



# ISTISAN CONGRESSI 17|C1

ISSN: 0393-5620 (cartaceo) • 2384-857X (online)

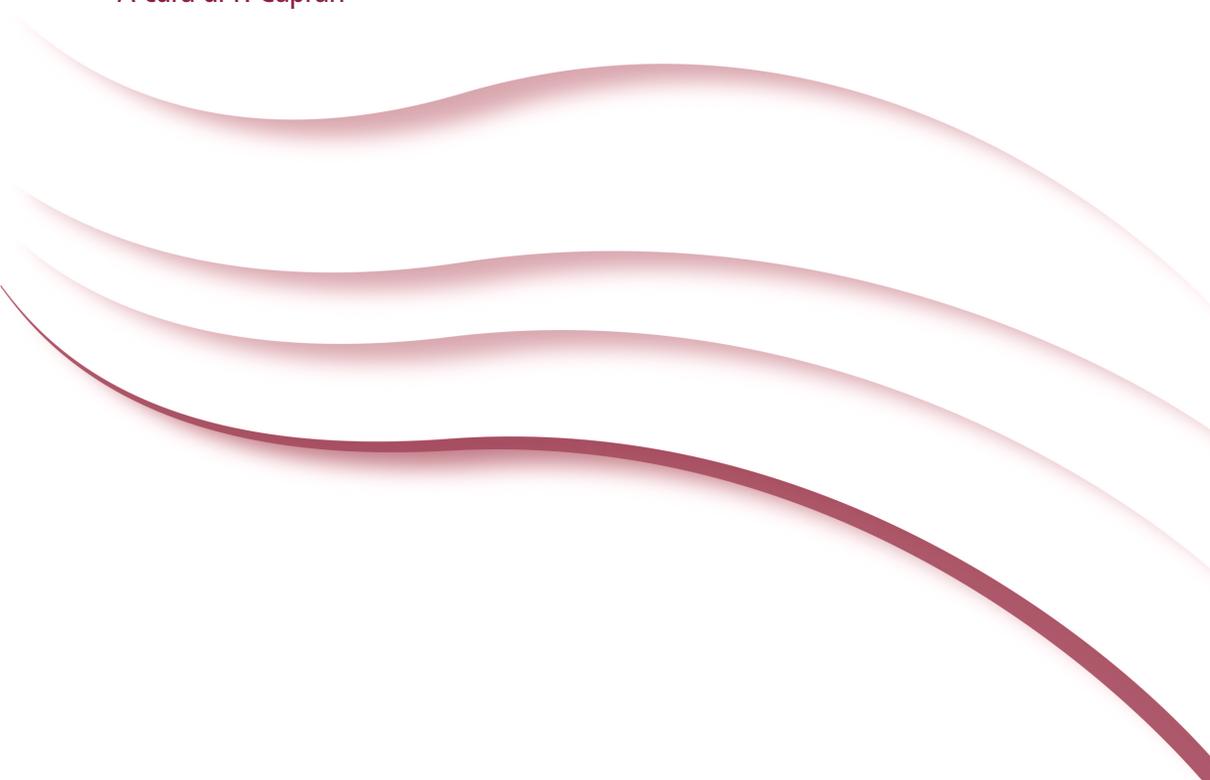
V Convegno

## **Emoreologia e Microcircolazione: dal laboratorio alla clinica**

Istituto Superiore di Sanità  
Roma, 27 gennaio 2017

### **RIASSUNTI**

A cura di P. Caprari



**ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ**

V Convegno

**Emoreologia e Microcircolazione:  
dal laboratorio alla clinica**

Istituto Superiore di Sanità  
Roma, 27 gennaio 2017

**RIASSUNTI**

A cura di  
Patrizia Caprari

*Centro Nazionale per il Controllo e Valutazione dei Farmaci*

ISSN 0393-5620  
**ISTISAN Congressi**  
**17/C1**

Istituto Superiore di Sanità

**V Convegno. Emoreologia e Microcircolazione: dal laboratorio alla clinica. Istituto Superiore di Sanità. Roma, 27 gennaio 2017. Riassunti.**

A cura di Patrizia Caprari

2017, v. 33 p. ISTISAN Congressi 17/C1 (in italiano e in inglese)

Nel presente volume sono riportati i riassunti dei contributi che verranno proposti come relazioni nel Convegno di Emoreologia e Microcircolazione: dal laboratorio alla clinica, organizzato dall'Istituto Superiore di Sanità, nella sua quinta edizione, con il patrocinio della Società Italiana di Emoreologia Clinica e Microcircolazione e della Società Italiana di Medicina Trasfusionale e Immunoematologia. Il Convegno intende fornire un aggiornamento sulle nuove conoscenze in emoreologia e microcircolazione in ambito fisiopatologico, clinico e diagnostico. In questi ultimi anni c'è stato un crescente sviluppo di studi in emoreologia e microcircolazione in diverse aree biomediche, e questo convegno vuole essere un momento di condivisione delle nuove ricerche effettuate in patologia clinica, ematologia, e medicina trasfusionale.

*Parole chiave:* Emoreologia, Microcircolazione, Patologie cardiovascolari, Eritrocita.

Istituto Superiore di Sanità

**Fifth Congress. Hemorheology and Microcirculation: from the laboratory to the clinic. Istituto Superiore di Sanità. Rome, January 27, 2017. Abstract Book.**

Edited by Patrizia Caprari

2017, v. 33 p. ISTISAN Congressi 17/C1 (in Italian and in English)

This book includes the abstracts of the contributions that will be proposed as oral presentations in the Congress of Hemorheology and Microcirculation: from the laboratory to the clinic, organized by the Istituto Superiore di Sanità, in its fifth edition, under the auspices of the Società Italiana di Emoreologia Clinica e Microcircolazione and the Italiana di Medicina Trasfusionale e Immunoematologia. The Congress aims to provide an update on new knowledge in hemorheology and microcirculation in the pathophysiological, clinical and diagnostic fields. In recent years there has been an increasing development of studies in hemorheology and microcirculation in different biomedical areas, and this conference will be a time of sharing of new researches performed in clinic pathology, hematology and transfusion medicine.

*Key words:* Hemorheology, Microcirculation, Cardiovascular diseases, Erythrocyte.

*Responsabile scientifico:* Patrizia Caprari

*Segreteria scientifica:* Patrizia Caprari

Si ringrazia Paola Tortora per l'editing di questo volume

Per informazioni su questo documento scrivere a: [patrizia.caprari@iss.it](mailto:patrizia.caprari@iss.it)

Il rapporto è disponibile online sul sito di questo Istituto: [www.iss.it](http://www.iss.it)

Citare questo documento come segue:

Caprari P (Ed.). *V Convegno. Emoreologia e Microcircolazione: dal laboratorio alla clinica. Istituto Superiore di Sanità. Roma, 27 gennaio 2017. Riassunti.* Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2017 (ISTISAN Congressi 17/C1).

---

Legale rappresentante dell'Istituto Superiore di Sanità: *Gualtiero Ricciardi*

Registro della Stampa - Tribunale di Roma n. 119 del 16/5/2014 (cartaceo) e n. 120 del 16/5/2014 (online)

Direttore Responsabile della serie: *Paola De Castro*

Redazione: *Paola De Castro, Egiziana Colletta e Patrizia Mochi*

La responsabilità dei dati scientifici e tecnici è dei singoli autori, che dichiarano di non avere conflitti di interesse.

© Istituto Superiore di Sanità 2017

Viale Regina Elena, 299 – 00161 Roma



## INDICE

<b>Programma</b> .....	iii
<b>Prima sessione</b> .....	1
<b>Seconda sessione</b> .....	9
<b>Terza sessione</b> .....	15
<b>Quarta sessione</b> .....	23
<b>Indice degli autori</b> .....	33



## PROGRAMMA

### Venerdì 27 gennaio 2017

- 8.30 Registrazione
- 9.00 Indirizzo di benvenuto  
**W. Ricciardi**  
Presidente dell'Istituto Superiore di Sanità  
**C. Pini**  
Direttore del Centro Nazionale per il Controllo e la Valutazione dei Farmaci
- 9.10 Introduzione  
**P. Caprari**

### Prima sessione

*Moderatori:* **A. Carlizza, R. Martini**

- 9.15 *Profilo emoreologico in patologia cardiovascolare*  
**R. Lo Presti**
- 9.30 *Frequency components of skin blood flow oscillations in patients affected by metabolic syndrome or hyperlipidemia*  
**A. Colantuoni**
- 9.45 *Disordini clinici caratterizzati da iperviscosità plasmatica e complicati da ulcere cutanee*  
**G. Caimi**
- 10.00 *Valutazione funzionale del microcircolo: key point per l'inquadramento fisiopatologico e clinico del paziente vascolare*  
**M. Rossi**
- 10.15 *La microangiopatia sclerodermica: diagnosi precoce*  
**A. Marcocchia**
- 10.30 *Controllo pacemaker della funzionalità linfatica*  
**D. Negrini**

## **Seconda sessione**

*Moderatori:* **G. Caimi, M. Rossi**

- 10.45 *Exercise training as modulator of oxidation, platelet activation and inflammation in patients with peripheral arterial disease*  
**S. De Marchi, E. Arosio**
- 11.00 *Stress ossidativo e malattie cardiovascolari: ruolo dell'attività fisica*  
**F. Franzoni**
- 11.15 *Dieta mediterranea e microcircolazione: evidenze e dubbi*  
**M.G. Tozzi Ciancarelli**
- 11.30 *In mezzo scorre il fiume: l'emoreologia fra rene e cuore*  
**M. Ballestri**
- 11.45 Intervallo

