il sonno (a causa della comparsa di apnee/ipopnee centrali, mentre non è stato registrato alcun evento ostruttivo), con significative differenze legate al genere e al gruppo di trattamento (Figura 2). In particolare, ad alta quota i maschi del gruppo placebo hanno mostrato un indice apnea/ipopnea maggiore rispetto alle femmine in placebo ($40,9 \pm 27,8$ vs $7,3 \pm 4,0$ eventi/ora, $p=0,008$). Rispetto al placebo, acetazolamide si associa a un indice apnea/ipopnea più basso, sia nei maschi ($3,9 \pm 3,8$ eventi/ora, $p=0,002$) che nelle femmine ($2,9 \pm 3,5$ eventi/ora, $p=0,069$). Nel gruppo in trattamento attivo, infatti, non è stata rilevata alcuna differenza legata al genere nell'indice apnea/ipopnea ($p=0,847$). L'indice apnea/ipopnea nei maschi del gruppo in acetazolamide non era differente rispetto all'indice delle femmine del gruppo placebo ($p=0,241$) (Tabella 1). La SpO_2 media notturna era più alta nel gruppo acetazolamide che nel gruppo placebo ($78,2 \pm 2,6$

Figure 3

Scatter plot with regression lines between apnea-hypopnea index (AHI) and hypoxic ventilatory response (HVR) in males and females on placebo. (modified from: Caravita S, et al., *Chest* 2014⁹).

Grafico di dispersione con linee di regressione tra indice apnee-ipopnee (AHI) e risposta ventilatoria all'ipossia (HVR) in maschi e femmine in placebo. (modificata da: Caravita S, et al., *Chest* 2014⁹).

MALE PLACEBO
FEMALE PLACEBO



$\beta_1 = 340.3$, $p < 0.001$, intercept $\beta_0 = -33.9$ $p = 0.001$), as shown in Figure 3, as well as between apnea/hypopnea index and HVR normalized for body height ($R_2 = 0.74$ $p < 0.001$). The correlation between HVR and apnea/hypopnea index remained significant ($R_2 = 0.56$ $p = 0.001$) even after removing a subject with extremely high HVR and high apnea/hypopnea index from the analysis. Conversely, no correlation was found between apnea/hypopnea index and HVR in the acetazolamide group ($R_2 = 0.02$, $p = 0.591$) (Table 1).

CONCLUSIONS

Our study provides two novel findings. First, the chemoreflex sensitivity to hypoxia is higher in male subjects, and this could explain our current and previous observations on the gender related differences in the burden of PBS in hypoxic conditions at high altitude. Second, the capacity of acetazolamide to influence both sides of the chemoreflex loop (directly by modifying the apneic threshold and indirectly by improving oxygenation at high altitude) may account for the ability of this drug to reduce PBS at high altitude especially in males. The increased peripheral chemoreflex sensitivity to hypoxia in male subjects could account for the more frequent occurrence of PBS in hypoxic conditions,

vs $71.4 \pm 4.3\%$, $p < 0.001$), senza differenze legate al genere ($p = 0.797$). Allo stesso modo, la SpO_2 minima durante la notte era più alta nel gruppo in acetazolamide che nel gruppo placebo (69.4 ± 3.9 vs $61.1 \pm 5.1\%$ $p < 0.001$) senza differenze legate al genere ($p = 0.679$). L'effetto di HVR sull'incidenza di PBS nel gruppo placebo è stata studiata utilizzando un'analisi di regressione lineare. È stata individuata una correlazione significativa tra l'indice apnea/ipopnea e HVR ($R_2 = 0.82$ $p < 0.001$, $\beta_1 = 340.3$, $p < 0.001$, intercetta $\beta_0 = -33.9$ $p = 0.001$), come mostrato in Figura 3, e tra indice apnea/ipopnea e HVR normalizzato per l'altezza corporea ($R_2 = 0.74$ $p < 0.001$).

La correlazione tra HVR e indice apnea/ipopnea è rimasta significativa ($R_2 = 0.56$ $p = 0.001$) anche dopo avere escluso dall'analisi un soggetto con HVR estremamente alto e indice apnea/ipopnea alto. D'altra parte, non è stata identificata alcuna correlazione tra l'indice apnea/ipopnea e HVR del gruppo in acetazolamide ($R_2 = 0.02$ $p = 0.591$) (Tabella 1).

CONCLUSIONI

Il nostro studio ha ottenuto 2 dati innovativi. Primo, la sensibilità del chemoriflesso all'ipossia è superiore nei soggetti di sesso maschile; questo dato può spiegare le nostre osservazioni, sia quelle dello studio attuale che dei precedenti, sulle differenze correlate al genere nell'incidenza di PBS in condizioni di ipossia da alta quota. Secondo, la capacità dell'acetazolamide di influenzare entrambi i versanti del circuito del chemoriflesso (direttamente, influenzando la soglia apneica e, indirettamente, migliorando l'ossigenazione ad alta quota) potrebbe spiegare la capacità di questo farmaco di ridurre PBS ad alta quota, in particolare nei maschi.

L'aumento nella sensibilità del chemoriflesso periferico all'ipossia può essere responsabile della maggiore incidenza di PBS che si osserva in condizioni di ipossia nei soggetti di sesso maschile, come per esempio in alta quota. I soggetti di sesso femminile sembrano essere relativamente protetti da PBS, verosimilmente a causa di una minore risposta ventilatoria all'ipossia, che genera una ridotta instabilità nel controllo ventilatorio. Durante la somministrazione di acetazolamide, non si osserva più la correlazione tra la chemosensibilità ipossica e PBS ad alta quota, grazie sia allo spostamento verso sinistra del setpoint della CO_2 (che comporta una ridotta soglia apneica), che alla maggiore ossigenazione del sangue ad alta quota

such as at high altitude. Female subjects seem to be relatively protected from PBS at high altitude, possibly because of lower ventilatory responses to hypoxia, generating less instability in ventilatory control. Acetazolamide abolishes the correlation between hypoxic chemosensitivity and PBS at high altitude, both through a leftward-shifting of the CO₂ setpoint (which implies a reduced apneic threshold) and through a higher blood oxygenation at high altitude (which implies a reduced stimulus to peripheral chemoreceptors). Therefore this drug not only was extremely effective in counteracting the occurrence of PBS in males, but it proved useful also in females.

These results, obtained under conditions of hypobaric hypoxia, may be relevant also to the pathogenesis and management of sleep-related breathing disorders occurring in patients with a variety of cardiorespiratory diseases.



(che comporta una ridotta stimolazione dei chemocettori periferici). Quindi questo farmaco non è solo estremamente efficace nel contrastare lo sviluppo di PBS nei maschi, ma si è anche dimostrato utile nelle femmine.

Questi risultati, ottenuti in condizioni di ipossia ipobarica, possono essere rilevanti anche per la conoscenza della patogenesi e la gestione delle patologie dei disordini del respiro legati al sonno che si sviluppano in pazienti affetti da patologie cardio-respiratorie.

ABOVE
Respiratory tests
at high altitude.

SOPRA
Test respiratori
ad alta quota.

1. Sutton JR, Houston CS, Mansell AL et al. Effect of acetazolamide on hypoxemia during sleep at high altitude. *N Engl J Med* 1979;301:1329-1331 2. Lombardi C, Meriggi P, Agostoni P et al. High-altitude hypoxia and periodic breathing during sleep: gender-related differences. *J Sleep Res* 2013;22:322-330 3. Apostolo A, Agostoni P, Contini M, Antonioli L, Swenson ER. Acetazolamide and Inhaled Carbon Dioxide Reduce Periodic Breathing During Exercise in Patients with Chronic Heart Failure. *J Card Fail* 2014;20(4):278-288 4. Giannoni A, Emdin M, Poletti R et al. Clinical significance of chemosensitivity in chronic heart failure: influence on neurohormonal derangement, Cheyne-Stokes respiration and arrhythmias. *Clin Sci (Lond)* 2008;114:489-497 5. Somers VK, White DP, Amin R et al; American Heart Association Council for High Blood Pressure Research Professional Education Committee, Council on Clinical Cardiology; American Heart Association Stroke Council; American Heart Association Council on Cardiovascular Nursing; American College of Cardiology Foundation. Sleep apnea and cardiovascular disease: an American Heart Association/American College Of Cardiology Foundation Scientific Statement from the American Heart Association Council for High Blood Pressure Research Professional Education Committee, Council on Clinical Cardiology, Stroke Council, and Council On Cardiovascular Nursing. In collaboration with the National Heart, Lung, and Blood Institute National Center on Sleep Disorders Research (National Institutes of Health). *Circulation* 2008;118:1080-1111 6. Fontana M, Emdin M, Giannoni A, Iudice G, Baruah R, Passino C. Effect of acetazolamide on chemosensitivity, Cheyne-Stokes respiration, and response to effort in patients with heart failure. *Am J Cardiol* 2011;107:1675-1680 7. Latshang TD, Nussbaumer-Ochsner Y, Henn RM et al. Effect of acetazolamide and autoCPAP therapy on breathing disturbances among patients with obstructive sleep apnea syndrome who travel to altitude: a randomized controlled trial. *JAMA* 2012;308:2390-2398 8. Iber, C., Ancoli-Israel, S., Chesson, A. et al. The AASM Manual for the Scoring of Sleep and Associated events: Rules, Terminology, and Technical Specifications. *American Academy of Sleep Medicine*, Westchester, IL, 2007.

HIGHCARE REFERENCES - BIBLIOGRAFIA HIGHCARE:

9. S. Caravita, A. Faini, C. Lombardi, M. Valentini, F. Gregorini, J. Rossi, P. Meriggi, M. Di Rienzo, G. Bilo, P. Agostoni, G. Parati. Gender and Acetazolamide Effects on Chemoreflex and Periodic Breathing During Sleep at Altitude. *Chest*. 2014 Sep 4. (in press)

BLOOD PRESSURE

PRESSIONE ARTERIOSA

Robust evidence regarding blood pressure changes during high altitude exposure was collected in HIGHCARE-Alps 2006 study and in particular in HIGHCARE-Himalaya study. Blood pressure values significantly and persistently increase during the 24 hours, proportionally to the altitude reached, in particular during nighttime. Moreover, while in HIGHCARE-Alps 2006 we explored the blood pressure effects of selective (Nebivolol) and non selective (Carvedilol) beta adrenoreceptor blockade, in HIGHCARE-Himalaya we evaluated the efficacy of telmisartan, an antihypertensive drug, in lowering blood pressure during high altitude exposure: our results showed a good efficacy at 3400m, but the hypotensive effect was lost at 5400m. On the contrary, the effect of acetazolamide on 24 hour blood pressure has never been evaluated in this setting. Acetazolamide is a mild diuretic, widely used to prevent and counteract acute mountain sickness, therefore it might affect blood pressure during high altitude exposure.

Main aim of HIGHCARE-Alps 2010 ABPM substudy was to evaluate the effect on ambulatory blood pressure (BP) and on nocturnal dipping of acetazolamide administration in healthy subjects acutely exposed to high altitude. The assessments were performed in three different conditions: (1) at sea level (Milan) before starting treatment (SL-bas); (2) at sea level (Milan) after three days of randomized treatment administration (placebo vs. acetazolamide; SL-post); (3) at high altitude, during randomized treatment administration (Capanna Regina Margherita, 4559m; CMR). See Box “Blood pressure measurement in HIGHCARE projects” for detailed methods for blood pressure monitoring. In HIGHCARE-Alps 2010 conventional BP was measured by an oscillometric device UA-767PC (AND, Tokyo, Japan). After 5 minutes’ rest in a sitting position, two consecutive measurements were performed, 30-60 seconds apart, on the non-dominant arm. 24 hour ambulatory blood pressure monitoring (24h ABPM), performed with TM2430 device (A&D, Tokyo, Japan) was placed in the morning on the non-dominant arm and removed after 24 hours; measurement intervals were set at 15 minutes during daytime

Gli studi HIGHCARE-Alps 2006 e, soprattutto, HIGHCARE-Himalaya hanno fornito evidenze convincenti riguardo gli effetti dell’alta quota sulla pressione arteriosa, dimostrando un netto e persistente aumento dei valori pressori nelle 24 ore, proporzionale alla quota raggiunta e particolarmente marcato durante la notte. Inoltre, mentre in HIGHCARE-Alps 2006 abbiamo indagato gli effetti sulla pressione arteriosa del blocco selettivo (con nebivololo) e non selettivo (con carvedilolo) dei recettori beta adrenergici, in HIGHCARE-Himalaya abbiamo osservato come un farmaco antipertensivo, il telmisartan, mantenga la propria efficacia durante l’esposizione acuta alla quota di 3.400m, ma non alla quota di 5.400m. Non è invece mai stato studiato l’effetto dell’acetazolamide sulla pressione arteriosa nelle 24 ore. Questa informazione potrebbe rivelarsi utile, poiché questo farmaco, frequentemente utilizzato nella prevenzione e nel trattamento di “mal di montagna” acuto, è un diuretico e quindi potrebbe avere effetti sulla pressione sistemica.

L’obiettivo principale del sottostudio ABPM del progetto HIGHCARE-ALPS 2010 è stato quindi quello di valutare, in soggetti sani durante l’esposizione acuta ad alta quota, gli effetti dell’acetazolamide sulla pressione arteriosa ambulatoria (ABPM) e sulla caduta pressoria notturna. A questo scopo sono state eseguite le misurazioni in tre condizioni: 1) a livello del mare (Milano), prima di iniziare il trattamento (SL-bas); 2) a livello del mare (Milano), durante il terzo giorno di trattamento randomizzato con acetazolamide o placebo (SL-post); 3) in alta quota, durante trattamento randomizzato (Capanna Regina Margherita 4.559m; CRM). Le informazioni dettagliate riguardo alle metodiche di misurazione della pressione arteriosa sono state descritte in precedenza (Box “Misurazione della pressione arteriosa nei progetti HIGHCARE”). In HIGHCARE-ALPS 2010 la pressione arteriosa clinica è stata misurata con uno strumento oscillometrico UA-767PC (AND, Tokyo, Giappone). Dopo almeno 5 minuti di riposo in posizione seduta venivano eseguite due misurazioni a distanza di 30-60 secondi l’una dall’altra, al braccio non dominante. La pressione ambulatoria delle

and 20 minutes during nighttime; high altitude measurements were collected during the fourth and fifth expedition day, corresponding to the second and third day of 4559m exposure. Data from 22 subjects on acetazolamide and 21 subjects on placebo were analyzed. No differences were found between groups at baseline with regard to blood pressure values and other clinical variables. In the placebo group, no differences were observed in mean 24 hours arterial pressure between the two sea level measurements.

During high altitude exposure, in the placebo group mean systolic (SBP) and diastolic (DBP) blood pressure increased by 10.9 mmHg and 8.2 mmHg respectively ($p < 0.001$ compared to sea level for both) (Figure 1). These results were confirmed also for mean daytime and night-time SBP and DBP. In particular, DBP increase was greater during the night (+9.8 mmHg) than during the day (+6.9 mmHg). Consequently, nocturnal DBP dipping (defined as blood pressure nocturnal reduction, expressed as percentage of mean daytime value) decreased during high altitude exposure (from $19.7 \pm 7.5\%$ at SL-post to $14.6 \pm 6.2\%$ at CRM, $p = 0.01$), whilst nocturnal SBP dipping variation was not significant (from $14.6 \pm 6.9\%$ at SL-post to $12.9 \pm 6.1\%$ at CRM, $p = 0.01$).

Acetazolamide exerted a significant effect on blood pressure during high altitude exposure (Figure 1). As for placebo subjects, both 24 hour mean SBP and DBP showed no significant variations after treatment at sea level. During high altitude sojourn, mean 24h SBP remained stable (+1.5 mmHg, $p = 0.1$), whilst mean 24h DBP increased significantly but less than in the placebo group (+3 mmHg, $p = 0.004$). As a consequence, high altitude 24 hour BP values were significantly lower in the acetazolamide group than in subjects on placebo (mean difference in 24h SBP value 12.1 mmHg, $p < 0.001$; in 24h DBP 4.7 mmHg, $p = 0.007$). The effect of acetazolamide was similar on daytime and nighttime BP values. In fact, no significant differences were found in SBP nocturnal dipping between the two groups; DBP nocturnal dipping was slightly more pronounced at sea level in acetazolamide group, but this difference was not significant (mean difference -4.4%, $p = 0.06$). During high altitude exposure, nocturnal DBP dipping was similar in both groups.

Conventional blood pressure behaviour was somewhat different. In the placebo group,

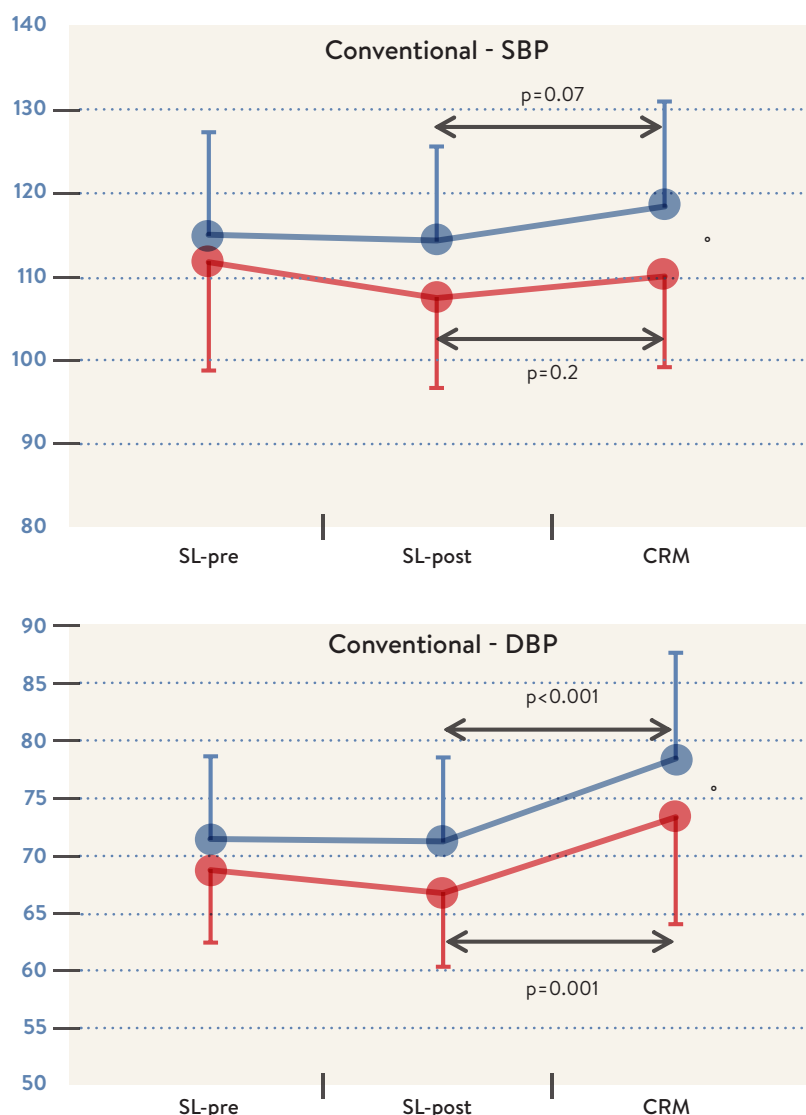


Figure 1

Systolic and diastolic conventional blood pressure variation in the three different study conditions. Comparison placebo vs acetazolamide: ° $p < 0.05$.

Andamento della PA sistolica e diastolica convenzionale nelle tre condizioni dello studio. Confronto placebo vs. acetazolamide: ° $p < 0,05$.

PLACEBO
ACETAZOLAMIDE

24 ore (24h ABPM) è stata invece misurata utilizzando lo strumento TM2430 (AND, Tokyo, Giappone), applicato sul braccio non dominante al mattino e rimosso il mattino seguente; le misurazioni in quota (CRM) sono state acquisite tra il quarto ed il quinto giorno della spedizione, cioè tra il secondo ed il terzo giorno intero di permanenza alla quota di 4.559 metri.

Gli intervalli tra le misurazioni erano di 15 minuti durante il giorno e di 20 minuti durante la notte. L'analisi dei dati è stata condotta su 22 soggetti che assumevano acetazolamide e 21 che assumevano placebo. All'inizio dello studio non erano presenti differenze significative tra i gruppi per quanto riguarda i parametri pressori, né altre variabili cliniche. Nel gruppo trattato con placebo la pressione arteriosa media delle 24 ore si è mantenuta invariata dopo il trattamento al livello del mare; in alta quota la pressione media sistolica (SBP) e la pressione media diastolica (DBP) sono

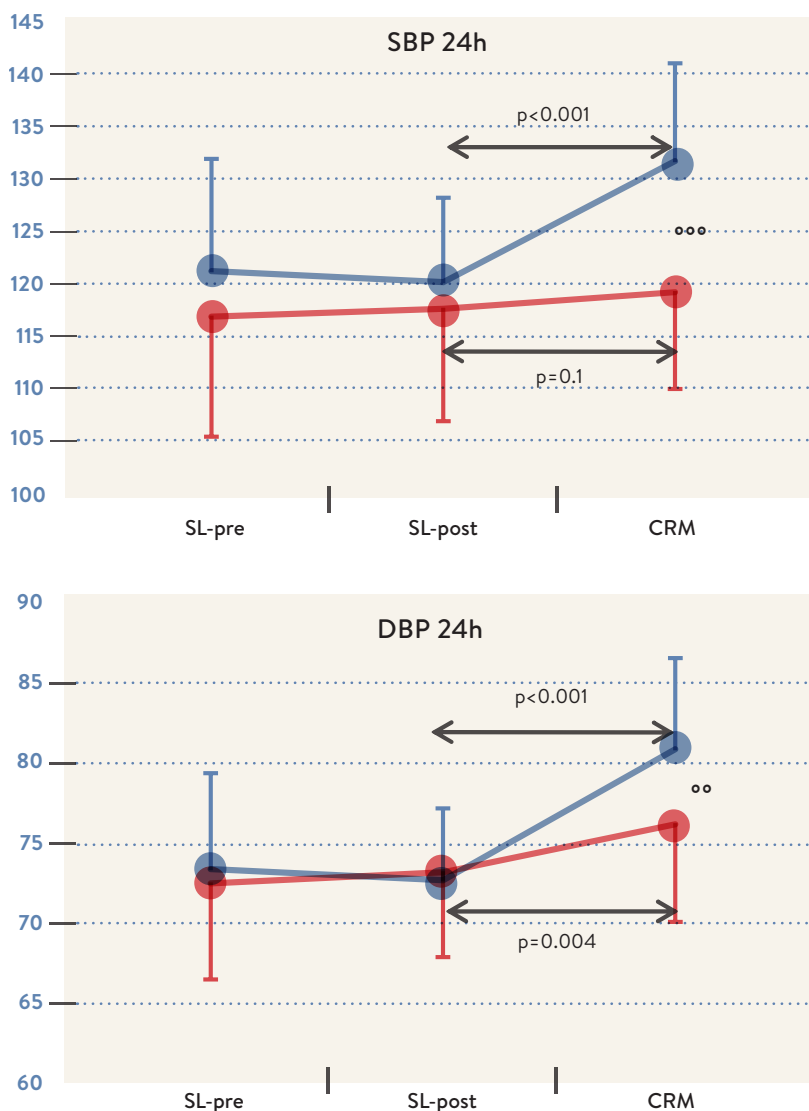


Figure 2

Mean 24 hours systolic and diastolic blood pressure variation in the three different study conditions. Comparison placebo vs acetazolamide: °° - $p < 0.01$; °°° - $p < 0.001$.

Andamento della PA sistolica e diastolica media delle 24 ore nelle tre condizioni dello studio. Confronto placebo vs. acetazolamide: °° - $p < 0.01$; °°° - $p < 0.001$.

● PLACEBO
● ACETAZOLAMIDE

conventional BP remained stable at sea level also after treatment administration, and then increased at high altitude, even if this increase was less marked than in 24h BP (SBP: +4.1 mmHg, $p = 0.07$; DBP: +7.2 mmHg, $p < 0.001$). In the acetazolamide group, conventional SBP decreased with therapy administration at sea level (-4.3 mmHg, $p = 0.05$) and only slightly increased at high altitude (+2.6 mmHg compared to SL-post, $p = 0.2$). Similar trend was identified for DBP (treatment effect at SL: -2 mmHg, $p = 0.3$), with a more pronounced increase at high altitude (+6.6 mmHg, $p = 0.001$) (Figure 2). Compared to placebo, subjects on acetazolamide tended to have a lower conventional BP already at sea level (SBP: -6.9 mmHg, $p = 0.06$; DBP: -4.4 mmHg, $p = 0.06$). During high altitude exposure this difference increased, becoming significant (SBP: -8.3 mmHg, $p = 0.02$; DBP 5.1 mmHg, $p = 0.03$). We have also observed differences in mean 24h heart rate (HR) between groups (Figure 3). In

aumentate rispettivamente di 10,9 mmHg e di 8,2 mmHg rispetto a SL-post ($p < 0,001$ per entrambi) (Figura 1). L'andamento dei valori medi delle 24 ore si è confermato anche per quanto riguarda i valori medi diurni e notturni della SBP e della DBP. Per quanto riguarda la DBP, questo aumento è stato più marcato durante la notte (+9,8 mmHg) rispetto al periodo diurno (+6,9 mmHg). In conseguenza, l'entità del dipping notturno della DBP (espressa come riduzione percentuale della pressione media durante la notte rispetto alla media diurna) si è ridotta dopo la salita in alta quota (da $19,7 \pm 7,5\%$ in SL-post a $14,6 \pm 6,2\%$ in CRM, $p = 0,01$), mentre la variazione nel dipping della SBP non è stata significativa (da $14,6 \pm 6,9\%$ in SL-post a $12,9 \pm 6,1\%$ in CRM, $p = 0,01$).

L'acetazolamide ha mostrato un effetto significativo sulle modificazioni della pressione in alta quota (Figura 1). Così come nei soggetti trattati con placebo, sia la SBP che la DBP media delle 24 ore si è mantenuta invariata dopo il trattamento a livello del mare. Durante la permanenza in alta quota non si è osservato un incremento significativo della SBP 24h (+1,5 mmHg, $p = 0,1$), mentre la DBP 24h aumentava in maniera significativa, ma in maniera decisamente meno marcata rispetto al gruppo trattato con placebo (+3 mmHg, $p = 0,004$). Conseguentemente, in assenza di differenze tra i gruppi di trattamento a livello del mare, in alta quota i valori pressori nelle 24 ore sono stati significativamente più bassi rispetto al gruppo placebo (differenza media SBP 24h: 12,1 mmHg, $p < 0,001$; DBP 24h: 4,7 mmHg, $p = 0,007$). L'impatto dell'acetazolamide è stato simile sia sui valori pressori diurni che su quelli notturni. Infatti, non si sono osservate differenze significative tra i gruppi per quanto riguarda l'andamento del dipping notturno della SBP, con soltanto una tendenza del dipping della DBP maggiore nel gruppo trattato con acetazolamide a livello del mare (differenza media -4,4%, $p = 0,06$). Durante l'esposizione ad alta quota, il dipping nella DBP è stato simile nei due gruppi.

L'andamento dei valori della pressione convenzionale è stato leggermente diverso. Nel gruppo trattato con placebo la pressione arteriosa clinica è rimasta pressoché invariata a livello del mare dopo l'inizio della terapia, aumentando in quota, anche se in maniera meno evidente rispetto alla PA 24 ore (SBP: +4,1 mmHg, $p = 0,07$; DBP: +7,2 mmHg, $p < 0,001$). Nel gruppo trattato con acetazolamide la SBP clinica si riduceva con la terapia al livello del

the placebo group 24h HR remained stable at SL and significantly increased at high altitude (+10.4 bpm, $p<0.001$), while in acetazolamide group 24h HR slightly increased after treatment administration (+3.8 bpm, $p=0.05$) and during high altitude exposure (+2.6 bpm, $p=0.05$ vs. SL-post). Overall, lower mean 24h BP values were observed in the placebo group (-5.6 bpm, $p=0.01$). In both groups nighttime HR increase was greater than during daytime.

Our results confirm that 24h BP significantly increases during high altitude exposure. This increase is more evident at night, leading to a reduction in nocturnal BP dipping and to a flattening in the circadian BP profile. The novel data from our study concerns acetazolamide's effect on 24h BP. Acetazolamide administration prevented almost totally SBP increase and mitigated DBP increase, without affecting 24h BP at sea level. Acetazolamide administration at high altitude was also associated with a reduction in 24h HR. On the other hand, high altitude effect on nocturnal BP dipping was not influenced by treatment.

The mechanism beyond the observed effects of acetazolamide is not clear. Most likely, it is due to the favourable effect of acetazolamide on gas exchange at high altitude, through a reduction in hypoxia mediated pulmonary vasoconstriction leading to an improved ventilation/perfusion ratio.¹ In fact, in our study acetazolamide administration was associated with a higher oxygen arterial saturation and with a slower respiratory rate at high altitude. The increased oxygen availability may play a role in the reduced activity of the peripheral chemoreceptors and consequently in the reduced sympathetic activity. Other mechanisms may be involved, like diuretic activity of acetazolamide, its direct action on carotid chemoreceptors or an increase in nitric oxide production.²

Our results suggests a role of acetazolamide not just in preventing/counteracting acute mountain sickness, but also as an antihypertensive drug in hypertensive patients exposed to high altitude, in particular those at high risk. The use of acetazolamide (or other anhydrase carbonic inhibitors) could be considered in patients suffering from sleep disturbances like obstructive sleep apnoeas (OSAS), in which intermittent hypoxia contributes to sympathetic activation and to hypertension development. More research is needed to evaluate the possible clinical relevance of these findings.

mare (-4,3 mmHg, $p=0,05$) ed aumentava solo lievemente in quota (+2,6 mmHg rispetto a SL-post, $p=0,2$). Anche la DBP ha seguito un andamento simile (effetto terapia a livello del mare: -2 mmHg, $p=0,3$), con un aumento più marcato in quota (+6,6 mmHg, $p=0,001$) (Figura 2). Quando confrontati con i soggetti in placebo, i soggetti che assumevano acetazolamide tendevano ad avere una PA convenzionale lievemente più bassa già a livello del mare (SBP: -6.9mmHg, $p=0,06$; DBP: -4,4 mmHg, $p=0,06$). Questa differenza si è accentuata, diventando significativa, in alta quota (SBP: -8,3 mmHg, $p=0,02$; DBP 5,1 mmHg, $p=0,03$).

