

Algoritmo diagnostico e terapeutico dell'ischemia critica degli arti inferiori non immediatamente rivascolarizzabile

Diagnostic and therapeutical algorithm in lower critical limb ischemia where immediate revascularization procedures are impossible

Summary

At present, prostanoids (Iloprost and PGE1) represent the pharmacological treatment of choice in patients with un-reconstructable Critical Limb Ischemia (CLI). Iloprost resulted to be more effective than PGE1, in a six months follow-up, both in limb salvage and in the prevention of cardiovascular death, either in diabetic or non diabetic CLI patients. In our experience, in patients who have responded to a first cycle of therapy (Early Responders), performed for at least two-three weeks, the cyclic annual further treatments with iloprost, are generally able to stabilize the arteriopathy, with a regression to a Fontaine II stage and, in absence of further arterial complications, with a complete limb preservation for an unlimited period of time. Our recent better outcomes are related to earlier microvascular diagnosis and to earlier, eventually repeated, treatments with iloprost, because in Non Responder patients, who are not urgently supposed to undergo amputation, a second cycle of Iloprost carried out within few months from the first one, is able to increase the percentage of responders to prostanoids (Late Responders). We suggest to treat even the Late Responders with further annual prostanoids cycles, as we do with the Early Responders. Transcutaneous O₂ and CO₂ monitoring improves the possibility of an earlier diagnosis of microvascular damages and categorize CLI patients in Responders and Non Responders after prostanoid treatments. In Non Responders it will be useful to verify the outcomes of further attempts to save the symptomatic limb by Spinal Cord Stimulation, genic or staminal therapy, eventually surgical retiming.

E. Melillo, M. Nuti, A. Balbarini. *Diagnostic and therapeutical algorithm in lower critical limb ischemia where immediate revascularization procedures are impossible. Trends Med 2006; 6(3):201-234.*

© 2006 Pharma Project Group srl

Elio Melillo, Marco Nuti, Alberto Balbarini

U.O. Angiologia Universitaria,
Dipartimento Cardio Toracico
Azienda Ospedaliera Universitaria
Pisana

Key words:

**Critical Limb Ischemia
Iloprost
Transcutaneous oxygen and
carbon dioxide measurements**

 **Elio Melillo**

Angiologia Universitaria,
Dipartimento Cardio Toracico,
Azienda Ospedaliera Universitaria
Pisana
Via Paradisa 2, 56124 Cisanello-Pisa
Tel: 050/996896, 050/996844
Fax: 050/996896
e-mail: e.melillo@ao-pisa.toscana.it

Si definisce ischemia critica degli arti inferiori (ICAI) la condizione di arteriopatía periferica, documentata oggettivamente, caratterizzata clinicamente dalla presenza di cronico dolore a riposo e/o lesioni trofiche, quali ulcere e/o gangrene, di natura aterosclerotica, insorti da oltre 15 giorni, il cui esito più probabile, in assenza di consistenti miglioramenti emodinamici, è rappresentato da una amputazione maggiore nell'arco dei sei/dodici mesi successivi^{1,2}. Tale condizione è caratterizzata sul piano emodinamico dalla presenza di pressioni arteriose sistoliche ridotte, sia alla caviglia (<50 mmHg) che

all'alluce (<30 mmHg) e/o, sul piano microcircolatorio, dalla riduzione locale della tensione transcutanea di ossigeno (<30 mmHg) all'avampiede sintomatico². Rispetto alla più semplice classificazione di Leriche-Fontaine, in cui gli stadi III e IV sono definiti, rispettivamente, da presenza di dolore a riposo e di lesioni trofiche, il termine ICAI, introdotto nel 1991 da European Consensus Conference¹ e confermato da Trans-Atlantic Inter-Society Consensus del 2000², appare più appropriato, perché chiarisce più precisamente la gravità delle condizioni cliniche della arteriopatía, anche attraverso

una coerente spiegazione fisiopatologica. Le ostruzioni macroangiopatiche dei principali distretti arteriosi degli arti inferiori, infatti, non potrebbero determinare i segni clinici tipici di ICAI, quali presenza di dolore a riposo e/o di lesioni trofiche, in assenza di grave scompenso tissutale microvascolare regionale, conseguente alla abolizione od alla marcata riduzione al di sotto della domanda minima perfusionale tissutale del flusso nutrizionale capillare. Va sottolineato, inoltre, come la ipotetica successione temporale della arteriopatía periferica degli arti inferiori, basata, secondo Leriche-Fontaine, sull'evoluzione in quattro stadi clinici, progressivamente ingravescenti di malattia, costituiti, rispettivamente, da pazienti asintomatici, cioè con iniziali lesioni macroangiopatiche non emodinamiche (stadio I), poi da soggetti con claudicatio intermittens (CI, stadio II), quindi da arteriopatici con dolore a riposo (stadio III) ed infine da vasculopatici con presenza di lesioni trofiche e/o gangrena (stadio IV), risulta utile, dal punto di vista scolastico, per fissare mnemonicamente una ipotetica sequenza cronologica di eventi, ma, purtroppo, raramente si traduce nella pratica clinica (giornaliera) del moderno laboratorio vascolare. Infatti, se da un lato la diagnosi clinica di stadio I di Leriche-Fontaine risulta impossibile in assenza di valutazione diagnostica strumentale eco-(color) -Doppler, dall'altro lo stadio II, che è quello più comunemente diagnosticato già sulla scorta dei soli sintomi di claudicatio, nella maggioranza dei casi può restare stabile per molti anni,

od addirittura per sempre, senza evolvere ulteriormente negli stati più avanzati di vasculopatia (caratterizzati clinicamente dalla presenza di cronico dolore a riposo e/o lesioni trofiche)^{1,2}.

Inoltre, non è affatto infrequente che ICAI possa esordire come tale fin dall'inizio in arteriopatici, fino a quel punto apparentemente asintomatici, soprattutto se in età avanzata e/o con attività motorie comunque ridotte e/o affetti da diabete mellito di tipo II, nei quali ultimi, in particolare, la sintomatologia periferica, al precedente stadio di CI, è spesso mascherata dalla concomitante neuropatia diabetica³.

A conferma di quanto sopra, infatti, nello studio di Matzke e Lepantalo⁴ relativo a 100 diabetici consecutivi ricoverati per ICAI, addirittura la metà dei pazienti presentava lesioni trofiche distali agli arti inferiori, come primo segno di esordio della grave arteriopatía distale, mentre nel trial multicentrico europeo di Dormandy e collaboratori⁵, relativo a 713 pazienti sottoposti ad amputazioni sottogenicolate per ICAI, oltre la metà dei pazienti non aveva presentato sintomi di ischemia periferica nei sei mesi precedenti la demolizione chirurgica.

Epidemiologia

La incidenza di ICAI risulta largamente sottostimata, dal momento che i dati della grave arteriopatía degli arti inferiori vengono solitamente riferiti ad estrapolazioni derivanti dalla evoluzione della claudicatio intermittens (CI), la quale, a sua volta, secondo la letteratura, è presente in

misura del 2-6% nella popolazione adulta e tende a crescere progressivamente con l'età⁶⁻²⁰. La prevalenza di CI sintomatica, pur in presenza di notevoli variazioni, a seconda dell'età e della popolazione selezionata, risulta comunque nettamente più elevata negli studi provenienti dal Nord Europa, rispetto ai dati epidemiologici che riguardano i Paesi mediterranei^{11,17-20}. Tra le casistiche nordeuropee, infatti, la prevalenza di CI è variata da 1.6% dello studio di Rotterdam¹⁸, relativo a soggetti di età superiore a 55 anni, al 3.8% della popolazione olandese di Limburg¹⁷ di età tra 40 e 78 anni, al 4.5% della popolazione di Edimburgo¹¹ di età tra 45 e 65 anni, al 7.7% della popolazione rurale finlandese²¹ di età tra 55 e 74 anni, ed infine ad un ulteriore 7.7% nel recente trial osservazionale di Diehm e collaboratori²², relativo ad una popolazione tedesca, non selezionata, di età superiore a 65 anni. Viceversa, in un recente studio italiano, effettuato su una popolazione non selezionata del Sud Italia, con età compresa tra 40 e 80 anni, la prevalenza complessiva di CI è risultata mediamente più bassa (1.6%) rispetto alle casistiche nordeuropee ed ha colpito prevalentemente il sesso maschile (2.4% per i maschi e 0.9% per le femmine, rispettivamente)²⁰.

L'osservazione epidemiologica dell'incidenza di CI, migliorata da studi longitudinali su casistiche non selezionate e senza estrapolazioni fittizie ricavate dalla popolazione generale^{7,11,12,14,16,18}, mostra, tuttavia, nei diversi studi, risultati difformi, dal momento che, quando la diagnosi viene posta su base strumentale (mediante in-

dici pressori caviglia-braccio e tecniche ultrasonografiche Doppler ed Eco-Doppler), la prevalenza di CI risulta decisamente superiore a quella ottenuta sulla scorta dei soli dati clinici e sintomatologici riferiti dai pazienti^{7,9,11,14,17,22,23}. In generale, nelle stime che fanno derivare l'incidenza di ICAI dalla evoluzione naturale di claudicatio intermittens, si ipotizza, nei 5 anni successivi alla diagnosi di CI, un tasso teorico complessivo di 5% di ischemia critica degli arti inferiori, e, quindi, una incidenza annua di ICAI di 1%²⁴. Considerata la notevole diversità, comunque, dei risultati ottenuti nelle varie casistiche internazionali, risulta probabilmente più realistico il calcolo diretto del numero dei pazienti con ischemia critica degli arti inferiori sottoposti a ricovero ospedaliero, presso strutture pubbliche e private accreditate. A questo proposito, uno studio di rilevazione epidemiologica nazionale, portato a termine dalla Società di Chirurgia Vascolare di Gran Bretagna ed Irlanda, ha documentato una prevalenza di 20.000 pazienti ICAI nella popolazione generale, con una conseguente incidenza annua di circa 400 pazienti per milione di abitanti²⁵. In un nostro recente studio²⁶, relativo a tutte le procedure

demolitive degli arti inferiori effettuate, per cause ischemiche e non, nell'anno 2002 nella popolazione residente della Toscana nord-occidentale (1.234.000 abitanti), si è osservata nei pazienti con ischemia critica degli arti inferiori una prevalenza di 117 amputazioni maggiori/annue per milione di abitanti ed una conseguente incidenza calcolata di ICAI (rivascolarizzabile e non) di quattro volte superiore, cioè di 468 nuovi casi annui per milione di abitanti, dal momento che, come comunemente assunto in letteratura^{1,2,27}, già al momento della prima diagnosi di ICAI, circa il 25% dei pazienti sarà comunque costretto ad una amputazione maggiore nel giro di un anno (tabella 1). L'estrapolazione di tali dati a tutta la popolazione italiana²⁶ (57.000.000 abitanti) mostra una incidenza annua complessiva di ICAI attestantesi drammaticamente in circa 26.700 pazienti, con una numerosità di amputazioni maggiori, per cause di tipo ischemico, che raggiunge la cifra complessiva di circa 6.700 casi, per ogni anno. Poichè tutti i dati di letteratura concordano nel sottolineare come circa un quarto dei pazienti ICAI risulterà inoperabile già al momento della diagnosi e sarà quindi indiriz-

zato a terapie mediche e di supporto presso reparti non chirurgici^{1,2,26-28}, ne consegue che, ogni anno, un numero di arteriopatici gravi, altrettanto consistente (circa 6.700 pazienti in tutta Italia) necessiterà di terapie mediche intensive, sia a livello locale che sistemico, nel tentativo di salvataggio d'arto farmacologico, da condurre in ambiente nosocomiale protetto, possibilmente in reparti altamente qualificati e di tipo angiologico.

Fattori di rischio

Lo sviluppo di ICAI è legato, da una parte, alla drammatica progressione della aterosclerosi localizzata agli arti inferiori e, dall'altra, alla presenza di numerosi fattori di rischio, sia tradizionali che di più recente scoperta, risultati prognosticamente negativi^{1,2}. Si calcola, comunque che, dallo stadio di claudicatio intermittens, soltanto il 20-40% dei casi, evolva ulteriormente in stadi clinici più avanzati, caratterizzati dalla presenza di dolori cronici a riposo e/o lesioni trofiche periferiche. I fattori di rischio tradizionali, prognosticamente negativi, sono costituiti principalmente dall'incedere dell'età anagrafica, dall'abitudine reiterata al fumo di sigarette, dal diabete mellito,

Tabella 1. Incidenza di amputazioni maggiori per causa ischemica e di ischemia critica degli arti inferiori osservata nell'anno 2002 nell'Area Vasta Pisana (Toscana nord-occidentale).

Popolazione di riferimento (abitanti)	Ischemia critica arti inferiori Incidenza annua	
	Amputazioni maggiori	Ischemia Critica
Area Vasta Pisana (1 milione)	117	468*
Area Vasta Pisana (1.234.000)	144	578*
Toscana (3.534.000)	408*	1.638*
Italia (57.000.000)	6.652*	26.676*

*=dati estrapolati

dalla ipertensione arteriosa e dalle dislipidemie^{1,2}, mentre nel novero dei fattori di rischio più recenti, di natura emostatica, vanno annoverati soprattutto la presenza di iperomocisteinemia, di iperfibrinogenemia e di aumentata concentrazione serica di proteina C-reattiva.

Il fumo è probabilmente il fattore di rischio più importante per lo sviluppo di arteriopatia periferica, dal momento che risulta più strettamente correlato alla presenza di tale patologia, che non di coronaropatia²⁹. La probabilità di sviluppo di arteriopatia periferica nei fumatori rispetto ai non fumatori risulta doppia e la gravità della malattia risulta direttamente correlata al numero di sigarette fumate ed al periodo di tempo di abitudine al fumo³⁰. Il fumo triplica il rischio di aggravamento dell'arteriopatia e raddoppia il rischio di amputazione^{1,2}. Nei pazienti sottoposti a rivascolarizzazione, la persistenza dell'abitudine al fumo di sigaretta triplica il rischio di ostruzione post-operatoria e raddoppia il numero di riocclusione dei bypass distali^{1,2}.