## **Terza sessione**

*Moderatori:* **F. Sorrentino, P. Caprari**

- 12.00 *L'approccio diagnostico alle anemie emolitiche congenite da difetto di membrana e del metabolismo eritrocitario mediante ectacitometria*  
**P. Bianchi**
- 12.15 *Nuove prospettive per la diagnosi precoce di anemie emolitiche ereditarie*  
**R. Risoluti**
- 12.30 *Conservazione dei concentrati eritrocitari e outcome trasfusionale: stato dell'arte*  
**S. Vaglio**
- 12.45 *Proprietà reologiche dei globuli rossi dei concentrati per trasfusione*  
**P. Caprari**
- 13.00 *Emoreologia in pazienti pediatriche affetti da anemia falciforme: valutazioni pre e post trasfusionali*  
**D. Venturelli**
- 13.15 *Impatto delle tecniche di aferesi terapeutica sul microcircolo e correlati flogistici*  
**C. Stefanutti**
- 13.30 Discussione
- 13.45 Intervallo

#### **Quarta sessione**

*Moderatori: A. Colantuoni, P.E. Mollo*

- 15.15 *Deformabilità eritrocitaria in soggetti affetti da Obstructive Sleep Apnea Syndrome (OSAS)*  
**E. Hopps**
- 15.30 *Assetto emoreologico in soggetti affetti da Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance (MGUS)*  
**M. Carlisi**
- 15.45 *Lo scorrimento longitudinale della parete arteriosa durante il ciclo cardiaco*  
**C. Carallo**
- 16.00 *Il ruolo della fluidodinamica degli organi artificiali nell'analisi dei rischi dei dispositivi medici*  
**M. Grigioni**
- 16.15 *Frequency components of skin blood flow oscillations in patients affected by metabolic syndrome or hyperlipidemia*  
**T. Mastantuono**
- 16.30 *Alterazioni emoreologiche in pazienti in Dialisi Peritoneale*  
**F. Fontana**
- 16.45 *Dinamica e struttura della membrana eritrocitaria: studio del profilo viscoelastico associato all'analisi elettrolitica*  
**C. Bozzi**
- 17.00 *Discussione e conclusioni*



**Prima sessione**

*Moderatori*

A. Carlizza, R. Martini



## **PROFILO EMOREOLOGICO IN PATOLOGIA CARDIOVASCOLARE**

Rosalia Lo Presti, Maria Montana, Baldassarre Canino, Caterina Urso, Gregorio Caimi  
*Università degli Studi, Palermo*

Il profilo emoreologico è una delle determinanti fisiologiche della dinamica circolatoria, e parametri emoreologici diversi giocano un ruolo in settori diversi della circolazione. Turbe emoreologiche intervengono nella fisiopatologia di numerose condizioni cliniche di pertinenza cardiovascolare.

Nello stesso ambito, inoltre, alterazioni emoreologiche possono rivestire il ruolo di fattori di rischio e di elementi prognostici. Fattori reologici influenzano lo sviluppo e la localizzazione delle placche aterosclerotiche, interagendo fra l'altro con la funzione endoteliale e piastrinica. La viscosità, sia ematica che plasmatica, condiziona il rischio di morbilità e mortalità cardiovascolare.

A questo riguardo sono significative le relazioni fra l'assetto emoreologico e i classici fattori di rischio cardiovascolari, in primo luogo ipertensione arteriosa e diabete mellito. È stato da tempo oggetto di studio il possibile ruolo dei parametri emoreologici nella cardiopatia ischemica. Nel nostro studio sull'infarto giovanile un profilo emoreologico alterato è risultato evidente nei pazienti, anche a notevole distanza di tempo dall'evento ischemico acuto.

Gli sviluppi più recenti di questa ricerca sono stati focalizzati in particolare sul ruolo della viscosità plasmatica in relazione al profilo dei fattori di rischio, all'estensione della coronaropatia, al rapporto neutrofili/linfociti e soprattutto alla prognosi dei pazienti.

## **FREQUENCY COMPONENTS OF SKIN BLOOD FLOW OSCILLATIONS IN PATIENTS AFFECTED BY METABOLIC SYNDROME OR HYPERLIPIDEMIA**

Martina Di Maro (a), Martina Chiurazzi (a), Teresa Mastantuono (a), Gilda Nasti (a), Dominga Lapi (a), Luigi Iuppariello (b), Mario Cesarelli (b), Gianni D'Addio (c), Antonio Colantuoni (a)

(a) *Dipartimento di Medicina Clinica e Chirurgia, Università degli Studi di Napoli Federico II, Napoli*

(b) *Dipartimento di Ingegneria Elettrica e delle Tecnologie dell'Informazione, Università degli Studi di Napoli Federico II, Napoli*

(c) *IRCCS Fondazione S. Maugeri, Telese, Benevento*

Many studies indicate that metabolic syndrome increases the risk for type 2 diabetes and cardiovascular disease. It is well known that obesity, hypertension as well as hyperlipidemia are accompanied by structural and functional alterations of peripheral microcirculation; these conditions are associated, indeed, to impaired vasomotion as well as to reduced capillary density.

It is possible to study the skin microvascular blood flow by Laser Doppler Perfusion Monitoring (LDPM) and to analyze oscillations in blood flow by power spectrum methods. We studied nutritional status in patients affected by metabolic syndrome or hyperlipidemia under baseline conditions and after three months of hypolipidic and hypocaloric diet treatment. Skin microvascular Blood Flow (SBF) was recorded by LDPM (PeriFlux System 5000, Perimed) for 20 min under resting conditions.

The oscillations in blood flow were analyzed by the wavelet transform. Our data indicate that, under baseline conditions, the total Power Spectral Density (PSD) of oscillatory component in the *range* 0.052-0.15 Hz (myogenic-related) appeared lower in hyperlipidemic patients as well as in subjects affected by metabolic syndrome, compared to obese or normal weight subjects. Moreover, in these patients a significant increase in the frequency component related to respiration (*range*: 0.145-0.6 Hz) was detected.

After three months of hypocaloric diet all patients showed a significant reduction in Body Mass Index (BMI) and waist circumference, accompanied by an improvement in serum lipid parameters and arterial blood pressure. Interestingly, after weight reduction, spectral analysis of skin oscillatory blood flow in patients affected by metabolic syndrome or hyperlipidemia revealed a significant increase in the myogenic-related component.

In conclusion, patients affected by metabolic syndrome or hyperlipidemia are characterized by impairment of vascular smooth muscle cell function. Hypolipidic and hypocaloric diet treatment appears to ameliorate nutritional status and microvascular functions.

## **DISORDINI CLINICI CARATTERIZZATI DA IPERVISCOSITÀ PLASMATICA E COMPLICATI DA ULCERE CUTANEE**

Gregorio Caimi, Eugenia Hopps, Melania Carlisi, Rosalia Lo Presti  
*Università degli Studi, Palermo*

Numerose malattie che si accompagnano ad iperviscosità plasmatica possono complicarsi con ulcere cutanee. L'iperviscosità del plasma è nella maggior parte dei casi associata a paraproteinemie, cioè alla presenza di una frazione immunoglobulinica anomala prodotta da un clone di cellule neoplastiche originate dai linfociti B. Questo si verifica nel mieloma multiplo e nella macroglobulinemia di Waldenstrom, entrambe caratterizzate da iperviscosità plasmatica. Talvolta più di una proteina monoclonale è presente nello stesso paziente, e in una minoranza dei casi la paraproteina è costituita dalla sola catena leggera dell'immunoglobulina, ancora più raramente dalla sola catena pesante. Nei pazienti con mieloma multiplo possono comparire ulcere cutanee.

La crioglobulinemia è dovuta alla presenza, nel plasma o nel siero, di una o più immunoglobuline che precipitano a temperatura inferiore ai 37°C. L'iperviscosità si sviluppa in particolare nella crioglobulinemia di tipo I. Sono documentati diversi casi di ulcere cutanee in pazienti affetti da crioglobulinemia mista (tipo II e III). La criofibrinogenemia, primaria o secondaria, è un raro disordine caratterizzato da crioprecipitazione del fibrinogeno nativo nel plasma, un evento che può provocare occlusione trombotica delle arterie di piccolo e medio calibro.

La concentrazione media del crioprecipitato è più alta nei pazienti con criofibrinogenemia primaria. Questa condizione provoca una varietà di manifestazioni cutanee, inclusa la lesione ulcerativa. Le disfibrinogenemie sono disordini clinici nei quali un'iperviscosità plasmatica è di frequente riscontro. Consistono in anomalie strutturali della molecola del fibrinogeno, che alterano le sue proprietà funzionali e possono associarsi ad ulcere cutanee.

Nelle malattie del connettivo l'alterazione emoreologica determinata dalla presenza nel plasma di proteine di origine policlonale può avere un ruolo negli eventi cardiovascolari che sembrano essere una delle maggiori cause di morbidità e mortalità in queste condizioni cliniche. Ulcere cutanee insorgono nella sclerosi sistemica ma anche in altre connettivopatie.

# **VALUTAZIONE FUNZIONALE DEL MICROCIRCOLO: KEY POINT PER L'INQUADRAMENTO FISIOPATOLOGICO E CLINICO DEL PAZIENTE VASCOLARE**

Marco Rossi

*Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università degli Studi, Pisa*

Il ruolo del microcircolo è andato arricchendosi di importanti implicazioni fisiopatologiche, cliniche e terapeutiche anche in patologie vascolari come le arteriopatie, localizzate, nella loro espressione anatomo-patologica, a livello dei grossi vasi arteriosi. Ciò ha favorito il passaggio da una visione "idraulica", in cui l'ultimo "prato" (il microcircolo, appunto) svolgeva il ruolo di semplice "vittima" della arteriopatia, ad una visione integrata (che potremmo definire macro-micro-emodinamica), in cui il microcircolo assurge a *key-point* nell'inquadramento fisiopatologico e clinico del paziente vascolare.