Abbiamo anche osservato differenze tra i gruppi nell'andamento della frequenza cardiaca (HR) media delle 24h (Figura 3). Nel gruppo placebo la HR 24h è rimasta sostanzialmente invariata a livello del mare per aumentare significativamente in quota (+10,4 bpm, $p<0,001$), mentre nel gruppo randomizzato ad acetazolamide è aumentata solo lievemente dopo l'introduzione del farmaco, sia a livello del mare (+3,8 bpm, $p=0,05$) che in quota (+2,6 bpm, $p=0,05$ vs. SL-post). Complessivamente, i soggetti trattati con acetazolamide presentavano valori medi in quota di HR 24h più bassi (-5,6 bpm, $p=0,01$). In entrambi i gruppi l'aumento della HR in quota è stato più evidente durante la notte rispetto al periodo diurno.

I nostri risultati confermano un marcato aumento dei valori pressori nelle 24 ore durante l'esposizione acuta all'alta quota. Questo incremento è più evidente nelle ore notturne, e comporta una riduzione nel dipping notturno dei valori pressori ed un appiattimento delle variazioni circadiane del profilo pressorio. I dati innovativi del nostro studio riguardano il ruolo dell'acetazolamide sulla pressione nelle 24 ore. L'assunzione di acetazolamide, infatti, preveniva quasi completamente l'incremento della pressione arteriosa sistolica e attenuava l'incremento della pressione diastolica, senza evidenti effetti sulla media delle 24 ore a livello del mare. La terapia con acetazolamide in quota ha, inoltre, comportato una riduzione della frequenza cardiaca nell'arco delle 24 ore. L'effetto dell'alta quota sul dipping notturno dei valori pressori non è stato influenzato dal trattamento.

Il meccanismo alla base degli effetti dell'acetazolamide non è del tutto chiaro; molto probabilmente, dipende dall'effetto

Figure 3

24 hours heart rate (HR) variations. Comparison between PL and AC: ° $p<0.05$.

Andamento della frequenza cardiaca delle 24 ore. Confronto PL vs. AC: ° $p<0,05$.

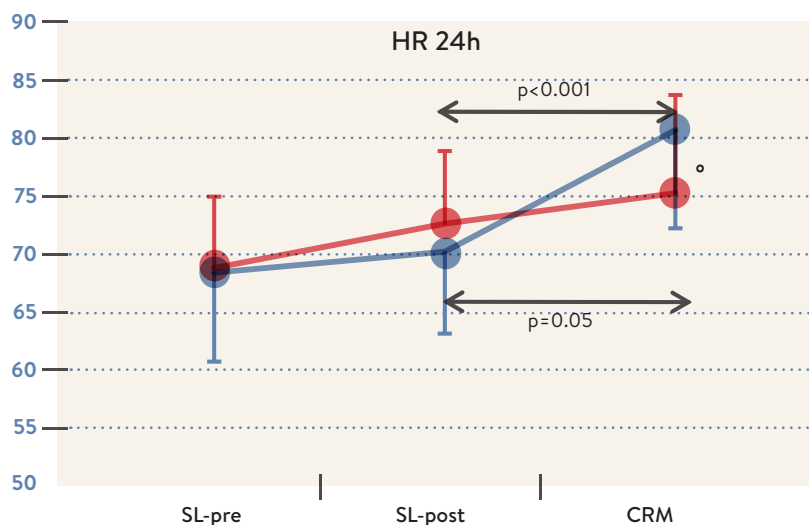


RIGHT

Conventional blood pressure measurement.

DESTRA

Misura convenzionale della pressione arteriosa.



positivo dell'acetazolamide sugli scambi gassosi in quota, che comporta una riduzione della vasocostrizione ipossica polmonare con miglioramento del rapporto ventilazione-perfusione.¹ Infatti, nel nostro studio la terapia con acetazolamide si associava ad una più alta saturazione arteriosa di ossigeno e ad una più bassa frequenza respiratoria in quota. Una maggiore disponibilità di ossigeno poteva contribuire alla ridotta attività dei chemorecettori periferici, e quindi ad una minore attività simpatica. Inoltre, potrebbero essere coinvolti altri meccanismi, quali l'attività diuretica del farmaco, l'azione diretta sui chemorecettori del glomo carotideo e l'aumento della produzione di ossido nitrico.²



I nostri risultati suggeriscono un possibile impiego dell'acetazolamide in alta quota, non solo per la profilassi e/o il trattamento del "mal di montagna", ma anche per prevenire un eccessivo rialzo pressorio in pazienti ipertesi, soprattutto quelli ad alto rischio. Potrebbe anche essere ipotizzabile l'utilizzo di acetazolamide (o di altri inibitori dell'anidasi carbonica) in pazienti affetti da disturbi del sonno, come la sindrome delle apnee ostruttive notturne (OSAS), in cui la presenza di ipossia intermittente contribuisce all'attivazione simpatica ed allo sviluppo dell'ipertensione arteriosa. Ulteriori studi sono necessari per verificare queste clinicamente rilevanti possibilità.

1. Swenson ER Carbonic anhydrase inhibitors and hypoxic pulmonary vasoconstriction, *Respir Physiol Neurobiol* 2006; 151: 209-216 2. Aamand R, Dalsgaard T, Jensen FB, Simonsen U, Roepstorff A, Fago A Generation of nitric oxide from nitrite by carbonic anhydrase: a possible link between metabolic activity and vasodilation, *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2009; 297: H2068-H2074.

HIGHCARE REFERENCES - BIBLIOGRAFIA HIGHCARE:

3. Bilo G, Lombardi C, Revera M, Diazi E, Giuliano A, Faini A, Valentini MC, Gregorini F, Zambon A, Hoshide S, Corrao G, Mancia G, Parati G, on behalf of Highcare-ALPS Investigators. Acetazolamide counteracts ambulatory blood pressure increase under acute exposure to high altitude. *J Hypertens*. 2011;29:e34 (ESH 2011 abstract)

ALTERATIONS IN ARTERIAL PROPERTIES UNDER ACUTE EXPOSURE TO HIGH ALTITUDE AND EFFECTS OF ACETAZOLAMIDE

ALTERAZIONI NELLE PROPRIETÀ DELLE ARTERIE IN ESPOSIZIONE ACUTA AD ALTA QUOTA ED EFFETTI DELL'ACETAZOLAMIDE

Acetazolamide stands among the most used drugs to prevent and counteract acute mountain sickness, thanks to its diuretic effects and its ability to force bicarbonate renal excretion, which leads to metabolic acidosis and increased ventilation.¹ Moreover, acetazolamide seems able to directly stimulate calcium release in the muscular cells² and it seems to play a role in nitric oxide³ production, thus directly interfering with vasodilation-vasoconstriction mechanisms. Up to now, despite its wide use, acetazolamide's effect on arterial properties during high altitude exposure is not fully understood. The sympathetic activation observed in this condition may act on pulse wave, through its effects on distensibility (it induces vasoconstriction in muscular vessels) and systemic vascular resistances, thus altering width and distribution of the reflex waves. Purposes of the 2010 Arterial Properties substudy were: 1) to evaluate the effect of acute (without previous acclimatization) and slightly more prolonged (3 days) high altitude exposure, both on central and peripheral pressure; 2) to evaluate the effect of these conditions on arterial wall properties; 3) to evaluate acetazolamide's effect on central blood pressure and on arterial stiffness.

METHODS

Data acquisition protocol and study devices were the same as for HIGHCARE Himalaya. We analyzed data from 19 subjects in the acetazolamide group and from 20 subjects in the placebo (PL) group. Any differences have been detected in the basal evaluation of the anthropometric parameters between the two groups.

RESULTS

In the PL group, both peripheral (measured by an oscillometric device, placed on the arm, with the subject in sitting and supine position) and central systolic blood pressure (derived, as previously described, from carotid pulse

Tra i farmaci cardine nella prevenzione e nel trattamento del "mal di montagna" rientra l'acetazolamide, i cui effetti sono attribuibili alla sua azione di diuretico ed all'escrezione di bicarbonati con sviluppo di acidosi metabolica e conseguente stimolo alla ventilazione.¹ Quale effetto secondario, inoltre, è stato proposto un ruolo diretto di questo farmaco nel rilascio degli ioni calcio nelle cellule muscolari² e nella produzione di ossido nitrico³, e quindi una influenza diretta sulla meccanica di vasodilatazione-vasocostrizione delle arterie. Ad oggi, sebbene di comune utilizzo, non è noto il suo effetto sulle proprietà delle arterie in esposizione ad alta quota, condizione associata ad un incremento dell'attivazione simpatica, processo in grado di modificare i principali determinanti delle caratteristiche dell'onda di polso, tra i quali la distensibilità (per effetto di vasocostrizione a carico dei vasi a prevalente componente muscolare) e le resistenze vascolari sistemiche, modificando così l'ampiezza e la distribuzione delle

Figure 1

Peripheral and central SBP:
$p < 0.05$ vs SL-pre;
§ $p < 0.05$ vs. placebo
(modified from: Parati G, et al., *Eur Heart J.* 2013⁷).

Pressione arteriosa sistolica periferica e centrale:
$p < 0,05$ vs SL-pre;
§ $p < 0,05$ vs. placebo
(modificata da: Parati G, et al., *Eur Heart J.* 2013⁷).

● PLACEBO
● ACETAZOLAMIDE

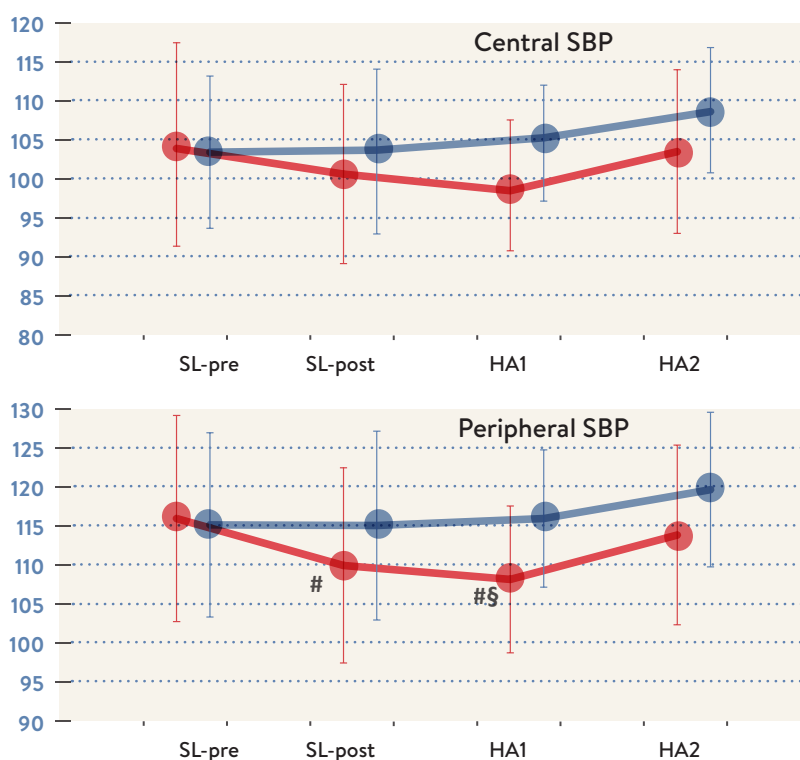


Table 1

Peripheral (pSBP) and central (cSBP) systolic blood pressure, showed as mean $\pm$ DS; pSBP: measurements performed by an oscillometric device, on the arm of a supine subject; cSBP: values derived from carotid pulse wave form, calibrated on mean and diastolic peripheral blood pressure. (modified from: Parati G, et al., *Eur Heart J*. 2013 ⁷).

Valori di pressione sistolica periferica (pSBP) e centrale (cSBP) indicati come media $\pm$ DS; pSBP: valori misurati con metodica oscillometrica al braccio e soggetto in posizione supina; cSBP: valori derivati dalla forma d'onda acquisita a livello carotideo calibrati sui valori di pressione media e diastolica misurati a livello periferico. (modificata da: Parati G, et al., *Eur Heart J*. 2013 ⁷).

Figure 2

Augmentation index corrected for a theoretical frequency of 75bpm (#=p<0.05 vs. SL- post). (modified from: Parati G, et al., *Eur Heart J*. 2013 ⁷).

Augmentation Index corretto per una frequenza teorica di 75bpm (#=p<0,05 vs. SL- post). (modificata da: Parati G, et al., *Eur Heart J*. 2013 ⁷).

Figure 3

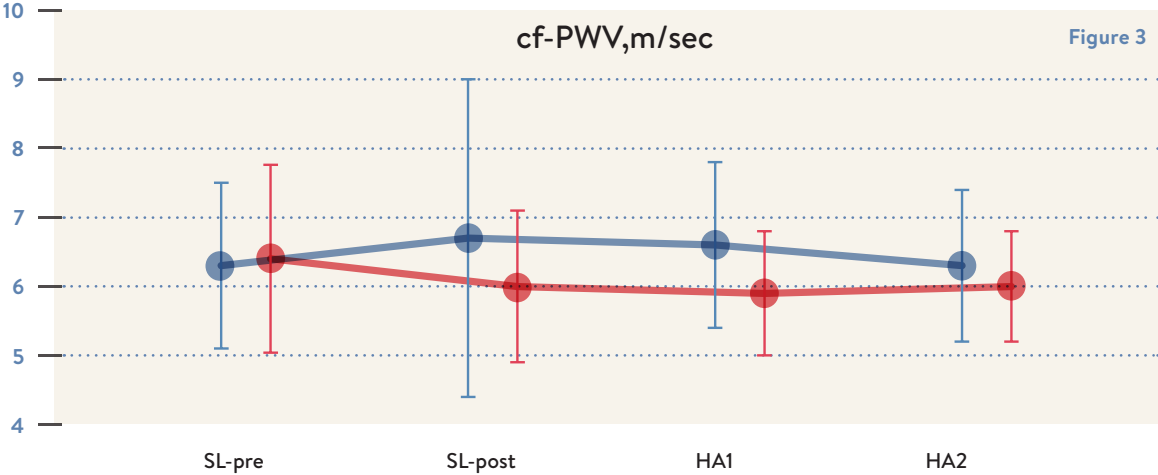
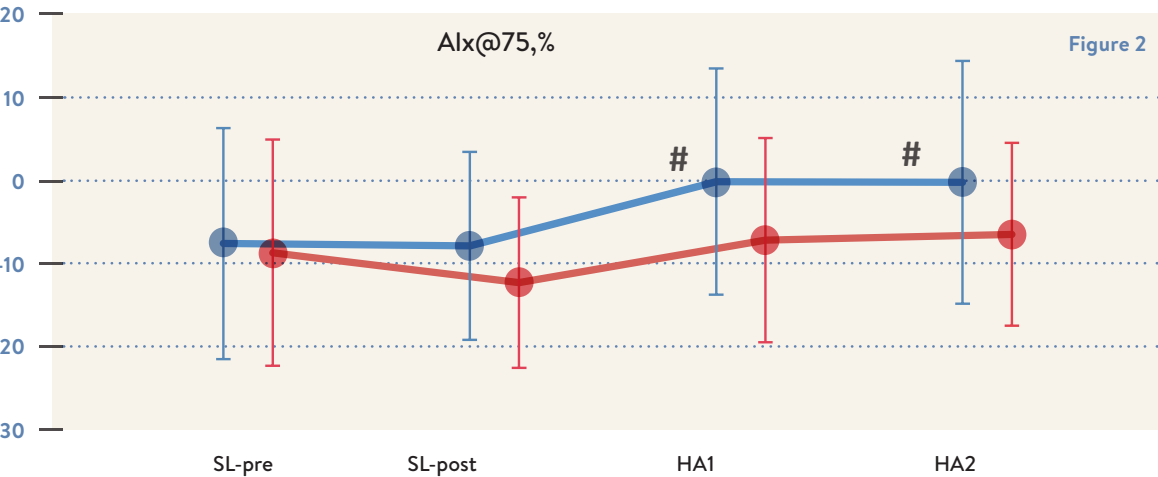
Carotid-femoral Pulse Wave Velocity

Velocità dell'onda di polso carotido-femorale

PLACEBO

ACETAZOLAMIDE

PARAMETERS	TREATMENT	SL-pre	SL-post	HA1	HA2
pSBP, mmHg	PL	115.1 $\pm$ 11.8	115.0 $\pm$ 12.1	115.9 $\pm$ 8.8	119.6 $\pm$ 9.9
	AC	115.9 $\pm$ 13.2	109.9 $\pm$ 12.5	108.1 $\pm$ 9.4	113.8 $\pm$ 11.5
cSBP, mmHg	PL	103.6 $\pm$ 9.7	103.7 $\pm$ 10.7	105.2 $\pm$ 6.9	108.8 $\pm$ 8.0
	AC	104.3 $\pm$ 12.9	100.6 $\pm$ 11.3	98.7 $\pm$ 8.1	104.4 $\pm$ 10.8



wave form) remained unchanged during acute high altitude exposure, and then slightly (and non significantly) increased after 3 day's altitude exposure. In the acetazolamide group, systolic peripheral blood pressure decreased at sea level and remained lower during acute exposure at high altitude. After prolonged exposure, peripheral systolic blood pressure returned to basal values. Comparing the two groups, peripheral systolic pressure was significantly lower in the acetazolamide groups than in the PL only after acute high altitude exposure (p=0.011). Central blood pressure reduction was slighter and not statistically significant (Results shown in Table 1 and Figure 1). Compared to baseline, acute and prolonged

onde riflesse. Scopi del sottostudio sull'Arterial Properties del progetto del 2010 sono stati: 1) misurare gli effetti dell'esposizione acuta a quote elevate in assenza di precedente acclimatazione ed in esposizione più prolungata (3 giorni), non solo sulla pressione periferica ma anche su quella centrale; 2) determinare gli effetti di tali condizioni sulle proprietà della parete arteriosa; 3) valutare gli effetti sulla pressione centrale e sulla rigidità arteriosa dell'acetazolamide.

METODI

È stato seguito lo stesso protocollo e sono stati utilizzati gli stessi strumenti

PARAMETERS	TREATMENT	SL-pre	SL-post	HA1	HA2
O ₂ SAT, %	PL	98±1.0	98.2±0.7	79.3±3.6	82.0±4.6
	AC	98±1.0	98.4±0.8	84.7±4.2 ^{oo}	87.5±3.9 ^{oo}
CaO ₂ , mL/dL	PL	18.45±1.80	18.1±1.8	14.6±1.6	15.7±1.9
	AC	19.01±1.83	19.0±1.8	16.4±1.6	17.4±1.8
SEVR2	PL	1.66±0.19	1.63±0.15	1.18±0.17	1.42±0.22
	AC	1.51±0.30	1.68±0.25	1.35±0.18	1.65±0.24
SEVRxCaO ₂	PL	30.15±4.82	29.6±4.0	17.3±3.0	22.4±4.7
	AC	28.85±6.04	32.1±7.0	22.3±4.6	28.8±5.7

Table 2

Oxygen saturation, arterial oxygen content, SEVR and SEVR corrected for arterial oxygen content (mean ± DS), PL: placebo, AC: acetazolamide. (Altitude effect ^{oo}=p<0.05 vs PL). (modified from: Salvi P, et al., *Hypertensione* 2013⁸).

Valori di saturazione, contenuto arterioso di ossigeno, SEVR e SEVR corretto per contenuto arterioso di ossigeno (media ± DS), PL: placebo, AC: acetazolamide. (Effetto quota ^{oo}=p<0,05 vs PL). (modificata da: Salvi P, et al., *Hypertensione* 2013⁸).

(3rd day) high altitude exposure is associated with a significant Alx@75 increase (Figure 2) in the PL group (-7.6±13.9% vs. -0.15±13.6% at HA1 e -0.23±14.6% at HA2; p<0.05), but not in the active treatment group (-12.3±10.26% vs. -7.2±12.3% at HA1 and -6.5±11.0% at HA2). Subjects from the acetazolamide group showed constantly lower Alx values than PL's subjects.

No significant differences have been detected between randomization groups for cf-PWV or cr-PWV during high altitude exposure, even after correction for confounding factors (heart rate, mean arterial blood pressure, age) (Figure 3 and Figure 4). Peripheral hemoglobin oxygen arterial saturation (SpO₂) decreased

del progetto HIGHCARE Himalaya. Per il sottostudio delle proprietà delle arterie sono stati analizzati i dati raccolti da 19 soggetti in acetazolamide e da 20 soggetti in placebo. Al basale non vi erano differenze significative nei parametri antropometrici dei due gruppi.

RISULTATI

Nel gruppo in placebo la pressione sistolica periferica (misurata con metodica oscillometrica al braccio e soggetto in posizione supina) e centrale (derivata, come precedentemente descritto, dalla forma d'onda acquisita a livello carotideo) non si modificava in modo significativo con l'esposizione all'alta quota, presentando poi un aumento modesto e non significativo dopo esposizione più prolungata. Nel gruppo in acetazolamide la pressione sistolica periferica diminuiva significativamente, a causa del trattamento, sia a livello del mare che all'arrivo in alta quota. Dopo esposizione più prolungata in alta quota, la pressione periferica sistolica ritornava a valori paragonabili al basale. Comparando i due gruppi, la pressione periferica sistolica risultava più bassa nel gruppo in AC solo dopo esposizione acuta (p=0,011). La riduzione della pressione sistolica centrale era minore e non risultava statisticamente significativa (risultati riportati in Tabella 1 e Figura 1). L'esposizione acuta e prolungata (3° giorno) ad alta quota era associata ad un significativo incremento dell'Alx@75 (Figura 2) rispetto ai valori basali nel gruppo placebo (-7,6±13,9% vs. -0,15±13,6% a HA1 e -0,23±14,6% a HA2; p<0,05), ma non nel gruppo in trattamento attivo (-12,3±10,26% vs. -7,2±12,3% a HA1 e



LEFT

Pulse Pen (Diatecne), a tonometric device for viscoelastic arterial properties evaluation.

SINISTRA

Pulse Pen (Diatecne), strumento tonometrico per la valutazione delle proprietà delle arterie.

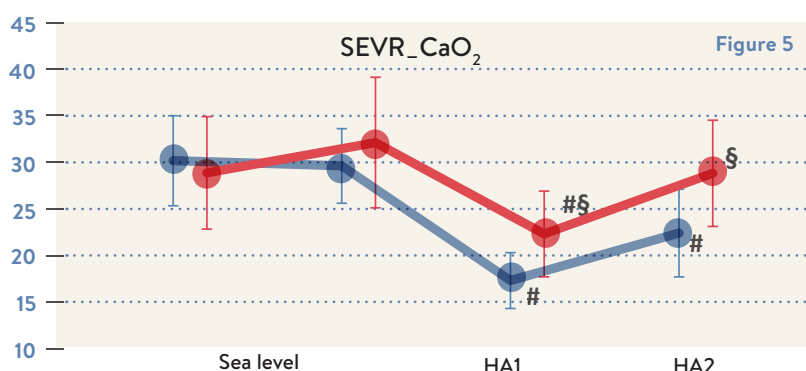
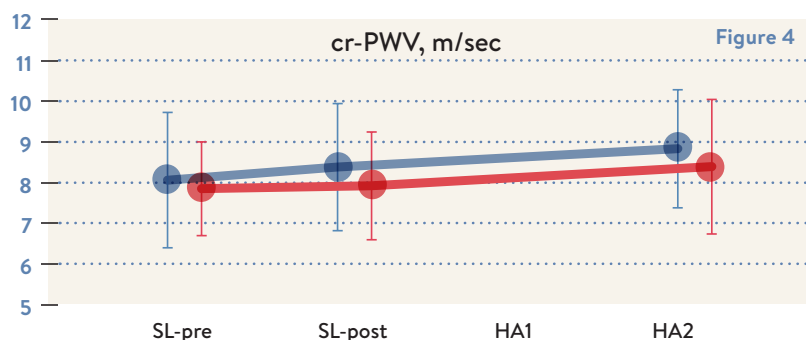


Figure 4

Carotid-radial Pulse Wave Velocity.

Velocità dell'onda di polso carotido-radiale.

Figure 5

SEVR adjusted for CaO_2 (#= $p<0.001$ vs. SLpost; §= $p<0.001$ vs. PL). (modified from: Salvi P, et al., *Hypertensione* 2013⁸).

SEVR corretto per CaO_2 (#= $p<0.001$ vs. SLpost; §= $p<0.001$ vs. PL). (modificata da: Salvi P, et al., *Hypertensione* 2013⁸).

PLACEBO

ACETAZOLAMIDE

in both groups during acute high altitude exposure, and then partially recover during prolonged exposure (Table 2). The reduction in SpO_2 was significantly higher in the PL group than in the acetazolamide group.

In the placebo group, SEVR was significantly lower during acute high altitude exposure compared to sea level ($p<0.001$). After 3 days of high altitude exposure, we observed an increase in SEVR values, even though it remained significantly lower than at sea level. In order to highlight hypoxia effects, SEVR was multiplied for CaO_2 ; in the PL group we found a reduction during high altitude exposure, from 29.6 ± 4.0 to 17.3 ± 3.0 ($p<0.001$). After 3 days, $\text{SEVR}\times\text{CaO}_2$ remained significantly lower than at baseline ($p<0.001$) (Table 2 and Figure 5). In the acetazolamide group, SEVR significantly decreased during high altitude exposure ($p<0.001$), even though those values were significantly higher ($p<0.005$) than the PL group's. After 3 days of exposure, SEVR recovered to basal-like values, still remaining significantly different from PL group. In the acetazolamide group, during acute high altitude exposure, $\text{SEVR}\times\text{CaO}_2$ significantly decreased compared to baseline ($p<0.001$), but maintained significantly higher values than the PL group's. After 3 days, it returned to basal values; moreover, at this time we found also a significant difference between acetazolamide and placebo groups ($p<0.001$).

$-6.5\pm11.0\%$ a HA2). I soggetti trattati con acetazolamide mostravano costantemente valori di Alx più bassi rispetto ai soggetti in placebo. Non sono state riscontrate differenze significative nei valori di cf-PWV né di cr-PWV in alta quota nei due gruppi, anche dopo correzione per fattori confondenti quali frequenza cardiaca, pressione arteriosa media, ed età dei soggetti (Figure 3 e 4). In entrambi i gruppi si è osservata una riduzione della saturazione ematica di ossigeno in esposizione acuta all'alta quota, ed un progressivo recupero in esposizione più prolungata (Tabella 2). La desaturazione di ossigeno era significativamente maggiore nel gruppo in placebo rispetto al gruppo in trattamento attivo.

Nei soggetti in placebo, all'arrivo ad alta quota, il SEVR era significativamente ridotto rispetto al livello del mare ($p<0.001$). Dopo 3 giorni di permanenza in alta quota si è osservato un incremento del SEVR, sebbene esso sia rimasto a valori significativamente inferiori rispetto al basale a livello del mare. Per evidenziare gli effetti dell'ipossia, il SEVR è stato moltiplicato per la CaO_2 ; nel gruppo in placebo si è osservata una riduzione in alta quota da 29.6 ± 4.0 a 17.3 ± 3.0 ($p<0.001$). Dopo 3 giorni di permanenza in alta quota, i valori di $\text{SEVR}\times\text{CaO}_2$ rimanevano significativamente più bassi rispetto al basale ($p<0.001$). (Tabella 2 e Figura 5). Nei soggetti in acetazolamide il SEVR decresce in alta quota in acuto in maniera significativa ($p<0.001$), tuttavia questi valori risultano significativamente più alti ($p<0.005$) rispetto al gruppo in placebo, con un ritorno a valori simili al basale dopo 3 giorni di esposizione in alta quota, mantenendo una significativa differenza rispetto al gruppo in placebo. All'arrivo in alta quota il $\text{SEVR}\times\text{CaO}_2$ diminuisce nei soggetti in acetazolamide rispetto al basale ($p<0.001$), con valori significativamente più alti rispetto ai soggetti in PL e ritorna ai valori basali dopo 3 giorni di acclimatazione in quota; anche in questo caso la differenza tra AC e PL rimane significativa ($p<0.001$).

CONCLUSIONI

L'esposizione acuta e leggermente prolungata ad alta quota è associata ad un significativo incremento dell' $\text{Alx}@75$ nel gruppo placebo, ma non nel gruppo in acetazolamide, dove i soggetti trattati con farmaco attivo mostrano costantemente valori di Alx più bassi. Tale dato indica come l' Alx , che a livello del mare non si modifica con il trattamento, in quota sia



CONCLUSIONS

Acute and slightly prolonged high altitude exposure is associated with a significant increase in $Alx@75$ in the PL but not in the acetazolamide group. In fact, subject randomized to active treatment showed persistently lower Alx values. This finding reveals how Alx is influenced by acetazolamide therapy during high altitude exposure. In consideration of the diuretic properties of this drug, we hypothesized an impact of volemia on Alx ; in fact, we hypothesized that acetazolamide intake may cause a reduction in the hypoxia-induced sympathetic activation through volemia reduction and arterial oxygenation improvement.^{1,4} Moreover, acetazolamide directly inhibits calcium release from sarcoplasmic reticulum, opens calcium-dependent potassium channels in the smooth muscles and influences local NO production.^{2,3,5} In the PL group Alx remained stable, accordingly with our Himalayan study's data: along with stable Alx from sea level to high altitude, a reduction in subject's body weight was observed, probably due to dehydration. On the other hand, SEVR evaluation showed a significant reduction in the endocardial supply/demand ratio, in

influenzato dalla terapia con acetazolamide. Avendo tale farmaco una attività diuretica è ipotizzabile che in quota la volemia abbia un ruolo importante nel determinare tale parametro; sebbene tale condizione ambientale stimoli l'attivazione del SNS, nei soggetti in acetazolamide verosimilmente lo stimolo simpatico è minore poiché vi è una ridotta volemia ed una migliore ossigenazione.^{1,4} Inoltre l'acetazolamide di per sé agisce a livello cellulare inibendo il rilascio degli ioni calcio dal reticolo sarcoplasmatico, aprendo i canali del potassio calcio-dipendenti nelle cellule della muscolatura liscia vascolare ed influenzando nella produzione locale dell'ossido nitrico.^{2,3,5} Nei soggetti non in terapia con acetazolamide non si osserva alcuna alterazione a carico dell' Alx , tale dato è concorde con quanto osservato nel precedente studio in Himalaya in cui, a fronte di valori di Alx in quota non differenti dal basale, si è osservata una diminuzione del peso corporeo dei soggetti, in prima istanza attribuibile a disidratazione.