Il diabete mellito rappresenta un potente fattore di rischio cardiovascolare, ha una incidenza in continuo aumento a causa dello stile di vita moderno che favorisce l'obesità³¹, aumenta da 2 a 4 volte il rischio di malattia coronarica ed espone ad un rischio di eventi cardiovascolari pari al soggetto non diabetico che ha già avuto un infarto miocardico^{1,2}. Inoltre, l'incidenza di infarto miocardico ed angina instabile, così come la mortalità post-infartuale, risulta maggiore nei diabetici rispetto ai non diabetici³². Studi epidemiologici han-

no dimostrato infine che il rischio di mortalità cardiovascolare è da due a tre volte maggiore negli uomini diabetici, e da tre a cinque volte maggiore nelle donne diabetiche, rispetto alla popolazione non diabetica ed, in generale, la patologia cardiovascolare rappresenta il 70% di tutti i decessi dei diabetici³³. In una determinata area geografica, i soggetti diabetici costituiscono il 25% di tutti i pazienti sottoposti a procedure di rivascolarizzazione chirurgica degli arti inferiori³⁴. Nei soggetti con diabete mellito, l'ICAI mostra una frequenza tripla rispetto alla corrispondente arteriopatia non diabetica e presenta un tasso di amputazione 15 volte maggiore^{1,2}. L'ipertensione arteriosa costituisce un fattore di rischio comune per numerosi disordini vascolari, tra cui l'arteriopatia periferica degli arti inferiori. Circa il 2-5% dei soggetti in cui viene diagnosticata l'ipertensione arteriosa, alla prima visita, presenta sintomi di CI, mentre il 35-55% degli arteriopatici alla prima visita risultano affetti da ipertensione arteriosa³⁵. Il rischio complessivo di infarto del miocardio e di ictus risulta notevolmente aumentato se coesistono ipertensione arteriosa e arteriopatia periferica degli arti inferiori. Nonostante tale correlazione, tuttavia, nessun grande trial sulla terapia antiipertensiva ha verificato se la diminuzione della ipertensione arteriosa possa eventualmente contribuire ad una incidenza ridotta di arteriopatia periferica degli arti inferiori³⁵. In ogni caso, la presenza di ipertensione arteriosa, come fattore di rischio indipendente di complicanze cardiovascolari, sembrerebbe avere una importanza minore rispetto

alle altre variabili (fumo e diabete mellito), anche se appare ormai definitivamente superato il concetto di non trattare gli ipertesi, nel timore di ridurre ulteriormente la pressione di perfusione tissutale regionale. L'iperlipidemia è presente nel 50% degli arteriopatici periferici ed è ormai noto, dallo studio Framingham, come una ipercolesterolemia a digiuno superiore a 270 mg⁹ sia stata correlata ad una incidenza doppia di CI¹⁴.

Sorprendentemente, tuttavia, l'ipercolesterolemia non ha mostrato alcun ruolo come fattore di rischio indipendente in tutti gli studi effettuati sugli arteriopatici periferici, e questo dato appare chiaramente in contrasto con gli studi riguardanti la cardiopatia ischemica, che mostrano invece un manifesto effetto nella progressione della malattia aterosclerotica: ciò potrebbe spiegarsi con la durata ridotta (inferiore a due anni) dei trials effettuati nei claudicanti³⁶, che potrebbe aver ridotto la forza del fattore dislipidemia rispetto ad altre variabili in grado, comunque, di influenzare il decorso della malattia³⁷.

Il ruolo che attualmente i fattori emostatici possono esercitare sulla formazione dell'arteriopatia obliterante cronica periferica è oggetto di attenta speculazione. Sicuramente documentata è l'associazione tra arteriopatia periferica ed iperomocisteinemia. Nei soggetti con iperomocisteinemia, infatti, l'associazione con l'arteriopatia obliterante periferica risulta sestuplicata³⁸, così come lo stesso grado di progressione di CI è risultato significativamente correlato ai livelli plasmatici di omocisteina³⁹. L'iperomocisteinemia, inoltre, costi-

tuisce attualmente motivo di attivo interesse perché rappresenta un importante fattore di rischio, oltre che per la vasculopatia aterosclerotica localizzata a livello periferico, anche per quella coronarica o cerebrale^{40,41}. Rimane, comunque, tuttora da stabilire se il trattamento dell'iperomocisteinemia sia in grado di ridurre gli eventi ischemici, contribuendo alla regressione dell'arteriopatia⁴².

A tutt'oggi, altri consistenti evidenze derivano dalla correlazione esistente tra iperfibrinogenemia ed iperviscosità plasmatici, da un lato, ed arteriopatia periferica dall'altro⁴³. L'iperfibrinogenemia rappresenta inoltre un fattore di rischio indipendente nella predizione negativa di mortalità totale nei pazienti con ICAI⁴⁴.

Con il progredire delle conoscenze che inquadrano la aterotrombosi come malattia infiammatoria⁴⁵, particolare rilevanza ha assunto il ruolo patogenetico della proteina C-reattiva (PCR), da considerare ormai non soltanto come semplice marker di infiammazione, ma anche come fattore essenziale nella flogosi collegata all'aterosclerosi. Le concentrazioni plasmatiche della PCR sono pertanto da considerare attualmente come fattore di rischio cardiovascolare molto più importante del colesterolo HDL⁴⁶.

In una sottoanalisi del trial Physicians Health Study, relativa a 144 soggetti sani, che nei 60 mesi successivi avevano sviluppato una arteriopatia periferica, erano documentati livelli basali di PCR significativamente più elevati di quelli riscontrati in un analogo gruppo di controllo che non aveva sviluppato l'arteriopatia⁴⁷. Da

quanto esposto, appare evidente l'importanza dell'identificazione precoce della arteriopatia obliterante cronica periferica ad uno stadio clinico meno avanzato, quale quello di CI, non solo per interrompere la progressione della malattia verso le lesioni trofiche o la gangrena tipiche di ICAI, ma anche e soprattutto perché l'arteriopatia periferica costituisce un marker preciso di ulteriori lesioni emodinamiche in altri distretti importanti, quali quelli cardiaci e cerebrali, a prognosi frequentemente molto peggiore della stessa arteriopatia periferica e che comportano nei claudicanti una mortalità 3-4 volte superiore a quella della popolazione generale^{1,2,24}.

Diversi studi parlano, inoltre, di un probabile effetto protettivo esercitato dalla dieta di tipo mediterraneo e dall'azione antiossidante dei vini rossi⁴⁸⁻⁵² sull'evoluzione della arteriopatia obliterante degli arti inferiori. L'ipotesi peraltro che la popolazione italiana, per i succitati effetti protettivi, possa essere meno suscettibile alla comparsa di arteriopatia sintomatica degli arti inferiori ed alle sue complicanze, viene rafforzata dalle osservazioni riguardanti la riduzione del rischio cardiovascolare nelle popolazioni mediterranee rispetto a quelle nord-europee⁵³.

Il possibile ruolo protettivo della dieta mediterranea viene evocato anche in un recente studio di Brevetti e collaboratori che, in una popolazione non selezionata del sud Italia, con età compresa tra 40 e 80 anni, rilevano una prevalenza (1.6%) ed una comorbidità cardiovascolare, di arteriopatia degli arti inferiori sintomatica, decisamente più basse di quelle riscontrate in analoghe casi-

stiche nord-europee e nord-americane²⁰. Infine, sempre più numerosi ed importanti trials internazionali hanno ormai ampiamente documentato l'effetto protettivo sui fattori di rischio cardiovascolari ed il ruolo fondamentale, esercitato dall'uso abituale di antiaggreganti, ACE-inibitori e statine, nella mancata progressione dell'arteriopatia degli arti inferiori, oltre che nella prevenzione primaria e secondaria delle eventuali complicanze cardiovascolari⁵⁴⁻⁶⁰.

Prognosi

La prognosi degli arteriopatici con ischemia critica degli arti inferiori è particolarmente severa a causa dei pesanti tassi, sia di mortalità che di morbilità ad essa correlati, evidenziabili già entro pochi mesi di follow-up dalla diagnosi di ICAI. Infatti, i tassi di amputazioni maggiori e di mortalità, osservati dalla Consensus Europea e successivamente dalla TASC, hanno riguardato, nella eguale misura di 20-25%, rispettivamente, tutti i pazienti ICAI già entro un anno dalla diagnosi^{1,2,61,62}.

Uno studio multicentrico italiano relativo a 1.560 pazienti con ICAI non rivascolarizzabile, inoltre, ha documentato, un tasso di amputazioni maggiori del 12%, entro un anno dalla diagnosi, mentre quello di mortalità è risultato, rispettivamente, del 13% entro sei mesi, del 22% entro 1 anno e del 31.6% entro due anni, con causa di morte attribuita ad accidente cardiovascolare in oltre un terzo dei casi⁶². Il precoce e pesantissimo tasso di mortalità dei soggetti ICAI risulta, pertanto, del tutto sovrapponibile a quello riscontrato nel-

le neoplasie più aggressive² e la terapia relativa, per risultare più efficace, dovrà necessariamente essere di tipo intensivo (e possibilmente personalizzata). Dopo la diagnosi di ICAI, infatti, il trattamento della grave arteriopatia distale dovrà essere indirizzato preferenzialmente a pratiche invasive di rivascularizzazione, quali quelle di tipo ricostruttivo chirurgico e/o interventistico endovascolare (angioplastica endoluminale e/o applicazione di stents), di cui inizialmente potrà beneficiare circa il 50-60% dei pazienti, mentre un rimanente 20-25% andrà incontro ad amputazione primaria d'embolè ed il restante 20-25% dei casi ICAI sarà sottoposto a trattamenti temporanei, comprendenti terapie mediche di tipo farmacologico e/o alternative (quali elettrostimolazione midollare cronica, ossigenoterapia iperbarica, etc.)^{1,2}. La gravità della condizione ICAI, inoltre, è testimoniata dalle importanti ricadute socio-economiche della malattia che, per quanto numericamente assai

meno rilevante di CI, richiede un impegno sproporzionatamente più ampio di mezzi e rappresenta attualmente il maggior carico di lavoro dei reparti di chirurgia vascolare²⁷.

Diagnosi

La diagnosi di ICAI si avvale di una valutazione clinica, comprendente anamnesi ed esame obiettivo, in cui vanno identificati segni e sintomi della severa arteriopatia distale e di una valutazione strumentale, comprendente sia lo studio della macrocircolazione che della microcircolazione periferica degli arti inferiori (tabella 2).

Studio della macrocircolazione

Lo studio della macrocircolazione parte da *metodiche di primo livello*, semplici ed incruente quali:

- 1) misurazione delle pressioni segmentarie sistoliche, effettuate a livello del terzo superiore ed inferiore di coscia e gamba;

- 2) misurazione della pressione alla caviglia ed all'alluce;
- 3) misurazione del rapporto pressorio caviglia/braccio mediante sonda Doppler (ad onda continua);
e comprende anche sofisticate tecniche di imaging riguardanti:
- 4) valutazioni incruente *non invasive*, come Ecografia-Duplex, Ecografia-Color-Doppler;
- 5) valutazioni *invasive* o *parzialmente invasive*, quali angiografia periferica degli arti inferiori a sottrazione di immagine, Angio-RMN, Angio-TAC e TAC spirale.

Gli esami *ecografici* (Ecografia 2D e Color) permettono, di monitorare la progressione della malattia aterosclerotica, di pianificare le eventuali procedure interventistiche e di gestire nel tempo le condizioni del paziente sottoposto ad intervento chirurgico od angioplastica. I vantaggi ecografici derivano da:

- a) valutazione *anatomica*, che consente la caratterizzazione morfologica della parete arte-

Tabella 2. Valutazione clinica e strumentale macro- e micro-circolatoria nell'inquadramento diagnostico del paziente con ischemia critica degli arti inferiori.

Valutazione clinica		Anamnesi Esame obiettivo (segni e sintomi)
Esami strumentali	Studio del MACROcircolo	Metodiche semplici incruente <ul style="list-style-type: none"> • Pressioni segmentarie sistoliche (coscia, gamba) • Pressione alla caviglia • Pressione all'alluce • Rapporto pressorio caviglia/braccio con sonda Doppler (Indice di Winsor)
		Tecniche di Imaging <ul style="list-style-type: none"> Non invasive <ul style="list-style-type: none"> • Ecografia (color) Doppler • TAC spirale Invasive <ul style="list-style-type: none"> • Arteriografia a sottrazione di immagine • Angio RMN, Angio TAC
	Studio del MICROcircolo	<ul style="list-style-type: none"> • Tensiometria transcutanea di O₂ e CO₂ • Flussimetria Laser Doppler • Capillaroscopia statica e dinamica

riosa, la visualizzazione, la localizzazione e l'analisi morfologica delle placche ateromasiche, il calcolo della percentuale di stenosi, ed infine lo studio dei by-pass;

b) valutazione *funzionale* (mediante analisi del segnale Doppler pulsato), che consente la valutazione diretta o indiretta delle lesioni stenotico-ostruttive, la loro ripercussione sull'emodinamica arteriosa e la formazione di eventuali circoli collaterali.

Esistono, tuttavia, anche alcune limitazioni nell'uso degli ultrasuoni a causa della presenza di artefatti legati alle estese calcificazioni, che interessano prevalentemente le arterie di gamba nel soggetto diabetico, così come per la presenza di stenosi vascolari multiple o per la misurazione non sempre affidabile dell'indice pressorio alla caviglia a causa della incomprimibilità parietale delle arterie tibiali.

L'*angiografia periferica a sottrazione di immagine* costituisce tutt'oggi il gold standard nella valutazione di pazienti ICAI con indicazione alla rivascolarizzazione chirurgica e/o interventistica. Le informazioni derivanti dall'angiografia periferica consistono, dal punto di vista morfologico, nella visualizzazione e localizzazione delle lesioni emodinamiche, nel calcolo della percentuale di stenosi, nell'analisi della morfologia della placca, nella visualizzazione diretta dei circoli collaterali e nello studio dei by-pass, mentre, da quello funzionale, permettono la valutazione della velocità di progressione del mezzo di contrasto iodato e quella del run-off distale.

Gli svantaggi dell'angiografia sono legati alla sua invasività, alla presenza inevitabile di sue

temibili complicanze (in particolare embolizzazione distale da mobilitazione di placche ateromasiche), ai costi elevati, alla presenza di personale qualificato e di strutture dedicate, che spesso sono assenti negli ospedali periferici. Proprio per questi motivi, sono in fase di avanzata sperimentazione ulteriori tecniche sofisticate di imaging comprendenti la TAC spirale e la Angio-RMN.

La *Tomografia Assiale Computerizzata-spirale (TAC-Spirale)* costituisce una tecnica *parzialmente invasiva*, che fornisce i migliori risultati nelle lesioni arteriose prossimali, particolarmente a livello aorto-iliaco, anche se alcuni studi mostrano una ottima sensibilità e specificità nella valutazione di stenosi od ostruzioni arteriose sia a livello sovrapopliteo (sensibilità e specificità rispettivamente dell'88% e 94% nelle stenosi e del 100% e 100% nelle ostruzioni) che sottopopliteo (sensibilità rispettivamente del 94% e 100% nelle stenosi e del 100% e 98% nelle ostruzioni)⁶³. La *Risonanza Magnetica Nucleare (Angio-RMN)* costituisce probabilmente la tecnica di imaging del futuro, perché rappresenta un pratico compromesso tra ultrasuoni ed angiografia, anche se attualmente con tecniche correnti non sempre è possibile distinguere tra stenosi serrate ed occlusioni complete delle lesioni aortoiliache. In alcuni studi, tuttavia, questo limite è stato superato con la dimostrazione sia di adeguatezza nella valutazione della stenosi che di capacità discriminatoria tra stenosi ed occlusione (specialmente con ricorso a contrast enhancement). In un altro studio, Angio-RMN ha dimostrato addirittura di essere sovrapponibi-

le ad angiografia convenzionale, perché è risultata in grado di mostrare tutte le stenosi angiografiche, ed è riuscita a visualizzare il run-off distale addirittura in misura maggiore (22%) rispetto ad angiografia, anche se purtroppo ha sovrastimato le percentuali di stenosi⁶⁴.

