

## LA REOFERESI RIDUCE IL RISCHIO CARDIO-VASCOLARE?

Alfonso Ramunni, Maria Burzo, Lucia Vernò, Luigi Rossi

Nefrologia I, "Policlinico Consorziale", Bari

### Does reopheresis reduce the cardiovascular risk?

*Rheopheresis comprises various types of apheresis procedures, namely double filtration plasmapheresis, LDL apheresis, and fibrinogen apheresis. These techniques are used to remove high molecular weight proteins from the circulation and have been shown to exert a protective effect on the vessel walls. The vascular protection can be attributed to pleiotropic mechanisms, especially from LDL apheresis, that safeguard against endothelial dysfunction by reducing the concentrations of proinflammatory and procoagulation factors. In addition, rheopheresis improves whole-blood viscosity, principally by reducing fibrinogen and lipoproteins, stimulates endothelium-mediated vasodilation, and has a positive effect on the hemorheological picture, improving perfusion in the microcirculation. All of this helps to correct the functional vessel alterations caused by aggression factors, and is translated into an extremely fast clinical response, only a few hours after the end of apheresis. Demonstrated efficacy has been obtained especially in the microcirculation, as has been observed in ischemic optic neuropathy, sudden hearing loss, and peripheral arterial disease. Although the short-term effects on the functional component of the vascular damage seem to be temporary, long-term effects on the morphological alterations have been shown. It is still not clear which of the many suggested actions, or others still to be confirmed (for instance a short-term increase in endothelial progenitor cells) constitutes the main vessel protective mechanism.*

Conflict of interest: None

#### KEY WORDS:

Endothelial Progenitor Cells, Endothelial dysfunction, Cardio-vascular diseases, Reopheresis, Blood viscosity

#### PAROLE CHIAVE:

Cellule endoteliali progenitrici, Disfunzione endoteliale, Malattie cardio-vascolari, Reoferesi, Viscosità ematica

#### ✉ Indirizzo degli Autori:

Dr. Alfonso Ramunni  
Nefrologia I "Policlinico Consorziale"  
Piazza Giulio Cesare 11  
70124 Bari  
e-mail: a.ramunni@nephro.uniba.it

### INTRODUZIONE

Parlare oggi di rischio cardiovascolare significa considerare il più importante responsabile di malattia e mortalità nei paesi occidentali. E questo risulta ancora più vero nei pazienti affetti da insufficienza renale cronica, dove la sofferenza del rene rappresenta un fattore di comparsa di eventi cardiovascolari addirittura maggiore di quelli cosiddetti tradizionali (1). Per tali ragioni, ogni presidio è stato messo in atto, attraverso l'adozione di programmi educazionali che modificassero in senso salutistico lo stile di vita e la somministrazione di farmaci, al fine di correggere i fattori di rischio e prevenire lo sviluppo di malattia cardiovascolare (2). In tale ambito, l'afèresi terapeutica sembra in grado di giocare un ruolo di tutto rispetto. Lo dimostrano alcune esperienze pilota che appaiono addirittura esaltanti. Una singola seduta di LDL afèresi, ad esempio, è stata in grado di migliorare entro 20 ore dal trattamento

la vasodilatazione coronarica, inducendo un aumento della perfusione miocardica valutata attraverso PET (3). Un ciclo di 7 sedute di reoferesi è riuscito ad accelerare la guarigione di ulcere da piede diabetico, in pazienti le cui lesioni si erano dimostrate resistenti ai trattamenti tradizionali (4). O ancora, è stata osservata la parziale ricanalizzazione di un'arteria tibiale anteriore prima quasi totalmente occlusa, associata alla cicatrizzazione di un'ulcera plantare, dopo un ciclo di 10 sedute di LDL afèresi in un paziente dializzato, insensibile a qualsiasi trattamento convenzionale dell'ulcera precedentemente praticato (5).

Ma come è possibile che l'afèresi terapeutica sia in grado di realizzare tutto questo, visto che in fondo essa consiste fondamentalmente nella separazione di uno o più tossici da un organismo malato? Per rispondere al quesito, è opportuno rispolverare alcuni concetti di emoreologia.