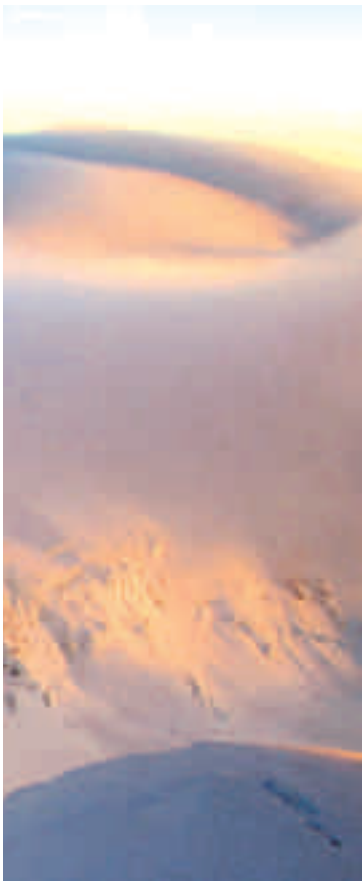
Per quanto riguarda il SEVR, vi è una significativa riduzione nel rapporto offerta/domanda del subendocardio in entrambi i gruppi, sebbene nel gruppo in trattamento attivo si osservi una attenuazione di tale fenomeno; questo permette di ipotizzare un effetto dell'acetazolamide nel

ABOVE

Gnifetti Peak ridge (4554m), Italy-Switzerland border at sunset.

SOPRA

La cresta della Punta Gnifetti (4.554m), confine Italo-Svizzero, al tramonto.



both study groups, although in the active treatment group this finding was less evident. We hypothesized a role for acetazolamide in saving subendocardial perfusion at high altitude. Probably, heart rate (HR) variations are the underlying mechanism for SEVR and SEVR $\times$ CaO₂ changes; in fact, HR significantly increases in the PL group, recovering toward normal after 3 day's exposure. A similar trend has been observed also in the acetazolamide group, but less pronounced. For a given HR increase, diastolic time reduction (as previously described) is much more than systolic's; during acute exposure, we observed a diastolic time reduction of 29% and 23% in the PL ($p<0.001$) and acetazolamide group ($p<0.005$), respectively. No significant differences have been observed between groups for systolic and mean blood pressure at high altitude. PWV doesn't significantly differ, neither in the carotid-femoral nor in the axillary-brachial segments. Viscoelastic aortic properties vary because of structural arterial wall alteration and just slightly for functional modifications;⁶ acute exposure to high altitude doesn't interfere significantly with big arteries' mechanical properties. On the other hand, the findings in the axillary-brachial segment (which is more sensitive to functional alterations) suggest a balance between high altitude sympathetic-induced vasoconstriction and local vasodilating phenomena.

preservare la perfusione subendocardica in quota. Le alterazioni indotte dall'alta quota sulla frequenza cardiaca sono verosimilmente alla base di quanto osservato per il SEVR e il SEVR $\times$ CaO₂; la frequenza cardiaca sale significativamente in quota nel gruppo PL, con un ritorno a valori basali al terzo giorno. Un simile andamento si osserva anche nel gruppo AC, nel quale, tuttavia, l'incremento in acuto è meno pronunciato. In relazione alla frequenza, il tempo diastolico (come precedentemente descritto) si riduce maggiormente rispetto al tempo sistolico; in esposizione acuta si osserva una riduzione del tempo diastolico del -29% nel gruppo PL ($p<0,001$) e di -23% nel gruppo AC ($p<0,005$). Non si sono osservate differenze significative nei valori di SBP e MBP tra i gruppi in alta quota. Non sono state invece rilevate differenze della PWV né a carico del distretto carotido-femorale né a carico dell'asse axillo-brachiale. Le proprietà viscoelastiche dell'aorta variano in relazione ad alterazioni strutturali della parete arteriosa e solo debolmente a causa di modificazioni funzionali⁶, e l'esposizione rapida ad alta quota non permette di influenzare significativamente le proprietà meccaniche delle grandi arterie. Il dato a carico dell'asse axillo-brachiale (che risente maggiormente di alterazioni di tipo funzionale), fa presupporre, di contro, un bilanciamento tra la componente di vasocostrizione dettata dall'attivazione del sistema simpatico in alta quota e fenomeni locali di vasodilatazione.

1. Swenson ER, Hughes JM. Effects of acute and chronic acetazolamide on resting ventilation and ventilatory responses in men. *J Appl Physiol* 1993;74:230–237. 2. Swenson ER. Carbonic anhydrase inhibitors and hypoxic pulmonary vasoconstriction. *Respir Physiol Neurobiol* 2006;151:209–216. 3. Aamand R, Dalsgaard T, Jensen FB, Simonsen U, Roepstorff A, Fago A. Generation of nitric oxide from nitrite by carbonic anhydrase: a possible link between metabolic activity and vasodilation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2009;297: H2068–H2074. 4. Vovk A, Duffin J, Kowalchuk JM, Paterson DH, Cunningham DA. Changes in chemoreflex characteristics following acute carbonic anhydrase inhibition in humans at rest. *Exp Physiol* 2000;85:847–856. 5. Pickkers P, Hughes AD, Russel FG, Thien T, Smits P. In vivo evidence for K(Ca) channel opening properties of acetazolamide in the human vasculature. *Br J Pharmacol*. 2001 Jan;132(2):443-50. 6. Nichols W, O'Rourke M. McDonald's *Blood Flow in Arteries. Theoretical, Experimental and Clinical Principles*. 5th ed. London: Edward Arnold; 2005.

HIGHCARE REFERENCES - BIBLIOGRAFIA HIGHCARE:

7. Parati G, Revera M, Giuliano A, Faini A, Bilo G, Gregorini F, Lisi E, Salerno S, Lombardi C, Ramos Becerra CG, Mancia G, Salvi P. Effects of acetazolamide on central blood pressure, peripheral blood pressure, and arterial distensibility at acute high altitude exposure. *Eur Heart J*. 2013 Mar;34(10):759-66. doi: 10.1093/eurheartj/ehs140. Epub 2012 Jun 17.
8. Salvi P, Revera M, Faini A, Giuliano A, Gregorini F, Agostoni P, Becerra CG, Bilo G, Lombardi C, O'Rourke MF, Mancia G, Parati G. Changes in subendocardial viability ratio with acute high-altitude exposure and protective role of acetazolamide. *Hypertension*. 2013 Apr;61(4):793-9. doi: 10.1161 / HYPERTENSIONAHA.111.00707. Epub 2013 Feb 25.

COGNITIVE ALTERATIONS DURING ACUTE HIGH ALTITUDE HYPOBARIC HYPOXIA EXPOSURE

ALTERAZIONI DELLE FUNZIONI COGNITIVE DURANTE
ESPOSIZIONE ACUTA AD IPOSSIA IPOBARICA IN ALTA QUOTA



Previously, in HIGHCARE-Himalaya study we have demonstrated the presence of cognitive changes during high altitude exposure, mainly due to frontal function impairment. Computerized assessment methods demonstrated to be more reliable than traditional neuropsychological tests in this setting. In HIGHCARE-Alps 2010 study we focused on the effects of acute high altitude hypobaric hypoxia exposure (within few hours from arrival) on cognitive function, evaluated by computerized tests.

Il precedente studio HIGHCARE-Himalaya ha evidenziato modificazioni cognitive in alta quota coinvolgenti soprattutto l'efficienza frontale, nonché una maggiore sensibilità delle metodologie di *assessment* computerizzate, rispetto alle tradizionali misure neuropsicologiche. Obiettivo del presente studio sulle Alpi è stato quello di chiarire gli effetti cognitivi dell'esposizione acuta (entro poche ore dall'arrivo in quota) ad ipossia ipobarica in alta quota, mediante prove computerizzate.

ABOVE

Mountains of Alta Valsesia park seen from Regina Margherita Hut.

SOPRA

Le cime del parco dell'Alta Valsesia viste dalla Capanna Regina Margherita.

METHODS

Thirty-nine participants of HIGHCARE-Alps 2010 (18 female, 21 males, mean age 37.1 ± 8.9 years) underwent adequate and complete neuropsychological testing at sea level and during acute exposure to 4559m. Attention skills and frontal functions have been evaluated through a computerized neuropsychological tests set (TEA – Test for auditory and visual Attention Evaluation), elaborated by Zimmerman e Fimm (1994), which includes 12 elements: alertness, working memory, eye movements, field view examination/hemiattention, divided attention, test go/no go, spatial incompatibility, intramodal competition, answer flexibility, shift of visual attention, visual surveillance, visual scouting. Subjects also had to fill in a questionnaire for anxiety evaluation. Collected data have been correlated with cardiovascular and respiratory parameters.

RESULTS

Our data show significant quantitative modifications of the cognitive performance between sea level and high altitude, in particular for attention skills and frontal function evaluated by TEA. In fact, reaction times significantly increased during high altitude exposure in the “alert” subgroup, both with and without warning; in the “divided attention” subgroup, for auditory skills; in the “sustained attention” subgroup, in the time interval 5-10 minutes and in the subgroup with “left incompatibility”.

CONCLUSIONS

In conclusion, thanks to computerized neuropsychological tests, even minor variations in cognitive function during hypoxia have been detected. In particular, reaction times, to a larger extent than mistakes, seem to be a useful index of hypoxia induced impairment in cognitive functions. As in the previous study, our new data are of potential clinical relevance in subjects affected by chronic hypoxic conditions.

METODI

Trentanove soggetti sani (18 femmine, 21 maschi, età media: $37,1 \pm 8,9$ anni) sono stati sottoposti ad una breve valutazione neuropsicologica a livello del mare e durante esposizione acuta a 4.559m. Le capacità attentive ed il funzionamento frontale sono stati indagati attraverso una batteria neuropsicologica computerizzata (TEA - Test per l'Esame dell'Attenzione visiva-uditiva) di Zimmerman e Fimm (1994) che comprende 12 prove: allerta, memoria di lavoro, movimenti oculari, esame del campo visivo/emiattenzione, attenzione divisa, test go/no go, incompatibilità spaziale, confronto intermodale, flessibilità di risposta, spostamento dell'attenzione visiva, vigilanza visiva, esplorazione visiva. È stato somministrato anche un questionario per valutare la presenza di ansia. I dati così ottenuti sono stati correlati con i parametri della funzionalità respiratoria e cardiovascolare.

RISULTATI

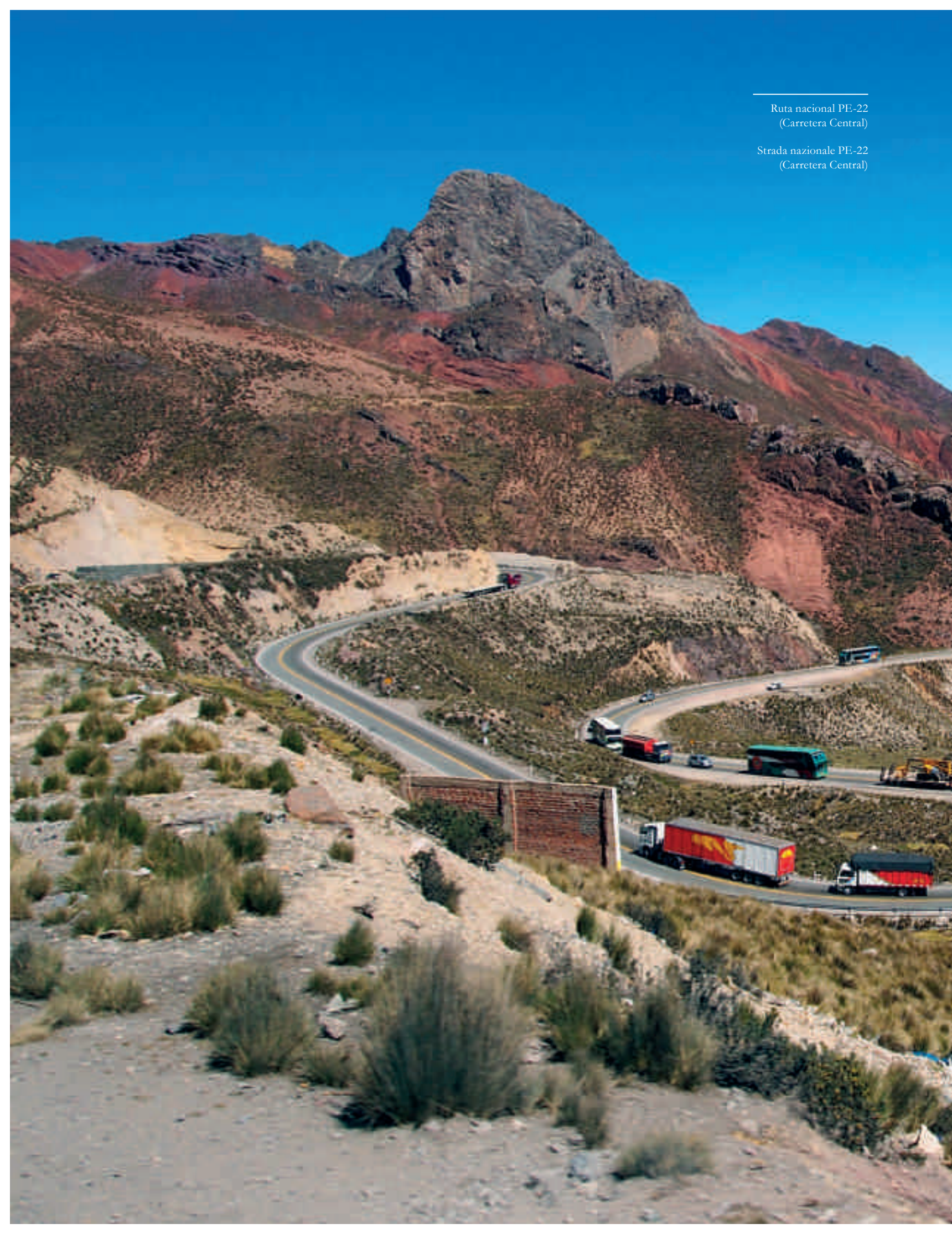
I dati ottenuti mostrano differenze quantitative nella performance cognitiva tra livello del mare ed alta quota, soprattutto per quanto concerne le abilità attentive e frontali valutate dalla TEA. In particolare, si è osservato un aumento significativo dei tempi di reazione in alta quota nella sottocomponente di “allerta”, sia senza preavviso, sia con allarme; nella sottocomponente “attenzione divisa”, con riferimento al compito uditivo; nella sottocomponente “attenzione sostenuta”, nella fascia di tempo 5 - 10 minuti, e nella sottocomponente “incompatibilità sinistra”.

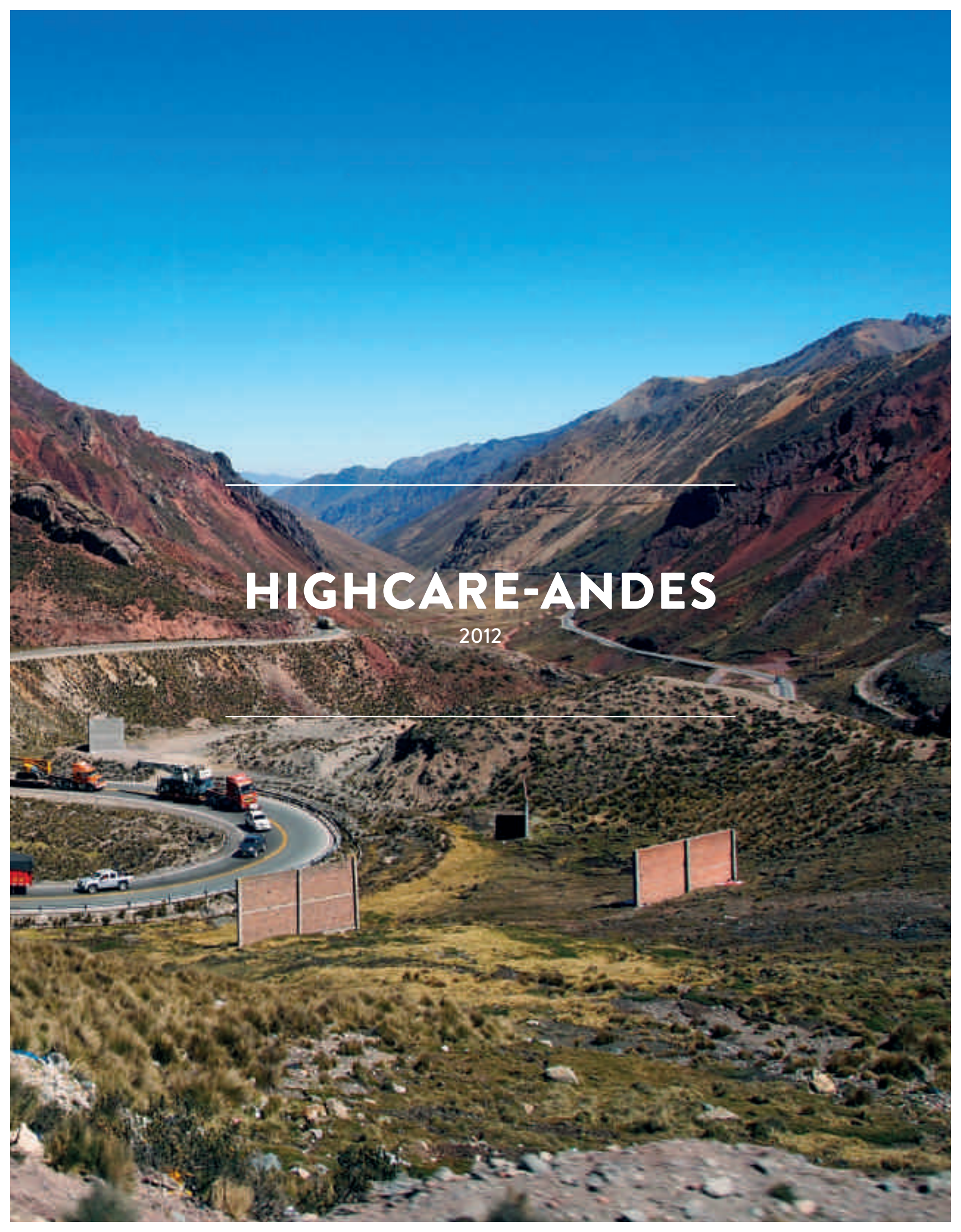
CONCLUSIONI

In conclusione, mediante tali test neuropsicologici computerizzati è stato possibile rilevare anche minimi cambiamenti nel funzionamento cognitivo frontale in condizioni di ipossia. In particolare, i tempi di reazione, in misura maggiore rispetto agli errori, risultano utili per rilevare l'influenza dell'ipossia sulle prestazioni cognitive. Così come per i risultati ottenuti del precedente studio, anche questi dati assumono rilevanza clinica nei soggetti affetti da patologie legate ad ipossiemia cronica.

Ruta nacional PE-22
(Carretera Central)

Strada nazionale PE-22
(Carretera Central)





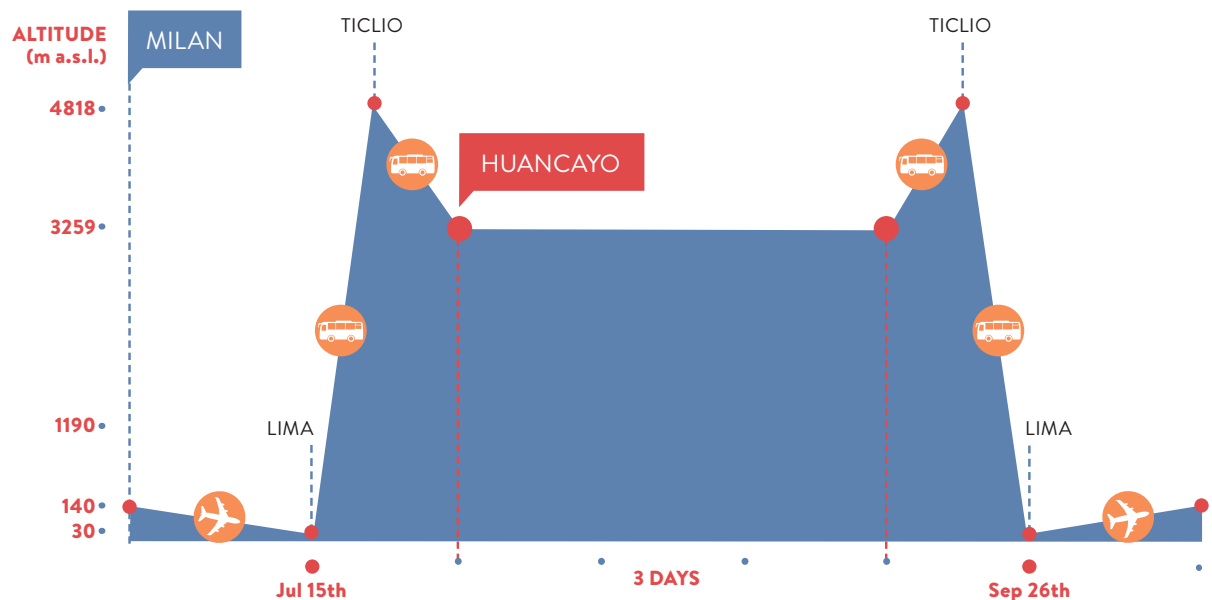
HIGHCARE-ANDES

2012

HIGHCARE-ANDES

NUMBERS, FACTS AND IMAGES

HIGHCARE-ANDE, Numeri, Dati e Immagini della spedizione



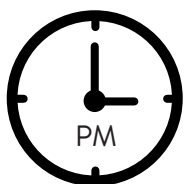
THE EXPEDITION

Timing, altimetry and sites.

LA SPEDIZIONE

Date, altimetria e luoghi della spedizione.

WHEN - Quando

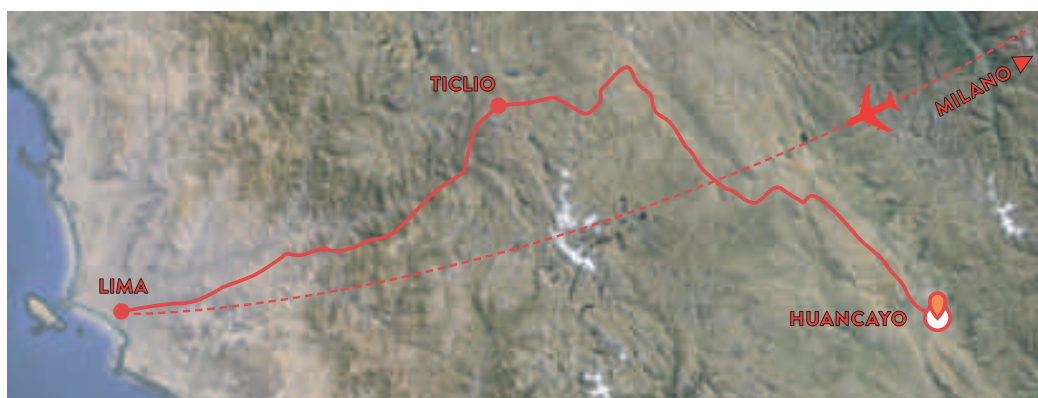


Italy



Peru

THE ROUTE - Il percorso



EXPEDITION DATA - Numeri della spedizione

8 months, the whole study length

89 patients who completed all the study's steps

332 screened patients

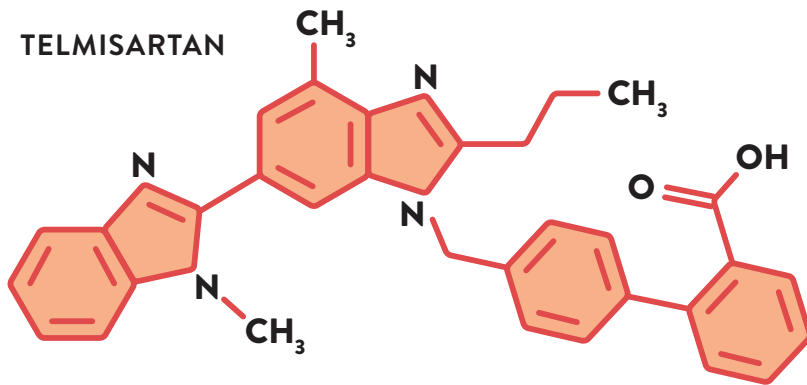
12.750 altitude variation at which expedition participants have been exposed during Lima to Huancaayo and return journey



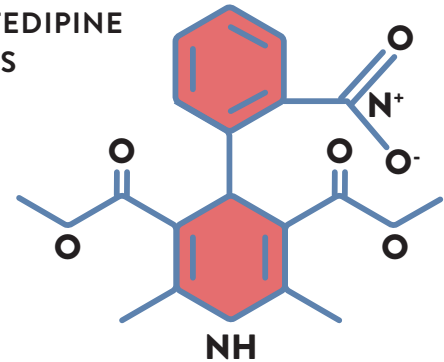
WORLD LOCALIZATION

Localizzazione

STUDY DRUGS - Farmaci studiati



NIFEDIPINE
GITS



PARTICIPANTS Partecipanti



21
Y.O.

TO

65
Y.O.

METHODS - Metodi



RANDOMIZED TRIAL



TELMISARTAN + NIFEDIPINE
VS. PLACEBO



100 MILD HYPERTENSIVE
PATIENTS



ALTITUDE EXPOSURE:
ACUTE



ALTITUDE REACHED:
3259 M

ASSESSMENTS - Valutazioni



CARDIOVASCULAR:

Conventional BP measurement,
24 hour ambulatory blood pressure
monitoring, echocardiography,
arterial properties evaluation



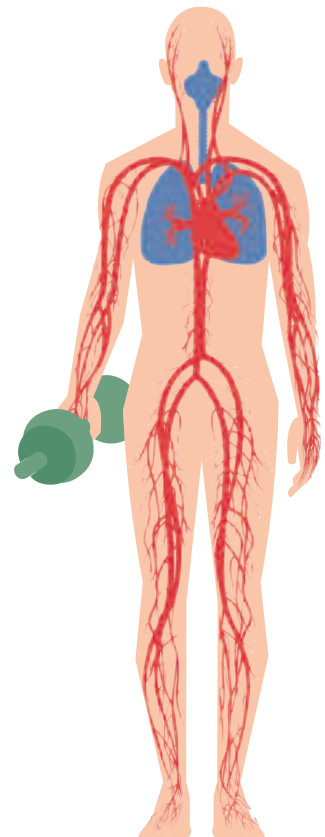
EXERCISE PERFORMANCE:

Six minute walking test,
Cardiopulmonary Exercise Test



RESPIRATORY:

Sleep study by cardiorespiratory
polysomnography



SETTING, RATIONALE AND GENERAL AIMS

SCENARIO, RAZIONALE E OBIETTIVI GENERALI



The Andes are among the highest mountain chains in the world, second only to Himalaya and Karakorum. Their highest summit is Aconcagua with the altitude of 6962 meters. They are also the world's longest mountain chain spanning over 7000 kilometres, throughout the entire length of South America, along its western, pacific coast. The Andes are also the homeland of many different populations who brought an impressive contribution to the cultural development of humans.

The best known of them were the Incas, who created a huge, even if short-lived empire with a capital in Cuzco, destroyed in early 16th century by the Spanish conquistadores headed by Francisco Pizarro. Even if the Inca

La cordigliera delle Ande è tra le più alte catene montuose del mondo, seconda solo ad Himalaya e Karakorum. La vetta più alta è l'Aconcagua, che raggiunge un'altitudine di 6.962 metri. Le Ande sono la più lunga catena montuosa del mondo, estendendosi per oltre 7.000km percorrendo tutta la lunghezza del Sud America lungo la costa Pacifica occidentale.

Esse rappresentano la patria di molti popoli, fautori di maestose culture; fra di essi il più conosciuto è il popolo Inca, che ha edificato un impero enorme, sebbene di breve durata, la cui capitale Cuzco fu distrutta all'inizio del XVI secolo dai *conquistadores* spagnoli guidati da Francisco Pizarro. Anche se l'impero Inca ha costruito e lasciato in eredità i monumenti più imponenti di epoca precolombiana, tra

ABOVE

The ruins of Machu Picchu.

SOPRA

Le rovine di Machu Picchu.

left the most impressive of pre-Columbian monuments, including the stunning Machu Picchu town, they were preceded by a number of other important populations carrying significant cultural progress, such as Chavin, Tiwanaku, Chimu or Wari who left artefacts that today can be admired in numerous museums. Although, over the centuries, some degree of mixing with European and African newcomers took place, the descendants of these populations still inhabit the Andes and can be identified in the Quechua and Aymara populations of today.

A distinct feature of the Andes is the presence of large plateaus located at altitudes reaching well above 4000 meters. Despite the altitude, the proximity to the equator and the climatic features of this area make the conditions sufficiently favourable for the development of agriculture and, therefore, for human settlement. It is estimated that about 35 million people live above 2500m in South America, being this the largest highland population outside Chinese territory. Considering the above, it is no wonder that South America has given an important contribution to high altitude research. In particular, the interest in the pathophysiology and clinical consequences of permanent residence at high altitude has led, following the pioneering studies of Carlos Monge (whose name has been associated with chronic mountain sickness, known commonly as Monge's disease) and Dante Penalzoa, to the development of an important centre for high altitude research, which currently constitutes a part of Univesidad Peruana Cayetano Heredia in Lima, Peru.