Commento

Il ricorso agli ultrasuoni potrebbe costituire già attualmente una suggestiva alternativa alla angiografia, perché fornisce la maggior parte delle informazioni anatomiche e funzionali, e non ne presenta gli svantaggi, perché meno costosa e completamente innocua, anche se ha il limite di essere operatore-dipendente, di non fornire una copia cartacea completa dell'albero arterioso esplorato e, soprattutto, spesso incontra ancora la diffidenza della maggioranza dei chirurghi vascolari che, comunque, pretendono una angiografia periferica prima di ogni procedura di rivascolarizzazione. Tuttavia va sottolineato come, a tutt'oggi, necessitino ulteriori studi per valutare appieno fino a che punto le suggestive valutazioni strumentali alternative all'angiografia, rappresentate oltre che dalle metodiche ultrasonografiche, soprattutto dalla angio-RMN (ed altre nuove modalità di indagine di imaging), possano realmente in futuro rimpiazzare completamente l'angiografia periferica.

Studio della microcircolazione

Le principali tecniche utilizzate nel moderno laboratorio vascolare, per lo studio della microcircolazione cutanea, sono di tipo non invasivo e

sono rappresentate, rispettivamente, da:

- tensiometria transcutanea di O_2 (TCp O_2) e CO_2 (TCp CO_2);
- flussimetria laser Doppler;
- capillaroscopia statica e dinamica.

La descrizione dettagliata di queste tecniche con la loro applicazione pratica nel paziente arteriopatico con gradi diversi di severità della patologia vascolare è stata ampiamente trattata altrove⁶⁵.

Tensiometria transcutanea di O_2 (TCp O_2)

La TCp O_2 risulta la tecnica attualmente più diffusa perché semplice, affidabile, facilmente riproducibile, sia a breve⁶⁶ che a lunga⁶⁷ distanza di tempo, scarsamente operatore-dipendente, nonché poco costosa. La sua importanza viene sottolineata dall'essere l'unica misura microcircolatoria inclusa tra i criteri di definizione di ICAI sia dalla Consensus Europea del 1991 che dalla TASC del 2000^{1,2}. L'eccesso delle molecole di ossigeno che, dai globuli rossi del lume capillare, passano attraverso gli spazi interstiziali, alla superficie cutanea, può essere misurato in-cruentemente tramite un misuratore di O_2 transcutaneo (elettrodo di Clark). Poiché la quota di ossigeno destinato al consumo cellulare costituisce una piccola parte ed è praticamente costante, la restante quota di flusso sanguigno cutaneo risulta correlata con la TCp O_2 misurata: infatti, con un alto flusso cutaneo, il rilascio di O_2 eccede grandemente il consumo e la TCp O_2 si avvicina alla p O_2 arteriosa misurata cruentemente, mentre, per flussi cutanei molto bassi, la TCp O_2 decresce e può arrivare a livelli non valutabili. La misurazione

Figura 1. Misurazioni clino-ortostatiche bilaterali all'avampiede (lo spazio intermetatarsale) della tensiometria transcutanea di O_2 e CO_2 .



ne della TCp O_2 viene abitualmente effettuata bilateralmente al piede, in clino- e talora in orto-statismo, previo riscaldamento della sonda termostata a 44° C, con condizioni costanti di temperatura ambiente di 22-24° C, pressione barometrica di 760 mmHg ed umidità relativa di 40% (figura 1). In una review di 160 lavori pubblicati dal 1978 al 1992, relativi alla valutazione dell'arteriopatico periferico, Schefler e Rieger⁶⁸, concludono che la TCp O_2 non aggiunge informazioni sostanziali in pazienti con ostruzioni asintomatiche o con claudicatio intermittens, ma è di importante impatto clinico negli arti in ischemia critica, che può essere agevolmente individuata quando i valori ossimetrici, rilevati con sensore riscaldato a 44° C, al piede sintomatico, non superano rispettivamente i 10 e 45 mmHg in posizione supina e declive⁶⁸.

La TCp O_2 , oltre che nella più precisa caratterizzazione diagnostica dell'arteriopatico, risulta molto vantaggiosa nella definizione del livello di amputazione o nel monitoraggio terapeutico a breve e lungo termine dei pazienti sottoposti a terapia chirurgica e/o terapie alternative. Il rischio di amputazione d'arto in pazienti ICAI

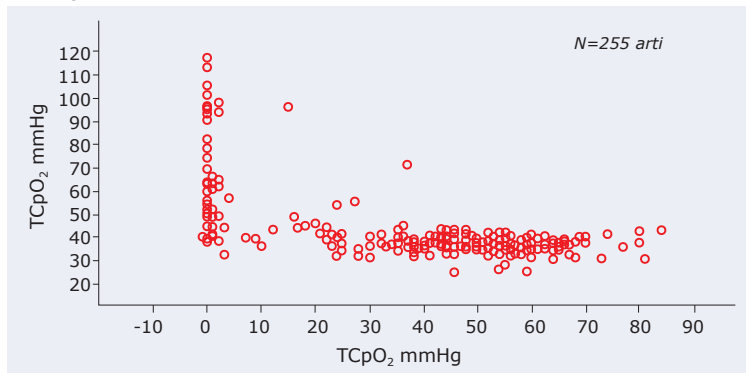
con marcata ipossia all'avampiede sintomatico, è documentato da valori assoluti di TCp O_2 in posizione supina, collocati rispettivamente al di sotto di 10 mmHg⁶⁹, di 20 mmHg⁷⁰, od addirittura di 25 mmHg⁷¹. Becker e collaboratori⁷² nel 1989 hanno invece utilizzato, in ICAI con TCp O_2 supina al piede sintomatico <10 mmHg, l'eventuale incremento ortostatico di TCp O_2 , identificando così tre sottogruppi di pazienti con tassi di amputazione decrescenti (da 85% a 45%, fino a 5%), correlati inversamente a misure ossimetriche declivi crescenti, e collocate, rispettivamente, al di sotto di 10 mmHg, tra 11 e 40 mmHg, o al di sopra di 41 mmHg. Nel 1999, Ubbink e collaboratori⁷³ hanno confermato, in ICAI non rivascolarizzabile, come fattore predittivo negativo la presenza di TCp O_2 supina al disotto di 10 mmHg, cui ha corrisposto un tasso di amputazione a 6 e 12 mesi, rispettivamente, di 58% e 87%. Nello stesso studio, invece, nettamente migliore è apparsa la sorte dei soggetti con TCp O_2 tra 10 e 30 mmHg che hanno presentato, negli stessi periodi, integrità d'arto rispettivamente in percentuali di 80% e 63% od addirittura di 88% e

88% quando la TCpO₂ supina ha superato i 30 mmHg.

Tensiometria transcutanea di CO₂ (TCpCO₂)

Se vi è comunque generale concordanza di giudizio favorevole sulla capacità della TCpO₂ nel categorizzare la gravità metabolica del paziente ICAI, a tutt'oggi, appare ancora indefinito invece, il ruolo da attribuire alla tensione transcutanea di CO₂ (TCpCO₂) nella individuazione precoce dei pazienti ICAI ad alto rischio di perdita d'arto. Per la sua valutazione viene utilizzato un sensore combinato per O₂ e CO₂ (elettrodi di Clark e Severinghaus) in grado di campionare con esattezza, oltre all'ossigeno, anche la concentrazione transcutanea di anidride carbonica. La relazione esistente tra gli indici funzionali microcircolatori transcutanei di O₂ e CO₂ e l'andamento clinico del paziente arteriopatico⁷⁴ è stata analizzata in un nostro studio relativo a 129 soggetti, costituiti da 27 controlli sani e da 102 arteriopatici, suddivisi in 39 claudicanti e 63 affetti da ICAI. I valori medi di TCpO₂ risultarono più elevati negli arti di controllo (m=51 mmHg) rispetto ai claudicanti (m=40, p<.01), e notevolmente ridotti in ICAI (m=1, p<.0001), mentre, viceversa, la TCpCO₂ risultò sovrapponibile negli arti di controllo rispetto ai claudicanti (37.6 vs 40 mmHg, p=NS), ma significativamente elevata in ICAI (m=52, p<.0001). Analizzando nei 255 arti di tutti i soggetti studiati l'andamento combinato dei due parametri TCpO₂ e TCpCO₂, si dimostrò una correlazione inversa, altamente significativa (r=0.71, p<.0001), marcatamente non

Figura 2. Relazione tra i parametri di TCpO₂ e TCpCO₂ misurati in posizione supina ed all'avampiede di 27 controlli e 102 arteriopatici periferici, suddivisi in 39 claudicanti e 63 pazienti con ischemia critica degli arti inferiori.



lineare, con andamento della curva caratterizzato da un aumento iperbolico della anidride carbonica (talvolta superiore a 100 mmHg) per valori corrispondenti di ossigeno inferiori a 10 mmHg (figura 2).

In altri termini, mentre l'ossigeno, con il progredire del danno ischemico, si abbassò dai valori di normalità fino allo zero strumentale, la anidride carbonica permase invariata fino al raggiungimento dei corrispondenti 10 mmHg di O₂, al di sotto dei quali la TCpCO₂ rimase ancora nei limiti della norma solo in pochi casi (12%), mentre, in tutti gli altri pazienti, si innalzò cospicuamente con il progredire della acidosi metabolica locale indotta dal danno ischemico (figura 2). L'ipotesi di una eventuale correlazione tra aumento in mmHg della TCpCO₂ supina e la maggior gravità clinica di ICAI (espressa da tassi di amputazione progressivamente crescenti) è stata poi confermata da un nostro ulteriore studio relativo a 62 ICAI consecutivi (47 con lesioni trofiche: 23 maschi, età media 72±10 anni e 15 soggetti con dolore a riposo: 10 maschi, età media 71±9 anni) documentati angiograficamente, il cui follow-up

ha avuto la durata minima di 4 anni⁷⁵. Nel follow-up a quattro anni, il tasso complessivo di amputazioni maggiori è stato di 19.4%, dimostrandosi significativamente più elevato nel sottogruppo di ICAI con lesioni trofiche (23.4%) rispetto al sottogruppo con dolore a riposo (6.6%, p=.01), mentre il tasso di mortalità generale, complessivamente elevato (53.2%, n=33), è risultato quasi sovrapponibile nei due gruppi (51% ICAI con lesioni trofiche vs 60% con dolore a riposo, p=NS). La suddivisione dei pazienti in quattro sottogruppi (quartili) in base ai valori al piede sintomatico di TCpCO₂ supina (rispettivamente <40 mmHg nel primo quartile, <49.5 mmHg nel secondo, <91 mmHg nel terzo, >92 mmHg nel quarto) ha mostrato una differenziazione significativa, poiché la percentuale di amputazioni maggiori è risultata assente nel primo quartile, è aumentata a 6% nel secondo, a 27% nel terzo ed addirittura ha raggiunto il 44% nel quarto quartile con TCpCO₂ superiore a 92 mmHg. Viceversa, non vi è stata alcuna correlazione tra gravità della acidosi metabolica locale ed elevata percentua-

le di mortalità generale, sopravvenuta per lo più per cause cardiovascolari e risultata del tutto sovrapponibile nei quattro sottogruppi sovraccitati in cui il tasso di mortalità è stato rispettivamente di 53%, 50%, 53% e 56% ($p=NS$).

Flussimetria laser-Doppler (LDF)

LDF è basata sull'effetto doppler di un fascio di luce laser HE-NE di bassa potenza (circa 2 mW) che penetra nel tessuto per una profondità di 1 mm, subisce in parte variazioni di frequenza ad opera delle strutture in movimento, viene retrodiffusa e, con un sistema di fotodetezione, produce un segnale che, a bassi e medi valori di ematocrito capillare, è direttamente proporzionale al flusso ematico cellulare del punto esaminato. Il segnale laser-Doppler risulta proporzionale al flusso, definito come numero di globuli rossi per la loro velocità media, dal momento che in condizioni normali globuli bianchi e piastrine costituiscono quota trascurabile delle cellule in movimento. Poiché in 1 mm² di cute possono essere presenti, a seconda delle zone, 20-50 anse capillari, arteriole, venule ed anastomosi Arteriole-Venulari, LDF perciò misura la perfusione globale della microcircolazione cutanea, e principalmente quella più profonda, sub-papillare, di tipo termoregolatorio, mentre solo una porzione molto piccola del segnale è generata dal flusso di sangue dei capillari più superficiali di tipo nutrizionale. Poiché già in condizioni fisiologiche lo studio *in vivo* della microcircolazione cutanea presenta notevole variabilità temporospaziale a causa della sua estre-

ma sensibilità a stimoli interni e ambientali, occorre un rigoroso controllo ambientale (T a 22-24° C), ed individuale (paziente supino, a riposo per almeno 30 minuti) per una buona riproducibilità dei risultati⁷⁶. Risulta pertanto fondamentale con questa metodica rilevare, oltre ai valori di flusso basale in condizione di riposo (Resting Flow, RF), che risulta ridotto in caso di ischemia marcata, neuropatia diabetica, shock ed altre condizioni di mancata autoregolazione microcircolatoria, anche quelli ottenuti dopo stimolazione termica (mediante aumento della temperatura della sonda termostata a 36° C e 44° C) e posturale (passaggio dalla posizione supina alla posizione seduta, Standing Flow, SF), che misura il riflesso veno-arteriolare (VAR) attivato normalmente dalla vasocostrizione simpatica delle arteriole precapillari e che si traduce in una sensibile riduzione (>60%) del segnale laser-doppler rispetto alla misura ottenuta in clinostatismo. I valori perfusori ottenuti vengono espressi in misure semiquantitative denominate Unità di Perfusione (PU). Il segnale laser-Doppler è stato studiato in 10 soggetti sani di controllo (CON, 20 arti) e 19 arteriopatici, suddivisi in 10 claudicanti (CI) e 9 ICAI mediante misurazioni effettuate sulla superficie polpale dell'alluce ed in corrispondenza del I spazio intermetatarsale in posizione supino/declive⁷⁷. In condizioni basali, all'alluce, i valori LDF ottenuti nei controlli (mRF=99 PU) si sono differenziati significativamente ($p<.001$) sia da quelli di CI (mRF=15 PU) che di ICAI (mRF=3 PU). Dopo riscaldamento a 36° C, si è evidenziato

un incremento di RF, indotto dalla conseguente vasodilatazione, nei controlli (mRF=166 PU, $p<.0001$) e nei CI (mRF=26 PU, $p<.05$), mentre non si sono evidenziate variazioni in ICAI rispetto ai valori basali. In ortostatismo il decremento del segnale LDF, indotto dall'attivazione locale del VAR, è stato presente solo nei controlli (mSF=74 PU, $p<.001$), mentre la sua disfunzione è stata evidenziata con un paradossale incremento di flusso, sia in CI (mSF=149 PU, $p<.001$) che in ICAI (mSF=54 PU, $p<.001$). A livello del I spazio intermetatarsale, le misurazioni LDF effettuate a 36° C non hanno evidenziato differenze significative tra i valori mediani dei controlli (mRF=19 PU) e quelli, rispettivamente, di CI (mRF=24 PU) e di ICAI (mRF=12 PU). In tale sede, viceversa, il VAR è risultato conservato, sia nei controlli (mSF=6.5 PU, $p<.001$), che in CI (mSF=4 PU, $p<.01$), ma assente o con flusso invertito, in ICAI dove la vasocostrizione posturale è risultata abolita (mSF=29 PU, $p<.01$). I nostri dati incoraggiano pertanto l'estensione dell'uso di LDF negli arteriopatici cronici periferici, a condizione che le misurazioni vengano effettuate non solo in condizioni basali, ma anche dopo tests provocativi termici e posturali, possibilmente in più sedi anatomiche (superficie polpale dell'alluce e dorso del piede). L'impiego del segnale LDF nella diagnostica della arteriopatia obliterante periferica cronica e nel suo monitoraggio, tuttavia, risale ai decenni più recenti e poiché si avvale ancora di pochi studi clinici, necessita, pertanto, di più consistenti validazioni di letteratura⁷⁸⁻⁸¹.

