

ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ

Convegno

**Aggiornamenti in emoreologia:
dal laboratorio alla clinica**

Istituto Superiore di Sanità
Roma, 3 dicembre 2008

RIASSUNTI

A cura di

Patrizia Caprari (a) e Maria Cristina Martorana (b)

*(a) Dipartimento di Ematologia, Oncologia e Medicina Molecolare,
Istituto Superiore di Sanità, Roma*

*(b) Dipartimento di Medicina Trasfusionale Roma Ovest,
Azienda Ospedaliera S. Camillo-Forlanini, Roma*

ISSN 0393-5620
ISTISAN Congressi
08/C11

Istituto Superiore di Sanità

Convegno. Aggiornamenti in emoreologia: dal laboratorio alla clinica. Istituto Superiore di Sanità. Roma, 3 dicembre 2008. Riassunti.

A cura di Patrizia Caprari e Maria Cristina Martorana
2008, iv, 41 p. ISTISAN Congressi 08/C11

Nel presente volume sono riportati i riassunti dei contributi che verranno proposti come relazioni orali e come poster nel Convegno, organizzato dall'Istituto Superiore di Sanità nella sua terza edizione. Il Convegno intende fornire un aggiornamento sulle nuove conoscenze in emoreologia in ambito fisiopatologico, clinico e diagnostico. In particolare è dedicato all'approfondimento sul significato clinico delle alterazioni emoreologiche, alla presentazione di nuovi strumenti diagnostici, ed alla valutazione del significato delle terapie emoreologiche. La Tavola Rotonda "Standardizzazione e valori di riferimento in emoreologia" vuole essere un momento importante di confronto e di scambio fra diverse realtà professionali che operano in questo campo con l'obiettivo di contribuire alla standardizzazione delle tecniche reologiche ed alla definizione di un sistema condiviso di riferibilità delle misure.

Parole chiave: Emoreologia, Patologie cardiovascolari, Eritrocita

Istituto Superiore di Sanità

Congress. Haemorheology updates: from laboratory to clinic. Istituto Superiore di Sanità. Rome, December 3, 2008. Abstract Book.

Edited by Patrizia Caprari and Maria Cristina Martorana
2008, iv, 41 p. ISTISAN Congressi 08/C11 (in Italian)

This book includes the abstracts of the contributions that will be proposed as oral presentation and posters in the Congress organized by the Istituto Superiore di Sanità in its third edition. The Congress aims to provide an update on new knowledge in Haemorheology as concerns pathophysiology, clinics and diagnostics. In particular, is devoted to deepen the clinical significance of haemorheological changes, to present new diagnostic tools, and to evaluate the significance of rheological therapies. The Round Table "Standardization and reference values in haemorheology" wants to be an important time for discussion and exchange between different professional working in this field with the aim of contributing to the standardization of rheological techniques and the definition a shared system of traceability of measurements.

Key words: Haemorheology, Cardioascular diseases, Erythrocyte

Responsabile scientifico: Patrizia Caprari

Segreteria scientifica: Patrizia Caprari, Anna Tarzia

Si ringrazia Paola Tortora per l'editing di questo volume

Per informazioni su questo documento scrivere a: patrizia.caprari@iss.it

Il rapporto è disponibile online sul sito di questo Istituto: www.iss.it

Presidente dell'Istituto Superiore di Sanità e Direttore responsabile: *Enrico Garaci*
Registro della Stampa - Tribunale di Roma n. 131/88 del 1° marzo 1988

Redazione: *Paola De Castro, Egiziana Colletta e Patrizia Mochi*
La responsabilità dei dati scientifici e tecnici è dei singoli autori.

© 2008 Istituto Superiore di Sanità (Viale Regina Elena, 299 - 00161 Roma)

INDICE

Programma	iii
Prima Sessione	1
Seconda Sessione.....	11
Terza Sessione	21
Poster	25
Indice degli Autori	39

PROGRAMMA

- 8.30 Registrazione
- 9.00 Indirizzo di benvenuto
Enrico Garaci
Presidente dell'Istituto Superiore di Sanità
Ruggero De Maria
Direttore del Dipartimento di Ematologia, Oncologia e Medicina Molecolare,
Istituto Superiore di Sanità
- 9.10 Apertura lavori e introduzione
Patrizia Caprari, Maria Cristina Martorana

Prima sessione

Moderatori: **Gregorio Caimi, Ruggero De Maria**

- 9.20 *Evoluzione del significato dell'iperviscosità in fisiopatologia:
dimenticare Poiseuille?*
Sandro Forconi
- 9.40 *Significato clinico delle alterazioni emoreologiche*
Gregorio Caimi, Rosalia Lo Presti
- 10.00 *Macro e microreologia eritrocitaria nella malattia diabetica e ipertensiva*
Rosalia Lo Presti, Gregorio Caimi
- 10.20 *Globuli rossi e piastrine: nuove vie di comunicazione*
Rosanna Abbate
- 10.40 *Nuove tecniche in emoreologia mediante analisi di immagine*
Patrizia Caprari
- 11.00 *Iperviscosità e malattia coronarica: possibile ruolo nell'era
dell'angioplastica percutanea*
Emanuele Cecchi
- 11.20 Intervallo

Seconda sessione

Moderatori: **Sandro Forconi, Patrizia Caprari**

11.40 **Tavola rotonda**

*Standardizzazione e valori di riferimento in emoreologia:
un punto di partenza o di arrivo?*

**Marco Ballestri, Gregorio Caimi, Bruno De Cindio, Lucia Mannini,
Maria Cristina Martorana, Giorgio Mojoli, Roberto Reverberi**

13.00 Discussione

13.30 Intervallo

Terza sessione

Moderatori: **Roberto Reverberi, Maria Cristina Martorana**

14.30 *Aferesi terapeutica: indicazioni attuali*

Gabriella Girelli

14.50 *Terapia pro-emoreologica: dalla farmacologia ai trattamenti aferetici*

Marco Ballestri

15.10 Relazioni orali selezionate dai poster

16.30 Questionario apprendimento

17.30 Conclusioni e chiusura lavori

Maria Cristina Martorana, Patrizia Caprari

Prima Sessione

Moderatori

Gregorio Caimi, Ruggero De Maria

EVOLUZIONE DEL SIGNIFICATO DELL'IPERVISCOITÀ EMATICA NELLA FISIOPATOLOGIA CIRCOLATORIA: DIMENTICARE POISEUILLE?

Sandro Forconi

Professore Emerito di Medicina Interna, Clinica Medica, Università degli Studi, Siena

Intorno agli anni 1960-70 alcuni ricercatori, tra cui anche noi, studiando la fisiopatologia circolatoria ed in particolare la quantizzazione del volume di flusso ematico, identificarono tra le variabili determinanti non solamente il calibro del vaso ma anche la viscosità del sangue, fino allora ritenuta una costante scarsamente influenzante la dinamica circolatoria.

Questo assunto era basato su quanto stabilito, nel 1828, da Jean Léonard Marie Poiseuille. Nella sua ormai ben nota formula di Hagen-Poiseuille (chi era, che fine ha fatto Hagen?) il volume di flusso in un tubo rigido (attenzione!) è direttamente proporzionale alla quarta potenza del raggio (calibro del vaso, che si trova al numeratore) e inversamente proporzionale alla viscosità del liquido che scorre (che si trova al denominatore).

Dal 1828 agli anni '60 peraltro il significato della viscosità, ritenuta una costante di scarso significato, fu completamente negletto. Come invece spesso succede fu l'introduzione nei laboratori di ricerca dei primi viscosimetri che, dalla industria del catrame, delle vernici o dei dentifrici (tanto per citare qualche esempio), entrarono prepotentemente nei laboratori prima biologici e poi anche clinici, evidenziando l'importante variabilità di questo parametro in condizioni normali e patologiche, negli animali e nell'uomo. Come spesso succede, all'inizio molti ricercatori entusiasti ipervalorizzarono il dato.

Nacquero così le "Sindromi da iperviscosità ematica" viste come situazioni fisiopatologiche dove era proprio l'incremento di questo parametro a determinare la malattia ischemizzante. Successivamente fu da noi introdotto il concetto di "Sindrome da iperviscosità ematica secondaria" dove invece l'iperviscosità veniva vista in maniera bidirezionale come un marker o un epifenomeno della riduzione di flusso determinata dalle variazioni del calibro del vaso. Comunque collocata, l'iperviscosità veniva peraltro sempre considerata un elemento negativo, cioè capace di incrementare le resistenze periferiche, nella complessa regolazione del flusso ematico.

Questa affermazione non è stata, tuttavia da noi completamente accettata, più volte ci siamo chiesti il perché l'emodiluizione nelle malattie ischemizzanti non ha mai prodotto risultati significativi e come mai l'emoconcentrazione (doping da EPO) in medicina sportiva aumenti la performance, tanto per fare qualche esempio. Ulteriori aspetti interpretativi sono stati favoriti dalle ricerche sulla funzionalità endoteliale e sul ruolo del nitrossido e degli altri prodotti dell'epitelio vascolare nella regolazione della vasodilatazione e della vasocostrizione, in particolare a livello microcircolatorio. Forse era stato dimenticato che, mentre Poiseuille ha enunciato il suo principio come valido per tubi rigidi, l'albero circolatorio varia continuamente il suo calibro ed il sistema è pulsante. È

ormai accettato che la secrezione dell'ossido nitrico è stimolata dall'aumento dello *shear* stress sulla parete vascolare.

Appare quindi verosimile che stia circolando, come ipotesi di lavoro per i prossimi anni, l'idea di un ruolo positivo dell'iperviscosità capace di entrare nel complesso giuoco regolatorio delle resistenze periferiche. In un recentissimo simposio, Intaglietta ed i suoi collaboratori hanno presentato dati preliminari dimostrativi della possibilità di aumento di flusso e ipotensione stimolata dall'iperviscosità e endotelio mediata.