## DETERMINANTI EMOREOLOGICI

Il flusso del sangue dipende da tre fattori: le caratteristiche del vaso in cui il sangue scorre, condizionate dalla sua lunghezza e soprattutto dal suo calibro; la forza di propulsione del cuore (in altri termini, la pressione arteriosa) e le proprietà intrinseche del sangue stesso (cioè, la viscosità del sangue intero). Laddove è possibile agire sul calibro del vaso, dilatandolo attraverso procedure di angioplastica, come possiamo fare nelle arterie di grosso e medio calibro, per risolvere una stenosi di natura aterosclerotica, il flusso viene migliorato. Ma nel microcircolo, costituito da vasellini di calibro infinitesimo (inferiore al decimo di millimetro), dove è impossibile effettuare qualsiasi tentativo di manipolazione meccanica, l'unica strada percorribile per migliorare il flusso ematico è agire sulla viscosità. Come ci insegna, infatti, la legge di Hagen-Poiseuille, la resistenza al flusso è direttamente proporzionale alla viscosità, quindi, abbassando la viscosità si riduce la resistenza al flusso e si migliora l'emoreologia.

La viscosità del sangue dipende da una serie di fattori (Fig. 1) (6). Innanzitutto dall'ematocrito, sul quale ovviamente possiamo incidere poco, a meno di non ricorrere a terapie emodiluzionali. Dipende dalla deformabilità delle emazie, la cui forma è sicuramente influenzata dalla concentrazione plasmatica di lipoproteine, come è stato elegantemente dimostrato da Doi (7) che, aggiungendo lipoproteine ad una coltura di eritrociti, ha mostrato l'evidente deformazione che subisce il profilo dei globuli rossi.

Ma un fattore aggiuntivo è l'aggregazione degli eritrociti. Nell'articolo citato a fine periodo si osservano chiaramente i ponti che congiungono i globuli rossi, la cui formazione è favorita da LDL colesterolo e fibrinogeno, laddove l'HDL colesterolo esercita una funzione protettiva in questo contesto (8), e non ultimo fattore, deve essere considerata la viscosità plasmatica, il cui determinante principale è quel fibrinogeno che, pur rappresentando solo il 4% delle proteine plasmatiche, per la sua taglia e soprattutto per la sua forma, è responsabile del 20% della viscosità plasmatica (9), ed inoltre, influenza, come abbiamo già visto, anche la deformabilità eritrocitaria, come si può osservare nello schema riassuntivo rappresentato dalla Figura 1. Quindi, se vogliamo ridurre la viscosità del sangue intero, dobbiamo agire principalmente sulle concentrazioni patologiche di fibrinogeno e lipoproteine. Secondo alcuni Autori (10), un ulteriore fattore da considerare sarebbe anche l'alfa2-macroglobulina, che rappresenterebbe un induttore di aggregazione eritrocitaria addirittura più potente del fibrinogeno. Senza dimenticare le molecole di adesione (VCAM-1, ICAM-1, Selectina), marcatori di attivazione endoteliale e meccanismo di esordio dei processi di lesione aterosclerotica, che de-



Fig. 1 - Mediatori della viscosità del sangue.

terminano turbe emodinamiche attraverso l'interazione leucociti-endotelio, con un risultante minore diametro effettivo dei piccoli vasi. Nel mesenterio del gatto, dove questi effetti sono stati studiati, House et al. (11) hanno dimostrato che l'adesione dei globuli bianchi all'endotelio è il maggiore determinante della resistenza al flusso nel microcircolo, giungendo a riscontrare una resistenza aumentata del 150% nei vasi con un diametro di 25 micron.

Una prima conclusione che si può derivare da queste considerazioni di esordio è che un incremento plasmatico di lipoproteine, fibrinogeno, molecole di adesione e alfa-2 macroglobulina è in grado di influenzare l'andamento del flusso di sangue nel microcircolo, per cui, in un sistema di vasi compromesso, ogni procedura capace di ridurre le concentrazioni di tali sostanze dal circolo può migliorare l'emoreologia.

## PROCEDURE AFERETICHE EMOREOLOGICAMENTE ATTIVE

Una metodica di aferesi semi-selettiva che, sottraendo dal torrente ematico sostanze ad elevato peso molecolare, risulta in grado di migliorare il flusso ematico nel microcircolo è la filtrazione a cascata, detta anche plasmaferesi a doppia filtrazione (Fig. 2).