Capillaroscopia

È una metodica per immagini, eseguibile *in vivo* e sull'uomo, adatta allo studio morfologico ed emodinamico del microcircolo, che andrebbe definita più correttamente biomicroscopia, dal momento che con essa si indagano non solo i capillari, ma anche le arteriole, le venule, le anastomosi arteriolo-venulari ed il connettivo interstiziale. Nel 1891 Hunna pose le basi della moderna capillaroscopia con il rilievo della trasparenza della cute dopo applicazione sulla stessa di olio di vaselina. Sfruttando tale proprietà ed utilizzando un fascio di luce incidente, Lombard nel 1912 visualizzò con buona definizione di immagine i capillari della plica ungueale. Nel 1963 Zimmer introdusse la capillaroscopia televisiva e fu possibile uno studio anche quantitativo più preciso della emodinamica microcircolatoria.

Negli ultimi 25 anni l'introduzione di metodiche video-fotometriche ha consentito, principalmente grazie agli studi di Bollinger, Fagrell ed Intaglietta, lo sviluppo della moderna capillaroscopia dinamica computerizzata^{82,83}. Nel 1988 Fagrell perfezionò un sofisticato sistema di software denominato Capi-flow⁸⁴, che consente la misurazione automatica, oltre che di densità e di diametro capillare, anche della velocità dei globuli rossi nei capillari nutrizionali e che permette, inoltre, tramite l'uso di coloranti vitali fluorescenti, un miglioramento del contrasto delle immagini, e soprattutto lo studio di fenomeni altrimenti inesplorabili, quali diffusione e grado di permeabilità delle molecole presenti in

soluzione, visualizzazione e morfometria degli aloni pericapillari, la valutazione della omogeneità di perfusione dei microvasi. Il Capi-flow offre il massimo dell'attendibilità e del confronto delle immagini, ma è limitato alla ricerca sperimentale di pochi laboratori privilegiati per la mole dell'apparecchiatura, la sua scarsa maneggevolezza, la limitazione di poche sedi di esplorazione, oltre all'elevato costo globale e di esercizio.

Il progredire delle acquisizioni tecnologiche nel campo delle fibre ottiche e dell'informatica ha permesso, infine, nel 1992, la messa a punto di un nuovo video-capillaroscopio a sonda ottica (VSCO), proposto contemporaneamente da Thulesius⁸⁵ (27) e Curri⁸⁶ (28). Tale strumento è di pronto e facile impiego per la visualizzazione dei microvasi cutanei su tutta la superficie corporea, consente lo studio in tempo reale della microangiorettonica regionale e distrettuale e dei movimenti di traslazione endocapillare ed endovenulare degli elementi figurati del sangue. I vantaggi della capillaroscopia a sonda ottica sono rappresentati dalla sua estrema maneggevolezza, dalla possibilità di esplorare i microvasi cutanei in ogni regione della superficie corporea, anche se persiste una certa difficoltà nella interpretazione dei dati per la variabilità di reperti nelle diverse sedi e la polimorfia dei quadri patologici. Tradizionalmente le indagini capillaroscopiche negli arteriopatici vengono eseguite con paziente in posizione seduta, a livello della plica ungueale dell'alluce e sulla cute del dorso del piede, indagando in particolare la densità capillare, l'ordine delle anse

e la loro morfologia (tortuosità, dilatazioni, ramificazioni), la eventuale presenza di microedema e di microemorragie, la visualizzazione del plesso venoso subpapillare, la conservazione del flusso.

Nel 1973 fu proposta da Fagrell una classificazione capillaroscopica semplificata⁸⁷, tuttora valida, in stadi A, B e C e basata sul grado crescente di gravità degli arteriopatici periferici, caratterizzata da quadri iniziali con presenza di modeste dilatazioni capillari ed isolati microaneurismi (stadio A), per passare a quadri costituiti da capillari indistinti, per edema o sclerosi, e microemorragie (stadio B), fino a quadri estremi di riduzione di densità od addirittura di rarefazione capillare (stadio C).

Nel 1984 la capacità predittiva della capillaroscopia fu confrontata con la pressione all'alluce sintomatico da Fagrell e Lundberg in 69 pazienti, con grado diverso di arteriopatìa, osservati per i successivi tre mesi. La probabilità di sviluppo di necrosi cutanea, al piede sintomatico, quando venne prevista sulla base della sola velocimetria pressoria all'alluce inferiore a 30 mmHg, risultò essere di circa il 60%, mentre la predittività capillaroscopica per sviluppo di lesioni trofiche si innalzò progressivamente dal 5% nello stadio A, al 60% nello stadio B, fino a raggiungere il 93% nello stadio C⁸⁸.

Commento

Le principali tecniche di tipo non invasivo utilizzate per lo studio della microcircolazione cutanea di ICAI, nel moderno laboratorio vascolare, sono essenzialmente rappresentate dalla tensiometria transcuta-

nea di O₂ e CO₂, dalla flussimetria laser Doppler e dalla capillaroscopia. Tali tecniche consentono una definizione più precisa di "run off" microcircolatorio, permettendo sul piano clinico di avere criteri meno approssimati di monitoraggio diagnostico e terapeutico ed una interpretazione dei risultati della rivascularizzazione chirurgica e/o endovascolare e/o di terapie farmacologiche ed alternative, non più affidata semplicemente alla soggettività del paziente. Va però sottolineato, a scanso di equivoci, che pur trattandosi di tecniche promettenti, esse sono da poco passate dal piano della ricerca sperimentale a quello della applicazione clinica. In particolare, la metodica laser Doppler che attualmente viene utilizzata con successo nell'inquadramento diagnostico di ICAI e nel suo monitoraggio clinico, abbisogna di ulteriori chiarimenti sulla sua riproducibilità temporo-spaziale, sulla morfologia del tracciato nelle sue varie estrinsecazioni ed interpretazioni funzionali e sui suoi rapporti con la microangiomettonica dei distretti cutanei in cui l'esame viene eseguito. La videocapillaroscopia a sonda ottica ha consentito un mappaggio morfologico accurato dei vari distretti cutanei e giustifica, per la diversità dei quadri di microangiomettonica da essa rilevati nei vari distretti esplorati, la difficoltà di dare una univoca interpretazione del segnale laser-Doppler. La tensiometria transcutanea di O₂ risulta la tecnica attualmente più diffusa perché semplice, affidabile, facilmente riproducibile sia a breve che a lunga distanza di tempo, scarsamente operatore-dipendente, nonché poco costosa. La sua importan-

za viene sottolineata dall'essere l'unica misura microcircolatoria inclusa tra i criteri di definizione di Ischemia Critica Arti Inferiori (TASC, 2000).

La tensione transcutanea di CO₂ fornisce un contributo nella caratterizzazione dell'entità del danno metabolico distrettuale e nella valutazione prognostica, soprattutto nei casi metabolicamente più gravi in cui la corrispondente ossimetria non è in grado di discriminare ulteriormente i pazienti ICAI, perché ha già raggiunto i limiti di risoluzione della metodica (zero strumentale).

Terapia medica

Principi generali

L'arteriopatia obliterante cronica periferica degli arti inferiori (PAD), ed in particolare la ICAI, è gravata da alti tassi di morbilità e mortalità, entrambi dovuti, nella maggior parte dei casi, a cause cardiovascolari^{1,2}. Infatti, la coesistenza tra malattia arteriosa periferica e malattia cardiovascolare (CAD) è documentata da molti dati di letteratura, che dimostrano come il grado di comorbilità osservato tra le due patologie sia proporzionale alla sensibilità del test usato per individuarle⁸⁹. Quando la coprevalenza di CAD nei pazienti arteriopatici è basata sulla loro storia clinica ed elettrocardiografica, essa si attesta intorno a 30-40%, mentre raggiunge il 60% in studi che utilizzano il treadmill test⁹⁰ o la scintigrafia miocardica con diripidamolo⁹¹, ed addirittura percentuali tra 70 e 90% con studi angiografici^{92,93}.

Analogamente, molti studi confermano un eccesso di malattie cerebrovascolari negli arteriopatici periferici, ed anche in questo caso, la sensibili-

tà del test diagnostico riflette il grado di comorbilità tra le due patologie. Infatti, mentre la anamnesi di pregresso stroke è riportata positivamente in circa 15% degli arteriopatici quando documentata solo clinicamente^{6,94}, lo screening ultrasonografico con eco-duplex per stenosi carotidiche >30% evidenzia una prevalenza di malattie cerebrovascolari superiore a 50% nei casi con PAD⁹⁵. Tuttavia, nonostante l'ormai nota coprevalenza tra CAD e/o malattia cerebrovascolare e PAD, ed anche probabilmente per carenza di dati definitivi sul miglioramento della prognosi dell'arteriopatia periferica con il trattamento sistemico dell'aterosclerosi, tuttora nei medici curanti risulta ancora inveterata la tendenza a trattare meno intensivamente i fattori di rischio cardiovascolare in PAD che CAD⁹⁶.

Alla luce delle precedenti considerazioni appare quindi evidente come tale tendenza vada rovesciata e, per tentare di ridurre i pesanti tassi di morbilità e mortalità tipici di ICAI, la terapia medica debba essere sia di tipo sistemico, ivi comprendendo la correzione dei fattori di rischio (fumo, diabete mellito, ipertensione arteriosa, dislipidemia, sindromi da ipercoagulabilità), la prevenzione primaria e secondaria degli eventi cerebro- e cardio-vascolari, il trattamento delle patologie concomitanti (cardiopatía ischemica, scompenso ed aritmie cardiache, insufficienza respiratoria e renale croniche, etc.), che locale, mediante trattamento topico delle lesioni trofiche e quello farmacologico di salvataggio d'arto, di tipo intensivo, che diventa indispensabile quando il paziente ICAI, dopo angiografia perife-

rica, viene ritenuto al momento inoperabile.

Terapia medica sistemica e locale

Nel trattamento complessivo di ICAI devono pertanto essere previsti (tabella 3):

- a) correzione dei fattori di rischio cardiovascolari e delle patologie concomitanti (abolizione del fumo, stretto controllo metabolico del diabete mellito mediante utilizzo di insulina in presenza di lesioni trofiche, correzione farmacologica dello scompenso cardiaco, della cardiopatia ischemica e delle aritmie cardiache, monitoraggio attento della terapia antiipertensiva ed anticolesterolemica);
- b) terapia farmacologica di supporto con antiaggreganti, anticoagulanti, statine ed ACE-inibitori nella prevenzione primaria e secondaria degli eventi cerebro- e car-

dio-vascolari;

- c) impiego di una efficace terapia analgesica (antidolorifici, oppiacei, marcaina epidurale);
- d) trattamento topico delle lesioni ulcero-gangrenose (sbrigliamento chirurgico delle zone necrotiche e periodiche medicazioni locali, uso di calzature appropriate, eventuale utilizzazione di ossigenoterapia iperbarica);
- e) terapia antibiotica per via sistemica in presenza di lesioni trofiche (dopo tampone cutaneo ed antibiogramma);
- f) terapia farmacologica con prostanoidi (che possono essere usati per via endoarteriosa od endo-venosa), che costituiscono attualmente il trattamento di elezione di pazienti ICAI.

Il trattamento con prostanoidi deve essere personalizzato e di tipo intensivo: ogni paziente abbisogna di uno stretto

monitoraggio sia clinico che strumentale microcircolatorio, da cui estrarre i parametri essenziali per valutare nel tempo quando effettuare la terapia farmacologica prostanoidica, stabilirne efficacemente sia la posologia che la durata, predire il fabbisogno di ulteriori cicli di terapia. I cicli di trattamento con prostanoidi possono variare da due a quattro settimane e possono essere ripetuti a distanza di tempo, a seconda dei parametri clinici e microcircolatori osservati.

Terapia farmacologica

Teoricamente, nel management odierno del paziente ICAI, la terapia di tipo non chirurgico od interventistico può essere formulata con diverse sostanze farmacologiche, anche se nella realtà clinica essa risulta basata esclusivamente sull'uso di tre differenti categorie di farmaci costituite schematicamente da (tabella 4):

- farmaci convenzionali non appartenenti alla categoria dei prostanoidi;
- terapia genica e cellulare staminale;
- prostanoidi.

Terapia farmacologica senza prostanoidi

I farmaci non-prostanoidi sono costituiti fondamentalmente da antiaggreganti piastrinici, anticoagulanti e fibrinolitici, emoreologici o vasoattivi. I principali farmaci antiaggreganti sono rappresentati da aspirina, ticlopidina e clopidogrel, che prevengono il danno endoteliale secondario alla aggregazione piastrinica, ed hanno dimostrato una efficace protezione cardiovascolare delle complicanze aterosclerotiche negli stadi più precoci di arte-

Tabella 3. Terapia medica sistemica e locale in pazienti con ischemia critica degli arti inferiori, non immediatamente rivascolarizzabile.

- a) Correzione dei fattori di rischio**
 - abolizione del fumo
 - stretto controllo glicemico (insulina in presenza di lesioni trofiche)
 - controllo della pressione arteriosa
 - controllo dell'assetto lipidico
 - correzione iperomocisteinemia, etc.
- b) Controllo delle patologie associate**
- c) Terapia farmacologica in prevenzione primaria e secondaria** (antiaggreganti, anticoagulanti, ACE-inibitori, statine)
- d) Trattamento topico delle lesioni ulcero-gangrenose** (sbrigliamento chirurgico delle zone necrotiche e medicazioni locali quotidiane, eventuale utilizzazione di ossigenoterapia iperbarica)
- e) Terapia analgesica** (antidolorifici, oppiacei, marcaina epidurale)
- f) Terapia antibiotica per via sistemica** in presenza di lesioni trofiche (dopo tampone cutaneo ed antibiogramma)
- g) Terapia farmacologica con prostanoidi**

Tabella 4. Principali presidi terapeutici impiegati nel trattamento del paziente con ischemia critica degli arti inferiori, non immediatamente rivascolarizzabile.