Nella relazione saranno prese in esame le evidenze su cui è basata questa nuova visione del microcircolo, concentrando l'attenzione su quelle ottenute nella arteriopatia aterosclerotica a carattere obliterante cronico degli arti inferiori, indicata in letteratura internazionale come *Peripheral Arterial Disease* (PAD). Una importante proprietà del microcircolo, quella cioè di adattare localmente il proprio flusso in relazione alle esigenze nutritive del tessuto irrorato, resa possibile dalla sua riserva vasodilatatoria, risulta compromessa nel distretto affetto da PAD in misura variabile a seconda della gravità della arteriopatia, come hanno evidenziato studi basati su test di iperemia post-ischemica cutanea mediante metodica laser-Doppler.

Un altro aspetto di funzionalità del microcircolo che risulta alterato in arti con PAD è il ritmico alternarsi di contrazione e rilasciamento della muscolatura liscia arteriolare (*vasomotion*). Fenomeno, quest'ultimo, che è a sua volta responsabile di fluttuazioni del flusso sanguigno all'interno dei microvasi (*flowmotion*). Lo studio della *flowmotion* in pazienti con PAD, reso possibile dall'analisi spettrale del segnale laser-Doppler, ha dimostrato un suo diverso grado di alterazione nei vari stadi della arteriopatia. L'alterazione di questi meccanismi di regolazione raggiunge la massima espressione nella ischemia cronica degli arti inferiori, condizione in cui, pur in presenza di gravi multiple ostruzioni dei macrovasi, il fulcro fisiopatologico è rappresentato dallo scompenso del microcircolo. L'insieme di queste conoscenze mette in luce il ruolo dell'alterazione del microcircolo quale "chiave di lettura" fisiopatologica della PAD nei suoi vari stadi, indispensabile per interpretare la clinica del paziente arterioapatico ed impostarne il relativo trattamento terapeutico.

## **MICROANGIOPATIA SCLERODERMICA: L'IMPORTANZA DI UNA DIAGNOSI PRECOCE**

Antonella Marcoccia, Aldo Ciani, Giovanni Maria De Mattheis, Francesco Bondanini,  
Maria Grazia Modesti

*UOSD Microangiopatie Ischemiche e Ulcere Sclerodermiche; CRIIS per la Diagnosi  
Precoce della Sclerodermia, Ospedale Sandro Pertini, Roma*

La Sclerosi Sistemica è una malattia cronica e progressiva di tipo autoimmune interessante la cute e gli organi interni e sostenuta da tre principali eventi patogenetici: vasculopatia, autoimmunità e fibrosi. Sintomo precoce è la disfunzione endoteliale caratterizzata da un aumento della permeabilità capillare e da una disregolazione del tono vasomotorio corrispondente alla fase clinica delle dita edematose e del fenomeno di Raynaud (RP). La ridotta produzione di vasodilatatori quali NO e prostaciline rispetto alle sostanze vasoconstrictrici come l'endotelina, promuove il rimodellamento vascolare con proliferazione intimale delle cellule endoteliali e muscolari lisce.

L'endotelina inoltre contribuisce alla fibrosi stimolando la mitosi dei fibroblasti, la produzione di collagene e inibendo la produzione di collagenasi. Il danno endoteliale determina alti livelli sierici di fattore VIII di Von Willebrand e promuove l'attivazione delle piastrine testimoniata dalla presenza di aggregati piastrinici circolanti e di alti livelli di beta 2 tromboglobulina plasmatici con aumentata liberazione di TGFbeta e PDGF. L'attivazione piastrinica e l'alterazione della bilancia emostatico fibrinolitica conduce ai depositi di fibrina, proliferazione intimale e obliterazione del lume capillare.

La microangiopatia obliterativa e l'alterazione proliferativa della parete delle arteriole configurano la vasculopatia obliterante arteriolocapillare di multipli letti vascolari che è causa dell'ischemia cronica tissutale multiorgano. La videocapillaroscopia periungueale è un esame "morfológico qualitativo" di primo livello che permette non solo la diagnosi precoce ma anche di distinguere le diverse fasi evolutive delle lesioni endoteliali in tre *pattern* morfologici: iniziale (*early*), attivo (*active*) e avanzato (*late*).

Il regolare pettine di capillari normali viene sostituito da microvasi con alterato calibro e decorso, ectasie, megacapillari (capillari giganti), microemorragie, ramificazioni come espressione di una neoangiogenesi compensatoria. Il progressivo danno vascolare conduce alla progressiva ipossia tissutale promuovendo l'infiammazione e la fibrosi. Il meccanismo patogenetico della vasculopatia è in parte interpretato come iniziale tentativo di "risposta al danno" da parte dell'endotelio ed è finalizzato a mantenere un flusso adeguato formando dapprima i megacapillari a cui segue un processo di neoangiogenesi. La progressiva apposizione interstiziale di matrice extracellulare favorisce la rarefazione dei capillari fino al quadro noto come "desertificazione".

La necrosi digitale sclerodermica non è che il prevedibile scenario della storia naturale della malattia. La diagnosi precoce della vasculopatia sclerodermica e il trattamento della ipossia tissutale ci permetterebbe di prevenire le ulcere ischemiche digitali e di promuovere un intervento terapeutico mirato a "spegnere" uno dei motori noti della malattia in un fase che precede il processo di fibrosi irreversibile e terminale.

## CONTROLLO PACEMAKER DELLA FUNZIONALITÀ LINFATICA

Daniela Negrini (a), Cristiana Marcozzi (a), Eleonora Solari (a), Elena Bossi (b), Raffaella Cinquetti (b), Marcella Reguzzoni (a), Andrea Moriondo (a)

(a) *Dipartimento di Medicina e Chirurgia, Università degli Studi dell'Insubria, Varese*

(b) *Dipartimento di Biotecnologia e Scienze della Vita, Università degli Studi dell'Insubria, Varese*

La funzione linfatica diaframmatica è sostenuta principalmente dalle variazioni di pressione nelle cavità sierose e nei tessuti circostanti durante il ciclo cardiaco e respiratorio. Inoltre, i vasi linfatici della porzione più periferica del diaframma sono dotati di cellule muscolari caratterizzate da contrazione spontanea, il cui meccanismo molecolare non è ancora stato individuato. Ipotizzando che la contrazione spontanea delle cellule muscolari linfatiche possa coinvolgere i cosiddetti canali *cyclic nucleotide-gated* (HCN) attivati in iperpolarizzazione, simili a quelli responsabili della depolarizzazione spontanea dei cardiomiociti, campioni di diaframma contenenti vasi linfatici con contrazione spontanea sono stati asportati da ratti anestetizzati, spostati in una camera di perfusione contenente la soluzione di HEPES-Tyrode e trattati con gli inibitori dei canali HCN cloruro di cesio, CsCl, ivabradina e ZD-7288.

Rispetto al controllo, l'esposizione a 10 mM CsCl riduce (-65%,  $p < 0,01$ ) la frequenza di contrazione ( $F_L$ ) ed aumenta il diametro telediastolico ( $D_{L-d}$ ,  $+7,3 \pm 0,7\%$ ,  $p < 0,01$ ) senza variazioni del diametro telesistolico ( $D_{L-s}$ ). L'ivabradina (300  $\mu$ M) abolisce completamente la contrazione ed aumenta  $D_{L-d}$  (+14%,  $p < 0,01$ ) oppure causa un'inibizione incompleta di  $F_L$  ( $p < 0,01$ ), lasciando inalterate  $D_{L-d}$  e  $D_{L-s}$ . L'esposizione a 200 mM ZD-7288, abolisce  $F_L$  ( $p < 0,01$ ), mentre  $D_{L-d}$  si riduce al  $90,9 \pm 2,7\%$  del controllo. L'espressione genica e la microscopia confocale confermano la presenza, nelle cellule muscolari linfatiche, di 4 isoforme del canale HCN (HCN1-4), probabilmente organizzate in configurazioni a diversa funzionalità. Quindi, nel loro complesso i dati suggeriscono la presenza di canali HCN attivi nel generare e/o contribuire allo sviluppo di fenomeni di autoritmicità nelle cellule muscolari linfatiche del diaframma.

Questa osservazione ha importanti implicazioni sia nella comprensione dei meccanismi del turnover di liquido nelle cavità sierose a ridosso del diaframma che, più in generale, che dei fenomeni di modulazione del flusso di liquido nel distretto vascolare linfatico sia in condizioni fisiologiche che fisiopatologiche.

**Seconda sessione**

*Moderatori*

G. Caimi, M. Rossi



# **EXERCISE TRAINING AS MODULATOR OF OXIDATION, PLATELET ACTIVATION AND INFLAMMATION IN PATIENTS WITH PERIPHERAL ARTERIAL DISEASE**

Sergio De Marchi, Enrico Arosio

*UOC di Angiologia, Dipartimento di Medicina, Università degli Studi, Verona*

Recent evidences suggest that exercise training may ameliorate oxidative stress in patients with Peripheral Arterial Disease (PAD) and reduces inflammation; fewer data are available on platelets activation during strenuous exercise and ischemia-reperfusion damage in this clinical setting; no data regarding red cells fragments are described, even if these are *markers* of increased cardiovascular risk. So we aimed to focus our investigation on these aspects analyzing how supervised training with daily repeated bouts of ischemia reperfusion phenomena may improve these parameters. We analyzed in particular: Nuclear related factor 2 (Nrf2), monocytes (CD16+), Platelets function (with PAF 100 with ADP and epinephrine, P selectin), count of reticulated platelets (IPF), red blood cells fragments (FRC) and oxidative stress (malondyaldehyde).