Anche la LDL aferesi, principalmente dedicata a pazienti affetti da ipercolesterolemia familiare, è capace di favorire la circolazione nei piccoli vasi, in quanto sottrae selettivamente colesterolo LDL, responsabile della viscosità plasmatica e della deformabilità ed aggregazione eritrocitaria. Inoltre, tra i vari tipi di LDL aferesi, la metodica HELP (Fig. 3), elimina anche considerevoli quantità di fibrinogeno, esercitando per questo un effetto più marcato sull'emoreologia, rispetto alle altre forme di LDL aferesi.

Esiste poi una procedura del tutto recente, la fibrinogeno aferesi, che si occupa di sottrazione selettiva del fibrinogeno ed è dedicata specificatamente ai disturbi



Fig. 2 - Rappresentazione schematica della filtrazione a cascata.

del microcircolo.

Schuff-Werner (12), ha confrontato varie procedure di aferesi terapeutica sulla rispettiva capacità di ridurre la fibrinogenemia a seguito del trattamento di un volume di plasma, osservando un valore minimo del 23% con l'immunoassorbimento e uno massimo del 65% con la metodica HELP per LDL aferesi.

Lo stesso Autore, in un altro lavoro dello stesso periodo (13), ha verificato quanto le stesse metodiche fossero in grado di abbattere la viscosità plasmatica, individuando la filtrazione a cascata come la più efficace in questo senso, con il suo 18% di riduzione a seguito del trattamento di 3 L di plasma. La ragione

della supremazia di tale procedura rispetto alle altre va ascritta alla sua capacità di ridurre oltre al fibrinogeno e alle liproteine anche alfa2-macroglobulina, immunoglobuline e qualsiasi componente plasmatica di peso superiore ai 60 KDa.

**ESPERIENZE DELL'AFERESI TERAPEUTICA NEI DISTURBI DEL MICROCIRCOLO**

Grazie alla sua azione sull'emoreologia, l'aferesi terapeutica ha trovato quindi applicazione in alcuni disturbi del microcircolo.

Nella neuropatia ottica ischemica, ad esempio, una patologia della testa del nervo ottico che vede coinvolte le arteriole ciliari posteriori, sono bastate tre sedute di LDL aferesi per migliorare il visus e il campo visivo degli individui coinvolti (14) (Fig. 4). Come abbiamo avuto modo di verificare in un successivo lavoro, l'efficacia di tale procedura sembra sostenuta dalla consensuale riduzione plasmatica di una serie di attivatori endoteliali che comprendono, oltre alle liproteine e al fibrinogeno, anche le molecole di adesione e i fattori della coagulazione (15).

Lo stesso meccanismo ha favorito l'efficacia della LDL aferesi nel trattamento della sordità improvvisa, patologia del microcircolo uditivo che riconosce una fisiopatologia analoga alla neuropatia ottica ischemica. Già in uno studio multicentrico, controllato e randomizzato era stata verificata la capacità di una singola seduta di LDL/fibrinogeno aferesi di risolvere il