- **Farmaci convenzionali non appartenenti alla categoria dei prostanoïdi** (vasoattivi, emoreologici, anticoagulanti, antiaggreganti);
- **Prostanoïdi** (Alprostadi, Iloprost);
- **Terapia genica e con cellule staminali**

riopatia. I dati favorevoli della terapia antiaggregante sulla prevenzione secondaria delle complicanze cardiovascolari sono stati infatti estrapolati non da trials controllati, effettuati in pazienti con ICAI, ma da studi su arteriopatici affetti da claudicatio intermittens. Nello studio STIMS, infatti, la ticlopidina ridusse sia la mortalità (del 29%) che la morbilità per infarto miocardico e vasculopatie cerebrali (di 11.4%) nei claudicanti confrontati con placebo⁹⁷. Nella meta-analisi Antiplatelet Trialist' Collaboration del 1994, comprendente 28 studi riguardanti un totale di 3.864 pazienti, molti dei quali sottoposti a chirurgia ricostruttiva, si rilevò come il beneficio assoluto sulla mortalità vascolare, negli studi riguardanti le arteriopatie periferiche, fosse uno dei più elevati, rispetto ad altri criteri di ingresso, con 15 morti evitate in 1.000 pazienti in un periodo di due anni⁵⁴.

Anche la recente meta-analisi compiuta dalla Anti-thrombotic Trialist' Collaboration del 2002 conferma l'effetto positivo di aspirina e ticlopidina, con una riduzione di circa il 27% di eventi cardiovascolari maggiori quali stroke, infarto miocardico e morte vascolare nella claudicatio intermittens e con una riduzione della riocclusione dei grafts periferici di circa il 22%⁵⁵. Una ulteriore riduzione di 8.7% del rischio

relativo di incidenza di infarto miocardico, stroke o morte vascolare annuo, inoltre, fu documentata nello studio CAPRIE nel sottogruppo di oltre 6.000 claudicanti trattati con clopidogrel (75 mg/die) rispetto a quello dei pazienti trattati con aspirina (325 mg/die)⁹⁸. Per quanto riguarda invece il trattamento di pazienti con ICAI, un unico studio giapponese pubblicato nel (lontano) 1982 dimostrò una percentuale più alta di ulcere guarite (24% *versus* 14%), associata a ridotto tasso di amputazione (2% *versus* 4%), in soggetti trattati per sei mesi con ticlopidina (500 mg/die) confrontati con pazienti trattati con placebo⁹⁹.

Per quanto riguarda i farmaci anticoagulanti, va sottolineato come, a dispetto dell'uso proficuo della eparina non frazionata, utilizzata frequentemente nella profilassi od in associazione con procedure chirurgiche vascolari, non sono stati però pubblicati trials che ne abbiano dimostrato una analoga efficacia nella ischemia critica, anche se due studi, in aperto, con eparina a basso peso molecolare, attualmente preferite rispetto alle non frazionate per migliori facilità di impiego e tolleranza individuale, hanno tuttavia mostrato una riduzione del dolore a riposo ed un miglioramento delle ulcere trofiche resistenti ad altri trattamenti convenzionali¹⁰⁰⁻¹⁰². I farmaci vasoattivi, una volta

definiti impropriamente vasodilatatori, perché ritenuti capaci di aumentare la portata ematica distrettuale, in realtà sono caratterizzati da altre proprietà, i cui effetti principali sono di tipo: a) emoreologico, tramite la riduzione della viscosità ematica; b) incremento della deformabilità eritrocitaria e riduzione della contrattilità della miocellula arteriolare e della sua responsività ai numerosi stimoli costrittori presenti nella aterosclerosi, tramite modulazione della liberazione degli ioni Calcio; c) inibitorio della aggregazione piastrinica e della attivazione leucocitaria; d) riduzione del rilascio di radicali liberi di ossigeno; e) vasodilatante sul tono arteriolare ed aumento della perfusione tessutale, tramite azione modulatrice sull'endotelio con riequilibrio tra MFRS (microvascular flow regulating system) e MDS (microvascular defense system). Alcuni di questi farmaci (pentossifillina, buflomedil, naftidrofuryl, calcioantagonisti) sono risultati efficaci nella claudicatio intermittens, ma nessuno di essi ha mostrato efficacia clinica in studi controllati su casistiche ampie di soggetti con ICAI.

La pentossifillina è stata impiegata per via parenterale in ICAI in due trials multicentrici controllati con placebo. Nel primo studio europeo, effettuato nel 1995, la pentossifillina, impiegata alla dose di 600 mg per due volte al dì, e per tre settimane in ICAI con dolore a riposo, ha dimostrato un significativo miglioramento della sintomatologia dolorosa (58% *versus* 42%), ma i risultati del trial furono fortemente inficiati dal fatto che l'uso degli analgesici era permesso in tutti i pazienti, dall'inesistente mi-

grioramento del percorso di marcia su tappeto ruotante, oltre che dalla mancanza assoluta di risultati a sei mesi¹⁰³. Nel successivo studio norvegese, condotto con lo stesso protocollo, seppure in un numero di pazienti ridotto, si osservò solo un lieve, ma non significativo, miglioramento nei trattati con pentossifillina¹⁰⁴.

Buflomedil, ad azione alfa1 ed alfa2 antiadrenergica, fu valutato in uno studio controllato con placebo in pazienti con necrosi cutanea e mostrò un significativo miglioramento capillaroscopico (72% *versus* 23%), anche se successivamente non sono stati condotti ulteriori studi in pazienti in ICAI¹⁰⁵.

Naftidrofuryl, antagonista della serotonina, ha dimostrato in pazienti con dolore a riposo un incremento della distanza di marcia ed un aumento della tensione transcutanea di ossigeno al piede sintomatico in uno studio, mentre in un piccolo studio controllato con placebo in pazienti ICAI, il miglioramento soggettivo risultò analogo in entrambi i gruppi^{106,107}.

L'uso dei calcio-antagonisti, in particolare Nifedipina, pur esercitando un effetto sul sistema vascolare periferico, non ha, tuttavia, ancora provato un evidente beneficio clinico¹⁰⁸.

Tra i nuovi farmaci vanno annoverati L-arginina ed alfa-trinositolo. L-arginina, che è precursore dell'ossido nitrico endogeno, induce una vasodilatazione periferica ed inibisce la aggregazione piastrinica: nonostante la infusione singola del farmaco sia in grado di incrementare il flusso sanguigno nella arteria femorale dei pazienti con ischemia severa, tuttavia, nessun effetto positivo sul follow-up a lungo termine

è stato ancora dimostrato¹⁰⁹. Anche con il farmaco alfa-trinositolo, antagonista del neuropeptide NPY (co-trasmittitore simpatico con adrenalina, e perciò dotato di potente azione vasocostrittrice), sono stati osservati, in un piccolo studio clinico su diabetici in ischemia critica, effetti favorevoli, dimostrati con metodiche di studio incruento microcircolatorio, quali ossimetria transcutanea, flussimetria laser-Doppler, capillaroscopia: anche in questo caso, però, rimane da dimostrare l'effetto del farmaco sul lungo periodo¹¹⁰.

Un farmaco più recente, Cilostazolo, inibitore della fosfodiesterasi ad azione antiaggregante e vasodilatatoria, in commercio attualmente solo negli Stati Uniti d'America, ha mostrato in un trial randomizzato ed in doppio cieco, effetti favorevoli sull'aumento della distanza di marcia e sulla qualità di vita, con effetti collaterali comprendenti cefalea e diarrea, che ne sconsigliano l'impiego nei pazienti con ridotta riserva cardiaca¹¹¹.

Commento

I pochi farmaci vasoattivi impiegati in modo appropriato nel trattamento di ICAI, hanno fornito risultati poco convincenti o negativi e, pertanto, il loro impiego non può essere suggerito nei pazienti con ICAI. Viceversa, pur in assenza di conclusioni definitive sull'uso degli antiaggreganti in ICAI, tale terapia in questi pazienti deve essere fortemente raccomandata, proprio per la loro dimostrata capacità di ridurre significativamente la incidenza di infarto del miocardio e di stroke e, conseguentemente, di mortalità cardiovascolare. Per quanto riguarda,

invece, il trattamento a lungo termine con anticoagulanti orali, vi è ancora a tutt'oggi necessità di stabilire se sia realmente utile nel garantire una maggiore sopravvivenza di arto nei pazienti trattati.

Terapia genica e cellulare staminale

Viene definita terapia genica la introduzione di geni nelle cellule di organi bersaglio per indurre l'espressione di un determinato fenotipo. La veicolazione dei geni può avvenire mediante plasmidi (tratti di DNA) nudi, inseriti passivamente nelle cellule, o con introduzione di DNA all'interno di liposomi aderenti alla membrana cellulare e liberanti il contenuto nel citoplasma cellulare, oppure, come sistema più utilizzato, legandolo al genoma di un virus modificato, in grado di infettare la cellula bersaglio e di inserire il gene "terapeutico" all'interno del genoma cellulare. L'ischemia ipossica sembra costituire lo stimolo principale per la induzione dell'angiogenesi, realizzata principalmente mediante liberazione di diversi fattori di crescita vascolare, tra i quali particolarmente importanti risultano VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor), angiopoietina e FGF (Fibroblast Growth Factor). Negli ultimi anni è stato dimostrato come, mediante formulazioni ricombinanti di fattori di crescita angiogenetici, sia stato realizzato l'incremento della circolazione collaterale in un arto ischemico.

I primi studi sperimentali e clinici sull'angiogenesi sono stati realizzati mediante la somministrazione o la induzione in loco di un singolo fatto-

re di crescita, come il VEGF prodotto da varie linee cellulari, in particolare cellule endoteliali e muscolari lisce. Il VEGF ha come unico bersaglio la cellula endoteliale: ciò configura sia un sistema paracrino, perché le cellule muscolari lisce sono poste nella parete vascolare accanto a quelle endoteliali, che autocrino, perché le cellule endoteliali producono il VEGF e sono a loro volta bersaglio di questa glicoproteina. I principali effetti biologici del VEGF sono costituiti dalla induzione della proliferazione e della migrazione delle cellule endoteliali, dall'aumento della permeabilità capillare (che permette la fuoriuscita dal capillare delle cellule endoteliali per formare neovasi, ma favorisce anche formazione di edema), la induzione del rilascio di ossido nitrico e di proteasi interstiziali, che favoriscono il rimodellamento vasale della neoangiogenesi. La terapia genica mediante trasferimento del plasmide DNA-VEGF a dosi scalari (a partire da 100 microgrammi) fu effettuata in tre pazienti ICAI, con dolore a riposo, trattati con 1.000 microgrammi: dopo un anno di follow-up, si osservò incremento di flusso sanguigno e scomparsa del dolore; l'incremento della dose a 2.000 microgrammi evidenziò la formazione di neoangiogenesi sia istologica che angiografica¹¹².

Nel 1998 Baumgartner e collaboratori somministrarono plasmide nudo di VEGF al dosaggio di 4.000 microgrammi mediante microiniezioni nelle masse muscolari di 10 arti ischemici di ICAI non rivascolarizzabili (di cui 7 con ulcere trofiche), osservando dopo due settimane un picco nella con-

centrazione di VEGF nella vena reflua dall'arto, un incremento dell'indice di Winsor, una neoformazione di vasi collaterali visibili angiograficamente (in 7 arti), ed un aumento di flusso distale, mediante risonanza magnetica (in 8 casi). Le ulcere trofiche guarirono o migliorarono in 4/7 arti, contribuendo al salvataggio d'arto di tre pazienti destinati ad amputazione sottogenicolata, mentre le complicanze furono limitate ad edema transitorio degli arti inferiori, secondario alla aumentata permeabilità capillare VEGF-dipendente¹¹³. In uno studio cinese non randomizzato, relativo a 21 pazienti ICAI, di cui 16 con ulcere trofiche, VEGF veicolato da plasmide a dosi variabili tra 400 e 2.000 microgrammi venne iniettato direttamente nell'arto ischemico, con ripetizione dell'iniezione intramuscolare dopo 28 giorni, al medesimo dosaggio¹¹⁴. L'efficacia del trattamento fu testimoniata clinicamente dalla guarigione o dal miglioramento delle ulcere nel 75% dei pazienti e dalla cessazione del dolore a riposo in 20/21 casi, mentre la neoformazione di vasi fu evidenziata tramite risonanza magnetica. In questo studio venne osservato l'effetto dose-dipendente della terapia e la assenza di eventi collaterali sfavorevoli, ad eccezione della comparsa di edema dell'arto sintomatico trattato¹¹⁴. Gli studi clinici che hanno utilizzato VEGF in ICAI sebbene promettenti, rimangono tuttavia aneddotici e non controllati ed, in generale, non possono essere trascurati i limiti alla utilizzazione clinica dei fattori vascolari di crescita, costituiti dalla possibilità di sviluppo di tumori preesistenti, dal peggioramento della retinopa-

tia diabetica, nonché dall'induzione di angiogenesi all'interno della placca aterosclerotica stabile, che potrebbe determinarne una pericolosa instabilità. Una più recente prospettiva terapeutica per la induzione della neoangiogenesi è derivata dalla utilizzazione delle cellule staminali del midollo osseo che, in studi sperimentali, hanno dimostrato di potersi differenziare in progenitori di cellule endoteliali (EPC), capaci di partecipazione a neoangiogenesi in tessuti ischemici, di secrezione di fattori di crescita, come i suddetti VEGF e FGF, di neoendotelizzazione della superficie luminale delle protesi vascolari, di differenziazione monocitaria e di rilascio di citochine, molecole di adesione e fattori di crescita vascolari^{115,116}. La superiorità dell'autotrapianto di cellule staminali, rispetto alla somministrazione di singoli fattori di crescita o di geni, consisterebbe, quindi, sia nell'evitare i rischi della terapia genica che nel vantaggio di poter usare elementi naturali. L'angiogenesi stimolata dalla terapia cellulare staminale, infatti, può essere stimolata o mediante impiego di tutta la popolazione midollare, o mediante utilizzo della sola frazione mononucleata midollare ossea comprendente, in particolare, cellule monocitoidi o linfocitoidi che sembrano contenere le EPC, od, infine, mediante una popolazione cellulare selezionata contenente le sole EPC. Nel trial giapponese TACT di Tateishi-Yuyama e collaboratori, randomizzato ed in doppio cieco, fu esplorata la possibilità di neoangiogenesi mediante innesto autologo di cellule midollari nell'arto sintomatico ICAI. Nello studio venne dimostrata, nel

gruppo trattato con cellule mononucleate, un miglioramento clinico, evidenziato dal salvataggio da amputazioni digitali in 15/20 casi, dal miglioramento delle ulcere trofiche in 6/10 casi e dalla remissione completa del dolore a riposo in 22 pazienti, mentre il miglioramento strumentale, rispetto ai controlli veniva testimoniato dall'incremento degli indici pressori, angiografici ed ossimetrici dell'arto ischemico¹¹⁷. Nello stesso studio l'inoculazione, in un sottogruppo ICAI, di cellule mononucleate del sangue periferico non ha dato i medesimi risultati positivi ottenuti con l'impiego delle cellule staminali midollari, contraddicendo in tal modo altri studi osservazionali che avevano utilizzato favorevolmente sia cellule mononucleate periferiche¹¹⁸ che i soli leucociti periferici¹¹⁹.