These parameters were analyzed at rest and after maximal treadmill test, defined as the maximal walking capacity on a standardized treadmill eliciting maximal ischemic pain. These evaluations were also repeated at the end of a supervised training period of 3 weeks. The training included a 30 minutes walking on treadmill reaching 70% of maximal walking distance repeated, so eliciting a moderate ischemia/reperfusion phenomena.

Our experience shows that training in PAD patients reduces oxidative stress (decrease of MDA) and increases anti-oxidative defensive system enhancing Nrf2-gene expression. Platelet function analysis shows a decrease of ADP aggregation (with an acute increase after treadmill maximal test and reduced increase at the end of the period), P selectin and oxidative stress (malondyaldehyde) were analyzed at rest and after maximal treadmill test, at the beginning and at the end of the period. The shift of monocytes subtype from an inflammatory to a classic subtype suggests a deep change in inflammation profile of these patients with training.

Training reduces IPF in PAD patients, IPF increase after maximal test and this fact is attenuated by training. FRC are reduced by training too. These data may improve the knowledge about the effects of training on mechanisms involving inflammation, platelets activation and red cells fragmentation probably also through an increase of antioxidant natural defense system mediated by ischemic conditioning.

## **STRESS OSSIDATIVO E MALATTIE CARDIOVASCOLARI: RUOLO DELL'ATTIVITÀ FISICA**

Ferdinando Franzoni

*Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università degli Studi, Pisa*

I Radicali liberi dell'Ossigeno (ROS) sono specie chimiche altamente reattive in grado di legarsi ad altre molecole, ossidandole. I ROS rappresentano una minaccia per la vita della cellula, la quale è dotata di una serie di sistemi di difesa antiossidante. Tuttavia, quando in particolari condizioni la produzione di ROS è eccessiva e/o la capacità di smaltire i radicali è insufficiente, la cellula subisce insulti ossidativi. Questa condizione è alla base delle teorie che vedono proprio i ROS come la causa dell'invecchiamento e dello sviluppo di molte patologie cronico-degenerative come le malattie cardiovascolari.

Molti studi hanno evidenziato un ruolo importante dell'attività fisica nel combattere lo stress ossidativo indotto dall'invecchiamento. Infatti, da un lato l'esercizio fisico determina un aumento della produzione di ROS attraverso l'incremento dei processi ossidativi mitocondriali, dall'altro stimola fenomeni adattativi rispetto agli insulti ossidativi.

In alcuni studi sugli effetti di prestazioni anaerobiche e aerobiche in soggetti allenati, si è potuto constatare come l'attività fisica determini un adattamento sia delle capacità antiossidanti enzimatiche sia dei livelli basali plasmatici degli indici di perossidazione lipidica. L'invecchiamento attivo determinerebbe, pertanto, una maggiore protezione rispetto all'invecchiamento sedentario dagli effetti dannosi dei radicali liberi

## DIETA MEDITERRANEA E MICROCIRCOLAZIONE: EVIDENZE E DUBBI

Maria Giuliana Tozzi Ciancarelli

*Dipartimento di Medicina Clinica, Sanità Pubblica, Scienze della Vita e dell'Ambiente,  
Università degli Studi, L'Aquila*

La Dieta Mediterranea (MD) è un regime alimentare analizzato negli anni cinquanta da Ancel B. Keys in alcuni Paesi del bacino Mediterraneo, in una situazione di severa difficoltà economica e di limitazione delle risorse a causa della seconda guerra mondiale. Queste condizioni, associate ad un livello di progresso tecnologico ancora basso, determinavano uno stile di vita frugale, fisicamente attivo ed abitudini alimentari caratterizzate dalla predominanza di prodotti vegetali. I risultati del *Seven Country Study*, leggendario nel campo della medicina e della divulgazione, dimostrarono che, rispetto ad altre popolazioni studiate, le popolazioni che si affacciavano nel bacino del Mediterraneo presentavano una ridotta incidenza di malattie cardiovascolari, metaboliche, tumorali ed un minore grado di meta-infiammazione, che, come noto, è una caratteristica importante del fisiologico processo di invecchiamento e delle patologie età-correlate. I benefici della MD, riconosciuta nel 2010 dall'UNESCO patrimonio immateriale dell'umanità, sono attribuiti principalmente all'elevato potenziale antiossidante espresso dall'abbondanza di polifenoli, flavonoidi e stilbeni presenti negli alimenti e bevande assunti.

Numerosi studi, per la maggior parte *in vitro*, hanno suggerito infatti che tali composti possono interferire con i meccanismi molecolari dell'infiammazione e dello stress ossidativo, mediando un sostanziale miglioramento dei *markers* della microcircolazione, della funzione endoteliale, del profilo lipidico ematico e del processo coagulativo.

I risultati, tuttavia, sono ancora oggi disomogenei e le osservazioni traslate dagli studi *in vitro* non considerano adeguatamente che le molecole polifenoliche una volta ingerite vanno incontro a modificazioni metaboliche che portano alla presenza in circolo di composti con più bassa attività biologica e quindi meno efficienti nell'esprimere un effetto antiinfiammatorio, vasculo-protettivo e/o antitrombotico. Da notare, dopo ingestione di alimenti ricchi di polifenoli le concentrazioni plasmatiche di tali molecole sono ben al di sotto di quelle necessarie per ottenere un positivo effetto biologico sui *markers* infiammatori/ossidativi rilevati invece in studi *in vitro*.

Ancora oggi, limitati sono i dati sulla possibile associazione tra aderenza alla MD calcolata attraverso uno specifico punteggio e *markers* specifici delle malattie cardiovascolari, tumorali e malattie neurodegenerative. Non privo di rilevanza pratica, infine, è la difficoltà nel categorizzare il modello dietetico della MD, essendo importanti le differenze che si osservano tra le abitudini alimentari dei vari paesi adagiati nel bacino mediterraneo.

## **IN MEZZO SCORRE IL FIUME: L'EMOREOLOGIA FRA RENE E CUORE**

Marco Ballestri, Diffo Z.J. Rostand, Francesco Fontana, Gianni Cappelli  
*Dipartimento ad Attività Integrata della Cura delle Malattie Nefrologiche, Cardiache e Vascolari, Azienda Policlinico, Modena*

La prevalenza delle malattie renali nei paesi occidentali è il 10%, dato preoccupante, se si considera che molte di esse sono gravate dalla comparsa di insufficienza renale (IRC): condizione a sua volta caratterizzata, nella maggior parte dei casi e indipendentemente dall'etiologia, da progressione fino all'uremia con necessità di emodialisi o trapianto renale. La velocità di progressione dell'IRC è influenzata da fattori intrinseci (malattia renale, sesso, età, genetica, sviluppo prenatale) ed estrinseci: ipertensione arteriosa, proteinuria, iperuricemia, alterazioni dei metabolismi glucidico, lipidico e minerale, alterazioni, ostacolato deflusso urinario, abuso di farmaci, esposizione a tossici, tabagismo e dieta. L'incidenza di uremia con necessità di dialisi in Europa è di circa 137 casi/10<sup>6</sup> abitanti con una crescita annua della popolazione dialitica del 7% circa, con costi umani e sociali altissimi. La spesa sanitaria per gli emodializzati in Italia è di circa 800 milioni di euro/anno, a cui vanno aggiunti i costi inerenti trasporti, farmaci, eventuali ricoveri, pensioni d'invalidità, accompagnamenti e giornate lavorative perse.

È quindi imperativo identificare tutti i potenziali fattori di progressione dell'IRC per di definire nuovi bersagli terapeutici e rallentare il più possibile l'ingresso in dialisi dei pazienti. L'obiettivo è prioritario anche per le strette relazioni che intercorrono fra l'IRC e la malattia cardiovascolare. Infatti, la presenza di nefropatia aumenta 5-10 volte il rischio di sviluppare malattia cardiaca e 3 volte il rischio di infarto miocardico. Il 75% degli emodializzati ha ipertrofia ventricolare sinistra e l'85% ipertensione; il rischio di un evento cardiovascolare aumenta di 20-30 volte e tali eventi rappresentano la prima causa di morte in questa popolazione.

I risultati dello studio sperimentale che presentiamo suggeriscono il possibile contributo dell'emoreologia nella progressione dell'IRC e nello sviluppo della ipertrofia cardiaca: la viscosità ematica ad alto e basso *shear rate* e la deformabilità eritrocita sembrerebbero avere il peso maggiore sull'albuminuria e la progressione dell'IRC, mentre l'ipertrofia cardiaca parrebbe influenzata soprattutto dal limite di scorrimento del sangue (+20%).

**Terza sessione**

*Moderatori*

F. Sorrentino, P. Caprari



## L'APPROCCIO DIAGNOSTICO ALLE ANEMIE EMOLITICHE CONGENITE DA DIFETTO DI MEMBRANA E DEL METABOLISMO ERITROCITARIO MEDIANTE ECTACITOMETRIA

Paola Bianchi, Anna Zaninoni, Elisa Fermo, Cristina Vercellati, Anna Paola Marcello, Alberto Zanella, Wilma Barcellini  
UOC Oncoematologia, UOS Fisiopatologia delle Anemie, Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico Milano

Le anemie emolitiche congenite sono un gruppo di malattie eterogenee principalmente causate da difetti emoglobinici, della membrana e del metabolismo eritrocitario. A causa della rarità e dell'eterogeneità di queste malattie, la diagnosi può essere difficile nonostante sia disponibile una batteria di test diagnostici specifici.

L'ectacitometria e, più recentemente, l'analisi mediante il *laser-assisted optical rotational cell analyser* (LoRRcaMaxSis, Mechatronics Instruments, NL), in grado di misurare la deformabilità dei globuli rossi in condizioni di gradiente osmotico (Osmoscan), ha mostrato essere un utile strumento nell'iter diagnostico di queste patologie.