The collaboration of Istituto Auxologico Italiano and of University of Milano-Bicocca with this University has made possible the realization of the HIGHCARE-ANDES project, whose primary focus was to study the relationships between blood pressure and high altitude hypoxia. The project attempted to address these relationships from two perspectives and this was done within the frame of two distinct studies. The Lowlanders Study was a randomized trial comparing the effects of a combination of two antihypertensive agents with the effects of placebo in hypertensive subjects exposed to moderately high altitude. The Highlanders Study was a cross-sectional survey among individuals living permanently at high altitude, focused on hypertension prevalence and determinants in this population.

cui la splendida città di Machu Picchu, esso è stato preceduto da numerose altre importanti culture come la Chavin, la Tiwanaku, la Chimu o la Wari, i cui reperti archeologici si possono ammirare oggi in numerosi musei. Sebbene nel corso dei secoli si sia verificato un certo grado di mescolanza con i nuovi arrivati europei ed africani, i discendenti diretti di questi popoli ancora abitano le Ande e possono essere identificati nelle odierne popolazioni Quechua e Aymara.

La caratteristica distintiva delle Ande è la presenza di grandi altipiani, siti ad altitudini che superano i 4.000m. Nonostante la quota, la vicinanza con l'equatore e le caratteristiche climatiche di queste regioni rendono le condizioni ambientali sufficientemente favorevoli per lo sviluppo dell'agricoltura e, quindi, per l'insediamento umano. Si stima che circa 35 milioni di persone in Sud America vivano al di sopra dei 2.500m, rappresentando quindi nel mondo la popolazione più numerosa residente in alta quota al di fuori del territorio cinese. Sulla base di tali premesse, non c'è da meravigliarsi che il Sud America abbia fornito un importante contributo alla ricerca in alta quota. In particolare, l'interesse per la fisiopatologia e le conseguenze cliniche dell'esposizione prolungata all'alta quota dei popoli residenti ha portato, in seguito agli studi pionieristici di Carlos Monge (il cui nome è stato associato a "mal di montagna" cronico, conosciuta comunemente come "malattia di Monge") e Dante Penalzoa, allo sviluppo di un importante centro di ricerca d'alta quota, che attualmente fa parte della Universidad Peruana Cayetano Heredia di Lima, in Perù.

La collaborazione dell'Istituto Auxologico Italiano e dell'Università degli Studi di Milano-Bicocca con l'Università Peruviana ha reso possibile la realizzazione del progetto HIGHCARE-ANDES, con l'obiettivo primario di studiare la relazione tra pressione arteriosa ed ipossia ipobarica da alta quota. Il progetto ha focalizzato questo rapporto da due diversi punti di vista, realizzando due studi distinti: lo studio Lowlanders, un trial randomizzato di confronto per valutare gli effetti di combinazione di due farmaci antipertensivi rispetto a placebo in soggetti ipertesi esposti a quote moderatamente elevate, e lo studio Highlanders, uno studio trasversale su soggetti che risiedono permanentemente in alta quota e focalizzato sulla prevalenza ed i determinanti dell'ipertensione arteriosa in questa popolazione.

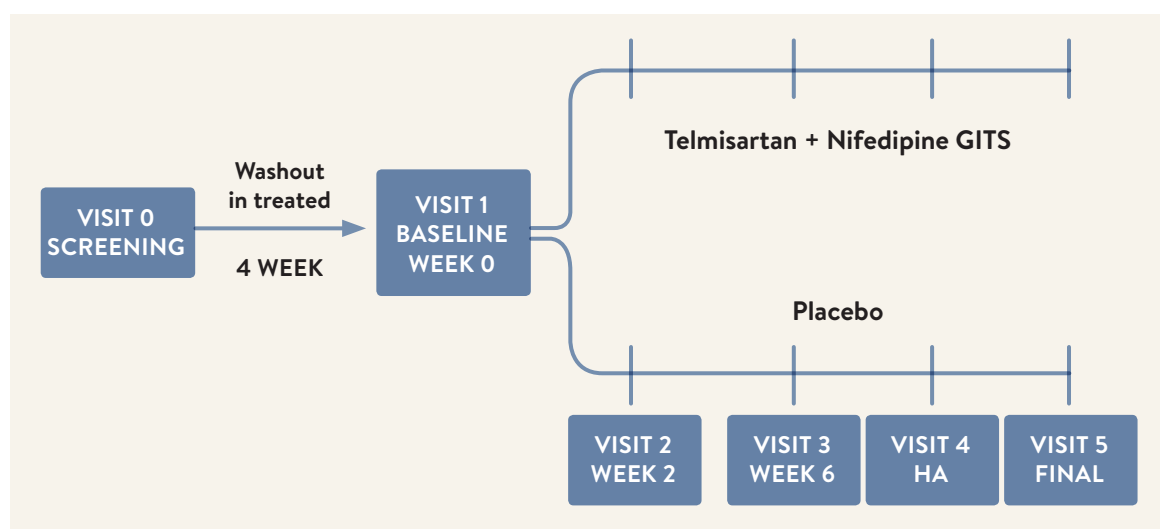


Figure 1

Study design and visits
HA – High altitude.

Disegno dello studio
e delle visite
HA – Alta quota.

THE LOWLANDERS STUDY

This study was a logical continuation of previous research on blood pressure responses to high altitude performed in the frame of HIGHCARE projects. In particular, HIGHCARE-Himalaya demonstrated the presence of an acute pressor effect of high altitude exposure in healthy lowlanders. On this background, our ambition was to extend the evidence also to hypertensive lowlanders in whom neither the presence nor the extent of a similar pressor response have ever been adequately documented. Also, given that little information is available regarding the choice of drugs effective in preventing an excessive BP increase at high altitude, we investigated the blood pressure effects in such a condition of the combination of the angiotensin receptor blocker (ARB) telmisartan and the calcium channel blocker nifedipine.

In the healthy participants of HIGHCARE-Himalaya, telmisartan has maintained the BP lowering efficacy observed at sea level, at 3400m, but not at 5400m altitude. Nifedipine, on the other hand, is a drug used not only in the treatment of hypertension, but also in the treatment of high altitude pulmonary oedema because of its vasodilating effect on pulmonary arteries. However, its effects on systemic BP at high altitude have not been systematically studied yet.

The principal aims of Lowlanders study were thus to assess: 1) the response of BP to high altitude exposure in hypertensive individuals residing at sea level and, 2) the efficacy and safety of the combination of telmisartan and nifedipine GITS in preventing a possible excessive BP increase in hypertensive subjects exposed to high altitude.

LO STUDIO “LOWLANDERS”

Questo studio rappresenta la logica continuazione delle precedenti ricerche incentrate sulla risposta pressoria in alta quota eseguite nel contesto dei progetti HIGHCARE, in particolare di HIGHCARE-Himalaya, nel quale si è osservato l’effetto dell’esposizione acuta ad alta quota sulla pressione arteriosa in soggetti sani residenti a livello del mare. Sulla base di questo background, scopo dello studio sulle Ande è stato quello di estendere tali osservazioni anche ai soggetti ipertesi residenti a bassa quota, nei quali la risposta pressoria in esposizione ad alta quota non è mai stata adeguatamente documentata. Inoltre, poiché sono disponibili solo scarse informazioni sulla scelta dei farmaci utili nel prevenire l’incremento di pressione arteriosa in alta quota, è stato studiato l’effetto sulla pressione arteriosa della associazione tra un bloccante del recettore dell’angiotensina (ARB), il telmisartan, e di un calcio-antagonista diidropiridinico a lunga durata di azione, la nifedipina-GITS.

Nei soggetti sani che avevano partecipato alla spedizione HIGHCARE-Himalaya, il telmisartan aveva mantenuto l’effetto antipertensivo oltre che a livello del mare anche a 3.400m, ma non a 5.400m. La nifedipina è un farmaco usato non solo nel trattamento dell’ipertensione, ma anche nell’edema polmonare da alta quota, per il suo effetto vasodilatante a carico delle arterie polmonari. Tuttavia, i suoi effetti sulla pressione arteriosa sistemica in alta quota non sono stati ancora studiati in modo sistematico. I principali obiettivi dello studio Lowlanders sono stati quelli di valutare: 1) la risposta della pressione arteriosa in esposizione acuta all’alta quota in soggetti ipertesi residenti al

However, besides measuring blood pressure, the study involved also a series of other assessments providing a more comprehensive physiological framework for the observed changes. Among the results of these other investigations, the blood pressure responses to exercise will be discussed in more detail.

livello del mare; 2) il profilo di efficacia e di sicurezza della combinazione telmisartan e nifedipina GITS nel prevenire un eventuale eccessivo incremento della pressione arteriosa in soggetti ipertesi esposti ad alta quota. Oltre alla valutazione del profilo pressorio, lo studio ha previsto anche una serie di

SELECTION CRITERIA OF HIGHCARE-ANDES LOWLANDERS STUDY

Criteri di selezione dello studio HIGHCARE-ANDES Lowlanders

INCLUSION CRITERIA

- ◇ Age 18-65 years
- ◇ Permanent residence at low altitude
- ◇ Conventional systolic BP 140-159 mmHg or conventional diastolic BP 90-99 mmHg and mean daytime systolic BP ≥ 135 and < 150 mmHg and/or mean daytime diastolic BP ≥ 85 and < 95 mmHg in subjects untreated or after 4 weeks of washout from previous treatment
- ◇ Written informed consent

EXCLUSION CRITERIA

- ◇ Conventional systolic BP ≥ 150 mmHg and/or conventional diastolic BP ≥ 95 mmHg in treated subjects
- ◇ Regular use of two or more antihypertensive drugs (except if on two antihypertensive drugs in low doses)
- ◇ Treated antihypertensive subjects in whom withdrawal of treatment was deemed unethical
- ◇ Contraindications to angiotensin receptor blockers or calcium antagonists
- ◇ History of serious mountain sickness
- ◇ Subjects who spent considerable amount of time at altitudes above 2500m during the 3 months preceding inclusion in the study
- ◇ Cardiovascular diseases other than hypertension
- ◇ Suspected or confirmed secondary hypertension
- ◇ Diabetes mellitus
- ◇ Serious respiratory disorders
- ◇ Other conditions deemed relevant by the investigators
- ◇ BMI ≥ 35 kg/m²
- ◇ Upper arm circumference > 32 cm
- ◇ Known severe obstructive sleep apnoea
- ◇ Pregnancy
- ◇ Premenopausal women not using effective contraceptive methods
- ◇ Elevated probability of noncompliance with the study procedures

CRITERI DI INCLUSIONE

- ◇ Et  18-65 anni
- ◇ Residenza permanente a livello del mare
- ◇ PA sistolica convenzionale 140-159 mmHg o PA diastolica convenzionale 90-99 mmHg e media diurna della PA sistolica ≥ 135 e < 150 mmHg e/o media diurna della PA diastolica ≥ 85 e < 95 mmHg nei soggetti non trattati o dopo 4 settimane di washout dai farmaci precedentemente assunti
- ◇ Firma del consenso informato

CRITERI DI ESCLUSIONE

- ◇ PA sistolica convenzionale ≥ 150 mmHg e/o PA diastolica convenzionale ≥ 95 mmHg nei soggetti trattati
- ◇ Assunzione regolare di due o pi  farmaci antipertensivi (eccetto se uno dei due farmaci assunto a basso dosaggio)
- ◇ Soggetti trattati con antipertensivo nei quali la sospensione della terapia possa essere non eticamente corretta
- ◇ Controindicazioni all'assunzione di sartani o calcio antagonisti
- ◇ Anamnesi positive per pregressi eventi severi di "male di montagna"
- ◇ Soggetti che abbiano trascorso una quantit  di tempo considerevole a quote superiori ai 2.500m nei 3 mesi precedenti l'arruolamento
- ◇ Presenza di patologie cardiovascolari, oltre all'ipertensione
- ◇ Forme sospette di ipertensione secondaria
- ◇ Diabete mellito
- ◇ Disordini respiratori severi
- ◇ Altre condizioni considerate rilevanti dai ricercatori
- ◇ BMI ≥ 35 kg/m²
- ◇ Circonferenza del braccio > 32 cm
- ◇ Storia di apnee ostruttive nel sonno di grado severo
- ◇ Gravidanza
- ◇ Donne in stato pre-menopausale che non utilizzassero metodi anticoncezionali
- ◇ Elevate probabilit  di non-compliance ai test previsti nello studio

	PRE-RANDOMIZATION PHASE	DOUBLE BLIND PHASE					
		VISIT 0 (SCREENING)	VISIT 1 (BASELINE)	VISIT 2	VISIT 3	VISIT 4	VISIT 5
		WEEK 4	WEEK 0	WEEK 3	WEEK 6		
SELECTION CRITERIA							
CLINICAL HISTORY							
SYMPTOMS AND ADVERSE EVENTS							
CONVENTIONAL BP							
VITAL SIGNS							
LAKE LOUISE SCORE							
24H ABPM							
ECHOCARDIOGRAPHY							
ARTERIAL PROPERTIES							
POLYSOMNOGRAPHY							
6 MINUTE WALKING TEST							
CARDIOPULMONARY EXERCISE TEST							
PULMONARY FUNCTION TESTS							
FLUID BALANCE CHART							
BLOOD AND URINE SAMPLES							

Table 1

Flowchart of Highcare-Andes Lowlanders Study visits and tests.

Flowchart dello studio e delle visite del progetto Highcare Andes Lowlanders.

STUDY PARTICIPANTS

Initially, 332 individuals residing permanently at sea level in the area of Lima, Peru, with known or suspected arterial hypertension, were screened. Subjects were included if they fulfilled the inclusion criteria and had no exclusion criteria (see Box “Selection criteria of HIGHCARE-ANDES Lowlanders study”).

All subjects underwent a general health check before the expedition, and gave written informed consent to participate. The protocol was approved by the Ethics Committees of participating institutions and the study was conducted in agreement with Declaration of Helsinki principles. The study was registered in the clinicaltrials.gov database with the identifier NCT01830530.

STUDY ORGANIZATION

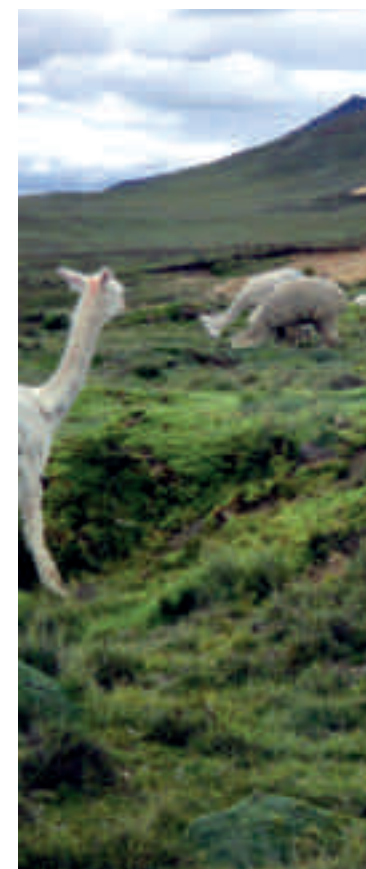
Subjects' eligibility was assessed at screening visit (Visit 0) and, in subjects previously on antihypertensive treatment, their suitability to be included in the study was again assessed after a 4-week washout period. At baseline sea level visit (Visit 1, week 0), one hundred eligible

altre valutazioni in grado di fornire un quadro fisiologico più completo delle alterazioni osservate in quota. Di questi, verrà esposta più nel dettaglio la risposta della pressione arteriosa all'esercizio.

PARTECIPANTI ALLO STUDIO

Sono stati inizialmente screenati 332 soggetti residenti permanentemente a livello del mare nel distretto di Lima, in Perù, con storia nota o sospetta di ipertensione arteriosa; i soggetti sono stati selezionati sulla base dei criteri di inclusione ed esclusione elencati nel Box “Criteri di selezione dello studio HIGHCARE-ANDES Lowlanders”.

Tutti i soggetti selezionati sono stati sottoposti ad un check-up generale ed hanno firmato il consenso informato per la partecipazione allo studio. Il protocollo dello studio è stato approvato dal comitato etico delle istituzioni che hanno sviluppato e realizzato il progetto, e lo studio è stato condotto in accordo con i principi della dichiarazione di Helsinki. Lo studio è stato registrato sul database clinicaltrials.gov con il numero identificativo: NCT01830530.



subjects were randomized to receive placebo or active treatment, and baseline study tests were completed. Afterwards subjects started receiving double blind telmisartan 80 mg plus nifedipine GITS 30mg or corresponding placebo in a single morning administration. After 2 weeks of treatment a safety visit was performed (Visit 2) to check for the presence of adverse events and laboratory abnormalities. After 6 weeks of double blind treatment, sea level tests were performed on-treatment (Visit 3). Afterwards the subjects were brought by car (within less than 1 week from Visit 3) to high altitude (Huancayo, Peru, 3260m) where they stayed for three days (2 nights) and underwent all tests performed at sea level, while continuing double-blind study treatment (Visit 4). Immediately after returning to sea level (still on study treatment), a final visit was performed with collection of BP data (Visit 5). The design of the study and the distribution of study visits are shown in Figure 1.

BELOW

Alpacas after shearing in Peruvian Andes.

SOTTO

Alpaca dopo la tosatura sulle Ande Peruviane.

STUDY DRUGS

Commercially available tablets of nifedipine GITS 30 mg and telmisartan 80 mg were used in the active treatment arm, while sucrose was used as placebo. Study medications

DISEGNO DELLO STUDIO

L'eleggibilità dei soggetti allo studio è stata valutata al momento della visita di screening (Visita 0) e, per i soggetti già in trattamento antipertensivo, nuovamente dopo un periodo di washout di 4 settimane. Durante la visita basale a livello del mare (Visita 1, settimana 0) 100 soggetti rispondenti ai requisiti dello studio sono stati randomizzati a ricevere placebo o trattamento attivo, e sono state completate le prove basali. Successivamente, i soggetti hanno iniziato ad assumere in doppio cieco telmisartan 80mg più nifedipina GITS 30mg o placebo, in una singola somministrazione al mattino.

Dopo 2 settimane di trattamento è stata eseguita una visita di sicurezza (Visita 2) per verificare l'eventuale insorgenza di eventi avversi o alterazioni dei parametri di laboratorio. Dopo 6 settimane di trattamento in doppio cieco, sono stati eseguiti i test in trattamento al livello del mare (Visita 3). Successivamente i soggetti sono stati trasferiti mediante automezzi (dopo meno di 1 settimana dalla Visita 3) in alta quota (Huancayo, Perù, 3.260m), ove hanno soggiornato per tre giorni (2 notti) e dove sono stati sottoposti nuovamente a tutti i test eseguiti al livello del mare, continuando il trattamento in doppio cieco (Visita 4). Subito dopo il ritorno al livello del mare (ancora in trattamento), è stata effettuata una visita finale per la raccolta dei dati di pressione arteriosa (Visita 5). Il disegno dello studio e la distribuzione delle visite previste dal protocollo sono illustrati in Figura 1.

FARMACI UTILIZZATI

Nel gruppo in trattamento attivo sono state utilizzate le compresse disponibili in commercio di nifedipina GITS 30 mg e di telmisartan 80 mg, mentre nel gruppo in placebo è stato somministrato del saccarosio. I farmaci in studio (sia il farmaco attivo che il placebo) nella fase in doppio cieco sono stati confezionati in capsule identiche, con colori diversi per telmisartan (o corrispondente placebo) e nifedipina GITS (o corrispondente placebo), e sono stati assunti in una singola somministrazione al mattino. Durante lo studio non è stata permessa l'assunzione di nessun altro farmaco antipertensivo. Inoltre, non è stato consentito l'uso di farmaci volti a prevenire l'insorgenza dei sintomi correlati all'esposizione all'alta quota, come l'acetazolamide o i corticosteroidi. Tuttavia, in caso di insorgenza di sintomi di "mal di montagna" acuto, è stato

(both active and placebo) in the double-blind phase were placed in identical capsules, with different colours for telmisartan (or corresponding placebo) and for nifedipine GITS (or corresponding placebo) and were taken in a single morning administration. Throughout the study no other antihypertensive medication was allowed. Also the use of drugs aimed at preventing the occurrence of high altitude symptoms such as acetazolamide or corticosteroids was not permitted. However, in case of acute mountain sickness symptoms occurrence an appropriate medical therapy was allowed based on the decisions of the physicians in charge of participants' safety. Throughout the study, all subjects and investigators were blind to the treatment administered, and treatment assignment was disclosed only after study completion and dataset lock.

STUDY TIMELINE AND SETTING

The study protocol and documents were definitely approved in early 2012, and the first patient was screened in April 2012. Because of difficulties in recruiting participants, the study was completed later than initially foreseen. Nonetheless already on the 4th of October the last visit of the last patient took place, and the study was officially closed on 30th November 2012. Sea level tests were performed in the facilities of Universidad Peruana Cayetano Heredia in Lima, Peru. For the high altitude part of the study the subjects were transferred by bus to Huancayo, a town of 300000 inhabitants located in central Peru at an altitude of about 3200-3300 meters. The travel took about 7 hours and involved crossing the Ticlio Pass (4818m), with the world's highest road-railway crossing. The *ad hoc* laboratory for study tests was set in a small hotel, whose name "Latidos" means "beats" (including those of the heart) in Spanish.

STUDY TESTS

Even if the study was primarily focused on blood pressure changes, a number of other tests were performed. Their timing in the study organization is summarized in Table 1. In the subsequent paragraphs we will describe only the results of those tests where the analyses have been completed.

consentito l'utilizzo di una terapia medica appropriata in base alle decisioni dei medici responsabili della sicurezza dei partecipanti. Durante lo studio tutti i soggetti e gli investigatori non erano a conoscenza dell'assegnazione al trattamento somministrato ed il trattamento è stato comunicato solo dopo il completamento dello studio ed il blocco di dati.

TIMELINE DELLO STUDIO

Il protocollo ed i documenti dello studio sono stati definitivamente approvati nei primi mesi del 2012; nell'aprile del 2012 è stato arruolato il primo paziente. A causa delle difficoltà di reclutamento dei partecipanti, lo studio è stato completato più tardi di quanto inizialmente previsto. Tuttavia, il 4 ottobre è stata completata l'ultima visita dell'ultimo paziente e lo studio è stato ufficialmente chiuso il 30 novembre 2012. I test a livello del mare sono stati effettuati nei laboratori dell'Universidad Peruana Cayetano Heredia di Lima, in Perù.

Per la parte in alta quota i soggetti sono stati trasferiti in pullman da Lima a Huancayo, una città di 300.000 abitanti sita nel centro del Perù ad una quota di circa 3.200-3.300 metri. Il viaggio è durato circa 7 ore ed ha previsto nel corso del tragitto l'ascesa al passo Ticlio (4.818m), il più alto valico stradale-ferroviario del mondo. Il laboratorio per l'esecuzione dei test previsti nello studio è stato predisposto in un piccolo albergo, il cui nome spagnolo "Latidos" significa "battiti" (compresi quelli del cuore).

TEST PREVISTI DALLO STUDIO

Sebbene lo studio fosse focalizzato principalmente sulle alterazioni della pressione arteriosa, sono stati eseguiti una serie di altri test. La timeline degli esami effettuati nel corso dello studio è sintetizzata in Tabella 1. Nei paragrafi successivi descriveremo solo i risultati dei test dei quali sono state completate le analisi.

EFFECTS OF ACUTE EXPOSURE TO HIGH ALTITUDE IN PATIENTS WITH ARTERIAL HYPERTENSION

EFFETTI DELL'ESPOSIZIONE ACUTA AD ALTA QUOTA IN PAZIENTI AFFETTI DA IPERTENSIONE ARTERIOSA

RIGHT

ABPM and nocturnal polygraphy positioning on a volunteer.

DESTRA

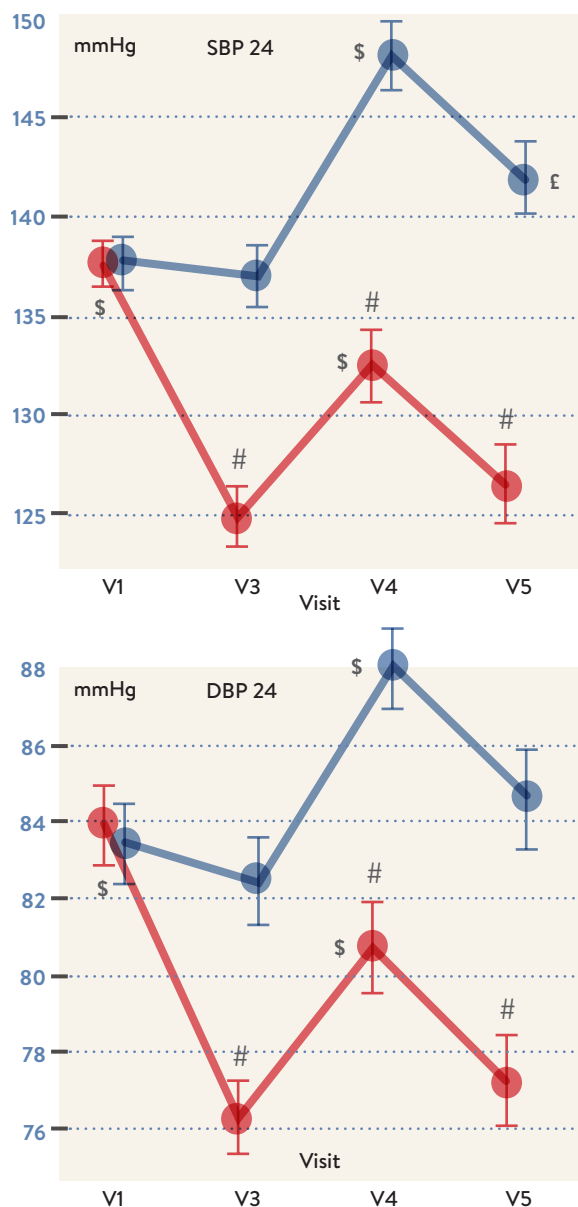
Montaggio di ABPM e poligrafia notturna su di un volontario.



Blood pressure changes in response to high altitude exposure and to antihypertensive treatment were the primary focus of HIGHCARE-Andes Lowlanders Study. Considering the superiority of ambulatory blood pressure monitoring (ABPM) over conventional BP measurement in identifying BP changes induced by high altitude and treatment, as confirmed in our previous studies, we used this technique for assessing BP also in the participants of HIGHCARE-ANDES. Consequently, 24h ambulatory systolic blood pressure (SBP) during high altitude exposure (Visit 4) was chosen as the primary efficacy variable of the study. Secondary efficacy variables included: 24h diastolic blood pressure (DBP), daytime and night-time SBP and DBP at high altitude; 24h, daytime and nighttime SBP and DBP at sea level (Visit 3); nocturnal fall of SBP and DBP. Conventional SBP and DBP at high altitude and at sea level were also assessed. Safety variables included adverse events, vital signs, and routine laboratory blood tests performed

L'obiettivo primario dello studio HIGHCARE-Andes Lowlanders è stata la valutazione della risposta pressoria all'esposizione ad alta quota in soggetti affetti da ipertensione arteriosa di grado lieve e l'effetto su di essa della somministrazione di terapia antipertensiva. Il monitoraggio ambulatorio della pressione delle 24 ore (ABPM) è stato scelto per la valutazione della pressione arteriosa ("blood pressure", BP) nello studio HIGHCARE-Andes in considerazione della sua superiorità rispetto alla misurazione convenzionale nell'identificare le alterazioni indotte dall'alta quota e dal trattamento, come confermato anche dai nostri studi precedenti. Di conseguenza, abbiamo scelto come variabile primaria di efficacia dello studio la pressione arteriosa sistolica ("systolic blood pressure", SBP) ambulatoria delle 24 ore durante esposizione ad alta quota (Visita 4). Le variabili secondarie di efficacia comprendevano la pressione arteriosa diastolica ("diastolic blood pressure", DBP) delle 24 ore, la SBP e la DBP diurna e notturna in alta quota, la SBP e la DBP diurna, notturna e delle 24 ore a livello del mare (Visita 3), e la riduzione ("dipping") notturna di SBP e DBP. Inoltre, sono state eseguite misurazioni convenzionali di SBP e DBP sia a livello del mare che in alta quota. Le variabili di sicurezza comprendevano l'insorgenza di eventi avversi, parametri vitali ed esami ematici eseguiti durante il trattamento. Inoltre, in alta quota esse comprendevano il punteggio ottenuto al questionario Lake Louise Score e la SpO₂.

Gli aspetti generali delle tecniche di misurazione della pressione arteriosa nei progetti HIGHCARE sono stati precedentemente riassunti (Box "Misurazione della pressione arteriosa nei progetti HIGHCARE", pag. 91). Nello studio HIGHCARE-Andes, la BP convenzionale e la frequenza cardiaca ("heart rate", HR) sono state misurate due volte durante ogni visita, utilizzando uno strumento oscillometrico validato (UA-767 plus, AND, Giappone). L'ABPM 24 ore è stato



eseguito utilizzando strumenti TM 2430 (AND, Giappone), programmando le misurazioni ogni 15 minuti durante le ore diurne (dalle 7 alle 23) e ogni 20 minuti durante la notte (dalle 23 alle 7). La saturazione dell'ossigeno è stata misurata per via transcutanea con un pulsossimetro (RAD-5, Masimo Corp., USA). Nell'analisi statistica, al fine di valutare l'effetto combinato della quota e del gruppo di trattamento, abbiamo utilizzato un modello lineare ad effetti misti per misurazioni ripetute, utilizzando l'algoritmo di Holm per correlazioni multiple *post-hoc*.