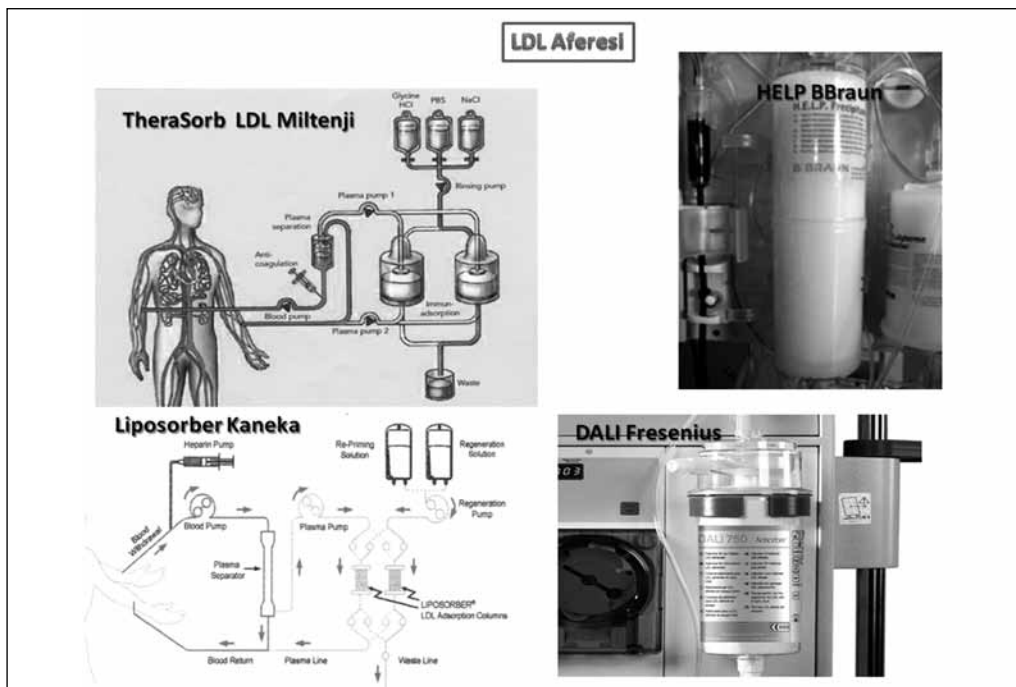


Fig. 3 - Tipi di procedure per LDL aferesi.

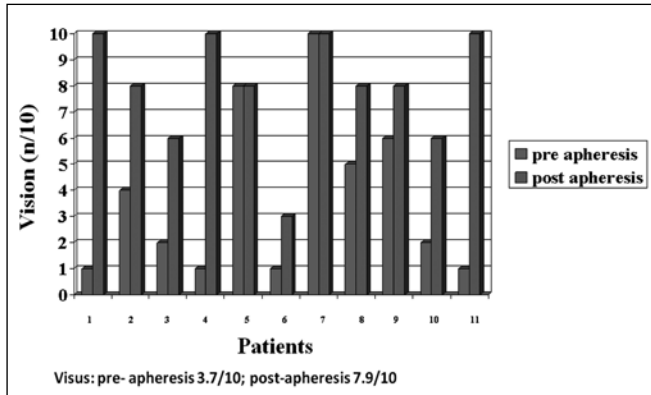


Fig. 4 - Visus pre- e post-afèresi di 11 pazienti affetti da neuropatia ottica ischemica e sottoposti a tre sedute di LDL afèresi (sistema HELP). Il visus è passato da un valore medio di 3.7/10 prima del trattamento ad un valore medio di 7.9/10 dopo la terza seduta (p=0.002) [da Ramunni et al. Ther Apher Dial 2005; 9: 53-8, con il permesso di John Wiley & Sons, Inc.].

deficit uditivo (16). L'importanza della riduzione delle molecole di adesione, associata a quella di colesterolo e fibrinogeno, quale motivo del miglioramento clinico era stata confermata in un lavoro successivo, dove il ripristino della capacità uditiva avveniva già 12 ore dopo la procedura aferetica (Fig. 5) (17).

Ma è soprattutto l'arteriopatia ostruttiva periferica, così frequente nei nostri pazienti uremici, a rappresentare un fertile campo di applicazione delle metodiche aferetiche.

Una singola seduta di fibrinogeno afèresi, ad esem-

pio, ha consentito un raddoppio del perimetro di marcia in pazienti con *claudicatio intermittens*, associato ad un consensuale abbassamento delle concentrazioni plasmatiche dei marcatori di attivazione endoteliale (18).

### EFFETTI PLEIOTROPICI DELL'AFERESI TERAPEUTICA

Sembra, dunque, che l'afèresi terapeutica posseda una serie di azioni che vanno al di là della semplice riduzione di alcune componenti plasmatiche e che comprendono effetti sull'emoreologia, sulla vasodilatazione endotelio-dipendente, sulla riduzione di alcuni fattori della coagulazione, ecc., effetti, cioè, cosiddetti pleiotropici (19).

Nell'ambito della gerarchia delle funzioni svolte dall'afèresi terapeutica, ci siamo chiesti quale potesse essere la più rilevante, in termini di efficacia sui disturbi del microcircolo, e abbiamo considerato un meccanismo fondamentale di riparazione del danno endoteliale indotto dai fattori di aggressione vascolare, quale quello rappresentato dalle cellule endoteliali progenitrici (EPCs).