SIGNIFICATO CLINICO DELLE ALTERAZIONI EMOREOLOGICHE

Gregorio Caimi, Rosalia Lo Presti

Dipartimento di Medicina Interna, Malattie Cardiovascolari e Nefrourologiche, Università degli Studi, Palermo

Non è sempre definito il ruolo da attribuire alle alterazioni emoreologiche in clinica. Queste ultime possono essere inquadrare in forme primarie (policitemica, sierica e sclerocitemica) ed in forme secondarie quali quelle riscontrabili nella malattia diabetica, nell'ipertensione arteriosa e in patologia cardiovascolare. Mentre la sindrome da iperviscosità policitemica comprende quadri clinici caratterizzati da aumento della massa cellulare circolante, la sindrome da iperviscosità sierica è legata alla presenza in circolo di frazioni proteiche anomale e la sindrome da iperviscosità sclerocitemica si caratterizza per una ridotta deformabilità eritrocitaria, dovuta a trasformazioni irreversibili, quasi sempre di origine genetica, di una o più strutture del globulo rosso. Le alterazioni emoreologiche coinvolgono quindi una o più determinanti (concentrazione cellulare, viscosità plasmatica, deformabilità ed aggregabilità eritrocitarie) e come è noto ognuna di esse interviene ed ha un peso in specifici settori della circolazione, in rapporto con il gradiente di velocità che vige in quel settore. Nel microcircolo quindi è fondamentale la deformabilità, mentre nei settori in cui prevalgono bassi gradienti prevale l'aggregabilità. Quanto detto lega *pattern* reologico e profilo emodinamico e spiega il ruolo che l'emoreologia assume nell'aterotrombosi e nell'ischemia.

MACRO E MICROREOLOGIA ERITROCITARIA NELLA MALATTIA DIABETICA E IPERTENSIVA

Rosalia Lo Presti, Gregorio Caimi

Dipartimento di Medicina Interna, Malattie Cardiovascolari e Nefrourologiche, Università degli Studi, Palermo

Fra le sindromi da iperviscosità secondaria, quelle che accompagnano il diabete mellito e l'ipertensione arteriosa hanno particolare rilevanza, per l'elevatissima frequenza delle malattie di base e per il ruolo che la turba reologica può avere nell'insorgenza delle complicanze. In entrambe le condizioni patologiche si osserva, oltre ad un'iperviscosità plasmatica, un'alterazione delle proprietà reologiche degli eritrociti.

Queste ultime proprietà possono essere studiate sia con tecniche macroreologiche, che valutano la velocità di filtrazione degli eritrociti attraverso membrane artificiali ovvero la capacità di tali cellule di deformarsi se sottoposte ad uno *shear* stress, sia con tecniche microreologiche, che esplorano con molecole-sonda le proprietà della membrana eritrocitaria. In questa relazione saranno passati in rassegna i risultati di ricerche condotte sulla reologia eritrocitaria in pazienti diabetici o ipertesi, attraverso l'utilizzo di tecniche di filtrazione del sangue intero o di sospensioni di emazie, di tecniche diffrattometriche e, in ambito microreologico, con metodi che impiegano la spettroscopia di fluorescenza.

Questi ultimi si avvalgono di molecole marcate con gruppi fluorescenti, e dotate di specifica affinità per particolari regioni o componenti della membrana eritrocitaria. Dalle caratteristiche dell'emissione fluorescente di tali molecole, legate agli eritrociti, si possono trarre informazioni sulle proprietà microreologiche di membrana.

Con tecniche analoghe può essere studiata la concentrazione dei calcio-ioni nel citoplasma eritrocitario, anch'essa in grado di influenzare la reologia eritrocitaria.

GLOBULI ROSSI E PIASTRINE: NUOVE VIE DI COMUNICAZIONE

Rosanna Abbate, Cinzia Fatini, Elena Sticchi, Agatina Alessandrello Liotta, Lucia Mannini
Dipartimento di Area Critica Medico-Chirurgica, Università degli Studi, Firenze; Centro Trombosi, Azienda Ospedaliero-Universitaria Careggi, Firenze

Lo sviluppo delle conoscenze di questi ultimi anni sulla patogenesi della malattia aterosclerotica ha attribuito un ruolo rilevante, insieme al processo infiammatorio, al sistema dell'emostasi nelle diverse componenti, piastrinica, coagulativa e fibrinolitica.

Il coinvolgimento nella genesi e nella progressione della malattia dei diversi sistemi vede l'interazione degli elementi cellulari endoteliali, dei globuli bianchi e delle piastrine.

Di particolare interesse sono gli studi rivolti alla valutazione dei rapporti fra piastrine e globuli rossi, specificamente al complesso ruolo dei globuli rossi nel modulare la risposta piastrinica a diversi induttori. In presenza di globuli rossi metabolicamente attivi, le piastrine, stimolate da induttori fisiologici, quale il collagene, rilasciano elevate quantità di prodotti di secrezione degli alfa granuli, quali la beta tromboglobulina, e sintetizzano maggiori quantità di trombossano A₂. Inoltre nella miscela di incubazione di piastrine stimolate in presenza di globuli rossi sono presenti ADP e ATP in concentrazione superiore di cinque e sette volte rispettivamente a quella che si determina in assenza dei globuli rossi.

Più recentemente è stato dimostrato che i globuli rossi umani sono in grado di esprimere la nitrossido sintasi endoteliale. L'espressione di tale enzima, a livello sia delle membrane plasmatiche che del citoplasma, può modificare le proprietà elettromeccaniche ed influenzare così la deformabilità delle membrane eritrocitarie. Questa risulta nettamente ridotta dall'inibizione della formazione di NO mediante L-NNA (N-omega-Nitro-L-arginina). Il rilascio di NO e specie bioattive NO-correlate può contribuire ad aumentare la concentrazione locale di NO nell'immediata vicinanza della membrana, contribuendo in tal modo a creare una barriera intrinseca eritrocitaria che prevenga il consumo di NO derivato da fonti diverse dal globulo rosso. Il globulo rosso è in grado di inibire l'aggregazione piastrinica non solo attraverso l'espressione intrinseca di eNOS, ma anche attraverso l'induzione dell'espressione di eNOS piastrinica. Dati sperimentali hanno dimostrato che l'ATP rilasciato da globuli rossi sottoposti a deformazione indotta dal flusso è in grado di indurre la produzione di NO attraverso il recettore piastrinico P2_X.

Un'alterazione di questi diversi meccanismi di attivazione eritrocitaria e piastrinica e di interscambio funzionale cellula-cellula può essere alla base di un alterato profilo funzionale. La correzione di questo alterato *pathway* molecolare potrà rappresentare un potenziale target per futuri interventi terapeutici.

NUOVE TECNICHE IN EMOREOLOGIA MEDIANTE ANALISI DI IMMAGINE

Patrizia Caprari

Dipartimento di Ematologia, Oncologia e Medicina Molecolare, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Una delle caratteristiche dei globuli rossi sottoposti a *shear stress* in circolo è la capacità di deformarsi in virtù della viscosità citoplasmatica, del rapporto superficie-volume e della viscoelasticità della membrana. Cambiamenti in una o più di queste proprietà delle emazie ne modificano la deformabilità, ne alterano l'aggregazione ed il comportamento sotto *shear stress*. La deformabilità eritrocitaria è un fattore che gioca un ruolo fondamentale nel rilascio dell'ossigeno ai tessuti, tale che una diminuzione di deformabilità può risultare in una diminuita perfusione dei tessuti periferici. Data l'importanza clinica di questo fattore le misure di deformabilità eritrocitaria stanno entrando nella pratica clinica e sono stati sviluppati vari metodi che si basano su principi diversi, a partire dalla filtrazione eritrocitaria e dall'aggregazione eritrocitaria per arrivare all'ectacitometria ed allo studio dell'orientamento e della morfologia eritrocitaria in condizioni di flusso.

La standardizzazione e la definizione dei valori di riferimento per questi tipi di metodi risultano particolarmente importanti per la mancanza di standard di riferimento e per il fatto che molte variabili possono influire sulle misure quali il tempo di analisi dal prelievo, la temperatura, l'ematocrito, il mezzo di sospensione, gli *shear rates* a cui si misura, variabili che pertanto vanno tenute sotto controllo.

Un nuovo approccio alla caratterizzazione reologica e morfologica delle emazie è il nuovo sistema il Rheo-Microscope che consiste in un reometro associato ad un microscopio che, permettendo contemporaneamente la caratterizzazione dei parametri reologici e la visualizzazione delle immagini degli eritrociti in movimento, consente di studiare la diretta relazione tra le proprietà reologiche ed il comportamento nel flusso a diverse condizioni di *shear rates*. Le immagini degli eritrociti sotto *shear*, visualizzate dal microscopio, vengono riprese dalla camera ed analizzate mediante un software per immagini. Con questo sistema sono stati analizzati sotto flusso eritrociti normali ed eritrociti patologici di pazienti affetti difetti congeniti del globulo rosso di cui sono ben note le alterazioni emoreologiche: emoglobinopatie e sferocitosi ereditaria.

IPERVISCOSITÀ E MALATTIA CORONARICA: POSSIBILE RUOLO NELL'ERA DELL'ANGIOPLASTICA PERCUTANEA

Emanuele Cecchi, Agatina Alessandrello Liotta, Brunella Bandinelli, Rossella Marcucci, Rosanna Abbate, Lucia Mannini

Dipartimento di Area Critica Medico-Chirurgica, Università degli Studi, Firenze; Centro Trombosi, Azienda Ospedaliero-Universitaria Careggi, Firenze

La viscosità ematica partecipa alla regolazione del flusso a livello del microcircolo e alterazioni sia plasmatiche che cellulari a carico delle componenti emoreologiche possono determinare uno stato di iperviscosità che, rallentando il flusso ematico, può facilitare l'insorgenza di eventi trombotici occlusivi attraverso la formazione di aggregati eritrocitari e piastrinici. Alterazioni a carico della membrana eritrocitaria sono in grado di influenzare non solo l'aggregabilità degli eritrociti, ma anche la loro deformabilità e adesione alle cellule endoteliali, condizionando così la regolazione del flusso ematico.