Sono stati analizzati 118 pazienti con diagnosi nota di anemia emolitica congenita (84 difetti di membrana, 19 enzimopatie, 8 casi con anemia diseritropoietica congenita tipo II). La curva di riferimento è stata ottenuta da 89 controlli sani. I parametri valutati sono stati: Omin (valore osmotico al quale l'EI raggiunge il suo minimo), EImax (deformabilità massima), e Ohyper (valore di osmolarità corrispondente a  $1/2E_{\text{Imax}}$ ).

Tutti i 69 pazienti affetti da sferocitosi ereditaria, indipendentemente dal difetto biochimico, hanno mostrato curve alterate caratterizzate da una diminuito EImax ( $0,516 \pm 0,05$  vs  $0,595 \pm 0,008$  per i controlli,  $p < 0,0001$ ) e uno *shift* a destra dell'Omin ( $167 \pm 11,4$  vs  $143,7 \pm 7,2$ ,  $p < 0,0001$ ); i 7 casi con ellissocitosi ereditaria hanno mostrato una curva trapezoidale e un ridotto EImax ( $0,547 \pm 0,05$  vs  $0,595 \pm 0,008$ ,  $p < 0,001$ ). Tutti i casi di stomatocitosi deidrata hanno mostrato uno spostamento a sinistra della curva ectacitometrica. Sebbene l'Osmoscan non sia in genere alterato nelle eritroenzimopatie, 4 pazienti affetti da *deficit* di glucosiofosfato isomerasi hanno mostrato un significativo aumento dell'Ohyper ( $539 \pm 36$  vs  $462 \pm 13,4$ ,  $p < 0,0001$ ).

I pazienti splenectomizzati e non splenectomizzati sono stati analizzati separatamente. È interessante notare che per alcune malattie (PK, P5N, CDAlI e OHST), l'Osmoscan dopo splenectomia cade in una zona definita atipica a prescindere dalla patologia, suggerendo che l'interpretazione di tale analisi richiede cautela nel caso di pazienti splenectomizzati.

In conclusione, l'analisi effettuata mediante Osmoscan LoRRca Maxsis può essere utilizzata come test iniziale di *screening* nella diagnosi di difetti della membrana eritrocitaria ed in altre anemie emolitiche rare.

## NUOVE PROSPETTIVE PER LA DIAGNOSI PRECOCE DI ANEMIE EMOLITICHE EREDITARIE

Roberta Risoluti (a), Stefano Materazzi (a), Francesco Sorrentino (b), Laura Maffei (b), Carlotta Bozzi (c), Patrizia Caprari (c)

(a) *Dipartimento di Chimica, Università degli Studi di Roma La Sapienza, Roma*

(b) *DH Talassemici, Ospedale S. Eugenio, Roma*

(c) *Centro Nazionale per il Controllo e la Valutazione dei Farmaci, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

La diagnosi differenziale delle anemie emolitiche ereditarie viene generalmente effettuata applicando articolati protocolli diagnostici caratteristici per tipologia di difetto congenito eritrocitario. L'analisi termogravimetrica (TGA) associata alla chemiometria è stata recentemente proposta come strumento diagnostico rapido ed a basso costo per lo *screening* della talassemia. È stato elaborato un modello, che utilizza la Partial Least Square-Discriminant Analysis (PLS-DA), che ha permesso di discriminare pazienti talassemici ed individui sani mediante l'analisi delle curve termogravimetriche di piccoli campioni di sangue.

In questo studio è stata valutata la capacità della TGA di discriminare diverse tipologie di anemie emolitiche ereditarie, in particolare sono stati analizzati due gruppi: le emoglobinopatie (anemia falciforme e talassemie), e i difetti della membrana eritrocitaria (sferocitosi ed ellissocitosi ereditarie). Campioni di sangue intero ottenuti da pazienti affetti da anemia emolitica congenita sono stati analizzati mediante la termobilancia TG7 (Perkin Elmer) senza alcun pretrattamento e le curve risultanti sono state confrontate con quelle tipiche di individui sani. Il profilo caratteristico di decomposizione termica di un campione di sangue e lo studio della derivata prima (DTG) della curva TG mostravano che campioni di sangue di pazienti anemici erano chiaramente distinti da quelli di individui sani come risultato di diverso contenuto di quantità di acqua e frazione corpuscolata.

Mediante l'accoppiamento dell'analisi termogravimetrica a metodi chemiometrici di analisi statistica multivariata, è stato possibile studiare simultaneamente le correlazioni tra i profili termogravimetrici di diversi campioni di sangue. L'approccio chemiometrico, sulla base di Analisi delle Componenti Principali (PCA), ha permesso una rapida identificazione delle differenze tra sano e paziente anemico al fine di evidenziare un modello di previsione in pazienti con disordini ematologici congeniti eterogenei.

I risultati permettono di considerare l'accoppiamento TGA/chemiometria come un promettente approccio diagnostico per lo *screening* in breve tempo e a basso costo di anemie emolitiche ereditarie.

## **CONSERVAZIONE DEI CONCENTRATI ERITROCITARI E *OUTCOME* TRASFUSIONALE: STATO DELL'ARTE**

Stefania Vaglio

*Centro Nazionale Sangue, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

La terapia trasfusionale con eritrociti è la procedura più comune effettuata su pazienti ospedalizzati ed è da considerarsi un approccio terapeutico salvavita; tuttavia alcuni studi osservazionali retrospettivi pubblicati su autorevoli riviste scientifiche internazionali negli ultimi anni hanno ipotizzato una associazione tra una prolungata conservazione dei concentrati eritrocitari prima del loro utilizzo ed un incremento della morbilità e mortalità dei pazienti.

Le emazie contenute nelle unità di eritrociti concentrati, durante il periodo di conservazione, subiscono un forte stress in grado di alterarne irreversibilmente molti dei parametri morfologici, biochimici e chimico-fisici. Tali modifiche, che si verificano a carico degli eritrociti nel corso della loro conservazione e note con il termine di *storage lesion*, sarebbero il motivo per cui una conservazione più breve si rivelerebbe superiore in termini di *outcome* del paziente rispetto ad un tempo di conservazione prolungato. La particolare sensibilità al tema è intuibile: ogni anno in tutto il mondo vengono trasfusi milioni di unità di sangue, con una permanenza media di 15 giorni nelle frigo emoteche dopo la raccolta.

Tali dati sono, tuttavia, conflittuali e trial controllati randomizzati che hanno messo a confronto gli effetti di una più breve conservazione rispetto ad una conservazione prolungata non hanno dimostrato alcun rischio clinico aumentato in termini di eventi avversi nei pazienti, e pertanto non è ancora possibile fornire indicazioni certe relativamente al tempo ottimale di conservazione degli eritrociti prima del loro utilizzo clinico.

## PROPRIETÀ REOLOGICHE DEI GLOBULI ROSSI DEI CONCENTRATI PER TRASFUSIONE

Patrizia Caprari (a), Carlotta Bozzi (a), Maria Pia Caforio (a), Maria Teresa Pasquino (a),  
Luisella Luchetti (a), Donatella Maffi (a), Gabriella Girelli (b)

(a) *Centro Nazionale per il Controllo e la Valutazione dei Farmaci, Istituto Superiore di  
Sanità, Roma*

(b) *UOC Immunoematologia e Medicina Trasfusionale, Dipartimento di Medicina  
Molecolare, Università degli Studi di Roma La Sapienza, Roma*

Molti studi sono stati effettuati sino ad oggi sui concentrati eritrocitari per trasfusione allo scopo di trovare le condizioni per prolungare i tempi di conservazione e di utilizzo delle emazie, focalizzando l'attenzione sui cambiamenti associati a danni irreversibili dell'eritrocita tali da determinare una diminuzione della sopravvivenza post trasfusionale. I globuli rossi subiscono cambiamenti, noti come *storage lesion*, riguardanti il metabolismo, le componenti proteiche e lipidiche della membrana e modificazioni nella forma corrispondenti ad alterazioni di deformabilità, è stata infatti suggerita l'esistenza di una correlazione tra deformabilità eritrocitaria e vitalità post-trasfusionale. È lo stato fisico della membrana e del sottostante membrano-scheletro che gioca un ruolo fondamentale, il suo invecchiamento, si ripercuote sulle varie componenti sia proteiche che lipidiche. Una delle conseguenze è la formazione di vescicole, progressiva durante la conservazione, che porta a modificazioni delle proprietà reologiche con riduzione della deformabilità eritrocitaria fino alla lisi cellulare. Le modificazioni della membrana eritrocitaria sembrano anche determinare un incremento dell'aggregabilità ed una aumentata tendenza ad aderire all'endotelio che possono determinare una minore capacità di passare attraverso il microcircolo con diminuzione del flusso ematico e locale ipossia.

Dal momento che la sopravvivenza eritrocitaria è strettamente correlata allo stato metabolico ed allo stato fisico della membrana dei globuli rossi, l'indebolimento dei sistemi antiossidanti intracellulari, come in presenza di un *deficit* di G6PD, e l'aumentata suscettibilità allo stress ossidativo e alla denaturazione delle proteine di membrana, come nella sferocitosi ereditaria, possono innescare ed accelerare quella serie di eventi che intercorrono fra l'invecchiamento eritrocitario e l'evento emolitico.

Confrontando gli effetti della conservazione su eritrociti normali, con *deficit* di G6PD, e portatori di *trait* sferocitico è stata osservata una correlazione tra le alterazioni della struttura e funzione della membrana con lo stato metabolico. L'eritrocita subisce uno stress iniziale dovuto alla preparazione della sacca ed alla sostituzione del plasma con la soluzione preservante, ma attivando le proprie risorse metaboliche, riesce inizialmente a recuperare le modificazioni reversibili della membrana. Gli eritrociti normali e con difetto lieve di G6PD sembrano avere, un *pattern* di invecchiamento confrontabile, diverso da quello delle emazie con *deficit* più marcato. La presenza di difetti a carico delle proteine di membrana fanno ipotizzare una maggiore suscettibilità di tali emazie alla *storage lesion*. Questi fenomeni di invecchiamento precoce delle emazie con difetto congenito potrebbero compromettere l'efficacia della trasfusione e aumentare il rischio di complicazioni post-trasfusionali.