Dei 332 soggetti inizialmente screenati, 100 soddisfacevano i criteri di eleggibilità e sono stati quindi randomizzati in doppio cieco a ricevere trattamento attivo/ placebo (età $55,7 \pm 17,2$: 59 M/41 F) e 89 soggetti hanno completato lo studio. Non sono state riscontrate differenze significative tra i gruppi di trattamento al basale, con l'eccezione del peso corporeo ($p=0,05$) e del BMI ($p=0,08$), lievemente superiori nel gruppo placebo (Tabella 1).

Come illustrato in Figura 1 e Tabella 2, l'esposizione acuta ad alta quota era associata ad un significativo incremento della BP in entrambi i gruppi, rispetto alla valutazione a livello del mare, durante assunzione di trattamento (Visita 3). Questo incremento è stato riscontrato nei valori medi sia sistolici che diastolici, delle 24 ore, diurni e notturni. L'entità della caduta notturna della SBP e della DBP era inoltre marcatamente ridotta in entrambi i gruppi; nei profili pressori delle 24 ore si poteva osservare un appiattimento, determinato da un dipping notturno meno pronunciato (Figura 2).

Queste modificazioni erano accompagnate da un marcato e significativo aumento nella HR delle 24 ore, sia diurna che notturna, oltre che da una riduzione della variazione circadiana della HR in alta quota. Le alterazioni osservate in BP e HR erano in gran parte reversibili immediatamente dopo il ritorno a livello del mare (Visita 5), sebbene nel gruppo placebo la pressione sistolica media delle 24 ore, sia media diurna che media notturna, sia rimasta più alta che a Visita 3 (prima dell'esposizione ad alta quota).

Coerentemente con quanto atteso, il trattamento farmacologico combinato è risultato efficace a livello del mare. Tutti i parametri pressori erano infatti significativamente ridotti nel gruppo in trattamento attivo dopo 6 settimane di terapia. Al contrario, non è stata osservata

Figure 1

Mean 24h systolic (24h SBP; primary outcome) and diastolic blood pressure (24h DBP) at four study visits in participants receiving active treatment (red line) or placebo (blue line). Comparisons vs. Visit 3 (sea level, on treatment): \$ $p<0.001$, £ $p<0.01$. Comparisons active vs. placebo: # $p<0.001$.

Pressione arteriosa sistolica media delle 24h (24h SBP; outcome primario) e pressione arteriosa diastolica (24h DBP) rilevata durante 4 visite dello studio in soggetti in trattamento attivo (linea rossa) o placebo (linea blu). Confronto con Visita 3 (a livello del mare: \$ $p<0,001$, £ $p<0,01$. Confronto attivo vs. placebo: # $p<0,001$.

PLACEBO
ACTIVE

during treatment. Additionally at high altitude they included Lake Louise Score and SpO_2 . General aspects of blood pressure measurement techniques in HIGHCARE projects have been summarized previously (Box "Blood pressure measurement in HIGHCARE projects", page 91). In HIGHCARE-ANDES the conventional BP and HR were measured twice at each visit with an oscillometric device (UA-767 Plus, AND, Japan). 24h ABPM was performed using TM-2430 devices (AND, Japan) with measurements programmed every 15 min during daytime (7-23 hours) and every 20 min at night (23-7 hours). Transcutaneous oxygen saturation (SpO_2) was measured with pulse oximeter (RAD-5, Masimo Corp., USA). In the statistical analyses, in order to assess the combined effect of altitude level and treatment group, we used the linear mixed-

Figure 2

Averaged hourly profiles at sea level without treatment (blue line), at sea level on-treatment (green line), and at high altitude on treatment (red line) in subjects on placebo (bottom panel) or active treatment (top panel).

Profili orari medi a livello del mare senza trattamento (linea blu), a livello del mare in trattamento (linea verde), in alta quota in trattamento (linea rossa), in soggetti in placebo (grafico sotto) o trattamento attivo (grafico sopra).

— SL-pre
— SL-post
— HA

effects models accounting for repeated measurements, using Holm algorithm for multiple *post-hoc* comparisons.

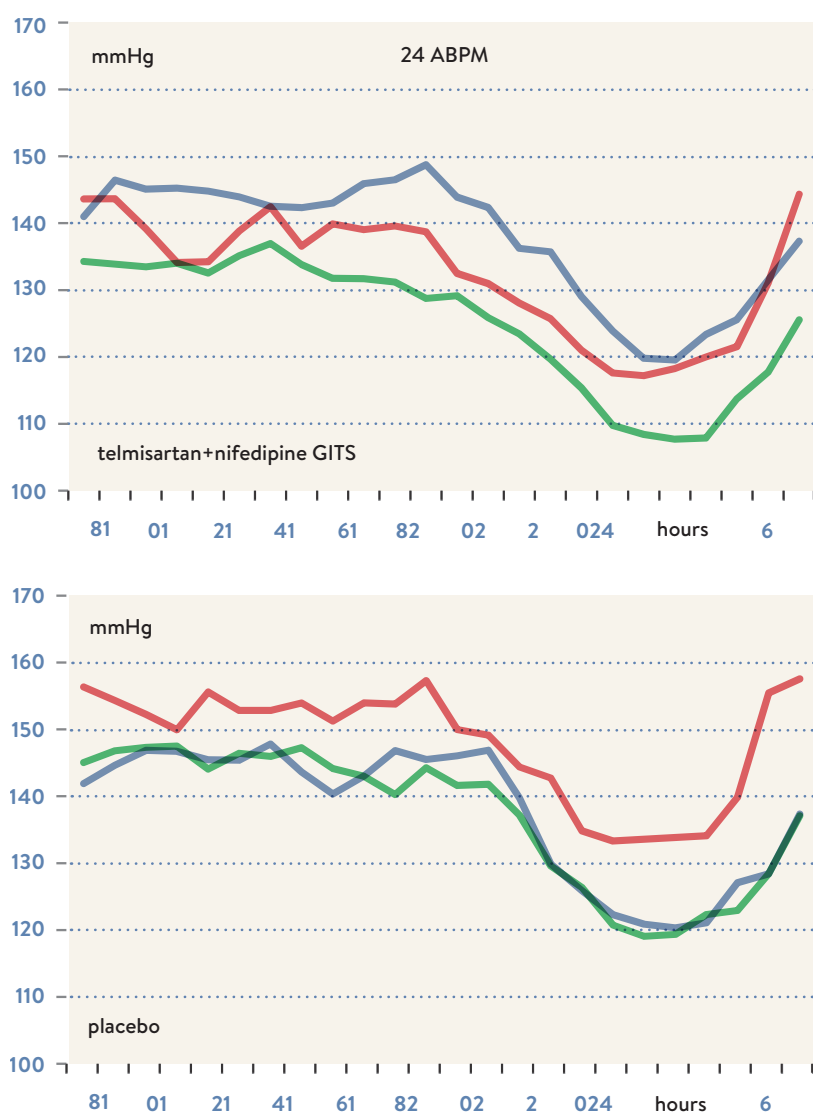
Out of 332 initially screened subjects, 100 fulfilled selection criteria and were randomized to double blind treatment (age 55.7 ± 17.2 , 59 M/41 F), and 89 completed the study. There were no significant differences between treatment groups at baseline, except for a somewhat higher body weight ($p=0.05$) and BMI ($p=0.08$) in the placebo group (Table 1).

As shown in Figure 1 and in Table 2, acute exposure to high altitude was associated with a significant BP increase in both groups, compared with on-treatment BP at sea level (Visit 3). This was true for 24h, daytime and nighttime mean values of both SBP and DBP. The size of nocturnal fall of SBP and DBP was also markedly reduced in both groups, resulting in a “flatter” 24h BP profile with less

alcuna variazione nel gruppo placebo e, dopo questo periodo di trattamento, la BP era significativamente più bassa nel gruppo in trattamento attivo che nel gruppo placebo.

Le differenze evidenziate nella BP tra i gruppi si sono mantenute ad alta quota (Visita 4). In particolare, la differenza tra i gruppi nella pressione sistolica delle 24 ore in alta quota (cioè la variabile primaria di efficacia) è risultata altamente significativa ($132,6 \pm 12,4$ mmHg nel gruppo in trattamento attivo, $147,9 \pm 11,1$ mmHg nel gruppo placebo, $p < 0,001$). L'entità dell'aumento della BP ambulatoria in alta quota era numericamente inferiore nel gruppo in trattamento attivo al gruppo placebo ($8,1 \pm 10,4$ vs. $11,0 \pm 9,0$ mmHg per SBP 24 h), ma questa differenza non è risultata statisticamente significativa ($p=0,17$). La SBP convenzionale è aumentata in modo significativo in alta quota solo nel gruppo placebo. Ciononostante, l'incremento della SBP convenzionale non era significativamente differente tra i gruppi ($2,5 \pm 15,0$ vs. $7,8 \pm 15,2$ mmHg, $p=0,10$). L'aumento nella BP convenzionale in alta quota tendeva ad essere meno pronunciato rispetto alla SBP ambulatoria, ma la differenza tra l'aumento della BP convenzionale e quella ambulatoria non era significativo. Risultati analoghi sono stati ottenuti per la pressione diastolica convenzionale e media delle 24 ore. Le differenze tra i bracci di trattamento sono state confermate anche dai valori della pressione arteriosa diurna e notturna analizzati separatamente, mentre non è stato evidenziato alcun effetto del trattamento attivo in nessuna visita per quanto riguarda l'entità della caduta notturna della pressione arteriosa o la variabilità della frequenza cardiaca.

Durante la fase dello studio che si è svolta a livello del mare, abbiamo registrato 18 eventi avversi nel gruppo in trattamento attivo e 9 eventi avversi nel gruppo placebo, tutti di modesta entità eccetto un caso (sintomi neurologici transitori, per quanto non correlati al trattamento farmacologico, poiché il soggetto faceva parte del gruppo placebo e non aveva mai assunto terapia antipertensiva in precedenza). In alta quota non sono state evidenziate differenze significative tra il gruppo in trattamento attivo e il gruppo placebo per quanto riguarda il punteggio medio del questionario Lake Louise Score (1° giorno: 1 per entrambi i gruppi; 2° giorno: 2 per entrambi i gruppi; 3° giorno: 1 per entrambi i gruppi). Al contrario, la SpO_2 media era più alta nel



marked nocturnal dipping (Figure 2). These changes were accompanied by a marked and significant increase in 24h, daytime and nighttime HR, and by attenuation of HR nocturnal fall at high altitude. The observed changes in BP and HR were mostly reversed immediately upon return to sea level (Visit 5), although in the placebo group 24h, daytime and nighttime SBP remained higher than at Visit 3 (before high altitude exposure).

As expected, combination treatment was effective at sea level: all BP parameters were significantly reduced in the active treatment group after 6 weeks of double-blind treatment (with no change in the placebo group), and at the end of this period BP was significantly lower in the active treatment group, as compared with the placebo group.

The difference in BP between groups was maintained at high altitude (Visit 4). In particular, the between-group difference in 24h SBP at high altitude (the primary efficacy variable) was highly significant (132.6 ± 12.4 mmHg for active treatment, 147.9 ± 11.1 mmHg for placebo, $p < 0.001$). The size of ambulatory BP increase at high altitude was numerically less in the active treatment than in placebo group (8.1 ± 10.4 vs. 11.0 ± 9.0 mmHg for 24h SBP), but the difference was not statistically significant ($p = 0.17$). Conventional SBP increased significantly at high altitude only in the placebo group. However, again the between-group difference in the size of conventional SBP increase was not statistically significant (2.5 ± 15.0 vs. 7.8 ± 15.2 mmHg, $p = 0.10$). Increase

gruppo in trattamento attivo rispetto al gruppo placebo e questa differenza ha raggiunto la significatività statistica nel secondo e nel terzo giorno di permanenza in alta quota (Figura 3).

Lo studio HIGHCARE-Andes Lowlanders ha, quindi, evidenziato come nei pazienti con ipertensione di grado lieve, sia trattati che non trattati, l'esposizione all'alta quota induca un significativo aumento dei valori pressori nelle 24 ore, sia diurni che notturni. È importante notare come nel nostro studio l'aumento della BP ambulatoria fosse più pronunciato rispetto a quello della BP convenzionale. Questo dato ci suggerisce che la misurazione casuale della pressione possa sottostimare la variazione pressoria indotta dall'ipossia in alta quota.

Questo aumento era inoltre accompagnato da un'attenuazione nella caduta notturna della BP (*dipping*), verosimilmente attribuibile a una ulteriore riduzione nella SpO_2 che si verifica in alta quota durante il sonno rispetto al periodo diurno. È interessante notare come una riduzione del *dipping* sia stata osservata nei soggetti ipertesi che hanno partecipato allo studio HIGHCARE-Andes a una altitudine di circa 3.300m, mentre nei partecipanti normotesi dello studio HIGHCARE-Himalaya, esposti a un'altitudine simile, il *dipping* notturno della pressione arteriosa fosse preservato. In questi ultimi soggetti, un'alterazione del *dipping* è stata osservata unicamente alla massima altitudine raggiunta (5.400m). Un comportamento così diverso tra soggetti normotesi ed ipertesi può avere due possibili spiegazioni: 1) la riduzione nella SpO_2 notturna

	All (n=89)	T/N (n=47)	PL (n=42)	p (T/N vs. PL)
AGE (YRS)	51.7±8.9	51.5±8.4	52.1±9.5	>0.20
SEX (M/F)	50/39	27/20	23/19	>0.20
HEIGHT (CM)	163.5±8.4	162.4±8.8	164.8±8.0	0.19
WEIGHT (KG)	76.1±13.7	73.5±13.9	79.1±13.0	0.05
BMI (KG/M2)	28.3±3.6	27.7±3.5	29.0±3.5	0.08
CURRENT SMOKERS [N (%)]	20 (22)	10 (21)	9 (21)	>0.20
HISTORY OF DYSLIPIDEMIA [N (%)]	41 (46)	21 (45)	20 (48)	>0.20
PREVIOUS ANTIHYPERTENSIVE TREATMENT [N (%)]	25 (28)	14 (30)	11 (26)	>0.20

Table 1

Baseline characteristics of subjects included in *per protocol* analysis. T/N – telmisartan/nifedipine GITS; PL – placebo; BMI – body mass index.

Caratteristiche al basale dei soggetti inclusi nell'analisi *per protocol*. T/N – telmisartan-nifedipine GITS; PL-placebo; BMI- Indice di massa corporea.

Table 2

Blood pressure (BP) and heart rate (HR) variables derived from conventional measurements and from 24h ambulatory BP monitoring (ABPM) in telmisartan/nifedipine GITS (N=47) and placebo group (N=42). ABPM data are separately shown for 24 hours, daytime, nighttime as well as for nocturnal fall (dip). All BP values are in mmHg; HR in beats per minute; nocturnal fall (dip) as percentage of daytime mean level. Data are shown as mean $\pm$ SD. P values in the table refer to contrasts between groups for each condition. Symbols of statistical significance refer to contrasts between Visit 3 vs. remaining study conditions: *** p<0.001, ** p<0.01, * p<0.05.

Pressione arteriosa (BP) e frequenza cardiaca (HR) derivate dalle misurazioni convenzionali e dal monitoraggio ambulatorio delle 24 ore (ABPM) nel gruppo telmisartan/nifedipina GITS (N=47) e nel gruppo placebo (N=42). I dati delle 24 ore, diurni, notturni e la caduta notturna (dip) sono mostrati separatamente. Tutti i valori di pressione sono espressi in mmHg; la HR in battiti per minuto; la caduta notturna (dip) come percentuale del valore diurno medio. I dati sono mostrati come media $\pm$ DS. I valori di p mostrati in tabella si riferiscono al confronto tra i gruppi in ogni condizione. I simboli di significato statistico si riferiscono al confronto tra Visita 3 e le rimanenti condizioni sperimentali: *** p<0.001, ** p<0.01, * p<0.05.

			BASLINE (V1)	SEA-LEVEL ON TREATMENT (V3)	HIGH ALTITUDE (V4)	RETURN TO SEA LEVEL (V5)
SBP	CONV.	PLACEBO	141.4 $\pm$ 12.1	137.9 $\pm$ 14.5	145.8 $\pm$ 13.7 **	137.7 $\pm$ 12.8
		ACTIVE	141 $\pm$ 12.7 ***	123.3 $\pm$ 14.1	125.8 $\pm$ 11.8	123.6 $\pm$ 15.5
		P VALUE	>0.20	<0.001	<0.001	<0.001
	24h	PLACEBO	137.6 $\pm$ 8.6	137 $\pm$ 10	147.9 $\pm$ 11.1 ***	141.9 $\pm$ 11.6 **
		ACTIVE	137.6 $\pm$ 7.8 ***	125.1 $\pm$ 10.1	132.6 $\pm$ 12.4 ***	126.7 $\pm$ 13.1
		P VALUE	>0.20	<0.001	<0.001	<0.001
	DAY	PLACEBO	144.1 $\pm$ 7.8	143.9 $\pm$ 8.6	153.3 $\pm$ 10.3 ***	148.2 $\pm$ 10.9 *
		ACTIVE	143.6 $\pm$ 7.5 ***	132 $\pm$ 10	138 $\pm$ 11.1 ***	133.3 $\pm$ 13.6
		P VALUE	>0.20	<0.001	<0.001	<0.001
	NIGHT	PLACEBO	122.7 $\pm$ 13.4	121.7 $\pm$ 14.5	135.7 $\pm$ 15.9 ***	128.4 $\pm$ 16.6 **
		ACTIVE	123.5 $\pm$ 11.4 ***	110.4 $\pm$ 11.9	119.8 $\pm$ 18.1 ***	111.3 $\pm$ 14.6
		P VALUE	>0.20	<0.001	<0.001	<0.001
	DIP	PLACEBO	14.9 $\pm$ 6.6	15.5 $\pm$ 7.4	11.5 $\pm$ 8 *	13.4 $\pm$ 8.5
		ACTIVE	14.1 $\pm$ 6	16.3 $\pm$ 6.4	13.3 $\pm$ 8.8	16.6 $\pm$ 7.6
		P VALUE	>0.20	>0.20	>0.20	>0.20
DBP	CONV.	PLACEBO	90.9 $\pm$ 8.1	88.9 $\pm$ 10.7	92.2 $\pm$ 10.5	87.9 $\pm$ 11.2
		ACTIVE	91 $\pm$ 8.2 ***	80.6 $\pm$ 10.4	83.5 $\pm$ 9.2	79.1 $\pm$ 9.7
		P VALUE	>0.20	<0.001	<0.001	<0.001
	24h	PLACEBO	83.4 $\pm$ 6.8	82.4 $\pm$ 7.4	88 $\pm$ 6.8 ***	84.6 $\pm$ 8.4
		ACTIVE	83.9 $\pm$ 7.1 ***	76.3 $\pm$ 6.4	80.7 $\pm$ 8.2 ***	77.2 $\pm$ 7.9
		P VALUE	>0.20	<0.001	<0.001	<0.001
	DAY	PLACEBO	87.6 $\pm$ 6.8	86.9 $\pm$ 7	91.3 $\pm$ 6.9 ***	88.8 $\pm$ 8.3
		ACTIVE	87.8 $\pm$ 7.4 ***	80.4 $\pm$ 6.5	83.7 $\pm$ 7.9 **	81.4 $\pm$ 8.4
		P VALUE	>0.20	<0.001	<0.001	<0.001
	NIGHT	PLACEBO	73.7 $\pm$ 9.1	72.7 $\pm$ 9.9	80.2 $\pm$ 9.4 ***	75.2 $\pm$ 10.3
		ACTIVE	74.6 $\pm$ 8.6 ***	67.3 $\pm$ 7.7	73.5 $\pm$ 10.6 ***	67.5 $\pm$ 8.3
		P VALUE	>0.20	0.023	0.004	<0.001
	DIP	PLACEBO	15.7 $\pm$ 8.7	16.4 $\pm$ 8.9	12.1 $\pm$ 8.5 *	15.4 $\pm$ 8.5
		ACTIVE	15 $\pm$ 7	16.2 $\pm$ 7.5	12.1 $\pm$ 8.2 *	17 $\pm$ 7.5
		P VALUE	>0.20	>0.20	>0.20	>0.20
HR	24h	PLACEBO	75.6 $\pm$ 8.6	78.1 $\pm$ 7.8	86.5 $\pm$ 8.5 ***	75 $\pm$ 8.2 *
		ACTIVE	74.1 $\pm$ 7.6	77 $\pm$ 7.3	85.3 $\pm$ 9.2 ***	76.8 $\pm$ 8.2
		P VALUE	>0.20	>0.20	>0.20	>0.20
	DAY	PLACEBO	80 $\pm$ 8.8	82.8 $\pm$ 7.7	89.9 $\pm$ 8.4 ***	78.6 $\pm$ 8.1 **
		ACTIVE	78.2 $\pm$ 7.9 *	81.7 $\pm$ 7.5	88.8 $\pm$ 9.2 ***	81 $\pm$ 8.6
		P VALUE	>0.20	>0.20	>0.20	>0.20
	NIGHT	PLACEBO	66.1 $\pm$ 9.6	67.8 $\pm$ 9.4	79.2 $\pm$ 10.5 ***	66.9 $\pm$ 9.5
		ACTIVE	64.3 $\pm$ 8.1	67.1 $\pm$ 8.2	76.9 $\pm$ 10.3 ***	66.7 $\pm$ 8.1
		P VALUE	>0.20	>0.20	>0.20	>0.20
	DIP	PLACEBO	17.4 $\pm$ 7.4	18.2 $\pm$ 7.7	12 $\pm$ 7.4 ***	15.1 $\pm$ 6.9
		ACTIVE	17.7 $\pm$ 7	17.8 $\pm$ 7.2	13.2 $\pm$ 6.9 **	17.2 $\pm$ 7.2
		P VALUE	>0.20	>0.20	>0.20	>0.20

in conventional BP at altitude tended to be less pronounced than in ambulatory SBP, but the difference between conventional and ambulatory BP increase was not significant. Similar results were obtained for conventional and 24h diastolic BP. Differences between treatment arms were confirmed also for daytime

nei soggetti ipertesi potrebbe essere superiore; oppure 2) essi potrebbero essere caratterizzati da una maggiore sensibilità del chemoriflesso. In entrambi i casi, è verosimile che si sia verificata una attivazione simpatica più pronunciata, la quale potrebbe a sua volta essere responsabile del maggiore incremento

and night-time BP values taken separately, while no treatment effects were found at any visit on the size of nocturnal BP fall or in HR variables.

Throughout the sea level phase of the study 18 adverse events occurred in the active treatment group and 9 in the placebo group, generally mild except for transient neurological symptoms that developed in one of the subjects, unrelated to the study treatment this subject received (placebo, no previous antihypertensive medication). At high altitude there were no differences between active treatment and placebo group in median Lake Louise Score (1st day: 1 for both groups, 2nd day: 2 for both groups, 3rd day: 1 for both groups), while mean SpO_2 was higher in the active treatment than in placebo group, the difference reaching statistical significance on the 2nd and 3rd day of high altitude exposure (Figure 3).

HIGHCARE-ANDES Lowlanders Study showed thus that, in patients with mild hypertension, whether treated or not, altitude exposure induces a significant BP increase over 24 hours, daytime and nighttime. Importantly, in our study the increase in ambulatory BP tended to be more pronounced compared with conventional BP, suggesting that casual BP measurements may underestimate the pressor effect of high altitude hypoxia. This increase was accompanied by an attenuation of nocturnal BP fall (dipping), possibly explained by a further reduction in SpO_2 which occurs during sleep at high altitude, as compared to daytime period. Intriguingly, a reduced dipping occurred in hypertensive participants of HIGHCARE-ANDES at an altitude of about 3300m, while at a similar altitude nocturnal BP dipping was preserved in the normotensive participants of HIGHCARE-HIMALAYA, in whom a blunted dipping was only observed at a higher altitude of 5400m. Such a different behaviour between normotensive and hypertensive subjects might have two possible explanations: either in hypertensive subjects the decrease in SpO_2 at night was larger or they were characterized by a greater chemoreflex sensitivity. In either case a more pronounced sympathetic activation in response to hypoxia is likely to have occurred, which could have been responsible for a larger increase in nocturnal BP.

Another novel and clinically relevant contribution by our study is the information it provides on the BP effects of antihypertensive combination treatment with an angiotensin II receptor blocker and a calcium channel blocker

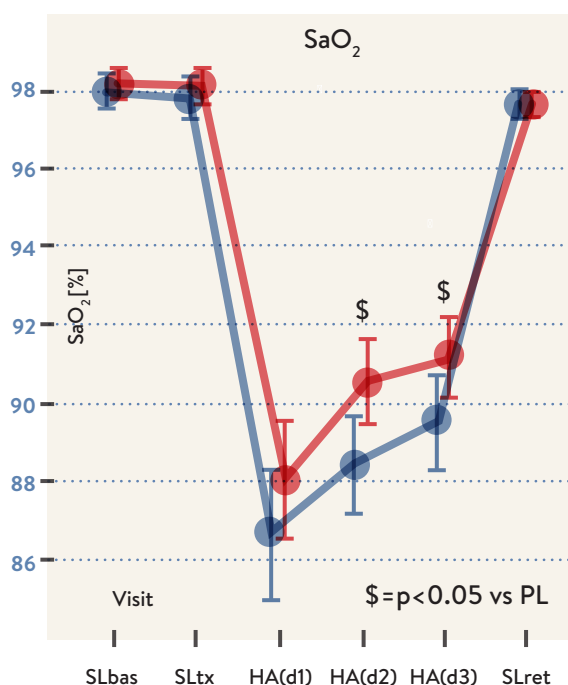


Figure 3

Mean oxygen saturation at sea level and on the 1st, 2nd and 3rd day at high altitude. Data are separately shown for the active treatment and the placebo groups. \$=p<0.05 vs PL

Saturazione media dell'ossigeno a livello del mare e al 1°, 2° e 3° giorno in alta quota, in trattamento (linea rossa) e placebo (linea blu). \$=p<0,05 vs PL

—●— PLACEBO
—●— T/N

della pressione arteriosa notturna.

Un altro contributo innovativo e clinicamente rilevante del nostro studio è rappresentato dalle informazioni ottenute sugli effetti della terapia antipertensiva di combinazione (un bloccante del recettore per l'angiotensina II associato ad un calcio antagonista) sui valori di BP durante l'esposizione ad alta quota. Dati precedenti, limitati a soggetti normotesi, hanno evidenziato le importanti limitazioni dei trattamenti valutati. In particolare, nella spedizione HIGHCARE-Alps 2006, i bloccanti dei recettori β -adrenergici si sono dimostrati solo parzialmente efficaci nel prevenire l'incremento della pressione arteriosa delle 24 ore in alta quota, comportando collateralmente una



LEFT

Huancayo Cathedral, located in the central "Plaza de Armas"

SINISTRA

Cattedrale di Huancayo, sita nella Plaza de Armas nel centro della città.



ABOVE

Italian research group in front of the Universidad Cayetano Heredia in Lima.

SOPRA

Il gruppo di ricerca italiano all'ingresso della Universidad Cayetano Heredia di Lima.

under high altitude exposure. Previous data, limited to normotensive subjects, have shown important limitations of tested treatments: in HIGHCARE-Alps 2006 we have shown a limited effect of beta-adrenergic receptor blockers in preventing the 24h BP increase at altitude, at a cost of a lower SpO₂ and worse exercise capacity and tolerability compared with placebo. Acetazolamide was highly effective in maintaining 24h BP close to sea level values but this drug is unsuitable for a prolonged use due to important tolerability issues. On the other hand telmisartan, a drug which was included in the combination tested in HIGHCARE-ANDES, was safe and demonstrated BP lowering efficacy in healthy participants of HIGHCARE-HIMALAYA up to 3400m but not at higher altitude (5400m) (see previous chapters).

In HIGHCARE-ANDES the combined treatment with telmisartan and nifedipine was used at an altitude (3260m) similar to the lower altitude reached in HIGHCARE-HIMALAYA. In this setting the treatment fully maintained its efficacy and was well tolerated. Indeed, although the BP increase at altitude in the active treatment group was only slightly less pronounced than in the placebo group, in treated subjects BP at high altitude was lower than the initial BP values observed off-treatment at sea level. Moreover, active treatment group had higher SpO₂ levels (possibly due to the known dilatory effect of nifedipine

ridotta SpO₂, una peggiore capacità di esercizio ed una ridotta tollerabilità rispetto al placebo. L'acetazolamide si è dimostrata altamente efficace nel mantenimento dei valori pressori delle 24 ore simili a quelli registrati a livello del mare; tuttavia, l'utilizzo prolungato di questo farmaco non è ipotizzabile, a causa della sua scarsa tollerabilità. Dall'altra parte il telmisartan, uno dei due farmaci che componevano la terapia combinata testata in HIGHCARE-Andes, nella spedizione HIGHCARE-Himalaya si era dimostrato sicuro ed efficace nella riduzione dei valori di BP in soggetti sani, ma solo fino ad una quota di 3.400 metri; ad altitudini superiori (5.400m), però, l'efficacia non era mantenuta (vedi capitoli precedenti).

Il trattamento combinato di associazione telmisartan più nifedipina è stato utilizzato a una quota (3.260m) simile alla più bassa raggiunta nella spedizione HIGHCARE-Himalaya. In questo contesto, il trattamento in studio ha completamente mantenuto la sua efficacia ed è stato ben tollerato. Infatti, nonostante nel gruppo in trattamento attivo l'aumento di BP in alta quota fosse soltanto lievemente meno pronunciato che nel gruppo placebo, nei soggetti trattati la BP in alta quota era più bassa della BP osservata a livello del mare prima dell'inizio della terapia. Inoltre, nel gruppo in trattamento attivo è stata osservata una SpO₂ più alta (probabilmente grazie al noto effetto di vasodilatazione polmonare

on pulmonary vasculature with a resulting improvement in lung ventilation-perfusion ratio), even if no relevant differences in acute mountain sickness were found between treatment groups. Although we could not test the study treatment during longer high altitude exposure or at higher altitudes, our study reflects a common real-life situation, where patients with hypertension are exposed (because of activities like hiking or skiing) for a short period to 2500-3500m, rather than to higher altitudes.