Negli ultimi anni l'interesse per lo studio della viscosità è notevolmente aumentato poiché, in numerose condizioni cliniche e sperimentali, sono state messe in evidenza alterazioni del profilo emoreologico che risultano correlare con la gravità dei disturbi del flusso, e che possono contribuire alla comprensione delle basi fisiopatologiche dei disordini vascolari stessi. Una meta-analisi, condotta da Danesh e collaboratori, ha messo in evidenza un'associazione tra viscosità ematica e rischio di malattia coronarica. Il ruolo delle diverse componenti reologiche è stato analizzato non solo in relazione al rischio di malattia, ma anche a quello di eventi clinici correlati, come la mortalità.

I risultati degli studi MONICA e *Scottish Heart Health Study* hanno dimostrato un'associazione tra viscosità ematica, in particolare due dei suoi principali determinanti, l'ematocrito ed il fibrinogeno, ed aumentato rischio di mortalità. Più recentemente, una meta-analisi di 31 studi prospettici ha evidenziato come il fibrinogeno, uno dei determinanti della viscosità ematica, possa modulare il rischio cardiovascolare.

Il contributo alla definizione del ruolo della viscosità ematica nella malattia cardiovascolare è stato dato anche da studi di associazione che, se pur di numerosità più ridotta, hanno contribuito a dimostrare come un'alterata viscosità ematica sia in grado di condizionare l'*outcome* clinico in pazienti con fibrillazione atriale, o modulare il flusso ematico a livello delle arterie carotidi in pazienti con malattia cerebrovascolare; inoltre è stato dimostrato come un'alterata deformabilità eritrocitaria, indipendentemente dalle piastrine, sia in grado di modulare la risposta a farmaci antiaggreganti in pazienti con sindrome coronarica acuta. Recentemente, un'alterazione di alcuni parametri emoreologici e, in particolare, un aumento dei valori di ematocrito, è stata messa in relazione all'insorgenza di un'occlusione completa delle coronarie dopo rottura di una placca vulnerabile, favorendo quindi l'insorgenza di infarto miocardico con sopraslivellamento del tratto ST (STEMI).

Inoltre in pazienti che si presentano con STEMI, un aumento della viscosità ematica e di alcuni suoi determinanti, è risultata associata ad una maggior estensione dell'area infartuale

nonché ad una più severa disfunzione acuta del ventricolo sinistro. L'associazione descritta tra iperviscosità ed insorgenza di STEMI può spiegare, almeno in parte, l'impatto negativo determinato dalle trasfusioni di emazie concentrate in pazienti con sindromi coronariche acute, in particolare per quanto riguarda l'aumento del rischio di infarto del miocardio e la più alta mortalità in questi pazienti.

Seconda Sessione

Moderatori

Sandro Forconi, Patrizia Caprari

PARAMETRI EMOREOLOGICI UTILI IN NEFROLOGIA E DIALISI E RELATIVI VALORI DI RIFERIMENTO

Marco Ballestri

Divisione e Cattedra di Nefrologia, Dialisi e Trapianto Renale, Azienda Policlinico di Modena, Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia, Modena

Le misurazioni emoreologiche eseguite in ambito nefrologico a partire dagli anni settanta del secolo scorso hanno identificato una varietà di alterazioni del profilo emoreologico dei pazienti affetti da malattie renali, degli uremici in trattamento emodialitico e dei portatori di trapianto renale. I dati disponibili non sono però di facile interpretazione e non è neppure chiaro quanto le alterazioni reologiche osservate siano primitive rispetto all'insorgenza della nefropatia, ed abbiano un ruolo patogenetico nel determinismo delle lesioni renali, oppure siano secondarie, costituendo un semplice epifenomeno, o siano invece un fattore aggravante per la progressione del danno renale.

Infine, non si esclude che, almeno in alcuni casi, i parametri emoreologici di questi pazienti possano essere addirittura peggiorati dagli stessi provvedimenti terapeutici indicati per le nefropatie.

Nelle malattie a carattere flogistico e/o autoimmune è possibile registrare un incremento della viscosità plasmatica (ηP) sostenuta dall'aumentata sintesi di proteine della fase acuta, mentre nella sindrome nefrosica un iper- ηP può essere favorita dagli elevati livelli di fibrinogeno, alfa₂globuline e lipoproteine; in quest'ultimo caso tuttavia l'ipoalbuminemia e l'ipogammaglobulinemia conseguenti alla perdita urinaria possono controbilanciare la tendenza all'iperviscosità. La ηP può essere particolarmente elevata nei casi in cui il danno renale sia correlato alla presenza di paraproteine, quali crioglobulinemie e gammopatie monoclonali.

Nelle glomerulonefriti croniche mediate da Immunocomplessi (IC), ed in particolare nella nefropatia a depositi di IgA, è stata segnalata una riduzione della Deformabilità Eritrocitaria (DE) che sarebbe dovuta al legame dell'IC con i recettori eritrocitari per il frammento FC delle immunoglobuline. La DE nei pazienti con insufficienza renale può essere influenzata negativamente anche dal concorso di numerosi altri fattori quali l'iperparatiroidismo secondario, l'accumulo intracellulare di calcio, l'ossidazione dei lipidi di membrana, l'acidosi metabolica, la disfunzione endoteliale e il sovraccarico di alluminio.

I malati con insufficienza renale presentano un pattern emoreologico caratterizzato da aumentata ηP , ridotta DE, aumentata aggregabilità eritrocitaria, ma viscosità ematica (ηS) normale grazie all'effetto compensatorio esercitato dall'anemia che caratterizza questi pazienti. Ne consegue che la correzione dell'anemia oltre un certo limite può comportare un drastico incremento della ηS con conseguenze negative sul microcircolo, sull'endotelio, sull'apparato cardiovascolare e sulla progressione del danno d'organo in generale. Le scadenti caratteristiche reologiche, a loro volta, potrebbero avere un ruolo patogenetico nella progressione dell'insufficienza renale, stimolando l'endotelio a produrre fattori di crescita e fibrogenetici, quali ad esempio PDGF e TGF- β , per una via indipendente dalla mediazione dell'angiotensina II. È interessante notare che alcuni dei farmaci utilizzati per il controllo della pressione arteriosa (calcio-antagonisti) e per rallentare la progressione

dell'insufficienza renale (ACE-inibitori, sartani) presentano fra gli effetti pleiotropici un miglioramento di alcuni parametri emoreologici. La somministrazione di eritropoietina sembra avere effetti pro-reologici secondo alcuni autori, ma anche effetti sfavorevoli secondo altri. Influenza negativa sembrano pure avere alcuni farmaci utilizzati per la terapia antirigetto del trapianto renale: in particolare la ciclosporina riduce la DE e questo potrebbe non essere positivo per la progressione della malattia cronica del trapianto. Anche il trattamento emodialitico influenza il profilo emoreologico esercitando effetti favorevoli sulla DE, ma allo stesso tempo un incremento della ηP e della ηS a causa della disidratazione intradialitica.

I parametri emoreologici di interesse nefrologico sono quindi numerosi e la loro misurazione può essere potenzialmente utile in fase diagnostica, a scopo prognostico (vedi rischi cardiovascolare aggiuntivo) e per il monitoraggio della terapia. Nonostante ciò, il lavoro svolto fino ad ora appare prevalentemente descrittivo, ma non conclusivo a causa della grande eterogeneità dei dati raccolti.

Di fronte all'evidenza del problema emoreologico, si tratta ora di iniziare a studiarne sistematicamente i termini, ma per fare ciò è indispensabile condividere un preciso metodo operativo. L'impossibilità di potere confrontare la maggior parte dei dati disponibili in letteratura rende difficile la stessa scelta dei parametri emoreologici di interesse: noi nefrologi parliamo spesso di ηS prescindendo dai valori di ematocrito e dalla velocità di scorrimento alla quale è stata misurata, così come variabili sono gli altri parametri operativi e la fase preanalitica.

È dunque fondamentale fare riferimento ad una standardizzazione dei metodi, basata sulle proposte esistenti (ICSH, 1986) oppure di nuova concezione, tuttavia non bisogna sottovalutare i problemi di natura tecnica ed economica che ostacolano questo processo. Gli strumenti di misura disponibili infatti presentano spesso limiti operativi e quelli più flessibili non sono a basso costo.

A nostro avviso il pannello dei parametri emoreologici di maggior interesse nefrologico dovrebbe comprendere ηP , ηS ad alta e bassa velocità di scorrimento, DE ed indice di aggregazione eritrocitaria. Attenzione particolare merita poi lo studio del comportamento visco-elastico del sangue che potrebbe essere particolarmente utile riassumendo in sé gli altri parametri.

È chiaro che un pannello così ampio può non essere il punto di partenza ideale per favorire il processo di standardizzazione, per cui una soluzione iniziale potrebbe essere quella di identificare una rosa ristrettissima di parametri sui quali sia possibile cominciare ad operare tutti allo stesso modo. Il database di dati standardizzati consentirà poi di affrontare con maggiore efficacia anche il problema dei valori di riferimento che, al momento attuale, potremmo dire inesistenti o quasi.