Commento

Alla luce dei pochi lavori clinici effettuati, si rileva la necessità di condurre studi ben controllati in grado di comprendere l'esatta efficacia del trattamento, i suoi meccanismi fisiopatologici e la durata nel tempo dei risultati ottenuti. In particolare, va definitivamente dimostrato, mediante end-points condivisi, che la neoangiogenesi ottenuta nel muscolo di ratto o coniglio, preventivamente ed acutamente ischemizzato, sia efficacemente ottenibile nell'arto ischemico del paziente ICAI in cui la presenza di infezioni locali, danni ossei, muscolari e neurologici possono determinare necessità di amputazioni, a prescindere dagli eventuali miglioramenti indotti dalle modifiche della perfusione locale dell'arto in ischemia critica.

Terapia con prostanoidi

Costituisce un dato ormai consolidato che i prostanoidi rappresentano attualmente i farmaci di prima scelta in ICAI inoperabile ed a rischio di perdita d'arto^{1,2,120}. Questi farmaci hanno dato luogo al più grande numero di studi su ICAI negli ultimi 15 anni e inizialmente hanno dato risultati spettacolari ed incoraggianti su casi clinici o su casistiche limitate, anche se studi controllati successivi hanno parzialmente mitigato l'ottimismo iniziale. La dissonanza rilevata tra i diversi risultati di letteratura può probabilmente essere spiegata con la maggiore o minore precocità con cui è stata formulata la diagnosi di ischemia critica, ed ancor più, con la eventuale conseguente tempestività di trattamento instaurato. Inoltre, dal momento che la potente azione terapeutica dei prostanoidi si svolge esclusivamente a livello microcircolatorio, appare intuitiva la considerazione che il loro impiego sia tanto più efficace, quanto più sia ancora efficiente la riserva microvascolare cutanea nell'arto sintomatico, od almeno che la stessa risulti deteriorata in misura non completamente irreversibile. I prostanoidi maggiormente usati sono stati la prostaciclina naturale (PGI₂), la prostaglandina (PGE₁) e la prostaciclina stabile di natura sintetica (iloprost).

Poiché la PGE₁ naturale, impiegata nei primi studi su ICAI, ha una emivita di pochi minuti, attualmente sono impiegati esclusivamente dei derivati di sintesi, come iloprost, ad azione prolungata, con i quali sono state realizzate in Europa le maggiori esperienze sull'ischi-

mia critica. Una meta-analisi di trials randomizzati e controllati *versus* placebo in pazienti al III e IV stadio di Fontaine trattati con farmaci diversi, tra cui anche i prostanoidi (Ancrod, Naftidrofuryl, PGI₂, PGE₁, iloprost) ha mostrato, in generale, una azione potenzialmente utile di tutti i farmaci esaminati sulla microcircolazione, riducendo il dolore a riposo ed accelerando la guarigione di ulcere trofiche, mentre, quando sono stati esaminati, come end-points finali, i tassi di amputazione maggiore e di mortalità, soltanto il trattamento con iloprost ha mostrato benefici statisticamente significativi¹²⁰.

PGE₁ (Alprostadi)

Impiegato nei primi studi clinici per via intra-arteriosa, per evitare la rapida inattivazione polmonare, successivamente è stato impiegato tramite accesso endovenoso in pazienti al III stadio di Fontaine o confrontato con pentossifillina, che tuttavia non può essere considerata una terapia attiva di riferimento¹²¹.

Nello studio randomizzato controllato, in aperto, di Alstated e collaboratori, relativo a 228 pazienti con ulcere trofiche, con e senza diabete mellito, PGE₁, confrontata con iloprost, mostrò una responsività complessiva al trattamento, intesa come assenza di dolore ischemico e guarigione di ulcere, di grado minore (43.1% *vs* 52.7%). La risposta in ICAI trattata con iloprost risultò analoga nei sottogruppi costituiti da soggetti diabetici e non diabetici (53% *vs* 51%), mentre in ICAI sottoposta a PGE₁ la responsività dei diabetici, rispetto ai non diabetici, apparve significativamente minore (36%

vs 53%). Nel follow-up a sei mesi il tasso di pazienti vivi e con arto integro risultò uguale (62%) nei due gruppi, mentre nel gruppo trattato con PGE1 il tasso di amputazione fu lievemente minore (27% vs 32%), ma nettamente più alto quello di mortalità (14.6% vs 7,5%)¹²². Lo studio italiano ICAI multicentrico^{62,123}, controllato e randomizzato, condotto in aperto, di particolare rilevanza per la numerosità del campione (1.560 pazienti ICAI trattati con Alprostadil o con terapia convenzionale per un periodo massimo di 28 giorni) prevede, come end-points finali, la combinazione di sovraggiunti gravi eventi cardiovascolari, quali mortalità, amputazioni maggiori, infarto del miocardio, ictus e persistenza di ischemia critica, valutati sia al momento della dimissione ospedaliera che durante il successivo follow-up a sei mesi. Lo studio dimostrò come la terapia con Alprostadil avesse significativamente ridotto la incidenza di eventi cardiovascolari, al momento della dimissione ospedaliera, rispetto al gruppo di controllo (63.9% vs 73.6%, rispettivamente, con rischio relativo di 0.87, $p < 0.001$), anche se tale beneficio tendeva ad annullarsi nel corso del rimanente follow-up a sei mesi (52.6% vs 57.5%, rispettivamente, con rischio relativo di 0.92, $p < 0.074$). Anche in questo lavoro, come negli altri citati, sono, però, mancate le indicazioni relative al trattamento dei soggetti con ICAI persistente ed al loro successivo destino.

Iloprost

Costituisce l'analogo stabile di sintesi della prostaciclina PG12, con potente azione antiaggregante piastrinica *in vitro* (me-

diata dall'attivazione della adenilciclasi, con conseguente aumento di formazione di AMPc intrapiastrinico) e di marcata azione vasodilatante, prevalente sul distretto arterioso, da attribuire in gran parte all'aumento dei livelli di AMPc nelle cellule muscolari lisce vasali ed in parte ad altri meccanismi, quali la riduzione della risposta vasocostrittrice al trombossano A2 e l'interazione con la neurotrasmissione simpatica, sia pre- che post-sinaptica, della muscolatura liscia vasale¹²⁴. Recenti lavori sperimentali su modello corneale murino, inoltre, dimostrano *in vivo* il ruolo angiogenetico di iloprost, mediato dalla induzione del fattore di crescita vascolare endoteliale (e fortemente ridotto dalla inibizione di VEGF) e modulato dalla attivazione specifica di recettori localizzati nel nucleo cellulare¹²⁵. L'utilizzazione nella pratica clinica di iloprost nei pazienti ICAI parte, pertanto, dall'ipotesi che la sua azione a livello microcircolatorio blocchi l'interazione tra piastrine ed endotelio danneggiato, determinando il miglioramento del flusso ematico ed il ripristino dell'equilibrio fisiologico tra prostanoidei endogeni, soprattutto prostaciclina, e trombossano. L'efficacia di iloprost agli inizi degli anni '90 fu valutata in 6 studi prospettici, multicentrici, randomizzati ed in doppio cieco, condotti in diversi Paesi europei ed effettuati su un totale di 705 pazienti ICAI, al III e IV stadio di Fontaine, non rivascularizzabili chirurgicamente: il farmaco fu somministrato al dosaggio di 0.5-2 ng/Kg/min per 6 ore consecutive, per un ciclo di terapia variato da due a quattro settimane consecutive¹²⁰. La meta-analisi dei risultati dei

6 studi¹²⁶⁻¹²⁸ sostanziosamente dimostrò una significativa percentuale di responders ad iloprost, confrontati con quelli trattati convenzionalmente (51.5% *versus* 29.1%), mostrando una significativa riduzione del dolore ischemico (odds ratio=1.58) ed un incremento di guarigione delle ulcere trofiche di almeno il 30% (odds ratio=2.48)¹²⁰. La meta-analisi, inoltre, di tre studi con follow-up completato a tre (studio francese) e sei mesi (studi inglese e svedese) mostrò una significativa riduzione del tasso di amputazione a favore di iloprost ($p < .001$)¹²⁶⁻¹²⁸. La combinazione dei tassi di amputazioni maggiori e di mortalità nei due studi con follow-up a 6 mesi evidenziò, inoltre, una significativa riduzione della prevalenza nel gruppo trattato con iloprost (35%; $n=45/130$), rispetto a quello trattato con placebo (55%; $n=68/124$), dimostrando come in ogni paziente ICAI l'uso di iloprost fosse significativamente associato ($p < .001$) ad una più elevata probabilità di rimanere vivi, e con i propri arti ancora integri¹²⁰. La efficacia di iloprost, ripetutamente dimostrata negli studi su ICAI dei primi anni '90, indusse gli Autori ad abbandonare per motivi etici l'uso del placebo negli studi effettuati negli anni successivi, limitando il confronto alla terapia medica convenzionale od ad altra classe di prostanoidei, come PGE1, oppure misurando la efficacia e la tollerabilità di iloprost in aperto, con valutazione nel follow-up a distanza di end-points importanti, come tassi di amputazione maggiore, di mortalità e di complicanze cardiovascolari. Uno studio multicentrico italiano (GISAP Study)¹²⁹ del 1994, effettuato su 146 ICAI

trattati per 3-8 settimane alla dose massima tollerata di 2 ng/Kg/min per 6 ore consecutive mostrò, invece, ad un anno di follow-up, tassi sensibilmente inferiori, sia di amputazioni, maggiori e minori (19.9%), che di mortalità (6.8%), concentrati principalmente entro un mese dal trattamento, in misura di due terzi, sul totale delle amputazioni e, di circa metà, sul totale dei decessi. Nel GISAP, inoltre, la distribuzione degli eventi risultò ben bilanciata tra pazienti diabetici e non, con un tasso di amputazione significativamente più elevato al IV stadio (26%) rispetto al III (6.5%)¹²⁹.

A differenza dello studio italiano, in cui dopo un anno oltre 80% dei pazienti ICAI rimase vivo e con arti integri, i dati riportati dalla Consensus Europea sull'ischemia critica avevano mostrato, dopo un anno, rispettivamente, una percentuale di sopravvissuti con arti ancora integri nel solo 55% dei casi, associati ad un altro 25% di amputazioni maggiori ed un rimanente 20% di exitus¹². Nel confronto con PGE1, effettuato dallo studio tedesco del 1993 di Alstaedt e collaboratori, e precedentemente summenzionato, il sottogruppo di pazienti ICAI, di natura diabetica, trattato con ilprost, dimostrò una percentuale di responders significativamente più elevata di quelli trattati con alprostadil (53% *versus* 36,6%, $p < 0.05$)¹²². Un altro studio tedesco, in aperto, relativo a 900 pazienti al III e IV stadio di Fontaine e condotto nel 1996 da Staben e Albring, dimostrò come l'efficacia del trattamento con prostanoïdi risulti tanto maggiore quanto minore sia la compromissione microcircolatoria, espressa dallo stadio clinico di

appartenenza dei pazienti: infatti, la percentuale di responders risultò complessivamente di 66%, negli appartenenti allo stadio III, e di 41.8% nello stadio IV di Fontaine, mentre nel sottogruppo di ICAI diabetica le percentuali furono rispettivamente di 75.9% e di 44.6% al III e IV stadio, con una efficacia, quindi, del trattamento con ilprost sostanzialmente sovrapponibile, sia nei soggetti non diabetici che diabetici¹³⁰. Un ulteriore studio tedesco¹³¹ (DAWID Study Group) di 302 pazienti ICAI, suddivisi in quattro sottogruppi, sottoposti, rispettivamente, a dosaggi crescenti di ilprost (25, 50, 100 e 200 microgrammi/die per quattro settimane), dimostrò, invece, come la responsività alla terapia, documentata da scomparsa di dolore a riposo e miglioramento di lesioni trofiche, ed attestatasi complessivamente tra 48.7% e 53.5%, non fosse dose-dipendente, e come il dosaggio ridotto a 50 microgrammi avesse la stessa efficacia di quello massimo titrabile, con il non indifferente vantaggio di ridurre sensibilmente gli effetti collaterali del farmaco dovuti alla vasodilatazione. Nello studio francese di Duthois e collaboratori¹³², effettuato nel 2000, infine, 90 ICAI furono trattati con ilprost per 28 giorni consecutivi e la responsività alla terapia (intesa come riduzione sensibile o scomparsa di dolore ischemico, riduzione di lesioni trofiche ed incremento del percorso di marcia) risultò di 47%, mentre dopo sei mesi, uno e due anni di follow-up il tasso di mortalità fu rispettivamente di 11%, 20% e 25%, quello di amputazioni maggiori fu di 27%, 30% e 32%, con una percentuale complessivamente

decrecente di pazienti vivi e con arti integri, da 68% a 62% a 56% nei periodi sovraindicati. Anche in questo studio non si evidenziarono differenze significative, a sei mesi, tra ICAI diabetici e ICAI non diabetici in relazione, rispettivamente, a tassi di mortalità (12% *vs* 10%), di amputazioni maggiori (23% *vs* 35%) od a percentuale complessiva di pazienti vivi e con arti integri (70% *vs* 65%)¹³². Lo studio francese, che utilizzò in 66/90 pazienti ICAI la ossimetria transcutanea come indice predittivo, dimostrò come, dopo terapia con ilprost per 28 giorni, la tensione parziale di O₂ in posizione supina/declive si fosse incrementata, significativamente, nei responders passando, mediamente da 6/34 mmHg a 26/42 mmHg, mentre rimase pressoché imm modificata nei non responders, passando da 5/29 a 13/28 mmHg¹³².

Commento

La terapia medica con prostanoïdi deve essere considerata il trattamento di elezione nei pazienti con rischio di perdita d'arto, in cui le procedure di rivascolarizzazione risultino impossibili, abbiano poca possibilità di successo o siano precedentemente fallite e, in particolare, quando l'unica alternativa sia l'amputazione. Per sfruttare a fondo la grande potenzialità di questi farmaci, occorre tuttavia sollecitarne l'impiego soprattutto nelle fasi iniziali della ischemia critica (dolore a riposo, lesioni trofiche limitate) o nei casi in cui ICAI risulti non immediatamente rivascolarizzabile (per le scarse possibilità di successo dell'intervento di riabilitazione vascolare, per le scadute condizioni generali e/o l'età

avanzata del paziente o comunque nelle situazioni in cui le procedure chirurgiche e/o endovascolari possano essere procrastinate senza ulteriori danni per il paziente).

Casistica personale

La quasi totalità degli studi con i prostanoïdi è basata esclusivamente su dati clinici e ciò può aver condizionato risultati contraddittori formulati su valutazioni soggettive talora divergenti. Per superare queste limitazioni, nel nostro laboratorio vascolare viene abitualmente effettuato lo studio del microcircolo cutaneo dell'arto ischemico mediante misurazioni transcutanee delle pressioni parziali di ossigeno ed anidride carbonica, della flussimetria laser-Doppler e della videocapillaroscopia a sonda ottica⁶⁵.