The possible clinical relevance of BP surges at high altitude is emphasized by previously reported independent association between pre-existing hypertension and the risk of sudden cardiac death in skiers acutely exposed to high altitude.¹ In several subjects of HIGHCARE-ANDES 24h SBP increased by more than 25 mmHg, with average daytime values exceeding 160 mmHg. Although in our low risk subjects this was not associated with immediate safety issues, in patients with subclinical cardiovascular disease such increase might become a trigger of acute complications. On the other hand, an antihypertensive combination treatment was safe and effective in this condition, with a possible further direct protection by nifedipine from hypoxia effects (due to its action on pulmonary circulation). Thus our findings support the recommendation that hypertensive subjects with hypertension and no major comorbidities may be safely exposed to moderate high altitude hypoxia for short periods of time, if properly treated.

della nifedipina in grado di migliorare il rapporto ventilazione/perfusione polmonare), anche se non sono state rilevate differenze significative nell'insorgenza di "male acuto di montagna" tra i gruppi di trattamento. Sebbene non sia stato possibile testare il trattamento farmacologico durante l'esposizione prolungata o a quote più alte, il nostro studio riflette una situazione comune nella vita quotidiana, nella quale i pazienti affetti da ipertensione si trovano a essere esposti (per attività quali alpinismo o sci) per brevi periodi di tempo a 2.500-3.500m, se non addirittura ad altitudini superiori.

La possibile rilevanza clinica dell'aumento della BP in alta quota era già stato evidenziato in precedenza, tramite l'associazione indipendente tra ipertensione preesistente e rischio di morte cardiaca improvvisa, in sciatori acutamente esposti ad alta quota.¹ I valori della BP 24h dei partecipanti ad HIGHCARE-Himalaya in alcuni casi aumentavano di più di 25mmHg, raggiungendo valori diurni medi superiori a 160mmHg. Nei nostri soggetti a basso rischio questo valore non rappresentava un problema immediato di sicurezza, ma in pazienti portatori di patologie cardiovascolari subcliniche un tale incremento potrebbe rappresentare il trigger per un evento acuto. Dall'altra parte, la combinazione di farmaci antipertensivi si è dimostrata sicura ed efficace in queste condizioni sperimentali, anche grazie alla possibile protezione diretta dagli effetti dell'ipossia dovuta all'azione della nifedipina (riferendoci sempre alla sua azione sulla circolazione polmonare). I nostri dati quindi supportano la raccomandazione che i soggetti ipertesi, in assenza di comorbidità maggiori, se adeguatamente trattati possano esporsi in sicurezza ad altitudini moderatamente alte per brevi periodi di tempo.

1. Bartscher, M. Risk of cardiovascular events during mountain activities. *Adv Exp Med Biol* 2007;618:1-11

HIGHCARE REFERENCES - BIBLIOGRAFIA HIGHCARE:

2. Bilo G, Villafuerte F, Anza C, Revera M, Giuliano A, Faini A, Caravita S, Gregorini F, Lombardi C, Salvioni E, Macarlupu JL, Ossoli D, Landaveri L, Lang M, Agostoni P, Sosa JM, Mancia G, Parati G. Combination antihypertensive therapy and BP responses to acute high altitude exposure in hypertensives: HIGHCARE-ANDES Lowlanders Study. *23rd European Meeting on Hypertension and Cardiovascular Prevention*, Milan, 2013.

ALTERATIONS IN VISCOELASTIC ARTERIAL PROPERTIES IN HYPERTENSIVE SUBJECTS EXPOSED TO HYPOBARIC HYPOXIA

ALTERAZIONI DELLE PROPRIETÀ VISCOELASTICHE DELLE ARTERIE IN SOGGETTI IPERTESI ESPOSTI AD IPOSSIA IPOBARICA

Figure 1

Central Systolic Blood Pressure. cSBP values ($\# = p < 0.05$ vs. PL; $\#\# = p < 0.005$ vs. PL; $* = p < 0.001$ vs. LM).

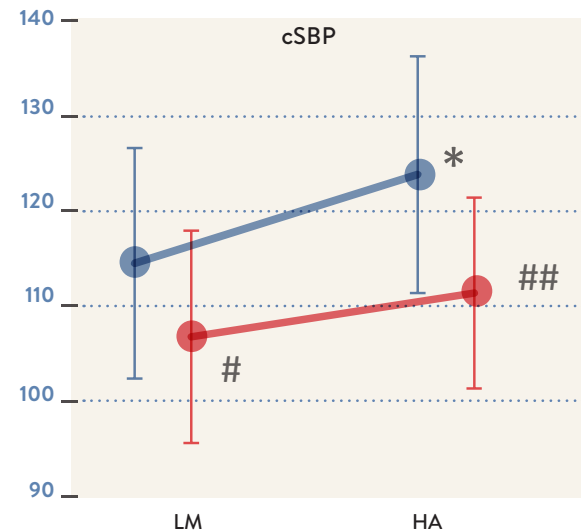
Pressione Sistolica Centrale. Valori di cSBP ($\# = p < 0.05$ vs. PL; $\#\# = p < 0.005$ vs. PL; $* = p < 0.001$ vs. LM).

● PLACEBO
● T/N

Previous findings from our research group described, by means of tonometric evaluation, the effect of hypobaric hypoxia exposure on viscoelastic arterial properties in healthy subjects in different settings (acute exposure, gradual exposure, prolonged high altitude sojourn). Up to now, the cardiovascular effects of hypobaric hypoxia exposure in hypertensive patients have been poorly investigated; moreover, the effect of an antihypertensive treatment on viscoelastic arterial properties changes during high altitude exposure, compared to sea level, has never been evaluated in this group. Aim of this substudy of HIGHCARE-Andes Lowlanders Study was to evaluate the alterations of viscoelastic arterial properties in mild hypertensive patients acutely exposed to high altitude and to evaluate the efficacy of combination antihypertensive treatment (telmisartan 80 mg and nifedipine GITS 30 mg) in this setting.

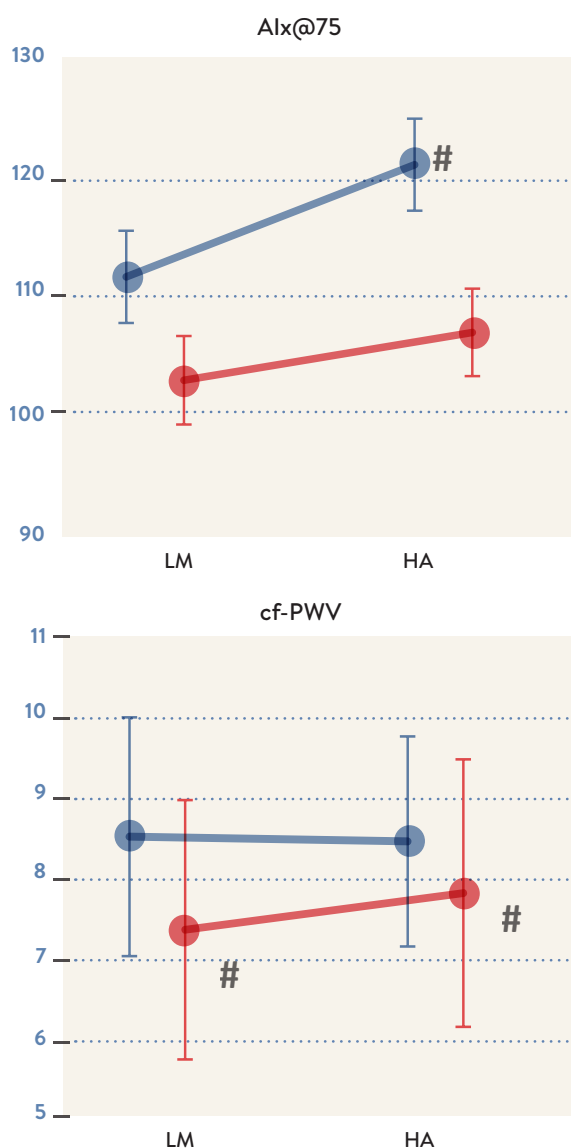
METHODS

The evaluation of arterial properties was performed in 89 subjects who completed the study following the same protocol and using the same devices as in HIGHCARE Himalaya and Alps 2010 expeditions; pulse wave form and other parameters needed to calculate carotid-femoral and carotid-radial pulse wave velocity (cf-PWV and cr-PWV, respectively), Augmentation Index (AIx) and SubEndocardial Viability Ratio (SEVR) were obtained. As previously described, central systolic blood pressure (cSBP) was derived from the carotid pulse wave form, calibrated with peripheral blood pressure values. Due to logistic reasons, arterial properties evaluation was performed in only 2 out of the 6 planned steps: Visit 3 (after 6 weeks of active therapy or placebo, at sea level, Lima, Peru) and Visit 4 (acute exposure



I precedenti risultati ottenuti dal nostro gruppo hanno descritto, mediante tecnica tonometrica, le alterazioni indotte dall'ipossia ipobarica a carico delle proprietà viscoelastiche delle arterie in soggetti sani in varie condizioni di alta quota (esposizione acuta, esposizione graduale e permanenza prolungata in quota). Pochissimi studi hanno valutato, ad oggi, gli effetti cardiovascolari dell'esposizione ad ipossia ipobarica in soggetti affetti da ipertensione arteriosa e, tra questi, nessuno ha prestato particolare attenzione alle alterazioni delle proprietà delle arterie. Infine, nessuno studio in precedenza ha mai valutato l'effetto di un trattamento antipertensivo sulle modificazioni delle proprietà delle arterie in alta quota, rispetto al livello del mare.

Scopo del sottostudio sulle "arterial properties" del progetto HIGHCARE-Andes è stato quello di valutare le alterazioni delle proprietà viscoelastiche delle arterie in soggetti affetti da ipertensione arteriosa di grado lieve esposti acutamente ad alta quota, e di valutare l'azione della combinazione telmisartan 80mg e nifedipina GITS 30mg.



to high altitude during pharmacological therapy, HA, Huancayo, Peru, 3260m).

RESULTS

Subjects on active treatment showed significantly lower cSBP, both at sea level and at high altitude (cSBP 106.8±1.66 mmHg vs 114.5±1.86 mmHg at Lima, and 111.4±1.54 mmHg vs 123.8±1.91 mmHg at HA); moreover, acute high altitude exposure increased significantly cSBP compared to sea level only in the placebo group (from 114.5±1.86 mmHg at Lima to 123.8±1.91 mmHg at HA; $p<0.001$) (Figure 1).

At high altitude, Alx@75 significantly increased in the placebo group compared to active treatment (15.68±2.0% 0 vs. 8.40±1.90%; $p<0.05$), without significant differences in cr-PWV compared to sea level (Figure 2).

METODI

La valutazione delle proprietà delle arterie è stata effettuata in 89 soggetti che hanno completato lo studio seguendo lo stesso protocollo ed utilizzando gli stessi strumenti dei precedenti progetti HIGHCARE Himalaya e Alps 2010; sono state raccolte le forme d'onda e gli altri parametri strumentali necessari per il calcolo della velocità dell'onda di polso carotido-femorale (cf-PWV) e carotido-radiale (cr-PWV), dell'Augmentation Index (Alx) e del SubEndocardial Viability Ratio (SEVR). È stata, come precedentemente descritto, ricavata la pressione centrale sistolica (cSBP) dalla forma dell'onda di polso carotideo calibrata sui valori pressori periferici. Per motivi organizzativi, la raccolta dei dati inerenti le proprietà delle arterie è stata possibile per tutti i soggetti solo in 2 delle 6 tappe previste dallo studio: Visita 3 (pazienti in terapia da 6 settimane con placebo o terapia attiva, a livello del mare, Lima, Perù) e Visita 4 (esposizione acuta ad alta quota in corso di terapia farmacologica, HA, Huancayo Perù, 3.260m).

RISULTATI

I soggetti in trattamento attivo mostravano valori significativamente inferiori di cSBP sia a livello del mare che in alta quota (cSBP 106,8±1,66mmHg vs 114,5±1,86mmHg a Lima e 111,4±1,54mmHg vs 123,8±1,91mmHg ad HA); inoltre, l'esposizione acuta ad alta quota aumentava in modo significativo la cSBP solo nel gruppo in placebo rispetto al livello mare (da 114,5±1,86mmHg a Lima a 123,8±1,91mmHg in HA; $p<0,001$) (Figura 1).

In alta quota si è osservato un incremento significativo dell'Alx@75 nei soggetti in placebo rispetto ai soggetti in trattamento (15,68±2,0% 0 vs. 8,40±1,90%; $p<0,05$), senza differenze significative rispetto al basale a livello del mare (Figura 2). La cf-PWV si è mostrata significativamente più bassa nei soggetti in trattamento attivo sia a livello del mare (8,50±1,50m/sec vs 7,33±1,63m/sec; $p<0,005$) che in alta quota (8,44±1,32m/sec vs. 7,79±1,68m/sec; $p<0,05$) (Figura 2). Non si sono invece osservate differenze della cr-PWV, né relativamente alla quota né in relazione al trattamento. Per quanto riguarda il SEVR, non si sono osservate differenze tra i due gruppi, sebbene esso si riducesse in maniera significativa in

Figure 2

Alx@75 (#= $p<0,05$ vs. PL) and cf-PWV (#= $p<0,005$ vs PL).

Alx@75 (#= $p<0,05$ vs. PL) and cf-PWV (#= $p<0,005$ vs. PL).

● PLACEBO
● T/N

Figure 3

SEVR (*= $p<0.001$ vs. LM).

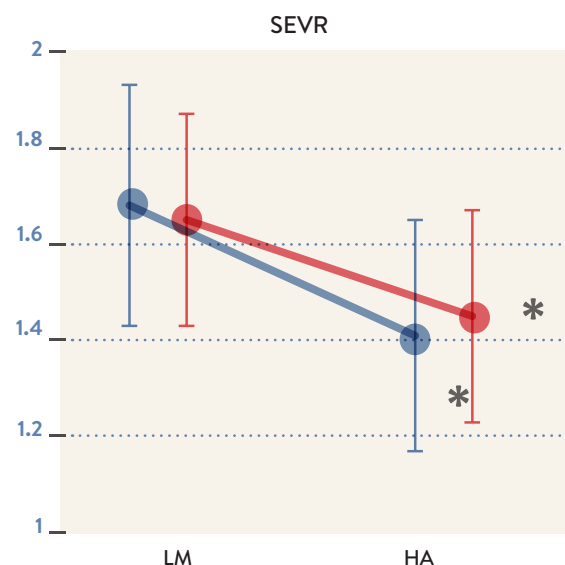
SEVR (*= $p<0.001$ vs. LM).

●
PLACEBO
●
T/N

In the active treatment group, cf-PWV was significantly lower, both at sea level ($8.50\pm1.50\text{m/sec}$ vs $7.33\pm1.63\text{m/sec}$; $p<0.005$) and at high altitude $8.44\pm1.32\text{m/sec}$ vs. $7.79\pm1.68\text{m/sec}$; $p<0.05$) (Figure 2). On the other hand, we did not detect any difference in cr-PWV, either altitude- or treatment-related. SEVR did not differ between groups, although it significantly decreased in both groups during acute high altitude exposure (Figure 3). We did not calculate $\text{SEVR}\times\text{CaO}_2$, because during such an acute exposure, a behaviour similar to that of SEVR is to be expected.

CONCLUSIONS

Our data demonstrate, for the first time, that in hypertensive patients acute hypobaric hypoxia induces alterations in pulse wave form characterized by an increase in pulse wave amplitude and of cSBP, with a concomitant SEVR reduction. Moreover, our study shows that combination therapy with telmisartan and nifedipine GITS is able to reduce cf-PWV, an arterial stiffness index, both at sea level and at high altitude, but also to significantly attenuate hypoxia induced cSBP increases, thus demonstrating that this combination maintains higher arterial elasticity in hypertensive subjects, also during high altitude exposure. The observed variations in Alx@75 suggest that the treatment induced vasodilation may counteract the vasoconstrictive effect of high altitude due to sympathetic activation in this condition.



entrambi durante esposizione acuta (Figura 3). Non sono stati eseguiti i calcoli per ricavare i valori di $\text{SEVR}\times\text{CaO}_2$ in quanto si presuppone, in tali condizioni di esposizione acuta, un comportamento simile a quello del SEVR.

CONCLUSIONI

I nostri dati dimostrano per la prima volta, in pazienti ipertesi, il verificarsi di alterazioni della forma d'onda di polso dovute a esposizione acuta ad ipossia ipobarica in alta quota, con aumento dell'ampiezza dell'onda di polso, della cSBP ed una concomitante riduzione del SEVR. Il nostro studio mostra inoltre come la terapia con combinazione di telmisartan e nifedipina GITS sia in grado non solo di ridurre un indicatore di rigidità arteriosa quale la cf-PWV, sia a livello del mare che in alta quota, ma anche di limitare significativamente gli incrementi di cSBP indotti dall'alta quota, dimostrando come questa combinazione possa garantire una maggiore elasticità arteriosa nell'ipertensione anche durante esposizione a quote elevate. Le variazioni osservate nell' Alx@75 suggeriscono che la vasodilatazione indotta dalla terapia con telmisartan e nifedipina possa contrastare in maniera efficace l'effetto di vasocostrizione esercitato dall'aumentata attività simpatica che si verifica in alta quota.

EFFECTS OF HIGH ALTITUDE EXPOSURE ON BLOOD PRESSURE RESPONSE TO EXERCISE IN HYPERTENSIVE SUBJECTS

EFFETTI DELL'ESPOSIZIONE AD ALTA QUOTA SULLA RISPOSTA PRESSORIA ALL'ESERCIZIO IN SOGGETTI IPERTESI



Acute exposure to high altitude hypobaric hypoxia decreases exercise performance, and increases systolic and diastolic blood pressure (SBP/DBP) in healthy subjects. Although many studies are available on exercise capacity during high altitude exposure, the evidence on BP changes during exercise is far less complete, and only anecdotic reports are available in this regarding in hypertensive subjects. There are also no data regarding the effects of antihypertensive treatment in modulating these exercise induced BP changes. In the part of HIGHCARE-ANDES dedicated to exercise related BP changes, we aimed to explore the effects of telmisartan 80 mg–nifedipine slow release 30 mg (T/N) combination treatment in the mildly hypertensive participants of this study who underwent 6-minute walk test and cardiopulmonary exercise test.

In soggetti sani, l'esposizione acuta a ipossia ipobarica da alta quota riduce la performance fisica durante esercizio e si associa ad un aumento della pressione arteriosa (BP), sia sistolica (SBP) che diastolica (DBP). Sebbene la capacità di esercizio durante esposizione ad alta quota sia stata valutata in molti studi, la conoscenza attuale riguardo alle modificazioni della BP in questa circostanza è molto lacunosa. Inoltre, per quanto riguarda i soggetti ipertesi, sono disponibili solo dati aneddotici. Infine, non vi sono in letteratura dati riguardo l'efficacia delle terapie antipertensive nella modulazione di queste alterazioni pressorie indotte da esercizio. Nel sottostudio di HIGHCARE-ANDES dedicato alle variazioni della BP durante esercizio abbiamo voluto esplorare gli effetti della terapia di combinazione telmisartan 80mg - Nifedipina a lento rilascio (GITS) 30mg (T/N) in soggetti

ABOVE

Cardiopulmonary exercise test, research laboratories of Universidad Cayetano Heredia, Lima.

SOPRA

Test da sforzo cardiopolmonare, laboratori di ricerca della Universidad Cayetano Heredia, Lima.

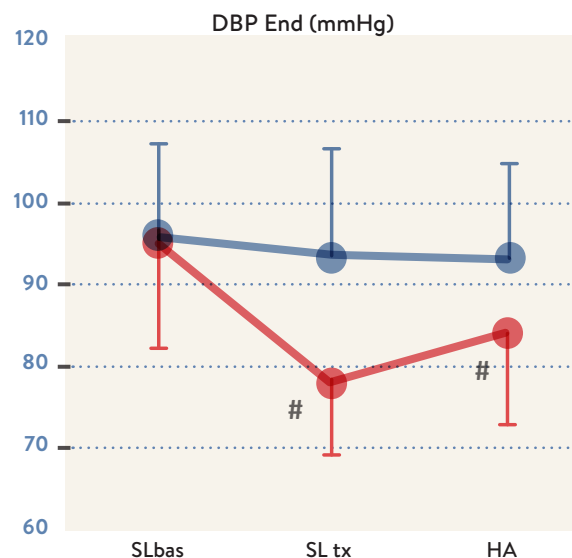
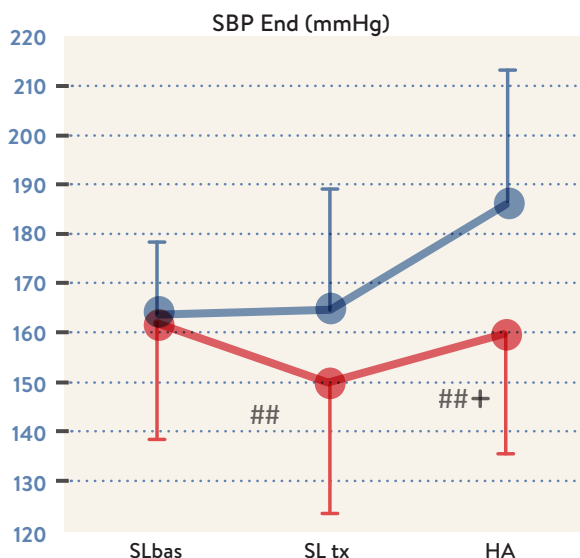
Figure 1

Systolic and diastolic blood pressure after the six minute walking test (6MWT) at SLbas, SLtx and HA. SBP, Systolic Blood Pressure; DBP, Diastolic Blood Pressure; HA, high altitude; SL, sea level. Data are shown as means $\pm$ SD. +p<0.001 vs SL; ## p<0.001 vs PL; # p<0.01 vs PL; p 0.05 vs PL.

Valori di pressione arteriosa sistolica e diastolica dopo esecuzione del test del cammino dei 6 minuti (6MWT) a SLbas, SLtx e HA. SBP, pressione arteriosa sistolica; DBP, pressione arteriosa diastolica; HA, alta quota; SL, livello mare. Dati illustrati come media $\pm$ deviazione standard. +p<0.001 vs SL; ## p<0.001 vs PL; # p<0.01 vs PL; p 0.05 vs PL.

—●—
PLACEBO

—●—
ACTIVE
TREATMENT



To that aim, the participants of HIGHCARE-ANDES Lowlanders study underwent six minute walking test and incremental cardiopulmonary exercise test in 3 different conditions:

1. At sea-level off-treatment, after pharmacological wash-out (SL-bas).
2. After 6 weeks of double-blind treatment with T/N or placebo (SL-treat);
3. After the 1st full day of permanence at 3260m altitude (Huancayo-Peru).

SIX MINUTE WALKING TEST

The six minute walking test (6MWT) was performed following the American Thoracic Society protocol. The test was conducted in a 30 m long corridor labelled with a white tape at 3 m intervals both at sea level and at high altitude. Subjects were instructed to walk (without running) as fast as possible during 6 min, being allowed to stop and rest whenever necessary. Every minute during the test, the subjects were encouraged with standard phrases in the Spanish language. Heart rate, oxygen saturation and blood pressure were measured at rest 10 min before the test, and after completing the 6MWT at 0, 3 and 5 minutes in the sitting position. Dyspnoea and fatigue were assessed by applying the Borg scale before and at the end of the test.

Complete 6MWT data are available in eighty-two participants (age 51.9 ± 9.7 ; 47M/35F; BMI $28.2 \pm 3.5 \text{ kg/m}^2$). At baseline, exercise performance and vital signs after the exercise were similar in both treatment groups. After 6 weeks of randomized treatment, systolic and diastolic blood pressure at the end of the exercise were significantly lower in the

con ipertensione di grado lieve, sottoposti ad un test del cammino dei 6 minuti (6MWT) e ad un test cardiopolmonare incrementale (CPET).

Gli esami sono stati eseguiti in tre differenti condizioni sperimentali: 1) a livello del mare in assenza di terapia farmacologica, dopo wash-out dalla eventuale terapia antipertensiva in corso prima dell'arruolamento (SL-bas); 2) dopo 6 settimane di trattamento randomizzato in doppio cieco con T/N o placebo (SL-treat); 3) dopo un intero giorno di permanenza a 3.260m di altitudine (Huancayo, Perù).

TEST DEL CAMMINO DEI 6 MINUTI

Il 6MWT è stato eseguito secondo il protocollo della American Thoracic Society. Il test è stato condotto in un corridoio della lunghezza di 30 metri, marcato con scotch bianco ad intervalli di 3 metri. Sia a livello del mare che in alta quota, i soggetti hanno ricevuto istruzioni di camminare, più velocemente possibile, ma senza correre, durante i sei minuti del test, potendo tuttavia fermarsi e riposare qualora necessario. Al termine di ogni minuto del test, i soggetti sono stati incoraggiati con frasi standard in lingua spagnola. La frequenza cardiaca, la saturazione dell'ossigeno e la pressione arteriosa sono state misurate a riposo (10 minuti prima del test) e rispettivamente a 0, 3 e 5 minuti, e dopo aver completato il 6MWT, in posizione seduta. Il grado di dispnea ed affaticamento sono stati valutati tramite la scala Borg prima del test e dopo il suo completamento.

I dati completi del 6MWT sono stati ottenuti in 82 partecipanti (età $51,9 \pm 9,7$; 47M/35F; BMI $28,2 \pm 3,5 \text{ kg/m}^2$). Al basale, sia la performance

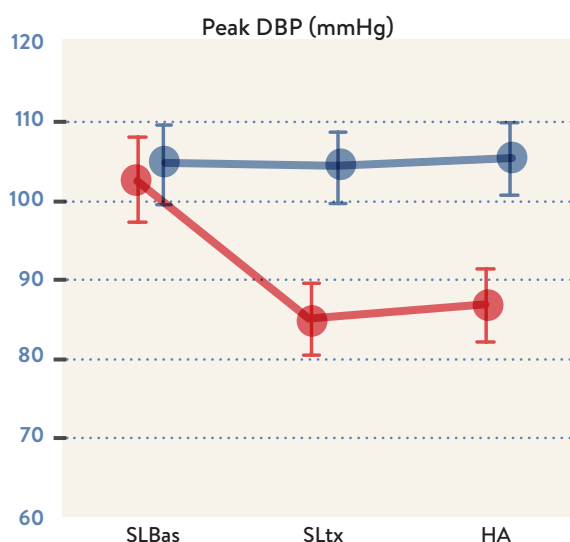
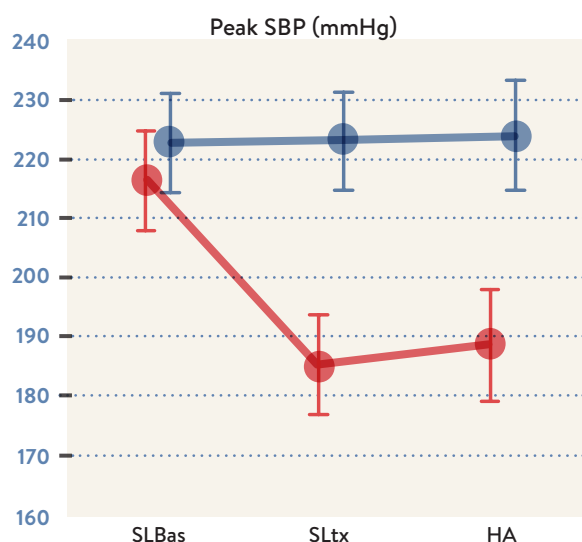


Figure 2

Systolic and diastolic blood pressure at peak exercise. V02 max at HA was reduced by 13%.

Pressione sistolica e diastolica al picco di esercizio. Il consumo massimo di O₂ ad HA era ridotto del 13%.

—●—
PLACEBO

—●—
ACTIVE TREATMENT

active treatment than in the placebo group ($149.3 \pm 25.3 / 82.5 \pm 10.1$ mmHg vs 162.1 ± 24.6 mmHg/ 92.9 ± 13.1 mmHg; $p < 0.001$).

At high altitude, systolic blood pressure after exercise was significantly higher as compared with sea level in both groups, remaining significantly lower in T/N than in placebo group (159.1 ± 24.6 vs. 185.7 ± 25.6 mmHg, $p < 0.001$). Diastolic blood pressure after exercise did not differ between sea level on treatment and at high altitude in both groups, remaining lower in T/N (85.4 ± 13.0 mmHg vs. 92.4 ± 12.2 mmHg, $p < 0.01$). Mean end-exercise SpO₂ decreased at high altitude in both groups; however, it was significantly higher in T/N compared to placebo ($86.6 \pm 5.2\%$ vs. $84.2 \pm 6.0\%$; $p < 0.05$). Whereas heart rate increased at high altitude, no significant differences were observed between groups. Similarly, while the 6-minute walking distance decreased significantly from sea level to high altitude within each group (from 597 ± 57 to 536.8 ± 58.4 m in T/N $p < 0.001$; and from 599 ± 61 to 537 ± 56 m in placebo $p < 0.001$), no differences between treatment groups were observed.