## EMOREOLOGIA IN PAZIENTI PEDIATRICI AFFETTI DA ANEMIA FALCIFORME: VALUTAZIONI PRE E POST-TRASFUSIONALI

Riccardo Morandi (a), Giovanni Palazzi (b), Marco Ballestri (c), Mariachiara Lodi (b), Elena Bigi (b), Francesco Fontana (c), Gianni Cappelli (c), Marco Maioli (d), Lorenzo Iughetti (b), Donatella Venturelli (a)

(a) *Servizio Immunotrasfusionale Azienda Ospedaliero Universitaria Policlinico, Modena*

(b) *Dipartimento di Scienze Mediche e Chirurgiche Materno Infantili e dell'Adulto Azienda Ospedaliero Universitaria Policlinico, Modena*

(c) *Divisione e Cattedra di Nefrologia, Azienda Ospedaliero Universitaria Policlinico, Modena*

(d) *Dipartimento di Fisica, Informatica e Scienze Matematiche, Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia, Modena*

L'anemia falciforme (SCD) è una malattia ereditaria, caratterizzata da emolisi cronica, complicanze vaso-occlusive e danno multi-organo progressivo, con notevole impatto sull'aspettativa e la qualità di vita dei pazienti. Endemica in Africa sub-sahariana, Penisola arabica e India, la SCD, con le migrazioni, ad oggi rappresenta una malattia globale, diffusa anche nel nostro Paese. La sua incidenza nel mondo è stimata a circa 300.000 nuovi casi/anno. La SCD è dovuta alla sostituzione di un singolo aminoacido con produzione di un'emoglobina anomala (HbS). Ipossia, acidità e disidratazione cellulare determinano la polimerizzazione di HbS e la deformazione degli eritrociti nella caratteristica forma a falce.

L'interazione tra endotelio vascolare e la membrana dei globuli rossi falcemici porta a episodi di occlusione microvascolare, con conseguente ischemia tissutale, successiva riperfusionazione, ma grave danno vascolare e stress infiammatorio dovuto all'aumentata espressione di ossidasi vascolare, di citochine pro-infiammatorie e molecole di adesione. La terapia trasfusionale è una componente chiave del trattamento dei pazienti affetti da anemia falciforme in quanto: migliora la capacità di trasportare ossigeno aumentando il livello totale di emoglobina, diminuisce la viscosità del sangue ed aumenta la saturazione di ossigeno diluendo la concentrazione di emoglobina S (HbS). Inoltre, sopprime la produzione endogena di eritrociti falcemici aumentando l'ossigenazione tissutale. Si stima che il 60-80% dei pazienti con anemia drepanocitica riceva almeno una trasfusione di Eritrociti (EC) nei primi 20 anni di vita con riduzione della morbilità e l'aumento della sopravvivenza.

È stato studiato il profilo emoreologico 53 pazienti falcemici di età pediatrica e confrontato con controlli pediatrici sani: l'analisi del fattore di Taylor evidenzia la presenza di emazie meno deformabili nel paziente drepanocitico (TK SCD  $1,27 \pm 0,21$  vs TK CTRL  $0,88 \pm 0,05$ ) e una viscosità del sangue intero più elevata rispetto ai controlli ( $\eta_{B200}$  SCD  $4,41 \pm 1,22$  vs TK CTRL  $3,97 \pm 0,34$ ). I parametri emoreologici sono stati valutati anche prima e dopo trasfusione in 7 pazienti di età pediatrica omozigoti HbSS non trasfusi cronicamente e non splenectomizzati in crisi falcemica. Lo studio evidenzia che i protocolli trasfusionali applicati portano ad una normalizzazione dei parametri alterati subito dopo la terapia trasfusionale, sia in caso di trasfusione semplice che di eritrocitoafesi.

## **IMPATTO DELLE TECNICHE DI AFERESI TERAPEUTICA SUL MICROCIRCOLO E CORRELATI FLOGISTICI**

Claudia Stefanutti, Claudia Morozzi, Serafina Di Giacomo  
*Centro Malattie Rare Neurometaboliche Regione Lazio, Tecniche Terapeutiche Extracorporee, Gravi Dislipidemie Genetiche, EO C03, UOC Immunoematologia e Medicina Trasfusionale, Dipartimento di Medicina Molecolare, Laboratorio per lo Studio, Diagnosi, Terapia delle Dislipidemie e Prevenzione della Aterosclerosi, Università degli Studi di Roma La Sapienza, Roma*

Il modello della aferesi terapeutica selettiva delle lipoproteine è quello che ha generato più evidenze sull'impatto di tale tecnica extracorporea (*Lipoprotein Apheresis*) sul microcircolo e sui correlati flogistici. L'aferesi lipoproteica si è dimostrata efficace nell'arrestare la progressione delle lesioni aterosclerotiche e in alcuni casi nel determinarne la regressione. Questo effetto non dipende solamente dalla riduzione nel plasma dei livelli di colesterolo-LDL e di altre lipoproteine aterogene come la Lp (a), ma anche dalla dimostrata azione della predetta tecnica su altri meccanismi implicati nella patogenesi della lesione aterosclerotica: in particolare la modulazione (anche di recente dimostrata a livello dello RNAm) dei livelli circolanti di mediatori proflogistici, pro-ossidativi ed endotelio-lesivi come le citochine, le LDL ossidate, la pentraxina III e la proteina C reattiva e la diminuzione dell'adesione dei monociti alle cellule endoteliali e di fattori pro-trombotici, segnatamente la riduzione dei livelli plasmatici di fibrinogeno.

Il miglioramento dell'emoreologia e della funzione endoteliale promosso dalla aferesi lipoproteica, rappresenta inoltre una opzione terapeutica per patologie che si ritengono sostenute dalle alterazioni del microcircolo come la sordità improvvisa, la neuropatia ottica ischemica e la vasculopatia periferica, soprattutto diabetica.

Queste nuove indicazioni terapeutiche sono state recepite dalla *American Society for Apheresis* e sono state inserite nelle Linee Guida *ASFA* del 2016. Anche la Iperlipoproteinemia (a), espressione clinica di correlati protrombotici e proaterogeni, è stata inserita fra le più recenti indicazioni delle Linee Guida *ASFA*, grazie ai risultati di recenti studi clinici controllati.

**Quarta sessione**

*Moderatori*

A. Colantuoni, P. E. Mollo



## **DEFORMABILITÀ ERITROCITARIA IN SOGGETTI AFFETTI DA OBSTRUCTIVE SLEEP APNEA SYNDROME (OSAS)**

Eugenia Hopps, Baldassarre Canino, Vincenzo Calandrino, Maria Montana, Rosalia Lo Presti, Gregorio Caimi  
*Università degli Studi, Palermo*

La sindrome delle apnee ostruttive nel sonno (OSAS) si associa ad un'elevata morbilità e mortalità cardiovascolare per la precoce comparsa di disfunzione endoteliale, rimodellamento vascolare ed aterosclerosi. Alcuni studi hanno dimostrato in soggetti con OSAS alterazioni emoreologiche, quali l'iperfibrinogenemia, l'iperviscosità ematica e plasmatica e l'aumentata aggregabilità eritrocitaria, ma i dati riguardanti la deformabilità eritrocitaria in questa condizione clinica sono ad oggi pochi e discordanti. Scopo di questa ricerca è stato quindi esaminare in un gruppo di soggetti con apnee notturne la deformabilità eritrocitaria, i metaboliti dell'ossido nitrico ( $\text{NO}_2 + \text{NO}_3 = \text{NO}_x$ ), nitriti e nitrati, ed i *markers* di stress ossidativo, spesso associati a disfunzione endoteliale. Sono stati arruolati 48 soggetti (36 uomini e 12 donne, età media  $50,3 \pm 14,68$  anni) con OSAS diagnosticata mediante monitoraggio cardio-respiratorio notturno completo.

Sulla base della severità dell'OSAS, determinata con l'indice apnea/ipopnea (AHI), i soggetti sono stati suddivisi in due gruppi: Low ( $L = \text{AHI} < 30$ ) e High ( $H = \text{AHI} > 30$ ). La deformabilità eritrocitaria è stata studiata con il diffrattometro Rheodyn SSD (Myrenne) agli *shear stresses* di 30 e 60 Pa ed espressa come elongation index (EI). I  $\text{NO}_x$  sono stati determinati, dopo conversione dei nitrati in nitriti mediante una nitrato reductasi, con metodo spettrofotometrico dopo l'aggiunta del reagente di Griess. La perossidazione lipidica è stata valutata come TBARS (thiobarbituric acid-reactive substances), mentre i gruppi carbonilici (PC) sono stati studiati come indicatori di ossidazione proteica. Una significativa riduzione della deformabilità eritrocitaria ad ogni *shear stress* è stata riscontrata sia nell'intero gruppo che nei due sottogruppi di soggetti con OSAS rispetto ai controlli. Lo studio dei  $\text{NO}_x$  non ha mostrato differenze significative tra controlli ed OSAS, mentre si è osservata una concentrazione significativamente ridotta dei  $\text{NO}_x$  nel sottogruppo H rispetto al sottogruppo L.