La letteratura propone range di riferimento per la ηP e tabelle di riferimento per la ηS misurata a diversi valori di ematocrito ricostituito, ma anche in questo caso le velocità di scorrimento sono variabili in relazione alle possibilità degli strumenti utilizzati. Non vi sono riferimenti sicuri per gli altri parametri, né vi sono riferimenti fra grado di alterazione emoreologica e ripercussione clinica, se si escludono indicazioni di massima nel campo delle sindromi da iperviscosità secondarie a mieloma multiplo.

LA DEFORMABILITÀ ERITROCITARIA: METODI DI INDAGINE

Gregorio Caimi

Dipartimento di Medicina Interna, Malattie Cardiovascolari e Nefrourologiche, Università degli Studi, Palermo

Fra le determinanti dell'assetto emoreologico la deformabilità eritrocitaria è tra le più considerate, anche se in ambito clinico non sempre risulta agevole la sua valutazione.

Quest'ultima, come è noto, può avvalersi di diverse metodiche. Relativamente alla nostra esperienza, ci siamo avvalsi inizialmente, in accordo alla tecnica di Reid e Dormandy, della filtrazione di sangue intero attraverso membrane di policarbonato (Nucleopore) con pori di 5 micron, tenendo conto rispettivamente della temperatura, dell'anticoagulante impiegato e della pressione di filtrazione; successivamente abbiamo impiegato la filtrazione, attraverso membrane di policarbonato con pori di 5 micron, di emazie sospese (5%) in plasma autologo prefiltrato attraverso membrane Millipore con pori di 1,2 micron, e inoltre la filtrazione di sangue, ad elevato ematocrito (80%) e a bassa pressione variabile, attraverso filtri di carta con pori di 20-40 micron utilizzando il filtrometro MF4, metodica quest'ultima basata quindi non più sull'interazione eritrocita-poro ma sull'interazione eritrocita-eritrocita.

Recentemente la deformabilità del globulo rosso è stata valutata con il metodo diffrattometrico, basato sul rilievo, attraverso la diffrazione del raggio laser, della modificata configurazione eritrocitaria (da circolare ad ellissoidale) ottenuta quando il campione di sangue viene sottoposto a *shear* stress predeterminati (da 0,3 a 60 Pa) ed esprimendo il dato complessivo come Elongation Index.

CREEP E PROPRIETÀ VISCOELASTICHE

Bruno de Cindio

Dipartimento di Modellistica per l'Ingegneria, Università degli Studi della Calabria, Rende, Cosenza

La problematica del come effettuare misure fluidodinamiche e di come interpretarle è stata spesso affrontata indipendentemente dal comportamento dello specifico materiale. In particolare in presenza di proprietà tempo-dipendenti occorre, per una corretta caratterizzazione reologica, scegliere tecniche sperimentali ed equazioni costitutive appropriate, che spesso sono interrelate. Dal punto di vista sperimentale se si utilizza ad esempio un flusso stazionario a taglio, si applica una velocità di deformazione o un gradiente di velocità costante e si misura conseguentemente la forza risultante: la proprietà materiale misurata è una viscosità, che può o meno essere dipendente solo dalla velocità di deformazione applicata. È chiaro che in questo caso si è già scelto a priori un comportamento liquido, e conseguentemente se ne quantifica il valore dei parametri.

La dipendenza dalla storia di deformazione per sistemi a comportamento tempo-dipendente, come sono i materiali viscoelastici, non può essere messa in risalto nell'esperimento descritto precedentemente. Una tempo dipendenza richiede necessariamente quindi una misura in transitorio, per la quale ovviamente non è possibile definire la viscosità, essendo di per sé una misura in stazionario. Le misure dinamiche in oscillatorio sembrano essere le più qualificate come transitori in quanto, pur presentando una dipendenza temporale, la funzionalità nel tempo è limitata essendo di tipo sinusoidale, inoltre le oscillazioni sono di piccola ampiezza, potendosi così trascurare le armoniche di ordine superiore.

I parametri materiali risultanti sono i classici valori dei moduli dinamici di accumulo G' e di dissipazione G'' , eventualmente interrelati dal cosiddetto spettro dei tempi di rilassamento. Questa scelta sperimentale porta ad una caratterizzazione viscoelastica lineare, che ben si adatta a sistemi sopra strutturati come polimeri sospensioni concentrate ecc., ma è abbastanza più inaffidabile quando il materiale sia sufficientemente liquido, comportandosi ad esempio come un gel debole. In questi casi un approccio più semplice ed affidabile, può essere più utile.

Tenendo presente che il comportamento solido si esprime ai tempi bassi, mentre quello liquido a tempi alti, un esperimento in cui si applichi uno sforzo costante e si misuri nel tempo la deformazione, può esser di valido aiuto. In effetti in questo modo il comportamento del materiale è sostanzialmente spaccato in due zone: una a prevalenza solida ed un'altra a prevalenza liquida. I parametri materiali risultanti saranno una viscosità finale stazionaria ed una elasticità iniziale.

Il valore dello sforzo applicato può esser scelto piccolo a sufficienza per rendere la risposta del materiale indipendente da esso. Inoltre, sebbene la risposta in termini di deformazione diverga rispetto al tempo, essa diventa stazionaria ai tempi alti dando così una misura di viscosità. Questo approccio ha avuto un certo successo per i materiali deboli, in quanto si riesce a metter in luce l'aspetto solido che viceversa la classica misura di viscosità non è in grado di evidenziare, essendo rappresentativo dell'entità di ritardo nel

mostrare il comportamento liquido. Il sangue ricade tra questi materiali, in quanto essendo essenzialmente una sospensione costituita da un insieme di particelle deformabili, mostra un comportamento tempo dipendente di tipo viscoelastico. Fenomeni come l'aggregazione di queste particelle oppure la minore o maggiore deformabilità delle particelle, mentre danno un contributo modesto o comunque poco rilevabile sulle proprietà in flusso, al contrario influenzano fortemente il comportamento solido.

La tecnica sviluppata ha già dimostrato le sue migliori capacità di caratterizzazione sia rispetto alle misure viscosive sia a quelle oscillatorie, indicando una nuova strada alla ricerca nel settore della emoreologia. Non bisogna però nascondere che l'estrema delicatezza della misura transitoria, offre ancora molti spunti per una verifica in vista di una sua applicabilità a tutto campo.

PARAMETRI EMOREOLOGICI NELLA PATOLOGIA ATEROTROMBOTICA E VALORI DI RIFERIMENTO

Lucia Mannini, Rosanna Abbate, Agatina Alessandrello Liotta, Brunella Bandinelli, Maria Costanzo

Dipartimento di Area Critica Medico-Chirurgica, Università degli Studi, Firenze; Centro Trombosi, Azienda Ospedaliero-Universitaria Careggi, Firenze

Le alterazioni emoreologiche che coinvolgono la viscosità del sangue totale nelle sue componenti sia plasmatiche che cellulari, possono determinare l'insorgenza di uno stato di iperviscosità che, a sua volta, rallentando il flusso ematico, può evolvere sino a facilitare l'insorgenza di aggregati eritrocitari e piastrinici.

Negli ultimi anni l'interesse per lo studio della viscosità è notevolmente aumentato poiché in numerose condizioni cliniche oltre che sperimentali, sono state messe in evidenza alterazioni del profilo emoreologico che risultano correlate con la gravità dei disturbi del flusso, e che possono contribuire alla comprensione delle diverse basi fisiopatologiche

In una prima meta-analisi di Danesh nel 2000, che ha considerato studi epidemiologici prospettici di numerosità variabile, è stato messo in evidenza un'associazione tra viscosità ematica e rischio di malattia coronarica. Dopo questa meta-analisi in letteratura si ritrovano studi epidemiologici più ampi, pubblicati negli ultimi anni, che hanno valutato l'influenza della componente emoreologica su rischio globale.

Il contributo della definizione del ruolo della viscosità ematica nella malattia cardiovascolare è stato dato anche da studi di associazione che hanno rilevato come le componenti emoreologiche siano capaci di influenzare l'*outcome* clinico in vari tipi di pazienti. Il compito del laboratorio è quindi di fondamentale importanza nell'identificare diversi tipi di test per lo studio del profilo emoreologico utile a sua volta per la diagnosi di uno stato di iperviscosità e delle varie componenti coinvolte sia plasmatiche che cellulari.

A questo scopo presso il nostro laboratorio abbiamo studiato e ottimizzato i test per lo studio sia della viscosità del sangue totale che plasmatica e i test per lo studio della deformabilità e aggregazione eritrocitaria.

I valori di riferimento sono stati calcolati valutando il 95° percentile su soggetti apparentemente sani di età compresa tra 30 e 60 anni per le donne, e 23 e 63 anni per gli uomini. I criteri di esclusione di laboratorio sono stati fibrinogeno >430mg/dL, colesterolemia >220mg/dL, trigliceridi >170mg/dL, ematocrito nelle donne <36 e >44%, negli uomini <40 e >46%.

Possiamo dire quindi che gli studi clinici attualmente presenti in letteratura contribuiscono a identificare come alterazione emoreologiche siano un indice di suscettibilità alla patologia ischemica arteriosa prevalentemente coronarica. I risultati degli studi clinici retrospettivi basati su test sempre più specifici, rappresentano la base per ulteriori studi prospettici, che possono contribuire alla definizione del ruolo della viscosità ematica nel profilo di rischio vascolare.

PARAMETRI EMOREOLOGICI UTILI IN MEDICINA TRASFUSIONALE E RELATIVI VALORI DI RIFERIMENTO

Maria Cristina Martorana

UOSD Raccolta, Produzione e Validazione Emocomponenti, Dipartimento di Medicina TrASFusionale Roma Ovest, Azienda Ospedaliera S. Camillo-Forlanini, Roma

L'aggregabilità, la deformabilità e la potenziale aderenza all'endotelio dei vasi sanguigni rende gli eritrociti cellule di grande capacità adattativa al cambiare delle condizioni di flusso, tali da riuscire a minimizzare la loro resistenza al flusso.