Sappiamo che l'endotelio svolge un ruolo fondamentale nell'omeostasi vascolare e rappresenta il primo bersaglio dei numerosi fattori di rischio responsabili dell'evoluzione dell'aterosclerosi. Dato che le cellule endoteliali residenti non sono sempre capaci di proliferare e riparare il danno (20), l'attenzione dei ricercatori si è recentemente rivolta allo studio delle

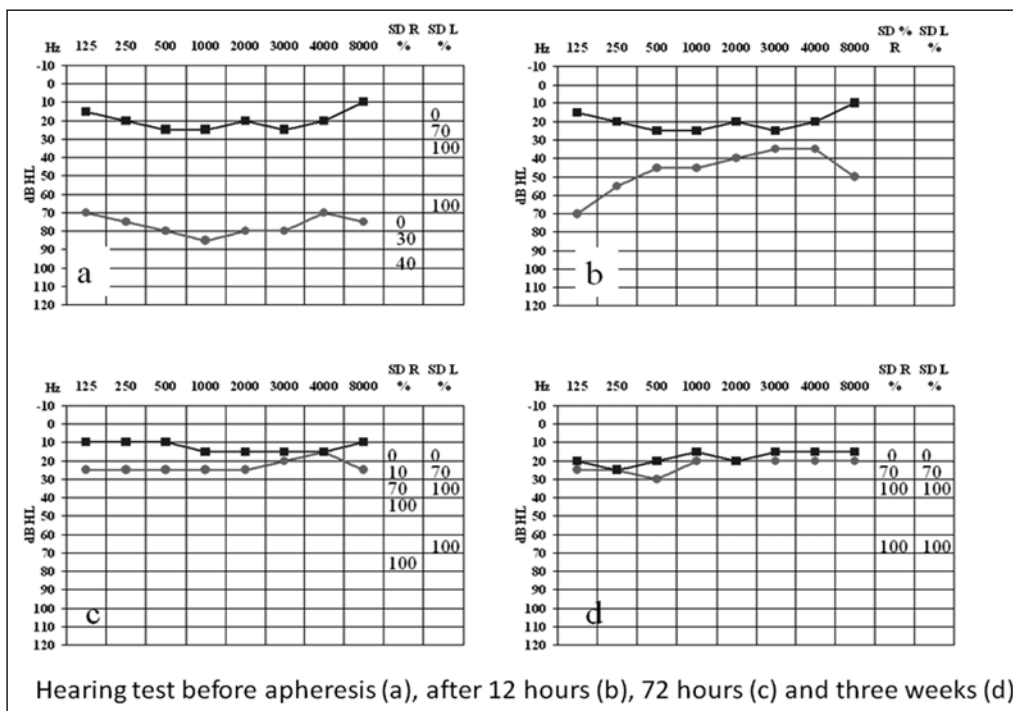
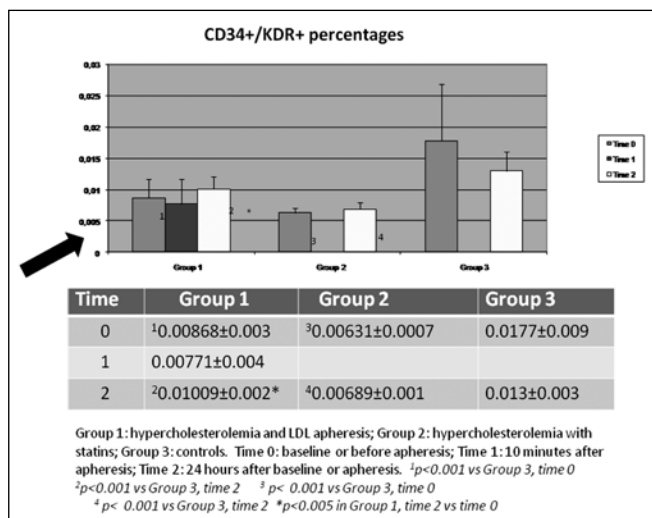


Fig. 5 - Esame audiometrico di paziente affetta da perdita improvvisa di udito: a) prima dell'afèresi; b) 12 ore dopo l'afèresi; c) 72 ore dopo l'afèresi; d) tre settimane dopo l'afèresi [da Ramunni et al. Ther Apher Dial 2006; 10: 282-6 con il permesso di John Wiley & Sons, Inc.].



**Fig. 6** - Percentuali di CD34+/KDR+ nel sangue periferico di soggetti affetti da ipercolesterolemia familiare in trattamento cronico con LDL aferesi, sistema HELP, (gruppo 1); di soggetti ipercolesterolemici in trattamento farmacologico (gruppo 2); di soggetti controllo (gruppo 3). I valori sono stati rilevati al tempo 0 (in pre-afèresi), al tempo 1 (10 minuti dopo la fine dell'afèresi), al tempo 2 (24 ore dopo l'afèresi) (da Ramunni et al. Blood Purif 2010; 29: 383-9, con il permesso di S. Karger AG, Basel).