La perossidazione lipidica si è rivelata elevata nell'intero gruppo di soggetti con OSAS rispetto ai controlli, diversamente dall'ossidazione proteica; l'esame dei due sottogruppi ha mostrato alti valori di TBARS e PC nei soggetti con  $\text{AHI} > 30$  e bassi valori di PC nei soggetti con  $\text{AHI} < 30$  rispetto ai controlli. La severità dell'OSAS risultava correlata sia ai  $\text{NO}_x$  che ai parametri di stress ossidativo. Diversamente, non sono state riscontrate significative correlazioni tra deformabilità eritrocitaria ed AHI, né tra EI e  $\text{NO}_x$ , né tra EI e *markers* di stress ossidativo.

## **ASSETTO EMOREOLOGICO IN SOGGETTI AFFETTI DA MONOCLONAL GAMMOPATHY OF UNDETERMINED SIGNIFICANCE (MGUS)**

Melania Carlisi, Maria Montana, Rosalia Lo Presti, Sergio Siragusa, Gregorio Caimi  
*Università degli Studi, Palermo*

Le informazioni disponibili sul *pattern* emoreologico dei soggetti affetti da MGUS sono limitate. Oggetto di questa ricerca preliminare è stato il comportamento della viscosità ematica e plasmatica, dell'ematocrito e della deformabilità eritrocitaria in questa condizione clinica. A questo scopo abbiamo studiato 21 soggetti con MGUS (10 donne e 11 uomini; età media 66,4+/-11,6 anni).

Su sangue venoso prelevato a digiuno abbiamo determinato la viscosità ematica e plasmatica a basso e alto *shear rate*, l'ematocrito, i rapporti fra viscosità ematica (ad alto e a basso *shear rate*) ed ematocrito e fra viscosità plasmatica a basso e ad alto *shear rate*; abbiamo inoltre valutato la deformabilità eritrocitaria espressa come *elongation index*.

Dal confronto fra i soggetti di controllo e quelli con MGUS è emerso un incremento significativo della viscosità ematica ad alto *shear rate* e della viscosità plasmatica a basso *shear rate*.

Nei soggetti con MGUS i rapporti fra la viscosità ematica (ad alto e a basso *shear rate*) e l'ematocrito, e fra la viscosità plasmatica a basso *shear rate* e quella ad alto *shear rate* erano significativamente aumentati. Inoltre abbiamo osservato un marcato decremento della deformabilità eritrocitaria nei soggetti con MGUS.

L'alterazione del profilo emoreologico riscontrata in questi soggetti può contribuire alla patogenesi delle complicanze tromboemboliche la cui incidenza è significativamente aumentata in presenza di MGUS.

## LO SCORRIMENTO LONGITUDINALE DELLA PARETE ARTERIOSA DURANTE IL CICLO CARDIACO

Claudio Carallo (a), Salvatore Scaramuzzino (b), Giampaolo Pileggi (b), Paolo Maria De Masi (a), Chiara Caglioti (a), Agostino Gnasso (a), Maria Francesca Spadea (b)

(a) *U.O. Malattie del Metabolismo, Università degli Studi Magna Graecia, Catanzaro*

(b) *Dipartimento di Medicina Sperimentale e Clinica, Università degli Studi Magna Graecia, Catanzaro*

Lo *speckle tracking* è un metodo per la valutazione dei movimenti tissutali, provenienti da immagini ecografiche. La presente ricerca concerne la validazione e i primi risultati clinici di un nuovo metodo per lo studio dei movimenti longitudinali delle arterie carotidi durante il ciclo cardiaco, in particolare quello del complesso Intima-Media (IMC) rispetto l'avventizia e per i sani i tessuti sottostanti (Ad).

Per la valutazione del metodo è stato inizialmente utilizzato un fantoccio ad ultrasuoni. In seguito sono stati reclutati 18 soggetti sani e 16 affetti da patologie cardiometaboliche, presentanti questi ultimi almeno una placca aterosclerotica nell'albero carotideo. L'esame è stato condotto con una piattaforma ecografica commerciale. Per ogni sequenza acquisita della durata di 15 secondi, sono state valutate: l'ampiezza del movimento longitudinale sia per l'IMC ( $A_{IMC}$ ) che per l'Ad ( $A_{Ad}$ ).

La accuratezza del metodo, misurato sul fantoccio, evidenzia un errore in dimensione subpixel. I risultati dello scorrimento (in millimetri) mostrano, nei sani, una media +/- ds per  $A_{IMC}=0,32 \pm 0,24$ , max 1,05, min 0,19. Si evidenzia altresì un movimento non trascurabile anche dell'Ad per i sani, con una media  $A_{AD}=0,29$ . Tali valori sono consistenti con la letteratura nei sani, rispettivamente  $A_{IMC}=0,48$ ,  $A_{AD}=0,20$ ,  $\sigma=0,24$ , massimo e minimo rispettivamente 1,08 e 0,25. Le stesse misurazioni nei pazienti sono pari ai seguenti valori medi:  $A_{IMC}=0,24$  ed  $A_{AD}=0,19$ .

In conclusione, si conferma la robustezza generale del nuovo metodo, e la sua applicabilità a carotidi normali o in presenza di malattia aterosclerotica; rispetto all'attuale, esso consente la misura dello spostamento longitudinale dell'IMC vs i tessuti sottostanti, e tiene anche conto dei movimenti respiratori.

I risultati inoltre evidenziano la necessità di valutare lo scorrimento di IMC vs AD poiché quest'ultimo è stato rilevato come non trascurabile. Tale metodo sarà applicato ad una più ampia corte di pazienti ed alle più comuni patologie cronico-degenerative.

## **IL RUOLO DELLA FLUIDODINAMICA DEGLI ORGANI ARTIFICIALI NELL'ANALISI DEI RISCHI DEI DISPOSITIVI MEDICI**

Mauro Grigioni, Carla Daniele, Giuseppe D'Avenio

*Centro Nazionale per le Tecnologie Innovative in Sanità Pubblica, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

I Dispositivi Medici (DM) impiantabili per il sistema cardiovascolare sono da molti anni un ausilio indispensabile nella pratica chirurgica. Risale infatti a più di cinquanta anni fa il primo impianto di valvola cardiaca protesica. Nel corso degli anni, uno sforzo di ricerca nel settore dei biomateriali e della fluidodinamica dei dispositivi ha portato a un incremento delle prestazioni dei dispositivi, ma restano ancora complicazioni legate all'utilizzo di tali dispositivi in particolare in termini di trombogenesi ed emolisi.

Non si può, infatti, ancora affermare che sia stata realizzata una protesi "ideale" e le problematiche connesse con le protesi cardiovascolari, riguardano sia il dispositivo stesso che le modalità del suo impianto in sede clinica.

Nel rispetto della rispondenza ai Requisiti Essenziali che una protesi cardiovascolare deve soddisfare, la direttiva comunitaria di riferimento (93/42/CEE e successivi aggiornamenti), suggerisce ai fabbricanti di usare norme tecniche armonizzate per verificare la conformità dei dispositivi stessi. In particolare al fine di minimizzare i rischi associati con l'utilizzo di tali dispositivi, la normativa armonizzata UNI CEI EN ISO 14971:2012, consente al fabbricante, sia in fase di progettazione del dispositivo, che post-produzione, di identificare i pericoli associati ai dispositivi, di classificare gli eventi indesiderati e di ridurre i rischi.

L'introduzione di una procedura standardizzata per analizzare i rischi permette di eseguire un'analisi funzionale delle protesi cardiovascolari, in particolare permette di analizzare determinate caratteristiche progettuali il cui effetto può portare a conseguenze negative dal punto di vista ematico. Per esempio il dato progettuale dell'accoppiamento fra alette e gabbietta di una protesi cardiaca valvolare meccanica a doppia flangia può produrre dei getti di rigurgito valvolare con una turbolenza associata che può causare danno ematico (emolisi e/o trombogenesi), così come alte velocità nelle pompe cardiache a turbina o nella patogenesi delle complicanze tissutali del bulbo carotideo, per via dello stress sulla pavimentazione endoteliale, etc.

L'esame degli aspetti fluidodinamici di un dato dispositivo medico impiantabile è quindi un passo rilevante nello sviluppo del dispositivo, necessario per valutare preliminarmente i rischi associati al suo uso, consentendo quindi di ottimizzare le prove precliniche e cliniche.

## EFFECTS OF HYPOCALORIC DIET ON MICROVASCULAR BLOOD FLOW OSCILLATIONS IN ELDERLY OBESE FEMALES

Teresa Mastantuono (a), Martina Di Maro (a), Laura Battiloro (a), Noemy Starita (a), Martina Chiurazzi (a), Gilda Nasti (a), Mario Cesarelli (b), Gianni D'Addio (c), Luigi Iuppariello (b), Dominga Lapi (a), Antonio Colantuoni (a)

(a) *Dipartimento di Medicina Clinica e Chirurgia, Università degli Studi di Napoli Fedetico II, Napoli*

(b) *Dipartimento di Ingegneria Elettrica e delle Tecnologie dell'Informazione, Università degli Studi di Napoli Fedetico II, Napoli*

(c) *IRCCS Fondazione S. Maugeri, Telese, Benevento*

Obesity represents one of the most important causes of morbidity and mortality in the elderly people. Moreover, obesity can be characterized by functional and structural alterations in the microcirculation, inducing microvascular dysfunction at the level of both resistance vessels and the nutritive capillary beds. Therefore, this study was aimed to investigate skin microvascular blood flow (SBF) in aging obese females.