In un nostro primo studio effettuato nel 1995¹³³ su una piccola casistica di 8 pazienti (7 maschi, età media di 66 anni, range 46-86 anni, 1 diabetico, 87% al IV stadio di Fontaine) affetti da ICAI non immediatamente rivascolarizzabile, e perciò trattati, nel tentativo di salvataggio d'arto, con ilprost, al dosaggio di 1.6 ng/kg/min per 6 ore/die e per 28 giorni consecutivi, fu enfatizzata la importanza di utilizzare la misurazione della tensione transcutanea di O₂ e CO₂, effettuata bilateralmente all'avampiede, sia in posizione supina che declive, previo riscaldamento della sonda termostata a 44° C, nel monitoraggio dei pazienti. La risposta clinica al trattamento, nel follow-up a breve termine, fu giudicata favorevole in presenza di completa scomparsa del dolore ischemico, di cessazione asso-

luta dell'uso degli analgesici od oppiacei¹³⁴ e di parziale guarigione delle lesioni trofiche distali. Tre pazienti risultarono responders (R, 38%): due di essi avevano in precedenza effettuato, senza esito, simpaticolisi percutanea fenolica, mentre nei rimanenti cinque non responders (NR, 62%), tre arteriopatici erano stati già sottoposti inutilmente a simpaticolisi percutanea fenolica e due ad elettrostimolazione midollare epidurale cronica (SCS). Nel follow-up a tre mesi, si registrarono un decesso e due tentativi estremi di rivascolarizzazione chirurgica, di cui uno fallito e gravato di una amputazione maggiore ed uno seguito da exitus, nei mesi successivi (figura 3).

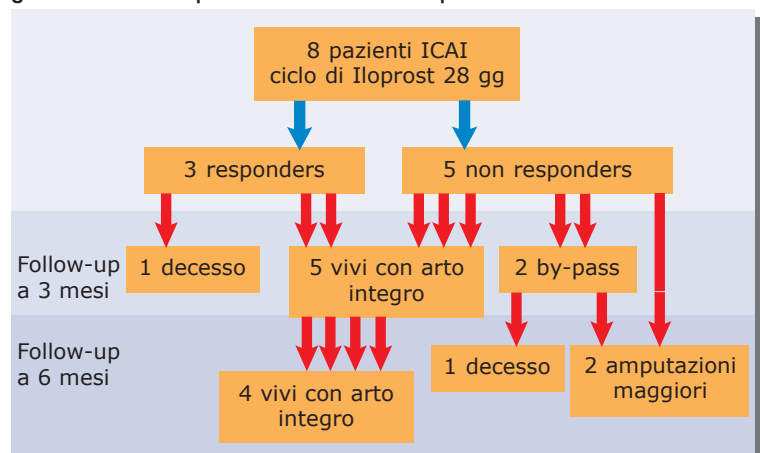
Nel follow-up a sei mesi, solo il 50% dei pazienti ICAI della nostra casistica risultò ancora vivente e con arto integro, mentre furono parimente elevati sia il tasso di amputazione maggiore (25%) che quello di mortalità (25%) (figura 3). Nel follow-up a 12 mesi tali percentuali risultarono invariate.

La riconsiderazione da parte dei chirurghi vascolari di effettuare un tentativo estremo di

rivascolarizzazione chirurgica, precedentemente escluso dopo indagine angiografica, non deve essere considerato contraddittorio, dal momento che le Linee Guida internazionali consigliano il ricorso alla terapia farmacologica con prostanoïdi, quando gli interventi di chirurgia ricostruttiva e/o endovascolare risultino impossibili, abbiano poca possibilità di successo o siano precedentemente falliti¹². Ulteriori autorevoli indicazioni suggeriscono, inoltre, che la terapia con prostanoïdi possa essere effettuata anche quando il disegno sperimentale dello studio assicura che, nei pazienti ICAI eventualmente eleggibili per la chirurgia ricostruttiva, l'eventuale tentativo farmacologico con prostanoïdi non ritardi o ritardi eccessivamente l'intervento ricostruttivo e/o endovascolare, compromettendone l'esito¹³⁴.

Dal punto di vista strumentale microcircolatorio, la TCpO₂ supina mostrò complessivamente un andamento erratico al piede sintomatico, incrementandosi però significativamente, dopo terapia con ilprost, nei tre R (passati da valori ba-

Figura 3. Follow-up a 6 mesi di 8 pazienti con ischemia critica degli arti inferiori, non immediatamente rivascolarizzabile, trattati con singolo ciclo di terapia infusione con ilprost.

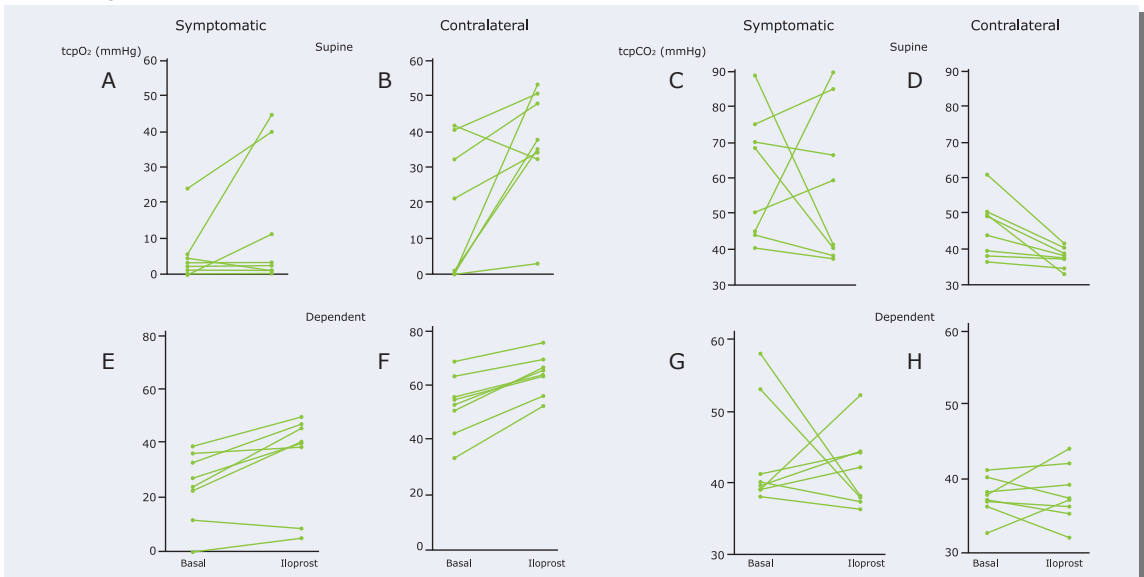


sali di 0, 3 e 24 mmHg a quelli finali di 11, 45 e 50 mmHg, rispettivamente) e rimanendo, invece, pressoché invariata nei restanti 5 NR (figura 4A). In posizione ortostatica, viceversa, i livelli di TCpO₂ si incrementarono significativamente (p<.02) in tutti i pazienti dopo trattamento con iloprost (figura 4E). La TCpCO₂ supina al piede sintomatico dei tre responders mostrò un netto decremento dopo iloprost, passando dai valori basali di 99, 44 e 40 mmHg a quelli finali, para-fisiologici di 41, 38 e 37 mmHg, rispettivamente, correlandosi così inversamente con il corrispondente e significativo incremento ossimetrico supino/declive (figura 4C). Viceversa, nei 5 NR, TCpCO₂ supina post-trattamento risultò immodificata od addirittura peggiorò incrementandosi ulteriormente, in parallelo ad una corrispondente TCpO₂, risultata sovrapponibile a zero mmHg, e rimasta largamente immodificata dopo iloprost (figura 4C). La misurazione di

TCpO₂ e TCpCO₂, all'avampiede dell'arto controlaterale, documentò, in tutti gli 8 pazienti, significativi (p<.02) e paralleli incrementi ossimetrici e decrementi capnometrici, sia in posizione supina che declive, confermando, attraverso la dimostrazione indiretta della efficacia di iloprost anche in tale sede, il suo effetto sistemico, senza alcun fenomeno di emostorno dal lato sintomatico (figura 4B,D,F,H). L'andamento dei parametri gasanalitici transcutanei, valutati bilateralmente al piede dei pazienti, pertanto, configura un modello sperimentale, costituito da un arto sintomatico, in gravissima ischemia critica, ed uno controlaterale, corrispondente ad uno stadio meno severo di ICAI, confermando, peraltro, chiaramente come la terapia farmacologica con prostanoïdi risulti tanto più efficace, quanto più precocemente venga instaurato il relativo trattamento, dopo la formulazione diagnostica di ICAI non immediatamente ri-

vascularizzabile. Nella nostra casistica, infatti, il successo terapeutico si è realizzato nella totalità degli arti ICAI controlaterali, in cui la compromissione limitata e reversibile del metabolismo microcircolatorio locale ha corrisposto a stadi clinici di ICAI meno severa. Al piede sintomatico, invece, dei responders, la riserva microvascolare cutanea è risultata parzialmente esaurita, permettendo sul piano clinico la scomparsa di dolore a riposo e la lenta guarigione di lesioni trofiche. Specularmente, l'insuccesso registrato all'arto sintomatico dei non responders è stato conseguenza, con tutta probabilità, di una condizione molto più avanzata di ischemia critica, in cui la suddetta riserva microvascolare è risultata irreversibilmente esaurita. Le inevitabili e gravissime conseguenze di ciò si sono tradotte, sul piano metabolico, nella persistenza di marcata ischemia ipossica, associata a grave acidosi tissutale locale (al piede

Figura 4. Misurazioni tensiometriche transcutanee di O₂ e CO₂ effettuate prima e dopo trattamento con iloprost, in posizione clino-ortostatica, all'avampiede sintomatico e controlaterale di 8 pazienti con ischemia critica degli arti inferiori, non immediatamente rivascularizzabile.



sintomatico) e sul piano clinico, da un quadro sintomatologico con persistenza di dolore a riposo, peggioramento ed estensione di lesioni trofiche e gangrena, che in alcuni casi hanno obbligato alla demolizione chirurgica.

Un nostro lavoro successivo è stato invece focalizzato sulla individuazione di un eventuale iter diagnostico-terapeutico, di tipo intensivo, da adattare al singolo paziente e da sviluppare, nel management farmacologico di ICAI non immediatamente rivascolarizzabile, nel follow-up a lungo termine, cercando di definire più precisamente la posologia, la durata e la periodicità dei cicli di terapia con prostanoidi²⁸. Ventisei pazienti ICAI consecutivi (21 con presenza di lesioni trofiche distali, 31 arti sintomatici, 15 maschi, età media di 75.9 anni, range 59-84), portatori di diabete mellito di tipo II, complicato nella maggior parte dei casi da neuropatia periferica e giudicati inoperabili dopo angiografia periferica, furono sottoposti, in regime di ricovero

ordinario o di Day Hospital, a cicli di terapia, per periodi di due-tre settimane, mediante infusione giornaliera di iloprost (mediana di 1.2 ng/kg/min ev, per 6-10 ore consecutive die)²⁸. I pazienti furono sottoposti a valutazioni cliniche e microcircolatorie (mediante tensiometria transcutanea di O₂ e CO₂ degli arti inferiori) effettuate in condizioni basali, alla fine del ciclo di terapia con iloprost, dopo tre, sei, dodici, diciotto e ventiquattro mesi di follow-up. Anche in questo studio fu considerata risposta favorevole al trattamento la associazione di un marcato miglioramento clinico (completa remissione del dolore ischemico e cessazione della terapia analgica, progressiva guarigione delle lesioni trofiche, eventuale incremento di autonomia di marcia) con quello microcircolatorio, espresso dal significativo incremento dei parametri tensiometrici di O₂ in clino/orto-statismo e dal ripristino di valori fisiologici di CO₂ in clinostatismo (figura 5). Sul piano clinico, dopo un pri-

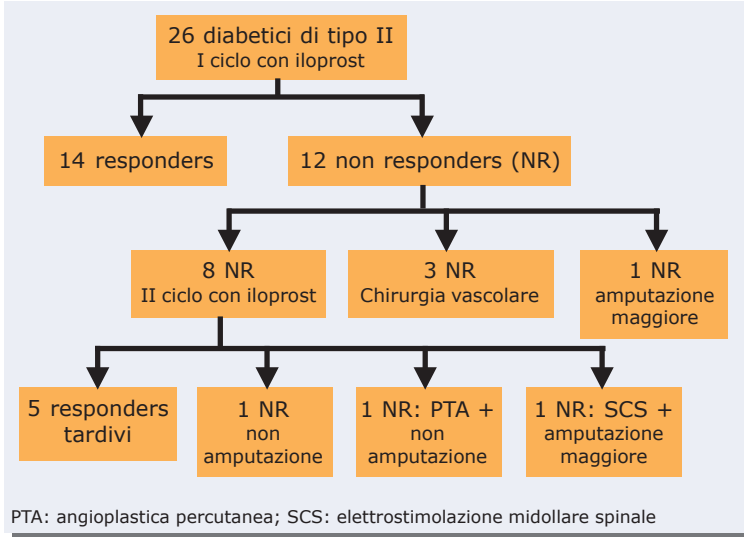
mo ciclo di terapia con iloprost, 14 pazienti (54%) risultarono responders ed i rimanenti dodici (46%) furono giudicati non responders (figura 6). Dopo conferma, nel corso del follow-up, del buon andamento clinico e strumentale dell'arteriopatia diabetica, i 14 responders furono invitati ad effettuare un nuovo ciclo di terapia con prostanoidi per la durata di almeno due settimane, una volta all'anno, a partire dall'anno successivo al primo trattamento (figura 6). L'evoluzione clinica dei rimanenti 12 (46%) NR risultò molto diversificata, dal momento che tre pazienti (12%) furono riconsiderati, nei mesi successivi, per chirurgia riabilitativa dell'arto sintomatico, nel tentativo estremo di salvataggio d'arto, uno (4%) subì una amputazione maggiore, non più evitabile, mentre gli otto pazienti rimanenti (30%) effettuarono, nel giro di tre mesi, un nuovo ciclo di terapia con iloprost, per dosaggio (1.2 ng/kg/min ev) e durata (media di due settimane), analogo al pri-

Figura 5. Andamento clinico (guarigione della lesione trofica, presente al quinto dito del piede sintomatico) e microcircolatorio di paziente con ischemia critica degli arti inferiori, non immediatamente rivascolarizzabile ed affetto da Eritremia Essenziale, trattato con singolo ciclo di iloprost effettuato per 15 giorni consecutivi. Le valutazioni tensiometriche transcutanee di O₂ e CO₂ all'avampiede sintomatico sono state effettuate in clino/ortostatismo prima e dopo terapia con iloprost e nel follow-up a tre, sei, dodici e ventiquattro mesi, rispettivamente.



Avampiede destro	Basale	Post-terapia	Follow-up 3 mesi	Follow-up 6 mesi	Follow-up 12 mesi	Follow-up 24 mesi
TCpO ₂ supino/declive	0/25 mmHg	25/41 mmHg	35/49 mmHg	42/52 mmHg	42/60 mmHg	51/56 mmHg
TCpCO ₂ supino/declive	53/40 mmHg	40/39 mmHg	40/39 mmHg	39/38 mmHg	38/35 mmHg	36/35 mmHg

Figura 6. Follow-up a 6 mesi di 26 diabetici in ischemia critica degli arti inferiori, non immediatamente rivascularizzabili, trattati con uno o due cicli di terapia infusione con ilprost.