Alterazioni delle piastrine, dei globuli bianchi e delle caratteristiche della membrana eritrocitaria sono correlate con alterazioni della reologia ematica e plasmatica, a loro volta connesse alla diversa gravità dei disturbi di flusso e delle patologie attinenti. Soprattutto nei pazienti con patologie in cui il regime trasfusionale diventa cronico la preparazione e la qualità delle emazie somministrate (concentrate, lavate, filtrate) sono di importanza fondamentale in quanto incidono, non solo sulla efficacia, sulla sicurezza o sui costi del programma della Struttura TrASFusionale ma soprattutto sulla percezione della qualità di vita e sulla proiezione futura del paziente. Nelle procedure aferetiche (produttiva e terapeutica) variabili poco studiate sono rappresentate dalle variazioni di viscosità ematica e plasmatica sia sul donatore/paziente sia sul prodotto finale. Nei globuli rossi irradiati con raggi gamma, per prevenire la GVHD, si producono anomali molecole di ossigeno e radicali liberi che possono indurre cambiamenti strutturali e biochimici, come nelle emazie filtrate e/o lavate. In Emoreologia, un fattore determinante è l'ematokrito (Hct), che si può considerare un indice della concentrazione dei globuli rossi e, conseguentemente, una misura indiretta della capacità di trasporto dell'O₂ del sangue. È noto che, ad un aumento lineare dell'Hct, compreso fra 0,20 e 0,70, si contrappone un incremento di tipo non lineare della viscosità. La valutazione della sensibilità delle emazie allo stress meccanico indotto nelle varie fasi della lavorazione delle emazie e nelle fasi di trattamento aferetico fornisce indicazioni sui momenti critici dei vari steps, può dare indicazioni sulla presenza nei donatori di difetti congeniti ereditari non diagnosticati e sull'influenza che possono avere sia sul donatore che sulla efficacia/efficienza trasfusionale. Presso la nostra Struttura TrASFusionale sono stati effettuati vari studi di viscosità, ma indispensabile premessa a qualsiasi tipo di analisi che si effettua, sono i valori di riferimento e come essi sono stati calcolati. Finalità di questo lavoro è stato quello di costituire un proprio range di valori di riferimento reologici, lo studio delle variabili che potevano influenzare i risultati e l'interpretazione delle misure, l'adeguatezza della fase pre-analitica e l'elaborazione di un semplice modello matematico che riuscisse ad escludere l'Hct. Tutti i tests sono stati condotti seguendo le modalità consigliate da ICSH. Il modello matematico elaborato è risultato capace di correlare i dati reometrici con i valori di Hct in un campo di lavoro che comprende sia la regione di normalità sia i limiti patologici, utilizzando il minor numero di variabili e riducendo al minimo le valutazioni matematiche da eseguire.

STRUMENTAZIONE E TECNICHE REOLOGICHE

Giorgio Mojoli

Specialista di Reologia, Miane, Treviso

Gli ultimi sviluppi tecnologici hanno consentito notevoli miglioramenti delle tecniche di misura reometriche, tali sviluppi hanno portato alla costruzione di sistemi con elevate precisioni e capacità analitiche pur utilizzando piccoli volumi dei materiali da testare.

Tecniche reologiche evolute quali le indagini in regime oscillatorio e in regime transitorio, consentono, ora, anche grazie alle elevate capacità e potenzialità di calcolo, determinazioni che solo un decennio fa non potevano essere utilizzate a causa di insensibilità strumentali ed elevati tempi di elaborazione.

Oltre a ciò sono ora possibili misure combinate ottico/meccaniche che consentono la sincronia tra gli eventi meccanici e le visualizzazioni ottiche permettendo la comprensione di fenomeni complessi. La potenzialità di modellazione e di calcolo consente ora notevoli possibilità di valutazione dei dati acquisiti senza perdite di tempo e di precisione.

Terza Sessione

Moderatori

Roberto Reverberi, Maria Cristina Martorana

AFERESI TERAPEUTICA: INDICAZIONI ATTUALI

Gabriella Girelli

Dipartimento di Biotecnologie Cellulari ed Ematologia, Università degli Studi La Sapienza, Roma

L'obiettivo dell'Aferesi Terapeutica (AT) è quello di rimuovere dal sangue o uno specifico costituente ematico, che contribuisce al processo patologico, o sostanze che costituiscono la base patogenetica della malattia, come tossine, anticorpi, immunocomplessi, proteine monoclonali. Mediante i moderni separatori cellulari è quindi possibile effettuare citoaferesi, plasmafèresi e rimozioni selettive di costituenti plasmatici e di frazioni cellulari.

Indipendentemente dal tipo di procedura, una seduta aferetica comporta il prelievo di sangue, la sua anticoagulazione, la sua manipolazione mediante centrifugazione/filtrazione, la rimozione dell'emocomponente, la sua sostituzione con pari volumi di soluzioni o concentrato cellulare biocompatibile, la restituzione del sangue trattato.

È quindi comprensibile come le procedure aferetiche possano causare modificazioni fisiologiche che includono, oltre alla ben nota ipocalcemia legata all'infusione di citrato durante la procedura, anche cambiamenti emodinamici associati allo spostamento (sottrazione) di liquidi, alla deplezione di costituenti cellulari e plasmatici. Problemi di sovraccarico o di ipovolemia possono insorgere durante le procedure aferetiche anche in relazioni alle condizioni cliniche del paziente e alle terapie farmacologiche in essere.

L'efficacia dell'AT nel rimuovere o ridurre al minimo i costituenti plasmatici che causano o aggravano la malattia è condizionata sia dalla presenza in circolo di materiale patogenetico in quantità apprezzabile sia dalla sua velocità di resintesi che deve essere inferiore a quella di rimozione. Studi clinici randomizzati negli ultimi 20 anni hanno valutato l'efficacia e la tollerabilità della AT in campo dismetabolico, neurologico, ematologico e immunologico.

Trias controllati hanno ripetutamente dimostrato che il miglioramento è rapido, ma non a lungo termine, stando a significare che l'organismo ha una considerevole capacità di ristabilire lo *status quo ante*.

Constatazioni effettuate in pazienti affetti da malattie immunologiche e sottoposti a plasma *exchange* hanno portato a far ritenere che la deplezione anticorpale ottenuta indurrebbe una aumentata proliferazione di cloni patogeni che a loro volta indurrebbero un effetto *rebound* sulle concentrazioni anticorpali in circolo. Diversi sono i meccanismi ipotizzati per spiegare la attivazione linfocitaria.

Tale fenomeno corrisponde da un punto di vista biologico ad una maggiore vulnerabilità delle cellule, condizione che può essere sfruttata per aumentare la delezione dei cloni patogeni mediante terapia immunosoppressiva instaurata immediatamente dopo la procedura aferetica.

Pertanto al plasma *exchange* attualmente viene riconosciuto, oltre al primitivo effetto rimozionale, un effetto immunomodulatore che aumenta l'efficacia dei trattamenti quando questi vengono impiegati in maniera sincronizzata.

La AT, pur essendo una procedura invasiva, ha raggiunto elevati livelli di sicurezza e in alcune situazioni iperacute può rappresentare una strategia terapeutica salvavita.

Va tuttavia sottolineato che l'impiego indiscriminato non trova giustificazione e che la prosecuzione dei trattamenti al di fuori di protocolli validati è inutile e dispendiosa.

TERAPIA PRO-EMOREOLOGICA: DALLA FARMACOLOGIA AI TRATTAMENTI AFERETICI

Marco Ballestri

Divisione e Cattedra di Nefrologia, Dialisi e Trapianto Renale, Azienda Policlinico di Modena, Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia, Modena

La lenta evoluzione degli studi emoreologici dal XVII secolo ad oggi ha fornito ai clinici numerosi argomenti di discussione, tuttavia solo negli ultimi decenni le alterazioni del profilo emoreologico, e le modificate interazioni sangue-endotelio che ne conseguono, vengono inserite fra i meccanismi fisiopatologici di molte affezioni degenerative e cardiovascolari.

L'armamentario terapeutico in grado di modulare il profilo emoreologico comprende misure invasive e misure conservative, nonché pratiche che trovano maggiore impiego in situazioni acute ed altre che sono indicate invece per il trattamento di disordini cronici.

Degli interventi invasivi fanno parte le tecniche di Emodiluizione (ED), fra cui l'ED ipovolemica, isovolemica ed ipervolemica, ed i trattamenti aferetici extracorporei come plasmaexchange, plasmafiltrazione ed immunoadsorbimento nelle diverse varianti. In particolari situazioni, anche l'emodialisi ad alto flusso con membrane sintetiche in polimetilmetacrilato o poliariletersulfone può essere utilizzata per la correzione del profilo emoreologico.

La terapia non invasiva delle sindromi da iperviscosità si avvale invece di provvedimenti inerenti lo stile di vita, quali la correzione delle abitudini alimentari, la cessazione dell'abitudine tabagica e l'esercizio fisico moderato, e di ausili farmacologici. Fra questi vi sono ad esempio gli agenti defibrinanti, la pentossifillina, il buflomedil, farmaci antiossidanti e farmaci ipolipemizzanti. Numerose altre molecole, per lo più utilizzate per la terapia delle patologie cardiovascolari, sembrano avere, quale effetto pleiotropico, un'influenza positiva sul profilo emoreologico.