EPCs circolanti, derivate dal midollo osseo, che hanno dimostrato la capacità di differenziarsi in cellule endoteliali e rappresentano pertanto candidati ideali alla rigenerazione dei danni vascolari (21). Perché possano svolgere la loro funzione riparatrice, le EPCs hanno bisogno di essere mobilitate, differenziate e localizzate nel sito del danno. È stato dimostrato che alcuni interventi terapeutici, quali ad esempio il trattamento con statine, eritropoietina o antagonisti recettoriali dell'angiotensina II, sono in grado di aumentare la percentuale di EPCs circolanti. In un recente lavoro (22), abbiamo verificato che anche la LDL aferesi è in grado, sebbene nel breve termine, di incrementare il numero di CD34+/KDR+, ossia del clone cellulare che, il più ampio consenso della letteratura, considera la vera espressione delle EPCs (Fig. 6).

## CONCLUSIONI

In conclusione, l'afèresi terapeutica nelle sue varie forme, dalle semi-selettive rappresentate dalla filtrazione a cascata, alle selettive quali la LDL aferesi e la fibrinogeno aferesi, ha mostrato efficaci azioni di

protezione del danno vascolare.

In particolare, la LDL aferesi si è rivelata in più studi, capace di esercitare effetti pleiotropici che vanno ben al di là della semplice riduzione del colesterolo LDL e che, a prescindere proprio dai valori di partenza del colesterolo, sono stati in grado di migliorare alcuni disturbi del microcircolo.

Se tutto questo possa consentirci di considerare l'afèresi terapeutica quale mezzo terapeutico di correzione del danno vascolare, è un quesito che *trial* futuri, condotti secondo le metodologie previste dalla medicina basata sulle evidenze, dovranno risolvere.

## RIASSUNTO

Il termine Reoferesi (Reo) comprende una serie di procedure aferetiche, quali la filtrazione a cascata, la LDL aferesi e la fibrinogeno aferesi, che sono tecniche in grado di rimuovere dal circolo sostanze ad alto peso molecolare. Tali procedure hanno dimostrato di esercitare una funzione protettiva sui vasi. Questa azione sembra sostenuta da effetti cosiddetti pleiotropici, espressi soprattutto dalla LDL aferesi, che salvaguardano la funzione endoteliale attraverso la riduzione di fattori pro-infiammatori e pro-coagulanti. Inoltre, la Reo riduce la viscosità del sangue intero, principalmente attraverso l'allontanamento di lipoproteine e fibrinogeno, e stimola la vasodilatazione endotelio-dipendente, determinando un effetto positivo sull'emoreologia, che si esprime soprattutto a livello di perfusione del microcircolo. Tutto questo si traduce in una correzione delle alterazioni funzionali dei vasi, indotte dai fattori di aggressione, con una risposta clinica estremamente rapida, osservabile già poche ore dopo l'afèresi, che riguarda in particolare il microcircolo, come è stato dimostrato nella neuropatia ottica ischemica, nella sordità improvvisa e nell'arteriopatia periferica. Sebbene l'effetto della Reo sulle alterazioni funzionali sembra essere provvisorio, sono stati mostrati anche miglioramenti strutturali della parete vascolare nei trattamenti prolungati. Non è ancora chiarito quale, tra i tanti meccanismi proposti o tra quelli ancora da confermare, quale ad esempio l'effetto sulle cellule endoteliali progenitrici, sia il più rilevante in termini di protezione vascolare.

## DICHIARAZIONE DI CONFLITTO DI INTERESSI

Gli Autori dichiarano di non avere conflitto di interessi.