Thirty Normal Weight (NW group) and sixty obese elderly females, >65 years old, were recruited from our Outpatient Clinic. Obese females were randomly divided in two groups according to the dietary treatment: 30 obese subjects (OD group) were treated with a hypocaloric diet and 30 obese patients (O group) did not change the daily usual diet. SBF was measured by laser Doppler perfusion monitoring and oscillations in blood flow were analyzed by spectral methods under baseline conditions and after 3 months of dietary treatment. Under baseline conditions, O and OD groups showed significant lower mean value of SBF as well as total Power Spectral Density (PSD) than NW group. However, the PSD related to neurogenic activity (in percentage of total spectral density) was significantly higher in O and OD groups when compared to those observed in NW group. On the other hand, percent PSD related to myogenic activity was significantly lower in O and OD groups than in NW group. Obese patients belonging to the O and OD groups also showed changes in high frequency component spectral density: percent PSD related to both respiration and heart rate were significantly higher in O and OD groups when compared to NW group.

After 3 month of hypocaloric diet treatment, OD group showed a significant increase in SBF as well as in total PSD. In addition, a significant increase in myogenic related component was observed ( $36.01 \pm 2.31$  vs  $22.26 \pm 1.14\%$ ,  $p < 0.01$  vs baseline) with a significant reduction in neurogenic related component ( $29.20 \pm 1.75$  vs  $35.42 \pm 2.03\%$ ,  $p < 0.01$  vs baseline). Finally, a decrease in both high frequency components was detected.

In conclusion, obesity exacerbates microvascular dysfunction in aging, but hypocaloric diet improves the regulation of tissue perfusion.

## **ALTERAZIONI EMOREOLOGICHE IN PAZIENTI IN DIALISI PERITONEALE**

Francesco Fontana (a,b), Marco Ballestri (b), Clarisse Makomi (a), Riccardo Morandi (c), Gianni Cappelli (a,b)

*(a) Dipartimento Chirurgico, Medico, Odontoiatrico e di Scienze Morfologiche, Sezione di Nefrologia, Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia, Modena*

*(b) Divisione di Nefrologia, Dialisi e Trapianto Renale, Dipartimento di Medicina e Specialità Mediche, Policlinico di Modena, Modena*

*(c) Dipartimento di Oncologia ed Ematologia, Sezione di Medicina Trasfusionale, Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia, Modena*

I pazienti in dialisi presentano un rischio cardiovascolare sostanzialmente superiore rispetto alla popolazione generale, a causa di fattori di rischio tradizionali e non tradizionali. Alterazioni emoreologiche sono stati ampiamente descritte nei pazienti in emodialisi (HD), mentre esistono pochi dati riguardanti il profilo emoreologico dei pazienti in dialisi peritoneale (PD).

Scopo del nostro studio è quello di caratterizzare il profilo emoreologico di 49 pazienti in PD, e di confrontare questi dati con pazienti in HD e volontari sani. I pazienti in PD hanno mostrato un miglioramento dei parametri relativi alla macro-circolazione (viscosità plasmatica, viscosità del sangue intero a 1 Hz, indice di aggregazione eritrocitaria e limite di scorrimento del sangue) rispetto ai pazienti in HD, mentre la funzionalità del microcircolo è risultata gravemente compromessa, come espresso da valori elevati per la viscosità del sangue intero a 200 Hz e da ridotta deformabilità eritrocitaria (ED).

In conclusione, abbiamo riscontrato alterazioni emoreologiche nei pazienti in PD, con sostanziali differenze rispetto a HD; in particolare, i pazienti in PD hanno mostrato una profonda disfunzione del flusso del microcircolo con compromessa ED.

Questa alterazione può agire come fattore di rischio per l'aterosclerosi accelerata e precipitare gli eventi cardiovascolari, e può avere un effetto dannoso nel microcircolo peritoneale promuovendo l'attivazione endoteliale con conseguente fibrosi, che può portare al malfunzionamento della membrana peritoneale.

# DINAMICA E STRUTTURA DELLA MEMBRANA ERITROCITARIA: STUDIO DEL PROFILO VISCOELASTICO ASSOCIATO ALL'ANALISI ELETTROFORETICA

Carlotta Bozzi (a), Sara Massimi (b), Roberta Risoluti (b), Stefano Materazzi (b), Loretta Diana (a), Patrizia Caprari (a)

(a) Centro Nazionale per il Controllo e la Valutazione dei Farmaci, Istituto Superiore di Sanità, Roma

(b) Dipartimento di Chimica, Università degli Studi di Roma La Sapienza, Roma

Molti studi hanno dimostrato come la forma biconcava e la corrispondente deformabilità dei globuli rossi sono caratteristiche essenziali per la sua funzione biologica. La presenza di difetti congeniti eritrocitari possono alterare significativamente la forma eritrocitaria, cambiare le proprietà di membrana, compromettere la deformabilità cellulare e come conseguenza alterare la circolazione. In questo studio sono stati indagati i profili viscoelastici eritrocitari in diverse anemie emolitiche da difetto congenito, sia emoglobinico che di membrana, e sono stati messi in relazione alle alterazioni strutturali della membrana eritrocitaria osservate mediante analisi elettroforetica.

Sono stati analizzati globuli rossi affetti da Sferocitosi ereditaria (HS) e Ellissocitosi ereditaria (HE), anemia falciforme (SCA) e  $\beta$ -talassemia (Thal). L'analisi elettroforetica delle proteine di membrana è stata eseguita mediante SDS-PAGE e la quantificazione delle bande è stata effettuata mediante sistema Gel Doc XR+. Sono stati determinati i profili reologici del sangue intero, ad ematocrito nativo e normalizzato, con sistema Rheo-Microscope MCR 301 considerando i parametri di viscosità ematica a *shear rates* controllati di 200 e  $1\text{ s}^{-1}$ ; l'Indice di Aggregazione Eritrocitaria (IAE), il modulo elastico,  $G'$ , ed il modulo viscoso,  $G''$ , in funzione della frequenza angolare  $\omega$  (*range* 0,1-10 Hz).

La valutazione dei moduli viscoelastici e l'analisi elettroforetica è stata effettuata sulle membrane eritrocitarie a diversi tempi di conservazione ( $-80^\circ\text{C}$ ). Sono stati analizzati 2 casi di HE, 8 casi di HS, 3 casi di SCA e 4 casi di Thal. Sono stati osservati un significativo aumento della viscosità ematica a 200 e  $1\text{ s}^{-1}$  ad ematocrito normalizzato nei campioni SCA e una significativa diminuzione nei casi Thal, ad ematocrito nativo. Un incremento del IAE è evidente nei casi di SCA. Anomalie rilevanti nei profili viscoelastici sono stati trovati nei casi di HE e SCA.

Questi risultati sono confermati dai profili viscoelastici delle membrane eritrocitarie e dall'analisi elettroforetica che evidenzia in generale una diminuzione della proteina B3 e della spettrina, l'aumento della globina legata alla membrana e la presenza di aggregati ad alto peso molecolare che portano complessivamente ad una diminuita deformabilità della membrana. Il confronto dei profili viscoelastici in relazione all'analisi strutturale della membrana può essere un nuovo criterio per la caratterizzazione dei meccanismi che inducono l'emolisi nelle anemie emolitiche congenite.



## INDICE DEGLI AUTORI

Arosio E.; 11  
Ballestri M.; 14; 21; 30  
Barcellini W.; 17  
Battiloro L.; 29  
Bianchi P.; 17  
Bigi E.; 21  
Bondanini F.; 7  
Bossi E.; 8  
Bozzi C.; 18; 20; 31  
Caforio M.P.; 20  
Caglioti C.; 27  
Caimi G.; 3; 5; 25; 26  
Calandrino V.; 25  
Canino B.; 3; 25  
Cappelli G.; 14; 21; 30  
Caprari P.; 18; 20; 31  
Carallo C.; 27  
Carlisi M.; 5; 26  
Cesarelli M.; 4; 29  
Chiurazzi M.; 4; 29  
Ciani A.; 7  
Cinquetti R.; 8  
Colantuoni A.; 4; 29  
D'Addio G.; 4; 29  
D'Avenio G.; 28  
Daniele C.; 28  
De Marchi S.; 11  
De Masi P.M.; 27  
De Mattheis G.M.; 7  
Di Giacomo S.; 22  
Di Maro M.; 4; 29  
Diana L.; 31  
Fermo E.; 17  
Fontana F.; 14; 21; 30  
Franzoni F.; 12  
Girelli G.; 20  
Gnasso A.; 27  
Grigioni M.; 28  
Hopps E.; 5; 25  
Iughetti L.; 21  
Iuppariello L.; 4; 29  
Lapi D.; 4; 29  
Lo Presti R.; 3; 5; 25; 26  
Lodi M.; 21  
Luchetti L.; 20  
Maffei L.; 18  
Maffi D.; 20  
Maioli M.; 21  
Makomi C.; 30  
Marcello A.P.; 17  
Marcoccia A.; 7  
Marcozzi C.; 8  
Massimi S.; 31  
Mastantuono T.; 4; 29  
Materazzi S.; 18; 31  
Modesti M.G.; 7  
Montana M.; 3; 25; 26  
Morandi R.; 21; 30  
Moriondo A.; 8  
Morozzi C.; 22  
Nasti G.; 4; 29  
Negrini D.; 8  
Palazzi G.; 21  
Pasquino M.T.; 20  
Pileggi G.; 27  
Reguzzoni M.; 8  
Risoluti R.; 18; 31  
Rossi M.; 6  
Rostand D.Z.J.; 14  
Scaramuzzino S.; 27  
Siragusa S.; 26  
Solari E.; 8  
Sorrentino F.; 18  
Spadea M.F.; 27  
Starita N.; 29  
Stefanutti C.; 22  
Tozzi Ciancarelli M.G.; 13  
Urso C.; 3  
Vaglio S.; 19  
Venturelli D.; 21  
Vercellati C.; 17  
Zanella A.; 17  
Zaninoni A.; 17

*Serie ISTISAN Congressi  
gennaio-marzo 2017 (n.1)*

*Stampato in proprio  
Settore Attività Editoriali - Istituto Superiore di Sanità, Roma*