Poster

EFFETTO NEFROPROTETTIVO DELLA PENTOSSIFILLINA NELL'IPERTENSIONE A DECORSO ACCELERATO

Marco Ballestri (a), Luigi Sironi (b), Giuseppe Biagini (c), Federica Ferrari (a), Riccardo Magistroni (a), Marco Leonelli (a), Alberto Albertazzi (a)

(a) *Divisione e Cattedra di Nefrologia, Dialisi e Trapianto Renale, Azienda Policlinico di Modena, Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia, Modena*

(b) *Dipartimento di Scienze Farmacologiche, Università degli Studi, Milano*

(c) *Dipartimento di Scienze Biomediche, Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia, Modena*

Introduzione. I ratti spontaneamente ipertesi di tipo *Stroke Prone* (SHRSP) costituiscono un modello di ipertensione a decorso accelerato con sviluppo precoce di lesioni vascolari cerebrali (infarto ed emorragie) e renali (microangiopatia, ischemia e necrosi fibrinoide) che ne causano il decesso prematuro entro la XV settimana di vita. Al fine di valutare il contributo delle alterazioni emoreologiche, aggravate dall'insufficienza renale, nel determinismo delle lesioni vascolari, abbiamo studiato gli effetti della correzione emoreologica sulla progressione del danno d'organo in questo modello animale.

Materiali e metodi. 10 ratti maschi SHRSP sono stati divisi in due gruppi di cui uno trattato con Pentossifillina (PXF) somministrata *per os* al dosaggio di 200 mg/pro Kg/*die*. Sono state misurate settimanalmente proteinuria e pressione arteriosa. Alla VI settimana i ratti sono stati sacrificati, quindi sono stati misurati i principali parametri emoreologici, la creatinina plasmatica e l'ematocrito ed è stata esaminata la morfologia renale.

Risultati. I ratti non trattati hanno mostrato albuminuria, creatininemia, viscosità ematica ad alto e basso *shear rate* e modulo elastico più elevati rispetto ai ratti non trattati. I ratti non trattati sono risultati anche più anemici, mentre la pressione arteriosa non è risultata dissimile nei due gruppi. Per quanto riguarda la morfologia renale, il trattamento ha esercitato una significativa protezione nei confronti delle severe lesioni sviluppate dai ratti non trattati: vasi di medio e piccolo calibro con depositi subintimali, riduzione del lume vascolare e trombi intraluminari, necrosi fibrinoide diffusa, sclerosi glomerulare segmentale e globale.

Conclusioni. La PXF somministrata precocemente ai ratti SHRSP ha mostrato una straordinaria proprietà protettiva dalle complicanze vascolari caratteristiche di questo modello animale, indipendentemente dai valori di pressione arteriosa. L'osservazione di una minor compromissione renale in condizioni di ridotta stimolazione endoteliale, pur in presenza di severa ipertensione arteriosa, alimenta la discussione su quale sia il reale ruolo lesivo degli elevati valori pressori sulla progressione del danno d'organo e pone il dubbio che l'ipertensione possa essere un epifenomeno nel contesto di una complessa sindrome piuttosto che il primo agente causale. Un ruolo patogenetico di primo piano potrebbe invece essere rappresentato dall'alterata interazione sangue-endotelio e dalla disfunzione endoteliale.

PROGRESSIONE DELL'INSUFFICIENZA RENALE CRONICA: NUOVO APPROCCIO AD UNA VECCHIA IPOTESI

Marco Ballestri, Federica Ferrari, Riccardo Magistroni, Vittoria Malaguti, Francesco Caruso, Marco Ricardi, Zaira Gissara, Marco Leonelli, Alberto Albertazzi
Divisione e Cattedra di Nefrologia, Dialisi e Trapianto Renale, Azienda Policlinico di Modena, Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia, Modena

Introduzione. La progressione dell'Insufficienza Renale Cronica (IRC) è un processo multifattoriale in cui la ridotta Deformabilità Eritrocitaria (DE) potrebbe giuocare un ruolo decisivo. Nell'IRC infatti si registra una riduzione della DE che, determinando un aumento delle resistenze nel microcircolo, può sostenere uno stato di ipertensione capillare glomerulare, indipendentemente dal controllo della pressione arteriosa sistemica. Inoltre, lo *shear stress* esercitato sull'endotelio dalle emazie rigide induce risposte cellulari, non mediate dall'angiotensina, che comprendono la produzione di TGF- β PDGF ed altri fattori di crescita che sottendono al rimodellamento e alla sclerosi vasale. Abbiamo valutato se il miglioramento dei parametri emoreologici possa contribuire a rallentare la progressione dell'IRC.

Materiali e metodi. È stato utilizzato il modello animale di nefropatia cronica determinato dalla nefrectomia 5/6 in ratti maschi Sprague Dawley. 96 ratti sono stati divisi in tre gruppi: *sham operated*, nefrectomizzati 5/6 e nefrectomizzati 5/6 trattati con Pentossifillina (PXF) (farmaco ad attività proreologica, capace di aumentare la DE, ridurre la viscosità plasmatica e l'aggregabilità eritrocitaria) al dosaggio di 90 mg /pro kg/*die*. I ratti sono stati sacrificati a 0, 5 e 10 settimane. Sono stati misurati i principali parametri emoreologici, la creatinina plasmatica e l'ematocrito ed è stata studiata la morfologia renale.

Risultati. Alla X settimana i ratti trattati con PXF avevano valori di creatininemia, ematocrito ed albuminuria simili ai ratti *sham operated*, mentre i ratti non trattati erano marcatamente proteinurici ed avevano elevati valori di creatinina e bassi valori di ematocrito. La viscosità ematica a bassa ed alta velocità di scorrimento, l'indice di aggregabilità eritrocitaria ed il modulo elastico sono risultate aumentate nei ratti non trattati. Anche l'analisi morfologica ha confermato il ruolo protettivo della PXF, che ha ridotto i fenomeni di sclerosi segmentale e globale ed il danno tubulare.

Conclusioni. Il nostro studio conferma l'attività proreologica della PXF e ne dimostra l'effetto protettivo in un modello di insufficienza renale cronica. Questo effetto sembrerebbe in parte mediato dal miglioramento della DE. Il farmaco si candida come efficace trattamento complementare per rallentare la progressione dell'insufficienza renale cronica.

DANNO EMATICO CORRELATO A PROTESI CARDIOVASCOLARI

Carla Daniele, Giuseppe D'Avenio, Mauro Grigioni
Dipartimento di Tecnologie e Salute, 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/EEC 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 14971:2008, 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 e preliminare 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 sollecitazione ematica associata che può risultare in un danno ematico (emolisi e/o trombogenesi). Un esempio di rischio associato a un DM, dipendente dalla pratica clinica, è rappresentato dalla realizzazione della anastomosi tra il vaso naturale e quello protesico che è stata spesso identificata come zona interessata a fenomeni di turbolenza tali da costituire un rischio non trascurabile a breve e lungo termine.

Stante la molteplicità di fenomeni coinvolti nell'interazione fra paziente e DM, e in particolare fra flusso sanguigno e DM, l'analisi sistematica dei rischi si è dimostrata elemento chiave nella minimizzazione delle complicanze associate all'impianto del DM (sia in fase di progetto che di uso effettivo), permettendo un'ottimizzazione della gestione dei DM stessi e un più favorevole rapporto costo/benefici per il SSN.

DETERMINAZIONE DEL POTENZIALE EMOLITICO A PARTIRE DA STUDI FLUIDODINAMICI DI DISPOSITIVI CARDIOVASCOLARI

Giuseppe D'Avenio, Carla Daniele, Mauro Grigioni
Dipartimento di Tecnologie e Salute, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Obiettivo. I dispositivi cardiovascolari possono causare un danno ematico non trascurabile, a causa degli sforzi generati dalla particolare fluidodinamica impartita dai dispositivi stessi al flusso sanguigno. Il metodo di valutazione più appropriato di tale danno è ancora oggetto di discussione, in quanto è necessario mettere in correlazione misure fisiche (sforzo di taglio) e indicatori biologici del danno (ad es., emoglobina libera nel sangue, nel caso di emolisi). Due quantità fisiche sono identificate in letteratura come rilevanti, in relazione alla predizione di emolisi da turbolenza: il massimo sforzo di taglio da turbolenza (*maximum Turbulence Shear Stress*, TSSmax) e lo stress viscoso turbolento. Un confronto fra queste quantità in relazione a un campo di velocità complesso, qual è quello a valle di una valvola cardiaca meccanica, è necessario per migliorare le attuali conoscenze in questo campo.

Metodi. Il campo di velocità a valle di una valvola a doppia flangia (taglia: 27 mm) è stato misurato tramite Stereo-PIV (velocimetria a immagini di particolato), con la valvola montata in posizione aortica e in condizioni fisiologiche (frequenza cardiaca 70 bpm, rapporto sistole/ciclo 35%, pressione aortica media 100 mmHg). Un fascio laser è stato impiegato per illuminare la zona a valle della valvola, in corrispondenza dell'asse della valvola stessa. Il campo di flusso è stato inquadrato simultaneamente da due telecamere CCD, consentendo una ricostruzione delle tre componenti di velocità; la scelta dell'angolo fra gli assi delle due telecamere (60 gradi) ha consentito di ottenere misure accurate della velocità ortogonale al piano di illuminazione.

Risultati. La misura del TSSmax ha evidenziato zone di produzione di turbolenza, in corrispondenza di zone ad alta variazione spaziale della velocità, al bordo dei getti in uscita dalla valvola. Per quanto riguarda lo stress viscoso turbolento, qualitativamente si sono osservate strutture simili a quelle evidenziate per il TSSmax, anche se con un valore assoluto minore.

Conclusioni. Le misure delle due quantità fluidodinamiche correlate con il danno ematico hanno mostrato entrambe l'importanza delle strutture valvolari stazionarie (occlusori), nel determinare i punti a maggiore sollecitazione a carico delle cellule, nel caso di impianto di valvola protesica. Ulteriori studi sono necessari per determinare più accuratamente la relazione fra ogni quantità e il danno effettivo, in particolare per lo stress viscoso turbolento, tramite l'individuazione di una soglia per la rottura della membrana.