## BIBLIOGRAFIA

1. Manjunath G, Tighiouart H, Ibrahim H, et al. Level of kidney function as a risk factor for atherosclerotic cardiovascular outcomes in the community. *J Am Coll Cardiol* 2003; 41: 47-55.
2. Allison TG, Squires RW, Johnson BD, Gau GT. Achieving National Cholesterol Education Program goals for low-density lipoprotein cholesterol in cardiac patients: importance of diet, exercise, weight control, and drug therapy. *Mayo Clin Proc* 1999; 74: 466-73.
3. Mellwig KP, Baller D, Schmidt HK, et al. Myocardial perfusion under H.E.L.P. -apheresis. Objectification by PET. *Z Kardiol* 2003; 92 (Suppl. 3): III30-7.
4. Klingel R, Erdtracht B, Gauss V, Piazzolo A, Mausfeld-Lafdhya P, Diehm C. Rheopheresis in patients with critical limb ischemia--results of an open label prospective pilot trial. *Ther Apher Dial* 2005; 9: 473-81.
5. Kamimura M, Matsuo M, Miyahara T, et al. Improvements in artery occlusion by low-density lipoprotein apheresis in a patient with peripheral arterial disease. *Ther Apher* 2002; 6: 467-70.
6. Smith WC, Lowe GD, Lee AJ, Tunstall-Pedoe H. Rheological determinants of blood pressure in a Scottish adult population. *J Hypertens* 1992; 10: 467-72.
7. Doi H, Kugiyama K, Ohgushi M, et al. Membrane active lipids in remnant lipoproteins cause impairment of endothelium-dependent vasorelaxation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19: 1918-24.
8. Moriarty PM, Gibson CA. Association between hematological parameters and high-density lipoprotein cholesterol. *Curr Opin Cardiol* 2005; 20: 318-23.
9. Harkness J. Measurement of Plasma Viscosity. In: *Clinical Aspects of Blood Viscosity and Cell Deformability*. Edited by Lowe GD, Barbarie JC, Forbes CD. Berlin. Springer-Verlag, 1981; 79-87.
10. Kirschkamp T, Schmid-Schönbein H, Weinberger A, Smeets R. Effects of fibrinogen and alpha2-macroglobulin and their apheretic elimination on general blood rheology and rheological characteristics of red blood cell aggregates. *Ther Apher Dial* 2008; 12: 360-7.
11. House SD, Lipowsky HH. Leukocyte-endothelium adhesion: microhemodynamics in mesentery of the cat. *Microvasc Res* 1987; 34: 363-79.
12. Schuff-Werner P, Schutz E, Beyer H-J. Fibrinogen lowering by apheresis: efficiency of different methods and possible clinical implications. *Jpn J Apheresis* 1997; 16: 317-8.
13. Schuff-Werner P. Extracorporeal hemorheotherapy with selective plasma protein elimination. *Jpn J Apheresis* 1997; 16: 25-30.
14. Ramunni A, Giacipoli G, Guerriero S, et al. LDL-apheresis accelerates the recovery of nonarteritic acute anterior ischemic optic neuropathy. *Ther Apher Dial* 2005; 9: 53-8.
15. Ramunni A, Ranieri G, Giacipoli G, et al. Is the efficacy of LDL apheresis in ischemic optic neuropathy linked to a reduction in endothelial activation markers? *Blood Purif* 2006; 24: 405-12.
16. Sukfüll M. Hearing Loss Study Group. Fibrinogen and LDL apheresis in treatment of sudden hearing loss: a randomised multicentre trial. *Lancet* 2002; 360: 1811-7.
17. Ramunni A, Quaranta N, Salianni MT, Fallacara RA, Ria R, Ranieri G. Does a reduction of adhesion molecules by LDL-apheresis have a role in the treatment of sudden hearing loss? *Ther Apher Dial* 2006; 10: 282-6.
18. Ramunni A, Brescia P, Quaranta D, Plantamura M, Ria R, Coratelli P. Fibrinogen apheresis in the treatment of peripheral arterial disease. *Blood Purif* 2007; 25: 404-10.
19. Ramunni A, Burzo M, Vernò L, Brescia P. Pleiotropic effects of LDL apheresis. *Atheroscler Suppl* 2009; 10: 53-5.
20. Schwartz SM, Benditt EP. Clustering of replicating cells in aortic endothelium. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1976; 73: 651-3.
21. Gehling UM, Ergün S, Schumaker U, et al. In vitro differentiation of endothelial cells from AC133-positive progenitor cells. *Blood* 2000; 95: 3106-12.
22. Ramunni A, Brescia P, Dambra P, et al. Effect of low-density lipoprotein apheresis on circulating endothelial progenitor cells in familial hypercholesterolemia. *Blood Purif* 2010; 29: 383-9.