CARDIOPULMONARY EXERCISE TEST

Due to logistic limitations, the incremental cardiopulmonary exercise test (CPET) was performed in a subgroup of fifty-five participants, randomly selected among the entire population of HIGHCARE-ANDES Lowlanders Study (age 57.5 ± 8.9 ; M/F: 29/26; BMI 28.0 ± 14.5 kg/m²). The test was performed on a mechanically braked cycle ergometer (Monark Ergonomic 828) with a step-increase protocol (30W every 3 minutes). Subjects were instructed to maintain the pedalling rate at 60 revolutions/min and were strongly encouraged

durante esercizio che i parametri vitali dopo esercizio erano sovrapponibili tra i due gruppi. Dopo 6 settimane di trattamento secondo randomizzazione, sia SBP che DBP alla fine dell'esercizio erano significativamente inferiori nel gruppo in trattamento attivo rispetto al gruppo placebo ($149,3 \pm 25,3 / 82,5 \pm 10,1$ mmHg vs $162,1 \pm 24,6$ mmHg/ $92,9 \pm 13,1$ mmHg; $p < 0,001$). In alta quota la SBP dopo esercizio era significativamente maggiore rispetto al livello del mare in entrambi i gruppi, rimanendo tuttavia significativamente più bassa nel gruppo randomizzato a T/N rispetto al gruppo placebo ($159,1 \pm 24,6$ vs. $185,7 \pm 25,6$ mmHg, $p < 0,001$). In entrambi i gruppi la DBP dopo esercizio non è variata da SL-treat all'alta quota, rimanendo tuttavia più bassa nei soggetti che assumevano T/N ($85,4 \pm 13,0$ mmHg vs. $92,4 \pm 12,2$ mmHg, $p < 0,01$). La SpO₂ media alla fine dell'esercizio si è ridotta in alta quota in entrambi i gruppi; tuttavia essa era significativamente più alta nel gruppo T/N che nel gruppo placebo ($86,6 \pm 5,2\%$ vs. $84,2 \pm 6,0\%$; $p < 0,05$). Sebbene la frequenza cardiaca sia aumentata durante esposizione ad alta quota, non sono state osservate differenze significative tra i gruppi. Allo stesso modo, la differenza percorsa durante il 6MWT si è significativamente ridotta dal livello del mare all'alta quota all'interno di ogni gruppo (da 597 ± 57 a $536,8 \pm 58,4$ m in T/N $p < 0,001$; e da 599 ± 61 a 537 ± 56 m in placebo $p < 0,001$), ma non sono state osservate differenze significative tra i gruppi.

TEST DA SFORZO CARDIOPOLMONARE

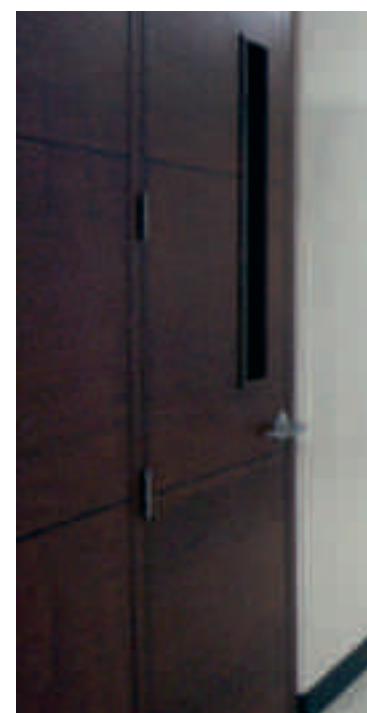
A causa di difficoltà logistiche, il test incrementale cardiopolmonare è stato eseguito in un sottogruppo di soli 55 partecipanti,

BELOW

6 minutes walking test in the corridor of Universidad Cayetano Heredia, Lima.

SOTTO

Test del cammino dei 6 minuti nei corridoi della Universidad Cayetano Heredia, Lima.



to perform a maximal test, although allowing them to determine when their fatigue was so severe that it was necessary to stop cycling. Cardiorespiratory variables, with particular attention to oxygen consumption (VO_2), were analyzed at rest, at the last minute of each step, and during the last 30 sec of exercise (peak). Anaerobic threshold (AT) was visually identified by the V-slope method and confirmed by the analysis of end-tidal gas concentration (PetO_2 and PetCO_2) and of ventilatory equivalents (VE/VO_2 and VE/VCO_2).

Exercise was prematurely terminated for medical reasons in 10% of cases (50% of them in T/N group and the remaining in placebo group) at sea level, in 12.7% of cases (29% in T/N group) at sea level in treatment, and in 16.4% of cases (33% in T/N group) at Huancayo. There were no significant differences between treatment groups in basal conditions, including resting and exercise blood pressure. At sea level, T/N reduced resting SBP and DBP compared to placebo ($126.2 \pm 16.0 / 82.6 \pm 11.5$ vs. $150.3 \pm 12.4 / 99.1 \pm 10.2$ mmHg, $p < 0.001$), as well as peak SBP and DBP, while not affecting peak oxygen consumption (VO_2). At high altitude, resting SBP and DBP significantly increased in both groups, as compared with sea level, but blood pressure levels remained always lower on T/N than on placebo ($134.3 \pm 15.4 / 86.3 \pm 9.8$ vs. $158.2 \pm 15.3 / 105.0 \pm 8.8$ mmHg, $p < 0.001$). Peak SBP and DBP were not different from sea

selezionati casualmente dall'intera popolazione dello studio HIGHCARE-ANDES Lowlanders (età $57,5 \pm 8,9$; M/F: 29/26; BMI $28,0 \pm 14,5$ kg/m²). Il test è stato condotto su un cicloergometro con carico comandato meccanicamente (Monark Ergomedic 828) con un protocollo di carico incrementale a step (30 W ogni 3 minuti). I soggetti hanno ricevuto istruzioni di mantenere la velocità di pedalata a circa 60 giri/minuto e sono stati energicamente incoraggiati ad effettuare un test massimale, avendo comunque la possibilità di interrompere il test in caso di sforzo talmente intenso da non essere più sostenibile. Le variabili cardiorespiratorie, con particolare attenzione al consumo di ossigeno (VO_2), sono state analizzate a riposo, durante l'ultimo minuto di ogni step e durante gli ultimi 30 secondi di esercizio (picco). La soglia anaerobica (AT) è stata identificata visivamente col metodo della V-slope e confermata dalle analisi della concentrazione dei gas alla fine del volume espiratorio (PetO_2 e PetCO_2) e degli equivalenti ventilatori (VE/VO_2 and VE/VCO_2).

L'esercizio è stato interrotto prematuramente dagli sperimentatori per ragioni mediche nel 10% dei casi a SL-bas (di questi il 50% faceva parte del gruppo T/N), nel 12,7% dei casi a SL-treat (29% nel gruppo T/N) e nel 16,4% dei casi a Huancayo (33% nel gruppo T/N). Non sono state riscontrate differenze significative tra i gruppi di trattamento in condizioni basali, nemmeno per quanto riguarda la BP a riposo e durante esercizio. A livello del mare, l'associazione T/N riduceva significativamente sia SBP che DBP a riposo, paragonata al placebo ($126,2 \pm 16,0 / 82,6 \pm 11,5$ vs. $150,3 \pm 12,4 / 99,1 \pm 10,2$ mmHg, $p < 0,001$), così come il picco di SBP e DBP, mentre non influenzava il picco del consumo dell'ossigeno (VO_2). Ad alta quota, SBP e DBP a riposo aumentavano significativamente in entrambi i gruppi, paragonati a livello del mare, ma i livelli di pressione arteriosa sono rimasti sempre minori nel gruppo T/N rispetto al gruppo placebo ($134,3 \pm 15,4 / 86,3 \pm 9,8$ vs. $158,2 \pm 15,3 / 105,0 \pm 8,8$ mmHg, $p < 0,001$). SBP e DBP di picco non erano differenti dal livello del mare, mentre il VO_2 di picco era ridotto del 13% ($1,90 \pm 0,58$ vs. $1,66 \pm 0,43$ L/min, $p < 0,001$), in assenza di differenze tra i gruppi di trattamento. Dal livello del mare all'alta quota, SBP è significativamente aumentata sia a riposo che durante esercizio fino a 120W; inoltre, ad alta quota abbiamo osservato una normalizzazione più lenta dei valori di SBP durante il recupero.





level, but peak VO_2 was reduced by 13% (1.90 ± 0.58 vs. 1.66 ± 0.43 L/min, $p < 0.001$), with no differences between treatment groups. From sea level to high altitude, systolic blood pressure significantly increased at rest and during exercise up to 120 W; during recovery, systolic pressure recovery was slower at high altitude than at sea level. Diastolic blood pressure was higher at rest and during warm-up at high altitude, but the difference from sea level was no longer significant with further workload increase. Active treatment effectively reduced blood pressure at each step of exercise and recovery compared to placebo, without adversely affecting exercise capacity. As compared to sea level, exercise capacity at high altitude (as expressed by either VO_2 or by workload achieved) was reduced both at the anaerobic threshold (AT) and at peak exercise, without differences among treatments.

Taken together, the results of the study of submaximal (6MWT) and maximal (CPET) exercise at high altitude provide the first systematic demonstration that in hypertensive individuals, during acute exposure to high altitude, systolic blood pressure increases in response to exercise to higher levels as compared to sea level, despite a reduced exercise performance (-13% peak VO_2). We have also found that, at high altitude, combination therapy with telmisartan and nifedipine GITS maintained its BP lowering efficacy

La DBP ad alta quota era superiore che a riposo e durante il riscaldamento, ma la differenza con il livello del mare non era più significativa dopo l'ulteriore aumento del carico di lavoro.

Dai nostri dati risulta quindi che il trattamento attivo riduce efficacemente la BP durante ogni step dell'esercizio e durante il recupero rispetto al placebo, senza influenzare negativamente la capacità di esercizio. Paragonata a livello del mare, la capacità di esercizio ad alta quota (espressa sia come VO_2 che come carico di lavoro raggiunto) è ridotta sia alla soglia anaerobica (AT) che al picco dell'esercizio, in assenza di differenze significative tra i gruppi di trattamento.

I risultati congiunti dello studio dell'esercizio submassimale (6MWT) e massimale (CPET) in alta quota hanno fornito la prima dimostrazione sistematica di come in soggetti ipertesi, in queste condizioni, la SBP aumenti in risposta all'esercizio fino a livelli superiori rispetto a quelli raggiunti a livello del mare, nonostante una riduzione nella performance (-13% VO_2 di picco). Abbiamo inoltre dimostrato come la terapia di combinazione con telmisartan e nifedipina GITS mantenga la sua efficacia nel ridurre la pressione durante l'esercizio anche in alta quota, e come inoltre migliori la saturazione dell'ossigeno, senza influenzare la performance fisica. Inoltre, il trattamento attivo ha mantenuto la sua efficacia nella riduzione della SBP anche durante il periodo di recupero, sia nel 6MWT che nel CPET.

ABOVE

Miraflores residential district, Lima, Peru.

SOPRA

Quartiere residenziale Miraflores, Lima, Perù.

during exercise and, additionally, improved oxygen saturation, without affecting exercise performance. Moreover, the active treatment retained its efficacy in reducing systolic blood pressure also throughout recovery period either in 6MWT and in CPET. In particular, during CPET, our hypertensive subjects attained the same blood pressure peak as at sea level, while displaying reduced exercise performance. This indicates that hypertensive subjects display a hypoxia-driven blood pressure hyper-reactivity during exercise at high altitude. Recovery of systolic blood pressure towards resting values after maximal exercise is slower at high altitude, possibly due to an impairment of the autonomic cardiovascular regulation in hypoxic conditions. Our findings may have clinical implications considering that short periods of exposure to high altitude are frequently associated with physical exercise as in workers, skiers, hikers or climbers. In case of pre-existing arterial hypertension, the combined pressor effect of high altitude hypoxia and exercise may lead to important and potentially dangerous increases in BP values. In this context, the combination treatment with telmisartan and nifedipine GITS used in our study appears to be an effective and safe therapeutic option, with an additional benefit of increasing blood oxygen saturation.

In particolare, durante il CPET i nostri soggetti ipertesi hanno raggiunto un livello di pressione arteriosa di picco sovrapponibile a quello raggiunto al livello del mare, pur mostrando una ridotta performance dell'esercizio. Questo indica una iperreattività della BP indotta da ipossia durante esercizio ad alta quota nei soggetti ipertesi. La normalizzazione della SBP dopo esercizio massimale richiede più tempo ad alta quota, probabilmente a causa di una riduzione nella regolazione autonoma cardiovascolare in condizioni di ipossia. I nostri risultati possono avere importanti implicazioni cliniche, soprattutto in considerazione del fatto che brevi periodi di esposizione all'alta quota sono frequentemente associati con esercizio fisico, come accade per esempio in lavoratori, sciatori, alpinisti e scalatori. In caso di ipertensione arteriosa preesistente, l'effetto combinato dell'ipossia da alta quota e dell'esercizio può portare a importanti e potenzialmente pericolosi incrementi nei valori di BP. In questo contesto, la terapia di combinazione con telmisartan e nifedipina GITS valutata nel nostro studio sembra essere un'opzione terapeutica sicura ed efficace, avendo anche mostrato l'addizionale beneficio di incrementare la saturazione dell'ossigeno.

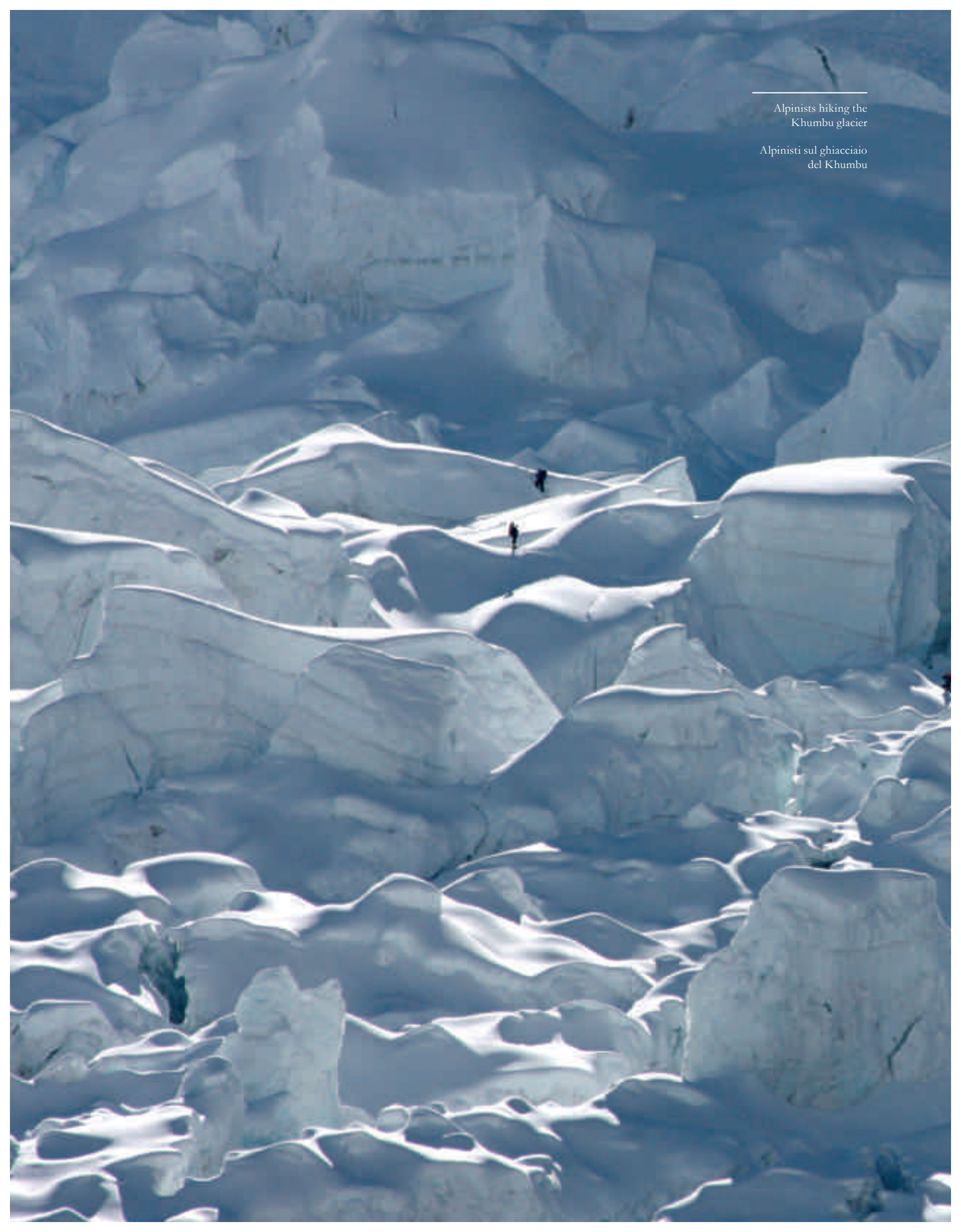
RIGHT

The HIGHCARE
Andes team.

DESTRA

Il Team HIGHCARE
Andes.



The image shows a massive, undulating glacier surface with a complex pattern of ridges and crevasses. The ice has a blueish-grey hue. Two tiny figures of alpinists are visible on a ridge in the middle distance, providing a sense of scale to the immense landscape.

Alpinists hiking the
Khumbu glacier

Alpinisti sul ghiacciaio
del Khumbu



FUTURE PERSPECTIVES

PROSPETTIVE FUTURE

PERSPECTIVES: CURRENTLY ONGOING HIGHCARE PROJECTS

PROSPETTIVE: PROGETTI HIGHCARE ATTUALMENTE IN CORSO



The HIGHCARE project continues and three other major studies are currently being completed.

HIGHCARE ALPS - MONT BLANC

This study is addressing an issue of great importance both for clinical medicine and for occupational medicine, that is what are the cardiovascular and neurological changes that may occur in individuals who are required to work for long periods at high altitudes. It is the first time that an extensive program of cardiovascular, respiratory, hematological, neurological, and vestibular investigations is carried out in a fair number of workers engaged in working activities at such a high altitude. The previous HIGHCARE projects have clearly shown that high altitude exposure induces important modifications in the cardiovascular and respiratory systems. In particular, we

Il progetto HIGHCARE continua, e sono attualmente in fase di completamento tre altri studi importanti.

HIGHCARE ALPS – MONT BLANC

È uno studio che sta affrontando un aspetto di grande rilevanza sia per la medicina clinica, sia per la medicina del lavoro, e cioè quali siano le modificazioni cardiovascolari e neurologiche che si possono verificare in soggetti che svolgono attività lavorative per lunghi periodi in alta quota.

È la prima volta che un esteso programma di indagini cardiovascolari, respiratorie, ematologiche, neurologiche e vestibolari viene effettuato in un discreto numero di lavoratori a quote così alte. I precedenti progetti HIGHCARE hanno chiaramente evidenziato come l'alta quota induca importanti modificazioni dell'equilibrio cardiovascolare

ABOVE

The building site of the New Mont Blanc Ropeways (Helbronner peak, 3,452m).

SOPRA

Lavori di costruzione delle Nuove Funivie del Monte Bianco (Punta Helbronner, 3,452m).

have recently demonstrated an increase in systemic blood pressure in conjunction with the acute exposure to hypobaric hypoxia at high altitude (hypobaric hypoxia). There are no data, however, regarding the responses of blood pressure or, more generally, the cardiovascular consequences in individuals who are intermittently exposed for relative long periods of time to working activities at high altitude, sometimes being engaged in occupational activities involving significant physical effort. There is also no evidence regarding the effect of this exposure on the apparatus of the inner ear (i.e. otovestibular apparatus).

The aim of this observational study is therefore the assessment of the cardiovascular, respiratory, and otovestibular responses of workers occupationally exposed to hypobaric hypoxia at high altitude. Individuals in whom this evaluation is being performed, are those hired to work in the construction of a new cable car up Mont Blanc, mainly involved in manual work. Workers are being studied both at sea level and at high altitude, in their workplace. Approximately half of the subjects are exposed to an altitude of 2500 meters above sea level (Pavillon cable car station), while the others work at an altitude of about 3500 meters above sea level (Helbronner Peak). Objective of the study is the evaluation of blood pressure responses to high altitude exposure (at rest, in dynamic conditions over 24 hours and during cardiopulmonary stress test), and more generally the assessment of the cardiorespiratory and otovestibular adaptations which occur in these individuals. We are also investigating the possible changes in the elastic properties of large arteries (arterial tonometry) and we are running blood tests (complete blood count) and urinary tests (catecholamines). In addition, in all subjects we are analyzing the cardiorespiratory patterns occurring during night sleep through cardiorespiratory polygraphy, and we are carrying out a cardiopulmonary exercise test and echocardiography.

The results of this study may have interesting implications for occupational health, and may help in the selection of the individuals suitable to be hired to work in those conditions, by determining not only the type of job to which a given individual could be assigned, characterized by more or less heavy physical activity and by a higher or lower risk of accidents, but also the level of altitude at

and respiratory. In particolare abbiamo recentemente dimostrato un aumento della pressione arteriosa sistemica in concomitanza con l'esposizione acuta alla ipossia ipobarica in alta quota (ipossia ipobarica). Non vi sono dati, tuttavia, riguardanti le risposte di pressione arteriosa in persone che per motivi professionali sono esposte per periodi intermittenti di tempo all'alta quota, a volte svolgendo lavori che implicano importanti sforzi fisici, né più in generale si conoscono le conseguenze cardiovascolari di tale tipo di esposizione. Non vi sono, inoltre, evidenze riguardanti l'effetto di tale esposizione sull'apparato dell'orecchio interno (otovestibolare).

Lo scopo di questo studio osservazionale è pertanto la valutazione delle risposte cardiovascolari, respiratorie e otovestibolari di lavoratori esposti per ragioni professionali all'ipossia ipobarica d'alta quota: sono infatti oggetto di tale valutazione i lavoratori della nuova funivia del Monte Bianco, prevalentemente addetti a lavori manuali. I lavoratori sono studiati sia a livello del mare sia in quota, sul luogo di lavoro. Circa metà dei soggetti è esposto a una quota di 2.500 metri s.l.m. (Stazione Pavillon), mentre gli altri operano a una quota di circa 3.500 metri s.l.m. (Punta Helbronner). Obiettivo dello studio è valutare in primo luogo le risposte di pressione arteriosa (a riposo, nelle 24 ore e durante sforzo fisico) e, più in generale, gli adattamenti cardiorespiratori e otovestibolari a cui tali soggetti vanno incontro. Sono, più precisamente, oggetto di valutazione la pressione arteriosa registrata in condizioni dinamiche nelle 24 ore, a riposo e sotto sforzo. Sono indagate anche le proprietà elastiche delle arterie (tonometria arteriosa) e vengono eseguiti esami ematochimici (emocromo) e urinari (catecolamine). Inoltre, si analizza il pattern cardiorespiratorio nel sonno mediante poligrafia cardiorespiratoria notturna, e vengono effettuati in tutti i soggetti un test da sforzo cardiopolmonare e un ecocardiogramma colorDoppler.

Questo tipo di valutazione può avere implicazioni interessanti per la medicina del lavoro e potrebbe aiutare nella selezione del lavoratore per stabilire non solo il tipo di mansione, più o meno pesante a livello fisico o ad alto o basso rischio infortunistico, ma anche il livello di altitudine a cui è meglio non esporre un soggetto sulla base delle sue caratteristiche cliniche. Comunque, questi dati possono essere di interesse per chiunque,

which it is better not to expose a worker on the basis of individual clinical features. These data may be of interest also to anyone, living at sea level, who might plan to engage in physical activity at high altitude, for leisure or for work. We believe that the assessment of these issues may lead to a significant increase in our knowledge of the hemodynamic responses and of the variations in otovestibular function at high altitude. The conclusion of this study is planned during year 2015.

HIGHCARE ALPS - SESTRIERE

HIGHCARE studies have provided evidence of changes in blood pressure, sleep and breathing patterns at altitudes between 3300 and 5400m. No information is available, however, regarding the impact on these parameters of exposure to altitudes lower than 2500-2300m. Although it is very rare that symptoms of acute mountain sickness might occur during exposure to such altitudes, a reduced oxygen partial pressure (which at 2000m corresponds to about 80% of that found at sea level) could lead to physiological responses of potential relevance in patients with cardiovascular or respiratory diseases even at this altitude. Paradoxically, it is precisely to these “intermediate” altitudes that the greatest number of individuals is exposed for leisure or work, either because of their easy accessibility by car or cable car, and also because these altitudes are perceived as “not dangerous” even for the most delicate subjects, with advanced age or with pre-existing pathologic conditions. In addition, exposure to this altitude is almost always occurring without acclimatization and for short periods, often characterized by unusual physical activity compared to everyday life, as for example in case of a weekend of hiking or skiing. It should also be noted that the barometric pressure at 2000m corresponds to the barometric pressure inside the cabin of modern airliners and therefore the study of cardiorespiratory responses to this altitude may also be relevant in the context of studies on the body responses to air travel over long distances. On the basis of these premises, it is therefore evident the usefulness of assessing the impact of altitudes lower than those explored so far on blood pressure and nocturnal breathing patterns. In the HIGHCARE Alps- Sestriere study, currently underway, we are evaluating healthy subjects acutely exposed for two days at an altitude of 2000m, in the town of Sestriere, focusing our attention on the effects of such exposure on blood pressure

residente a livello del mare, debba svolgere attività fisica in alta quota, per svago o per lavoro. Infatti, riteniamo che la valutazione di questi aspetti possa portare a un significativo incremento delle conoscenze della risposta emodinamica e della variabilità della funzionalità otovestibolare all’alta quota. La conclusione di questo studio è prevista per il 2015.

HIGHCARE ALPS – SESTRIERE

I vari studi del progetto HIGHCARE hanno indagato le variazioni pressorie e respiratorie nel sonno a quote comprese tra 3.300 e 5.400m. Non sono attualmente disponibili informazioni riguardo all’impatto dell’esposizione a quote inferiori a 2.500-2.300m. Anche se risulta molto rara la presenza di sintomi di mal di montagna acuto durante l’esposizione a questo tipo di quote, una ridotta pressione parziale dell’ossigeno (che a 2.000m è corrispondente a circa l’80% di quella rilevata a livello del mare) potrebbe determinare anche a queste quote risposte fisiologiche di potenziale rilevanza in soggetti con patologie cardiovascolari o respiratorie. Paradossalmente, è proprio a queste quote “intermedie” che si espone il maggior numero di persone, sia per la facilità di accesso sia perché percepite come “non pericolose” anche per soggetti più delicati, per età o per patologie preesistenti. Inoltre, l’esposizione avviene quasi sempre senza acclimatazione e per brevi periodi, caratterizzati spesso da un’attività fisica inusuale rispetto alla vita quotidiana, come può essere un weekend di trekking o sci. Va inoltre fatto notare che la pressione barometrica presente a 2.000m corrisponde alla pressione all’interno delle cabine di aerei di linea moderni e, pertanto, lo studio di risposte cardiorespiratorie a questa quota può essere rilevante anche nel contesto dello studio delle risposte del nostro corpo a viaggi aerei su lunghe distanze. Sulla base di queste premesse, risulta quindi evidente l’utilità di valutare l’impatto sulla pressione arteriosa e sul pattern respiratorio notturno di altitudini più basse di quelle esplorate finora. Nello studio HIGHCARE ALPS- SESTRIERE, attualmente in corso, stiamo valutando soggetti sani esposti acutamente per due giorni ad un’altitudine di 2.000m, nel comune di Sestriere, focalizzando la nostra attenzione sugli effetti di tale esposizione sulla pressione arteriosa a riposo e monitorata nelle 24 ore, nonché sul pattern respiratorio notturno. Il principale elemento di novità di questo progetto, rispetto agli studi HIGHCARE precedenti che erano mirati mirati alla

at rest and monitored 24 hours, as well as on their breathing pattern at night. The main innovative contribution of this project, in comparison with previous HIGHCARE studies, designed to assess the cardiovascular response to hypobaric hypoxia exposure at high altitudes, is in the assessment of the effects of exposure to an altitude lower than those already explored, but to which a very high number of individuals are routinely exposed.

HIGHCARE LATIN AMERICA PROJECT (LAP)

HIGH altitude CARDiovascular REsearch in Latin America Project (HIGHCARE-LAP) is aimed at improving the understanding of the effects of chronic exposure to high altitude hypobaric hypoxia, on 24h blood pressure (BP) regulation and on the prevalence of office and out-of-office Arterial Hypertension in different Latin American countries.

This study can be subdivided into two sessions:

Lowlanders study – A cross-sectional survey among the subjects living permanently in LA cities or villages located at sea level, considered as a control group (Group A) including a randomly selected sample of the adult population (age range 25-65 yrs, 50% males, 50% females). In all subjects cardiovascular risk factors will be assessed and BP will be measured in the office, at home and in ambulatory conditions over 24 hours. The percentage of hypertensive subjects (as having elevated BP both in the office and out-of-office if untreated, or as being under antihypertensive treatment) will be computed.

Highlanders study – A cross-sectional survey among individuals living permanently in LA cities or villages at high altitude (>2500m) (Group B), aimed at investigating the adaptation of the cardiovascular system in subjects living at high altitude since at least 5 years, as compared to subjects living at sea level. This group will include a randomly selected sample of the adult population (age range 25-65 yrs, 50% males, 50% females). In all subjects cardiovascular risk factors will be assessed and BP will be measured in the office, at home and in ambulatory conditions over 24 hours. The percentage of hypertensive subjects (as having elevated BP both in the office and out-of-office if untreated, or as being under antihypertensive treatment) will be computed.

valutazione della risposta cardiovascolare all'esposizione all'ipossia ipobarica da alta quota, è proprio la valutazione degli effetti di una quota più bassa rispetto a quelle già studiate, ma a cui si espone un elevato numero di persone.

HIGHCARE LATIN AMERICA PROJECT (LAP)

Lo studio HIGH altitude CARDiovascular REsearch in Latin America Project (HIGHCARE-LAP) ha lo scopo di migliorare la comprensione degli effetti dell'esposizione cronica all'ipossia ipobarica in alta quota, sulla regolazione della pressione arteriosa nelle 24h (ABPM) e sulla prevalenza dell'ipertensione arteriosa diagnosticata con misurazioni in ambiente clinico (office BP) e al di fuori dello studio medico (out-of-office BP) in diversi Paesi dell'America Latina.

Questo studio può essere suddiviso in due sessioni:

Studio sui Lowlanders (residenti a livello del mare) - Uno studio trasversale tra i soggetti che vivono in permanenza in città o villaggi situati al livello del mare, considerati come un gruppo di controllo (gruppo A). Verrà incluso un campione scelto a caso della popolazione adulta (fascia di età 25-65 anni, 50% maschi, 50% femmine). In tutti i soggetti saranno valutati i fattori di rischio cardiovascolare e la pressione arteriosa sarà misurata in ufficio, a casa e in condizioni ambulatorie nelle 24 ore. Sarà valutata la percentuale di soggetti ipertesi (cioè con elevazione sia di office che di out-of-office BP se non trattata, o se in trattamento antipertensivo).