MODIFICAZIONI EMOREOLOGICHE E DISFUNZIONE ENDOTELIALE IN PAZIENTI AFFETTI DA SINDROME X

Roberto Flore (a), Laura Gerardino (a), Angelo Santoliquido (a), Angela Di Giorgio (a), Gregory Sgueglia (a), Giorgio Mojoli (b), Maria Cristina Martorana (c), Patrizia Caprari (d)
(a) *Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma*
(b) *Bruker Optics-Miane, Treviso*
(c) *UOSD Raccolta, Produzione e Validazione Emocomponenti, Dipartimento di Medicina Trasfusionale Roma Ovest, Azienda Ospedaliera S. Camillo-Forlanini, Roma*
(d) *Dipartimento di Ematologia, Oncologia e Medicina Molecolare, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

Introduzione. La Sindrome coronarica X (SX) è caratterizzata da una tipica angina da sforzo che interessa prevalentemente il sesso femminile. Il macrocircolo coronarico risulta angiograficamente indenne, per cui l'ipotesi patogenetica più accreditata è un'alterazione funzionale dei piccoli vasi subendocardici caratterizzata da ridotta vasodilatazione flusso-mediata ed endotelio-dipendente, potenzialmente in grado di alterare le caratteristiche emoreologiche. Scopo del nostro lavoro è valutare se in un gruppo di pazienti affetti da sindrome X siano dimostrabili modificazioni della viscosità, della vasodilatazione endotelio-dipendente e correlazioni fra i parametri esaminati.

Metodi. Sono stati esaminati 11 pazienti SX (età $61,34 \pm 7$, 7 donne) e 12 soggetti di controllo (età $55,8 \pm 7$, 8 donne). La funzione endoteliale è stata valutata mediante ecotomografia ad alta risoluzione, misurando la variazione percentuale flusso-mediata del diametro dell'arteria brachiale destra (espressione della vasodilatazione endotelio-dipendente) e quella in risposta alla nitroglicerina (vasodilatazione endotelio-indipendente). Le caratteristiche emoreologiche sono state valutate su campione di sangue venoso mediante Reometro Modulare MCR301-Anton Paar Physica con Reomicroscopia. L'esame emocromocitometrico è stato eseguito mediante apparecchio ADVIA 120 Siemens.

Risultati. Il gruppo di studio ed i controlli sono risultati confrontabili per età, sesso, fattori di rischio cardiovascolare e terapia antiaggregante piastrinica praticata.

Conclusioni. I nostri dati confermano la presenza di marcata alterazione della vasodilatazione endotelio-mediata nei pazienti con SX, mentre la viscosità a basso ed alto *shear rate* e l'aggregabilità eritrocitaria risultano solo lievemente incrementate, probabilmente in rapporto al piccolo numero di pazienti esaminati. Rimarchevolmente, nei pazienti affetti da SX, abbiamo osservato una correlazione statisticamente significativa fra disfunzione endoteliale e *Storage/Loss Modulus*, indicativa di alterazione della rigidità del globulo rosso meritevole di ulteriori indagini.

DEFORMABILITÀ DI GLOBULI ROSSI IN FLUSSO CONFINATO IN MICROCAPILLARI E MICROCANALI

Giovanna Tomaiuolo (a), Elisa Seneca (b), Vincenzo Martinelli (b), Bruno Rotoli (b), Mario Barra (c), Antonio Cassinese (c), Stefano Guido (a)

(a) *Dipartimento di Ingegneria Chimica, Università degli Studi Federico II, Napoli*

(b) *Dipartimento di Biochimica e Biotecnologie Mediche, Università degli Studi Federico II, Napoli*

(c) *Dipartimento di Scienze Fisiche, Università degli Studi Federico II, Napoli*

La deformabilità dei globuli rossi circolanti nei vasi di piccolo calibro è una proprietà essenziale per mantenere un flusso ottimale e per consentire gli scambi gassosi fra sangue e tessuti. In questo contributo sono descritti risultati sperimentali relativi a morfologia e velocità di globuli rossi in flusso di scorrimento confinato in condotti artificiali di dimensioni paragonabili a quelle cellulari.

Verranno considerate due tipologie di condotti: microcapillari di vetro a sezione circolare e microcanali di silicone a sezione rettangolare. I primi hanno diametro compreso tra 4.7 e 10 micron e sono alloggiati in una cella di flusso per osservazioni in microscopia ottica. I secondi sono realizzati applicando tecniche di *soft-lithography* in modo da creare dispositivi miniaturizzati (*blood-on-chip*) per lo studio della deformabilità dei globuli rossi in geometrie di flusso complesse e simili a quelle incontrate nel microcircolo.

In entrambi i casi viene utilizzata una videocamera ad elevata velocità per acquisire le immagini dei globuli rossi in flusso, che vengono successivamente elaborate con software di analisi dell'immagine per determinare velocità e morfologia delle cellule.

I risultati ottenuti nei globuli provenienti da donatori sani evidenziano caratteristiche fluidodinamiche osservate *in vivo*, come la classica forma a paracadute, e costituiscono un riferimento a cui confrontare situazioni patologiche.

EMOREOLOGIA NEI DONATORI DI CELLULE STAMINALI PERIFERICHE

Maria Teresa Mariano, Roberta Malavolti, Mirko Bevini, Federica Ferrari, Marco Ballestri
Divisione e Cattedra di Nefrologia, Dialisi e Trapianto Renale, Azienda Policlinico di Modena, Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia, Modena

Introduzione. La viscosità ematica gioca un ruolo importante nello sviluppo e nella progressione delle malattie cardiovascolari come l'infarto miocardico ed eventi trombotici centrali. Un'alta concentrazione di proteine plasmatiche, alterata morfologia e deformabilità eritrocitarie, poliglobulia, leucocitosi (in particolare se granulocitaria) e trombocitosi possono causare un aumento della viscosità ematica clinicamente sintomatica. Abbiamo determinato la viscosità plasmatica ed ematica e la deformabilità eritrocitaria in una piccola serie di donatori di cellule staminali periferiche (PBSC), prima e dopo mobilizzazione con fattori di crescita, per capire se vi possa essere una possibile relazione tra l'esposizione al fattore di crescita ed un aumento del rischio tromboembolico.

Metodi. Abbiamo studiato 14 donatori (13 familiari e uno non familiare) prima e dopo mobilizzazione con fattore di crescita granulocitario (G-CSF 10 μ /Kg per 4-5 giorni). Tutti i donatori avevano una normale conta leucocitaria prima della mobilizzazione, solo una donatrice era affetta da morbo di Chron in stadio di remissione clinica. Le misure emoreologiche sono state eseguite con il Reometro Haake Rotovisco RV 20 a 37°C in accordo con le indicazioni del *International Committee for Standardization in Hematology* (ICHS, 1986). La viscosità plasmatica (η_p) è stata misurata a *shear rate* 300 sec^{-1} , e la viscosità ematica totale ad alta ($\eta_{S_{[40] 200\text{sec}^{-1}}}$) e bassa velocità di scorrimento ($\eta_{S_{[40] 1\text{sec}^{-1}}}$). La deformabilità eritrocitaria, espressa come Taylor factor (Tk), e l'indice di aggregazione eritrocitaria (IAE) sono stati calcolati in base alla formula: $\text{Tk}=1-(\eta_p/\eta_{S_{200\text{sec}^{-1}}})^{0.4}/\text{Ht}$ and $\text{RAI}=\eta_{S_{1\text{sec}^{-1}}}/\eta_{S_{200\text{sec}^{-1}}}$. Tre pazienti con CLL erano i controlli positivi e 29 donatori di sangue erano i controlli normali. I campioni di sangue venoso sono stati prelevati prima della terapia di mobilizzazione e al 4°-5° giorno prima della raccolta aferetica delle PBSC ed analizzati entro due ore dal prelievo. I dati erano stati corretti per ematocrito standard 40% in accordo con il metodo Martorana-Mojoliper al fine di evitare interferenze da parte degli eritrociti.

Risultati. Non abbiamo osservato una differenza significativa nella η_p , nella η_S ad alto e basso *shear rate*, nell'IAE e nella deformabilità eritrocitaria dopo somministrazione del G-CSF ($p>0,1$). Non sembra esserci una correlazione significativa tra il numero dei leucociti (WBC) dopo somministrazione del G-CSF e la η_p , la η_S totale, l'indice di aggregazione eritrocitaria e la deformabilità eritrocitaria ($r<0,2$). Neppure fra tra l'età dei donatori e la η_p e la η_S sembra esservi una correlazione significativa, anche se si è evidenziata una tendenza a valori di viscosità superiori con l'aumentare dell'età e per il sesso femminile ($r<0,5$). Infatti, la η_S basale è risultata più alta nei donatori di PBSC rispetto ai controlli rappresentati dai donatori di sangue e l'unica variabile tra i due gruppi era la differenza di età. Nei donatori di PBSC, tuttavia, la η_S non sembra essere significativamente alterata dopo somministrazione del fattore di crescita. I pazienti affetti da CLL mostravano livelli molto elevati di η_S , sia ad alta che a bassa velocità di

scorrimento, e furono quindi sottoposti a leucaferesi per sindrome da iperviscosità. Nessuno dei donatori di PBSC ha sviluppato effetti collaterali, nel corso della somministrazione del fattore di crescita né nel periodo successivo di *follow-up*, riconducibili alla somministrazione del fattore di crescita.

Conclusioni. Benché il campione studiato sia ancora esiguo, al momento non sembra di poter concludere che i donatori di PBSC mobilizzati con fattore di crescita, e con conte di WBC fino a 60.000/ μL , siano a rischio di sviluppare una sindrome da iperviscosità anche se la ηS tende ad aumentare nelle donne e con l'età. La reologia clinica, tuttavia, applicata ad un campione più rappresentativo, potrebbe aiutare a chiarire aspetti ancora irrisolti delle alterazioni biologiche causate da terapie innovative.

NUOVE FRONTIERE DELL'EMOREOLOGIA PER LO STUDIO DELLE EMAZIE NORMALI E PATOLOGICHE

Patrizia Caprari (a), Anna Tarzia (a), Giorgio Mojoli (b), Maria Cristina Martorana (c)
(a) *Dipartimento di Ematologia, Oncologia e Medicina Molecolare, Istituto Superiore di Sanità, Roma*
(b) *Libero professionista, Miane, Treviso*
(c) *UOSD Raccolta, Produzione e Validazione Emocomponenti, Dipartimento di Medicina Trasmfusionale Roma Ovest, Azienda Ospedaliera S. Camillo-Forlanini, Roma*

Premessa. Una delle caratteristiche dei Globuli Rossi (GR), sottoposti a *shear stress* in circolo, è la capacità di deformarsi, in virtù della viscosità citoplasmatica, del rapporto superficie-volume e della viscoelasticità della membrana. Cambiamenti in una o più di queste proprietà delle emazie ne modificano la deformabilità, ne alterano l'aggregazione ed il comportamento sotto *shear stress*. In questo lavoro presentiamo un nuovo approccio alla caratterizzazione reologica e morfologica di eritrociti normali e patologici utilizzando un nuovo sistema, il Rheo-Microscope, che permette la caratterizzazione dei parametri reologici e la contemporanea visualizzazione delle immagini degli eritrociti in movimento.

Metodi. Sangue intero in K₃-EDTA di donatori e di pazienti affetti da Sferocitosi Ereditaria (SE) un difetto congenito dell'eritrocita che causa iperviscosità, iperaggregabilità e ridotta deformabilità, sono stati analizzati ad ematocrito nativo e dopo diluizione sia con plasma autologo che con PBS. Il sistema Rheo-Microscope (Anton Paar, Germany) è costituito da un Reometro a piatti paralleli Physica MCR301 con controllo della temperatura (37°C), posto su un microscopio ottico (20x) fornito di telecamera. Tutti i campioni sono stati analizzati a *shear rates* 1-250s⁻¹ con gap 10µm e a *shear rates* di 250-1s⁻¹ con gap 50µm, in accordo con le Raccomandazioni dell' *International Committee for Standardization in Haematology* (ICSH). Le immagini dei GR sotto *shear*, visualizzate dal microscopio, vengono riprese dalla camera ed analizzate mediante un software per immagini.

Risultati: Le misure reologiche confermano il diverso comportamento emoreologico di emazie normali e patologiche con un aumento di viscosità e aggregabilità e diminuzione di deformabilità nei campioni con SE. I GR sottoposti a *shear rates* crescenti passano dallo stato di *rouleaux* ad aggregati di minori dimensioni fino alla completa disaggregazione: nei controlli gli aggregati sono visibili anche a *shear rates* di 200s⁻¹, mentre nei campioni con SE si osserva l'immediata dispersione già a 50-100s⁻¹. L'analisi di campioni diluiti mostra un diverso comportamento delle emazie in plasma o in PBS: in plasma gli aggregati di eritrociti sono evidenti a *shear rate* di 200s⁻¹ e mostrano chiaramente il loro orientamento nel senso del flusso, in PBS invece si osserva una completa disaggregazione anche a bassi *shear rate*.

Conclusioni: I parametri reologici di viscosità e deformabilità eritrocitaria stanno entrando nella pratica clinica come indagini preventive e di monitoraggio. Questo lavoro

apre nuove prospettive per lo studio delle relazioni che intercorrono tra le modificazioni emoreologiche e quelle morfologiche in emazie normali e patologiche permettendo di associare ad un parametro di viscosità un comportamento nel flusso che potrebbe dare informazioni su quanto accade nel micro e macro circolo. Una futura applicazione potrebbe riguardare la valutazione dei parametri emoreologici durante la conservazione dei GR nei preparati per trasfusione.

MISURE DELLA DEFORMABILITÀ DELLA COMPONENTE CELLULARE DEL SANGUE MEDIANTE PROVE REOLOGICHE DI CREEP A BASSO SFORZO

Domenico Gabriele (a), Gerardo Catapano (b), Bruno de Cindio (a), Renzo Bonofiglio (c)
(a) *Dipartimento di Modellistica per l'Ingegneria, Università della Calabria, Rende, Cosenza*
(b) *Dipartimento di Ingegneria Chimica e dei Materiali, Università della Calabria, Rende, Cosenza*
(c) *Unità Operativa di Nefrologia, Dialisi e Trapianti, Azienda Ospedaliera dell'Annunziata, Cosenza*

Il sangue è una sospensione di cellule disperse in una soluzione ad elevata concentrazione proteica praticamente Newtoniana caratterizzata da un comportamento reologico di tipo viscoelastico. Molte patologie e trattamenti farmacologici alterano la composizione del sangue e la deformabilità delle sue cellule, e quindi il suo comportamento reologico.

La caratterizzazione della reologia del sangue può divenire in tali casi un utile strumento diagnostico e di sussidio alla terapia. Mentre, però, la componente liquida del comportamento reologico del sangue è efficacemente valutata con classiche misure di viscosità, non esiste ancora una tecnica per valutarne in modo oggettivo ed efficiente la componente solida.

Infatti, le tecniche proposte sono basate su misure che considerano singoli aspetti della deformabilità cellulare e sono funzione delle particolari condizioni operative (geometria del dispositivo di misura, intensità della sollecitazione, ecc.). Ne consegue che parametri misurati attraverso tecniche differenti non sono confrontabili tra loro, né possono essere considerati proprietà materiali da un punto di vista reologico.

In questo lavoro è stata sviluppata una tecnica per la misura della deformabilità della componente cellulare del sangue basata su prove reologiche di *creep* a basso sforzo. In tali prove, uno sforzo costante nel tempo viene applicato al campione di cui viene misurata la deformazione nel tempo. Sollecitazioni sufficientemente piccole non danneggiano il campione durante la prova e danno una risposta che non dipende dalla storia di deformazione, che è una proprietà materiale.

Per lo sviluppo della tecnica, prove di *creep* sono state effettuate su campioni di sangue prelevati da individui sani e da pazienti affetti da patologie renali alla temperatura di 37°C utilizzando un Reometro a sforzo controllato a piatti paralleli.

I dati sperimentali ottenuti in termini di andamento della cedevolezza nel tempo sono stati analizzati per ricavare i parametri legati alla componente elastica del sangue e quindi alla deformabilità delle cellule.

In particolare, l'area compresa tra la cedevolezza Newtoniana, estrapolata a bassi tempi, e la cedevolezza sperimentale (area di isteresi) rappresenta una misura delle deformabilità complessiva del materiale. Essa è funzione anche della quantità di cellule presenti, come gli

esperimenti hanno correttamente dimostrato. Una deformabilità o elasticità specifica delle cellule, e quindi indipendente dalla frazione volumetrica di cellule, è stata valutata come il rapporto tra l'area differenziale di isteresi in un intervallo di tempo Δt e l'area complessiva di isteresi. Il parametro così ottenuto varia nel tempo successivo alla applicazione dello sforzo e caratterizza la risposta (e le proprietà) viscoelastica del sangue nella sua interezza. Il valore del parametro negli istanti iniziali della risposta (o della prova) caratterizza il comportamento puramente elastico delle cellule del sangue indipendentemente dalle condizioni in cui la misura è effettuata e può essere ritenuto una misura della loro deformabilità o elasticità.

I parametri così ricavati hanno permesso di descrivere correttamente il comportamento reologico del sangue di pazienti sani e di evidenziare in modo quantitativo le alterazioni causate da alcune patologie renali e farmaci alle cellule del sangue.

INDICE DEGLI AUTORI

Abbate, R.; 7; 9; 18
Albertazzi, A.; 29; 30
Alessandro Liotta, A.; 7; 9; 18
Ballestri, M.; 13; 25; 29; 30; 35
Bandinelli, B.; 9; 18
Barra, M.; 34
Bevini, M.; 35
Biagini, G.; 29
Bonofiglio, R.; 39
Caimi, G.; 5; 6; 15
Caprari, P.; 8; 33; 37
Caruso, F.; 30
Cassinese, A.; 34
Catapano, G.; 39
Cecchi, E.; 9
Costanzo, M.; 18
Daniele, C.; 31; 32
D'Avenio, G.; 31; 32
de Cindio, B.; 16; 39
Di Giorgio, A.; 33
Fatini, C.; 7
Ferrari, F.; 29; 30; 35
Flore, R.; 33
Forconi, S.; 3
Gabriele, D.; 39
Gerardino, L.; 33
Girelli, G.; 23
Gissara, Z.; 30
Grigioni, M.; 31; 32
Guido, S.; 34
Leonelli, M.; 29; 30
Lo Presti, R.; 5; 6
Magistrone, R.; 29; 30
Malaguti, V.; 30
Malavolti, R.; 35
Mannini, L.; 7; 9; 18
Marcucci, R.; 9
Mariano, M.T.; 35
Martinelli, V.; 34
Martorana, M.C.; 19; 33; 37
Mojoli, G.; 20; 33; 37
Ricardi, M.; 30
Rotoli, B.; 34
Santoliquido, A.; 33
Seneca, E.; 34
Sgueglia, G.; 33
Sironi, L.; 29
Sticchi, E.; 7
Tarzia, A.; 37
Tomaiuolo, G.; 34

*La riproduzione parziale o totale dei Rapporti e Congressi ISTISAN
a stampa o online deve essere preventivamente autorizzata.
Le richieste possono essere inviate a: pubblicazioni@iss.it.*

*Stampato da Tipografia Facciotti srl
Vicolo Pian Due Torri 74, 00146 Roma*

Roma, ottobre-dicembre 2008 (n. 4) 10° Suppl.