Studio sugli Highlanders (residenti in quota) - Un'indagine trasversale tra soggetti che vivono in permanenza in città o villaggi dell'America Latina in alta quota (>2.500m) (Gruppo B), volta a indagare l'adattamento del sistema cardiovascolare in soggetti che vivono in alta quota da almeno 5 anni, rispetto ai soggetti che vivono a livello del mare. Questo gruppo comprende un campione scelto a caso della popolazione adulta (fascia d'età 25-65 anni, 50% maschi, 50% femmine). In tutti i soggetti saranno valutati i fattori di rischio cardiovascolare; la pressione arteriosa sarà misurata in ufficio, a casa e in condizioni ambulatorie nelle 24 ore. Sarà valutata la percentuale di soggetti ipertesi (cioè con elevazione sia di office che di out-of-office BP se non trattata, o se in trattamento antipertensivo).

CONCLUSIONS

CONCLUSIONI

HIGH ALTITUDE EXPOSURE: A PATHOPHYSIOLOGICAL MODEL OF REDUCED OXYGEN AVAILABILITY OCCURRING IN SOME CHRONIC DISEASES

Evaluating the effect of acute and prolonged exposure to high altitude may be of interest not only in relation to the assessment of conditions associated with hypobaric hypoxia, which could expose individuals to an increased risk of health-related problems, but also because of a possible translation of these findings to the management of chronic patients in a clinical setting. Indeed, high altitude conditions may represent an experimental model for exploring the effects of reduced oxygen availability, i.e. of a condition characterizing

ESPOSIZIONE ALL'ALTA QUOTA: UN MODELLO FISIOPATOLOGICO DELLA RIDOTTA DISPONIBILITÀ DI OSSIGENO CHE SI PUÒ OSSERVARE IN PATOLOGIE CRONICHE

La valutazione degli effetti dell'esposizione acuta e prolungata all'alta quota riveste un particolare interesse poiché non si limita allo studio in pochi soggetti solitamente sani degli effetti fisiopatologici di condizioni potenzialmente rischiose perché associate con ipossia ipobarica, ma fornisce anche la possibilità di traslare queste considerazioni in un ambito clinico. Infatti, l'esposizione ad alta quota può essere considerata un modello sperimentale per esplorare gli effetti sull'organismo della ridotta disponibilità di ossigeno, che si può riscontrare in un grande

BELOW

Decorating the *stupa* for *puja* ceremony with national flags of all expedition participants.

SOTTO

Allestimento dello *stupa* per la cerimonia di *puja* al Campo Base Everest con le bandiere delle nazionalità di tutti i partecipanti alla spedizione.



a high number of patients with a variety of diseases, such as heart failure, sleep apneas or respiratory insufficiency, the latter commonly observed in patients affected by severe obesity. In these conditions chronic hypoxia may be accompanied by episodes of acutely reduced oxygen availability. The pathophysiology and clinical manifestations of such hypoxic events might be investigated, at least in part, also through hypobaric hypoxia exposure, where the effects of hypoxia can be explored without the confounding effects of associated comorbidities, typically occurring in chronic patients.

As an example, the similarity between hypobaric hypoxia at altitude and hypoxia accompanying chronic clinical conditions seems to nicely fit the situation of subjects with obesity, in particular those with abdominal obesity. In this condition, the relative hypoxia affecting hypertrophic visceral adipocytes has been reported to trigger adipose expression of tumor necrosis factor- α , responsible for increased oxidative stress, sympathetic activation and insulin resistance, leading to reduced glucose tolerance and increase in blood pressure levels.

This situation is further complicated by the frequent occurrence, in these overweight subjects, of obstructive sleep apnea at night, which further increases sympathetic activity and is associated with blood pressure elevation and higher frequency of metabolic problems such as reduced insulin sensitivity.

It is on such a background that this book was conceived. We hope that it will be of use to researchers and clinicians interested in the physiological and pathophysiological consequences of hypoxia.

Gianfranco Parati

Professor of Cardiovascular Medicine,
University of Milan-Bicocca

Head, Cardiology Unit and Department of
Cardiovascular, Neurological and Metabolic
Sciences, St. Luke's Hospital, IRCCS,
Istituto Auxologico Italiano, Milan, Italy

numero di pazienti residenti a livello del mare, ma affetti da varie patologie, come insufficienza cardiaca, apnee del sonno o insufficienza respiratoria (queste ultime particolarmente frequenti in soggetti affetti da obesità grave), che si associano ad ipossiemia. In tali condizioni, l'ipossia cronica può accompagnarsi con episodi di riduzione acuta della disponibilità di ossigeno. La fisiopatologia e le conseguenze cardiovascolari e sistemiche di tali eventi ipossici possono essere indagate approfonditamente durante l'esposizione a ipossia ipobarica, una situazione in cui gli effetti dell'ipossia possono essere valutati senza gli effetti confondenti di comorbidità associate, tipicamente presenti in pazienti cronici.

Un sostegno a questa teoria viene dalla similitudine tra le conseguenze dell'esposizione acuta all'ipossia ipobarica dell'alta quota in volontari sani e le manifestazioni cliniche dell'obesità, in particolare dell'obesità viscerale. In tale condizione, è stato riportato che l'ipossia relativa che caratterizza gli adipociti viscerali ipertrofici determina la liberazione di citochine come il TNF- α , responsabili di uno stress ossidativo, di una attivazione simpatica e di insulino-resistenza, in grado a loro volta di favorire una ridotta tolleranza al glucosio ed un incremento dei valori di pressione arteriosa, analogamente a quanto osservato in quota. Tale situazione è ulteriormente complicata dalla frequente comparsa in questi soggetti obesi di apnee ostruttive nel sonno, che contribuiscono ad aumentare ulteriormente l'attività simpatica, e si associano a ipertensione arteriosa e ad una frequenza elevata di problemi metabolici, quali una ridotta sensibilità all'insulina.

Da qui l'idea di realizzare questo libro, che ci auguriamo possa essere di utilità per ricercatori e clinici interessati alle conseguenze fisiologiche e fisiopatologiche dell'ipossia.

Gianfranco Parati

Professore Ordinario di Medicina
Cardiovascolare, Università di Milano-Bicocca

Direttore dell'Unità Complessa di Cardiologia
e del Dipartimento di Scienze Cardiovascolari,
Neurologiche e Metaboliche, Ospedale S.Luca,
IRCCS, Istituto Auxologico Italiano, Milano.

ACKNOWLEDGEMENTS

RINGRAZIAMENTI

The following individuals have contributed to the HIGHCARE projects, either as researchers or advisors:
Ai progetti HIGHCARE hanno contribuito con il loro lavoro come ricercatori o consulenti:

GIANFRANCO PARATI (Direttore, Unità di Cardiologia e Dipartimento di Scienze Mediche e Riabilitative ad indirizzo Cardio-Neuro-Metabolico dell'Ospedale S.Luca, IRCCS, Istituto Auxologico Italiano di Milano; Cattedra di Medicina Cardiovascolare, Dipartimento di Scienze della Salute e Direttore della Scuola di Specializzazione in Malattie dell'Apparato Cardiovascolare, Università degli Studi di Milano-Bicocca, Milano, Italia). Principal Investigator for all HIGHCARE projects.

PIERGIUSEPPE AGOSTONI (Università di Milano, Centro Cardiologico Monzino, Milano, Italia)

CECILIA ANZA RAMIREZ (Laboratorio de Fisiologia Comparada-LID/Unidad de Transporte de Oxígeno-IIA. Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima Peru)

MANUELA BARTESAGHI (Istituto Auxologico Italiano, Milano, Italia)

GRZEGORZ BILO (Università di Milano-Bicocca & Istituto Auxologico Italiano, Milano, Italia)

GIOVANNA BRANZI (Istituto Auxologico Italiano, Milano, Italia)

MAURIZIO BUSSOTTI (Università di Milano, Centro Cardiologico Monzino, Milano, Italia)

GIANLUCA CALDARA (Università di Milano-Bicocca & Istituto Auxologico Italiano, Milano, Italia)

ANDREA CAPPUGI (Centro di Bioclimatologia - Università di Firenze, Firenze, Italia)

SERGIO CARAVITA (Università di Milano-Bicocca & Istituto Auxologico Italiano, Milano, Italia)

PAOLO CASTIGLIONI (Polo Tecnologico, Fondazione Don Gnocchi, Milano, Italia)

FRANCESCA CONTINI (Istituto Auxologico Italiano, Piancavallo, Italia)

MARCO DI RIENZO (Polo Tecnologico, Fondazione Don Gnocchi, Milano, Italia)

ANDREA FAINI (Università di Milano-Bicocca & Istituto Auxologico Italiano, Milano, Italia)

MARZIA GALLI-KIENLE (Università di Milano-Bicocca, Milano, Italia)

ALESSIA GIGLIO (Università di Milano-Bicocca & Istituto Auxologico Italiano, Milano, Italia)

ANDREA GIULIANO (Università di Milano-Bicocca & Istituto Auxologico Italiano, Milano, Italia)

LUCA GRAPPIOLO (Scientific Secretariat, Istituto Auxologico Italiano, Milano, Italia)

FRANCESCA GREGORINI (Università di Milano-Bicocca & Istituto Auxologico Italiano, Milano, Italia)

ELENA KASCHINA (Center for Cardiovascular Research (CCR), Institute of Pharmacology Charité - Universitätsmedizin Berlin, Germany)

LEAH LANDAVERI (Laboratorio de Fisiologia Comparada-LID/Unidad de Transporte de Oxígeno-IIA. Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima, Peru)

MORIN LANG (Dept. de Kinesiología, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, Chile)

CAROLINA LOMBARDI (Università di Milano-Bicocca & Istituto Auxologico Italiano, Milano, Italia)

JOSE LUIS MACARLUPU (Laboratorio de Fisiologia Comparada-LID/Unidad de Transporte de Oxígeno-IIA. Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima, Peru)

FULVIO MAGNI (Università di Milano-Bicocca, Milano, Italia)

VERONICA MAININI (Università di Milano-Bicocca, Milano, Italia)

GABRIELLA MALFATTO (Istituto Auxologico Italiano, Milano, Italia)

GIUSEPPE MANCIA (Università di Milano-Bicocca & Istituto Auxologico Italiano, Milano, Italia)

PAOLO MAZZOLENI (Polo Tecnologico, Fondazione Don Gnocchi, Milano, Italia)

PAOLO MERIGGI (Polo Tecnologico, Fondazione Don Gnocchi, Milano, Italia)

PIETRO AMEDEO MODESTI (Clinica Medica e Cardiologia – Università di Firenze, Firenze, Italia)

MARCO MORABITO (Centro di Bioclimatologia - Università di Firenze, Firenze, Italia)

GIUSEPPE OSCULATI (Istituto Auxologico Italiano, Milano, Italia)

DEBORAH OSSOLI (Istituto Auxologico Italiano, Milano, Italia)

BARBARA POLETTI (Università degli Studi di Milano, Istituto Auxologico Italiano, Milano, Italia)

ALBERTO PIPERNO (Università di Milano-Bicocca, Milano, Italia)

STEFANO RAPI (Clinica Medica e Cardiologia – Università di Firenze, Firenze, Italia)

MIRIAM REVERA (Università di Milano-Bicocca & Istituto Auxologico Italiano, Milano, Italia)

PAOLO SALVI (University of Nancy, France & Istituto Auxologico Italiano, Milano, Italia)

ELISABETTA SALVIONI (Centro Cardiologico Monzino, Milano, Italia)

GIULIO SAVIA (Istituto Auxologico Italiano, Piancavallo, Italia)

JOSE MANUEL SOSA (Sociedad Peruana De Cardiología, Lima, Peru)

KATARZYNA STYCZKIEWICZ (Jagiellonian University, Krakow, Poland)

MARGHERITA TAMPLENIZZA (Università di Milano-Bicocca, Milano, Italia)
CAMILLA TORLASCO (Università di Milano-Bicocca & Istituto Auxologico Italiano, Milano, Italia)
MARIACONSUELO VALENTINI (Università di Milano-Bicocca & Istituto Auxologico Italiano, Milano, Italia)
FRANCISCO C. VILLAFUERTE (Laboratorio de Fisiologia Comparada-LID/Unidad de Transporte de Oxígeno-IIA - Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima, Peru)
ALBERTO ZANCHETTI (Istituto Auxologico Italiano, Milano, Italia)

The Authors express their deep gratitude to **MARGHERITA PARATI**, **SAMUELE MOTTA** and **MARCEL MOONEN** for their careful and professional work in setting the graphic layout of this book.

Gratitude is due also to **MARIA CARLA FERRARI** for her indirect support to all HIGHCARE PROJECTS.

Gli Autori desiderano ringraziare **MARGHERITA PARATI**, **SAMUELE MOTTA** e **MARCEL MOONEN** per il loro accurato, instancabile e professionale lavoro nel curare l'impostazione grafica di questo volume.

Un sincero ringraziamento è dovuto anche a **MARIA CARLA FERRARI** per il suo indiretto sostegno a tutti i progetti HIGHCARE.

.....

The following companies and corporations have contributed to the HIGHCARE projects:

Ai progetti HIGHCARE hanno contribuito i seguenti enti e società:

ISTITUTO AUXOLOGICO ITALIANO, Milano, Italia
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MILANO-BICOCCA, Milano, Italia
CLUB ALPINO ITALIANO, Italia
UNIVERSIDAD CAYETANO HEREDIA, Lima, Perù
EUROPEAN SOCIETY OF HYPERTENSION

BAYER HEALTHCARE, Germania
BOEHRINGER INGELHEIM, Germania
THE MENARINI GROUP International, Italia
BANCA INTESA SAN PAOLO, Milano, Italia
MINISTERO DELLA SALUTE, Italia
REGIONE LOMBARDIA, Sanità, Italia

A.DE MORI STRUMENTI, Milano, Italia
A&D COMPANY, Giappone
CAREFUSION, USA
CUTAWAY S.R.L., Milano, Italia
DF SPORT SPECIALIST, Italia
EMBLA, Islanda
EUROTECH S.P.A., Udine, Italia
FILIPPO SALA, Italia
FINAPRES MEDICAL SYSTEM, Olanda
GE HEALTHCARE, USA
INTERCURE, Israele
INTERMED, Milano, Italia
MICROLIFE, Svizzera
MOCCAGATTA POGLIANI & ASSOCIATI, Milano, Italia
OMRON HEALTHCARE, Giappone
ORIDION MEDICAL, Israele
PULSEPEN, DIATECNE, Milano, Italia
ROTEM, USA
SAPIO – LIFE, Italia
SEDA S.P.A., Milano, Italia
SENSORMEDICS S.R.L., Italia
SPACELABS HEALTHCARE, USA
SR LABS, Milano, Italia
TAOMED S.R.L., Milano, Italia
TECNO.EL, Roma, Italia
TENSIOMED, Ungheria
WEBBIT S.R.L., Milano, Italia

AUTHORS

AUTORI



GIANFRANCO PARATI, MD
(born 1951)

Physician, Specialist in Internal Medicine, Specialist in Cardiology. Full Professor of Cardiovascular Medicine, Dept. of Health Sciences, University of Milano-Bicocca. Director, School of Specialization in Cardiovascular Medicine, University of Milano-Bicocca. Head, Cardiology Unit; Director, Dept of Cardiovascular Neural and Metabolic Sciences, and Director of Cardiovascular Research Laboratories, S.Luca Hospital, IRCCS, Istituto Auxologico Italiano, Milan, Italy. European Expert in Hypertension. Chairman of European Society of Hypertension Working Group on Blood Pressure Monitoring and Cardiovascular Variability. President Elect, Italian Society of Hypertension. Executive Editor, Journal of Hypertension; Associate Editor, Hypertension Research. Director and Principal Investigator, HIGHCARE PROJECTS (2003-2014)

GIANFRANCO PARATI
(nato nel 1951)

Medico, Specialista in Medicina Interna, Specialista in Cardiologia. Professore Ordinario di Medicina Cardiovascolare, Dipartimento di Scienze della Salute, Università degli Studi di Milano-Bicocca. Direttore Scuola di Specializzazione in Medicina Cardiovascolare, Università degli Studi Milano-Bicocca. Direttore, Unità di Cardiologia; Direttore, Dipartimento di Scienze Cardiovascolari, Neurologiche e Metaboliche e Direttore dei Laboratori di Ricerca Cardiovascolare, Ospedale S.Luca, IRCCS, Istituto Auxologico Italiano, Milano. Esperto Europeo di Ipertensione Arteriosa. Presidente del Gruppo di Lavoro della Società Europea di Ipertensione Arteriosa sul Monitoraggio della Pressione Arteriosa e sulla Variabilità Cardiovascolare. Presidente Eletto, Società Italiana dell'Ipertensione Arteriosa. Executive Editor, Journal of Hypertension; Associate Editor, Hypertension Research. Direttore e Ricercatore Capo, PROGETTI HIGHCARE (2003-2014)



GRZEGORZ BIŁO, MD
(born 1974)

Physician, Specialist in Internal Medicine and researcher at San Luca Hospital, Istituto Auxologico Italiano in Milan, Italy. Expert in hypertension and blood pressure measurement; involved in HIGHCARE projects since 2003.

GRZEGORZ BIŁO
(nato nel 1974)

Medico Specialista in Medicina Interna e Ricercatore presso Ospedale San Luca, Istituto Auxologico Italiano, Milano. Esperto nell'ipertensione arteriosa e nella misurazione della pressione arteriosa; coinvolto nei progetti HIGHCARE dal 2003.



ANDREA GIULIANO, MD
(born 1979)

Physician, Specialist in Cardiology. He currently works in the Coronary Care Unit and Emergency Room of the S. Luca Hospital. He is also a researcher in the Cardiovascular Research Department of the Istituto Auxologico Italiano in Milan. Since 2008 he participated as a researcher in several high altitude experimental expeditions. His main field of research are the alterations in viscoelastic properties of arteries under hypobaric hypoxia.

ANDREA GIULIANO
(nato nel 1979)

Medico specialista in Malattie dell'Apparato Cardiovascolare. Lavora presso il Pronto Soccorso e l'Unità di Terapia Intensiva Coronarica dell'Ospedale San Luca e come Ricercatore nel Dipartimento di Ricerche Cardiovascolari dell'Istituto Auxologico Italiano a Milano. Dal 2008 ha partecipato ai progetti in alta quota come ricercatore con particolare attenzione nel campo delle alterazioni delle proprietà viscoelastiche delle arterie in condizioni di ipossia ipobarica.



CAMILLA TORLASCO, MD
(born 1985)

Physician, resident in Cardiology at University Milano-Bicocca and research fellow at San Luca Hospital, Cardiovascular Research Department, Istituto Auxologico Italiano in Milan, Italy. Involved in the HIGHCARE project since 2014.

CAMILLA TORLASCO
(nata nel 1985)

Medico specializzando in Malattie dell'Apparato Cardiovascolare presso l'Università Milano-Bicocca, partecipa alle attività di ricerca del Dipartimento di Ricerche Cardiovascolari dell'Ospedale San Luca, Istituto Auxologico Italiano, a Milano. Collabora ai progetti HIGHCARE dal 2014.

HIGHCARE PROJECTS RELATED PUBLICATIONS

ALTRE PUBBLICAZIONI RELATIVE AI PROGETTI HIGHCARE

1. P.A. Modesti, S. Vanni, M. Morabito, A. Modesti, M. Marchetta, T. Gamberi, F. Sofi, G. Savia, G. Mancina, G.F. Gensini, G. Parati. Role of endothelin-1 in exposure to high altitude. Acute mountain sickness and endothelin-1 (ACME-1) study. *Circulation* 2006; 114: 1410-1416.
2. P. Agostoni, M. Valentini, D. Magrì, M. Revera, G. Caldara, F. Gregorini, G. Bilo, K. Styczkiewicz, G. Savia, G. Parati. Disappearance of isocapnic buffering period during increasing work rate exercise at high altitude. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* 2008; 15 (3): 354-358.
3. G. Parati, G. Malfatto, S. Boarin, G. Branzi, G. Caldara, A. Giglio, G. Bilo, G. Ongaro, A. Alter, B. Gavish, G. Mancina. Device-guided paced breathing in the home setting. Effects on exercise capacity, pulmonary and ventricular function in patients with chronic heart failure: a pilot study. *Circulation Heart Failure* 2008; 1: 178-183.
4. G. Malfatto, J.E. Ochoa, G. Parati. Effects of hypoxia on blood pressure regulation: interval hypoxic training as compared to obstructive sleep apnea- the other side of the coin? *Journal of Hypertension* 2009; 27: 1527-1532.
5. M. Bussotti, P. Agostoni, D. Bonacina, G. Bilo, K. Styczkiewicz, A. Faini, G. Caldara, P. A. Modesti, C. Lombardi, G. Parati. La strana storia dello sherpa e della bombola di monossido di carbonio: ovvero storia di un'avventura scientifica. Uno studio del Progetto HIGHCARE 2008. *Giornale Italiano di Cardiologia* 2009; 10: 97-100.
6. M. Di Rienzo, F. Rizzo, P. Meriggi, P. Castiglioni, P. Mazzoleni, G. Parati, B. Bordoni, G. Brambilla, M. Ferratini. Magic System-Advancements in the monitoring of cardiorespiratory function in active people by textile technology. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering* 2009: 35-40.
7. P. Agostoni, G. Caldara, M. Bussotti, M. Revera, M. Valentini, F. Gregorini, A. Faini, C. Lombardi, G. Bilo, A. Giuliano, F. Veglia, G. Savia, P.A. Modesti, G. Mancina and G. Parati on behalf of the HIGHCARE Investigators. Continuous positive airway pressure increases haemoglobin O₂ saturation after acute but not prolonged altitude exposure. *European Heart Journal* 2010; 31 (4): 457-463.
8. M. Di Rienzo, P. Castiglioni, F. Rizzo, A. Faini, P. Mazzoleni, C. Lombardi, P. Meriggi, G. Parati on behalf of the HIGHCARE investigators. Linear and fractal heart rate dynamics during sleep at high altitude. Investigation with textile technology. *Methods Inf Med* 2010; 49 (5): 521-525.
9. M. Di Rienzo, P. Meriggi, F. Rizzo, P. Castiglioni, C. Lombardi, M. Ferratini, G. Parati. Textile technology for the vital signs monitoring in telemedicine and extreme environments. *IEEE Transactions on Information Technology in Biomedicine* 2010; 14 (3): 711-717.
10. P. Agostoni, E.R. Swenson, M. Bussotti, M. Revera, P. Meriggi, A. Faini, C. Lombardi, G. Bilo, A. Giuliano, D. Bonacina, P.A. Modesti, G. Mancina, G. Parati. High altitude exposure of three weeks duration increases lung diffusing capacity in humans. *Journal of Applied Physiology* 2011; 110: 1564-1571.
11. G. Bilo, G. Caldara, K. Styczkiewicz, M. Revera, C. Lombardi, A. Giglio, A. Zambon, G. Corrao, A. Faini, M. Valentini, G. Mancina, G. Parati. Effects of selective and nonselective beta-blockade on 24-h ambulatory blood pressure under hypobaric hypoxia at altitude. *Journal of Hypertension* 2011; 29: 380-387.
12. M. Valentini, M. Revera, G. Bilo, G. Caldara, G. Savia, K. Styczkiewicz, S. Parati, F. Gregorini, A. Faini, G. Branzi, G. Malfatto, D. Magrì, P. Agostoni and G. Parati (2011). Effects of Beta-Blockade on Exercise Performance at High Altitude: A Randomized, Placebo-Controlled Trial Comparing the Efficacy of Nebivolol versus Carvedilol in Healthy Subjects. *Cardiovascular Therapeutics* 2012; 30: 240-248.
13. P.A. Modesti, S. Rapi, R. Paniccchia, G. Bilo, M. Revera, P. Agostoni, A. Piperno, G.E. Cambi, Rogolino, A. Biggeri, G. Mancina, G.F. Gensini, R. Abbate, G. Parati. Index measured at an intermediate altitude to predict impending Acute Mountain Sickness. *Med Sci Sports Exerc.* 2011; 43: 1811-1818.
14. A. Piperno, S. Galimberti, R. Mariani, S. Pelucchi, G. Ravasi, C. Lombardi, G. Bilo, M. Revera, A. Giuliano, A. Faini, V. Mainini, M. Westermann, T. Ganz, M.G. Valsecchi, G. Mancina, G. Parati. Modulation of hepcidin production during hypoxia-induced erythropoiesis in humans in vivo: data from the HIGHCARE project. *Blood* 2011; 117: 2953- 2959.
15. V. Mainini, E. Gianazza, C. Chinello, G. Bilo, M. Revera, A. Giuliano, G. Caldara, C. Lombardi, A. Piperno, F. Magni and G. Parati. Modulation of urinary peptidome in humans exposed to high altitude Hypoxia. *Molecular BioSystems* 2012; 8: 959-966.
16. G. Parati, C. Lombardi, G. Mancina. Chapter 111: Sleep and the cardiovascular system. In: *Encyclopedia of Stress* 2011.

17. G. Parati, M. Esler. The human sympathetic nervous system: its relevance in hypertension and heart failure. *European Heart Journal* 2012; 33: 1058-1066.
18. G. Bilo, M. Revera, M. Bussotti, D. Bonacina, K. Styczkiewicz, G. Caldara, A. Giglio, A. Faini, A. Giuliano, C. Lombardi, K. Kawecka-Jaszcz, G. Mancina, P. Agostoni, G. Parati. Effects of slow deep breathing at high altitude on oxygen saturation, pulmonary and systemic hemodynamics. *PLoS ONE* 2012; 7 (11): e49074.
19. P. Castiglioni, P. Meriggi, F. Rizzo, E. Vaini, A. Faini, G. Parati, M. Di Rienzo. Seismocardiography while sleeping at high altitude. *IEEE Eng Med Biol Soc* 2012; (Proceedings 34th Annual International Conference of the IEEE EMBS): 3793-3796.
20. G. Parati, M. Revera, A. Giuliano, A. Faini, G. Bilo, F. Gregorini, E. Lisi, S. Salerno, C. Lombardi, C. Ramos Becerra, G. Mancina, P. Salvi. Effects of acetazolamide on central blood pressure, peripheral blood pressure, and arterial distensibility at acute high altitude exposure. *European Heart Journal* 2013; 34: 759-766.
21. P. Salvi, M. Revera, A. Faini, A. Giuliano, F. Gregorini, P. Agostoni, C. Ramos Becerra, G. Bilo, C. Lombardi, M. O'Rourke, G. Mancina, G. Parati. Changes in subendocardial viability ratio with acute high-altitude exposure and protective role of acetazolamide. *Hypertension* 2013; 61: 793-799.
22. S. Caravita, A. Faini, G. Bilo, M. Revera, A. Giuliano, F. Gregorini, J. Rossi, F.C. Villafuerte, P. Salvi, P. Agostoni, G. Parati. Ischemic changes in exercise ECG in a hypertensive subject acutely exposed to high altitude. Possible role of a high-altitude induced imbalance in myocardial oxygen supply-demand. *International Journal of Cardiology* 2013; 171 (3): e100-102.
23. P. Agostoni, E. Swenson, R. Fumagalli, E. Salvioni, G. Cattadori, S. Farina, M. Bussotti, M. Tamplenizza, C. Lombardi, D. Bonacina, M. Brioschi, S. Caravita, P.A. Modesti, M. Revera, A. Giuliano, P. Meriggi, A. Faini, G. Bilo, C. Banfi, G. Parati. Acute high altitude exposure reduces lung diffusion without evidence of alveolar capillary membrane damage. Evidence from the HIGHCARE Alps Project. *Respiratory Physiology & Neurobiology* 2013; 188: 223-228.
24. C. Lombardi, P. Meriggi, P. Agostoni, A. Faini, G. Bilo, M. Revera, G. Caldara, M. Di Rienzo, P. Castiglioni, M. Bussotti, F. Gregorini, G. Mancina, G. Parati. The Highcare Investigators. High-altitude hypoxia and periodic breathing during sleep: gender related differences. *Journal of Sleep Research* 2013; 22: 322-330.
25. G. Parati, G. Bilo, A. Faini, B. Bilo, M. Revera, A. Giuliano, C. Lombardi, G. Caldara, F. Gregorini, K. Styczkiewicz, A. Zambon, A. Piperno, P. Amedeo Modesti, P. Agostoni, and G. Mancina. Changes in 24h ambulatory blood pressure and effects of angiotensin II receptor blockade during acute and prolonged high-altitude exposure: a randomized clinical trial. *European Heart Journal*. 2014; doi:10.1093/eurheartj/ehu275.
26. S. Caravita, A. Faini, C. Lombardi, M. Valentini, F. Gregorini, J. Rossi, P. Meriggi, M. Di Rienzo, G. Bilo, P. Agostoni, and G. Parati. Sex and Acetazolamide Effects on Chemoreflex and Periodic Breathing During Sleep at Altitude. *CHEST* 2014.
27. G. Bilo, F. C. Villafuerte, A. Faini, C. Anza-Ramírez, M. Revera, A. Giuliano, S. Caravita, F. Gregorini, C. Lombardi, E. Salvioni, J. Luis Macarlupu, D. Ossoli, L. Landaveri, M. Lang, P. Agostoni, J. M. Sosa, G. Mancina, G. Parati. Ambulatory blood pressure in untreated and treated hypertensive patients at high altitude. The HIGHCARE ANDES Study. *JACC* 2014, submitted.
28. S. Caravita, A. Faini, F. C. Villafuerte, J. Luis Macarlupu, M. Lang, E. Salvioni, M. Revera, A. Giuliano, F. Gregorini, G. Bilo, P. Agostoni, G. Parati. Blood pressure response to exercise in hypertensive subjects exposed to high altitude and effects of antihypertensive drug treatment. *Eur. Heart J.* 2014 Submitted.