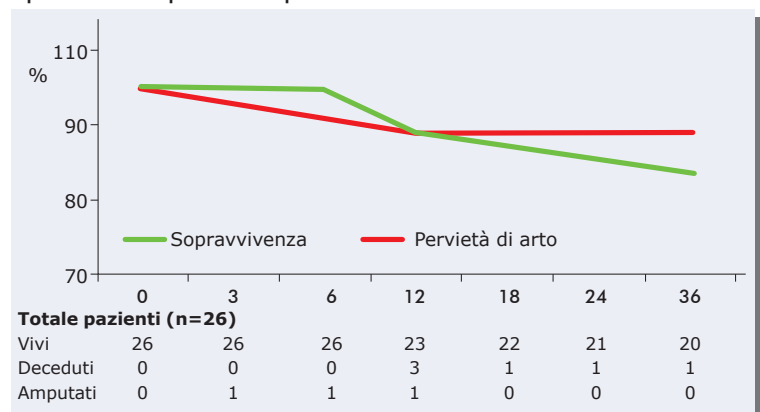


mo trattamento. Cinque degli 8 pazienti sottoposti a secondo ciclo di ilprost mostrarono, seppur più tardivamente, una risposta favorevole alla terapia (Late Responders, LR), elevando così la percentuale complessiva dei responders da un iniziale 54% fino a 73% a sei mesi. Degli altri tre pazienti trattati secondariamente con ilprost, uno subì un'amputazione maggiore per infezione osteomielitica del calcagno sintomatico, nonostante il cospicuo miglioramento della perfusione locale indotto dall'elettrostimolatore midollare spinale (SCS), impiantato dopo ilprost; un'altra paziente fu sottoposta ad angioplastica distale bilaterale, che permise di limitare l'amputazione ad un solo dito del piede più compromesso e l'ultima proseguì a tempo indefinito la terapia medica con oppiacei ed antidolorifici, conservando però a distanza di 24 mesi l'integrità dell'arto ischemico (figura 6). Nel follow-up a 6 mesi, dei diabetici ICAI, si registrarono due amputazioni maggiori (6.5% su

31 arti sintomatici) ma non si registrò alcun decesso e quindi, a tale data, si documentò complessivamente un tasso di sopravvivenza del 100% (73% di responders e 27% di NR) (figura 7). Nel follow-up a 12 mesi, invece, il tasso complessivo di mortalità fu di 11% (n=3 pazienti, di cui una precedentemente amputata) per cause cardiovascolari, mentre vi furono tre amputazioni maggiori (9.7% su 31 arti) ed una minore (limitata ad un dito) in una paziente preceden-

temente sottoposta con successo ad angioplastica distale. Entro un anno, pertanto, i pazienti ICAI, ancora vivi e con arto integro, costituirono una percentuale complessiva di 80.7% (n=21/26) rispetto alla casistica iniziale (figura 7). Nel corso del secondo anno di follow-up, infine, l'osservazione clinica documentò un tasso complessivo di mortalità (per cause cardiovascolari) rispettivamente di 15.3% e 19.2%, a 18 e 24 mesi, mentre la percentuale di soggetti amputati rimase invariata (9.7% su 31 arti, 11.5% del totale dei pazienti) e non furono praticate ulteriori rivascularizzazioni o terapie antidolorifiche aggiuntive. In conclusione, i pazienti, ancora vivi e con arto integro, costituirono una percentuale complessiva di 77% (n=20/26) a 18 mesi e di 73% (19/26) a 24 mesi, rispetto alla casistica totale iniziale (figura 7). La notevole gravità di ICAI diabetica della nostra casistica venne documentata sul piano strumentale microcircolatorio, sia dalla marcata riduzione della TCpO₂ in clino/ortostatismo, che dal discreto incremento ortostatico di TCpCO₂ al piede sintomatico (tabella 5).

Figura 7. Tassi di sopravvivenza e di pervietà di arto nel follow-up a lungo termine (36 mesi) di 26 diabetici con ischemia critica degli arti inferiori, non immediatamente rivascularizzabile e sottoposti a cicli ripetuti di terapia con ilprost.



In condizioni basali, infatti, la TCpO₂ supina mostrò valori ossimetrici inferiori a 5 mmHg nel 55% dei casi e la TCpO₂ declive risultò inferiore a 30 mmHg nel 52% dei pazienti, mentre la TCpCO₂ in clinostatismo fu superiore a 50 mmHg in oltre un terzo (35%) dei pazienti (tabella 5).

Il dato strumentale microcircolatorio ossi-capnometrico risultò ben correlato con la suddivisione clinica dei pazienti (in responders e non responders), a seconda della efficacia del primo ciclo di trattamento con iloprost. Dal punto di vista microcircolatorio, infatti, la risposta (favorevole o sfavorevole) dopo primo ciclo di iloprost fu stratificata mediante tertili di TCpO₂ (<1 mmHg, tra 1 e 23 mmHg e >23 mmHg) e di TCpCO₂ (<40 mmHg, tra 40 e 53 mmHg e >53 mmHg), mentre mediante likelihood ratio fu quantificato il potere predittivo positivo (percentuale di successi diviso percentuale di fallimenti) o negativo (per-

centuale di fallimenti diviso percentuale di successi) di questi due parametri. La suddivisione in tertili fu usata per la mancanza di riferimenti bibliografici circa la definizione di parametri normali di TCpCO₂ che fossero di utilità pratica nella categorizzazione diagnostica e nella predittività prognostica dei pazienti ICAI¹³⁵. Negli ICAI più compromessi (tertile di TCpCO₂ >53 mmHg e di TCpO₂ <1 mmHg) le rispettive likelihood ratio hanno corrisposto, rispettivamente a 10.7 e 3.3 mentre, viceversa, nei diabetici ICAI meno gravi (tertile di TCpO₂ >23 mmHg e di TCpCO₂ <40 mmHg) le rispettive likelihood ratio corrisposero in modo inverso, rispettivamente a 17.8 e 3.8. Dal momento che soltanto quando la likelihood ratio supera 10 (oppure <0.1), tale parametro è in grado di modificare le attitudini diagnostico-terapeutiche consolidate, si evince come la predittività negativa (di insuc-

cesso del trattamento con iloprost) sia stata espressa molto più efficacemente dall'incremento di TCpCO₂ al di sopra di 53 mmHg (10/11 arti) piuttosto che dalla riduzione di TCpO₂ al di sotto di 1 mmHg (10/13 arti).

Al contrario, la predittività positiva (del successo della terapia) è stata espressa molto più validamente da misure di TCpO₂ superiori a 23 mmHg (9/9 arti) di quanto abbia contribuito la TCpCO₂ inferiore a 40 mmHg (8/10 arti), con un indubbio vantaggio clinico derivante dalla possibilità di più precise stratificazioni prognostiche e di più razionali strategie terapeutiche¹³⁵. La ulteriore suddivisione clinica dei pazienti non responders²⁸, dopo un secondo ciclo di iloprost, effettuato entro pochi mesi di distanza dal primo, nei due sottogruppi di responders tardivi e definitivi non responders, inoltre, risultò correlato con i rispettivi, parziali od assenti, miglioramenti dei parametri

Tabella 5. Distribuzione dei valori tensiometrici medi di O₂ e CO₂ rilevati basalmente all'avampiede sintomatico (n=31 arti) di 26 diabetici con ischemia critica degli arti inferiori non immediatamente rivascularizzabile. I valori sono rapportati all'esito clinico del follow-up a sei mesi dopo trattamento con uno o due cicli infusionali con iloprost.

	Pazienti n=26 (Arti=31)		Responders n=14 (Arti=16)		Responders tardivi n=5 (Arti=6)		Non Responders n=7 (Arti=9)		
	mmHg	N	%	N	%	N	%	N	%
TCpO₂ Supina	< 5	16	52	3	19	5	83	8	89
	6-20	4	13	3	19	1	17	0	-
	21-30	9	29	8	50	0	-	1	11
	>31	2	6	2	12	0	-	0	-
TCpO₂ Declive	<10	5	16	2	12	0	-	3	33
	11-20	4	13	0	-	2	33	2	23
	21-30	8	26	4	26	1	17	3	33
	31-40	3	10	2	12	1	17	0	-
>41	11	35	8	50	2	33	1	11	
TCpCO₂ Supina	<40	17	55	14	88	1	16	3	33
	41-50	3	10	1	6	1	16	0	-
	51-60	5	16	1	6	3	50	1	11
	>61	6	19	0	-	1	17	5	56

Tabella 6. Distribuzione dei valori tensiometrici medi di O₂ e CO₂ nei pazienti con ischemia critica degli arti inferiori, non immediatamente rivascolarizzabile, metabolicamente più compromessi, rilevati prima e dopo unico ciclo di terapia con ilprost e suddivisi in base alla risposta clinica nel follow-up a 6 mesi.

	Pazienti		TCpO ₂		TCpO ₂		TCpCO ₂	
	n=26	AS n=31	Supina <5 mmHg		Declive <30 mmHg		Supina >50 mmHg	
			Basale	Post-terapia	Basale	Post-terapia	Basale	Post-terapia
Responders	14	16	25%	0%	38%	6%	6%	0%
Responders tardivi	5	6	83%	66%	50%	66%	67%	33%
Non responders	7	9	89%	89%	78%	78%	67%	67%

AS: Arti sintomatici

tensiometrici indicativi della gravità di ICAI, già dopo il primo ciclo di prostanoidei (tabella 6). Il miglioramento degli indici metabolici più severamente compromessi (TCpO₂ supina <5 mmHg, TCpO₂ declive <30 mmHg e TCpCO₂ supina >50 mmHg), infatti, fu osservato solo parzialmente in LR, ma risultò completamente assente in NR, dopo il primo ciclo di ilprost (tabella 6).

Considerazioni

Nel confronto tra i nostri due lavori si evidenzia come i migliori risultati siano stati ottenuti nel secondo (54% di responders *vs* 38%, p=.01), in cui i pazienti ICAI, pur essendo più anziani (media 75.6 anni *vs* 65.9, p=.01) e più compromes-

si (81% di appartenenti al IV stadio *vs* 75%, p=NS), usufruirono, paradossalmente, di un trattamento con ilprost più efficace, effettuato per un periodo temporale più breve (14.1 gg *vs* 28 gg, p=.001) ed a dosaggi ridotti (1.2 ng/kg/min *vs* 1.6 ng/kg/min, p=.01) (tabella 7). A nostro avviso, tale paradosso trova possibile spiegazione in una sopravvenuta maggior precocità di diagnosi microcircolatoria, che ha consentito la tempestiva intercettazione di ICAI in una fase in cui l'arteriopatia mostrava una riserva microvascolare meno compromessa e perciò teoricamente più reattiva a ilprost, come viene evidenziato dalla presenza di parametri metabolici ossi-capnometrici

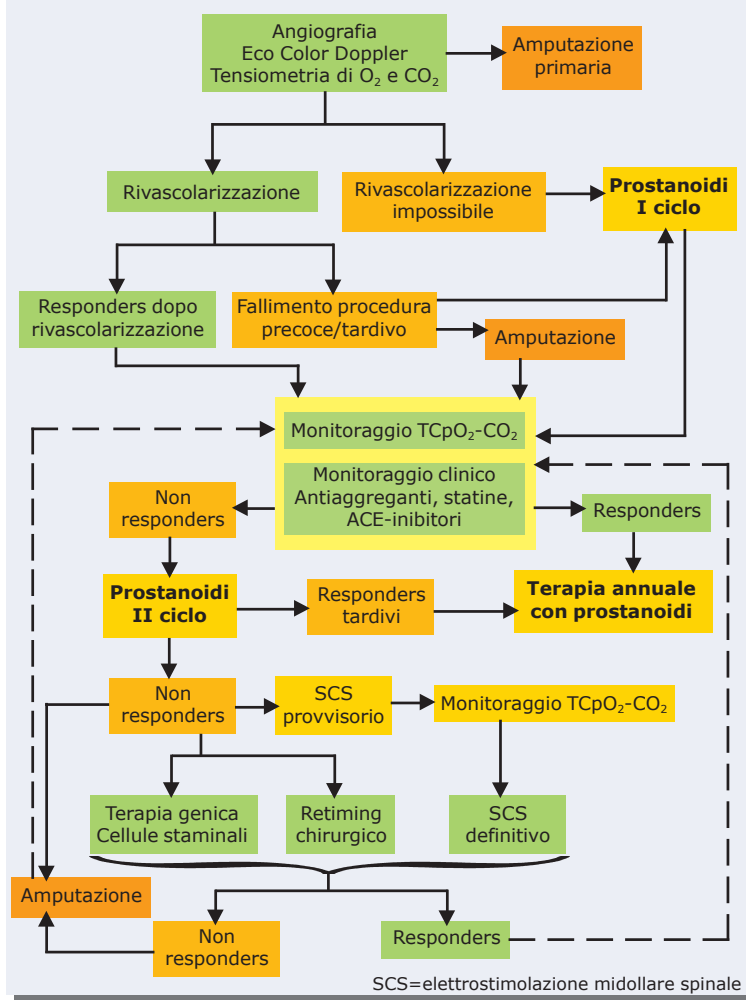
più gravi (TCpO₂ supina <5 mmHg, TCpO₂ declive <30 mmHg e TCpCO₂ supina >50 mmHg) che costituivano rispettivamente 87%, 62% e 50% nel primo studio contro 55%, 52% e 35% nel secondo (p=.01) (tabella 7).

Un altro importante punto da sottolineare, comunque è costituito dalla assoluta carenza di Linee Guide internazionali, che indichino il percorso diagnostico-terapeutico da seguire nel management del paziente ICAI, non solo nell'osservazione a breve termine, ma anche, e soprattutto, nel follow-up a lungo termine. E' presumibile infatti congetturare che, data la brevità della emivita di ilprost, che viene inattivato al primo passaggio

Tabella 7. Caratteristiche demografiche e valutazioni microcircolatorie basali di 2 gruppi di pazienti con ischemia critica degli arti inferiori, non immediatamente rivascolarizzabile, confrontati con risposta clinica a singolo ciclo di terapia con ilprost.

	I studio ¹³⁴ (n=8)	II studio ²⁸ (n=26)	p
Età (media anni)	65.9	75.7	.01
Sesso (% maschi)	87%	58%	< .05
•Diabete mellito (%)	12%	100%	.001
•Classe IV di Fontaine (%)	75%	81%	ns
•TCpO ₂ supina (<5 mmHg)	87%	52%	.01
•TCpO ₂ declive (<30 mmHg)	62%	55%	ns
•TCpCO ₂ supina (>50 mmHg)	50%	35%	< .05
Terapia ilprost			
- media durata (gg)	28	14.1	.001
- medio dosaggio (ng/kg/min)	1.6	1.2	.01
- regime ricoveriale	ordinario	ordinario/DH	
Responders (I ciclo) (%)	37%	54%	.01

Figura 8. Algoritmo diagnostico terapeutico dell'ischemia critica degli arti inferiori.



gico che non, a ritornare dallo stadio clinico di claudicatio a quello di ischemia critica, con la conseguente riproposizione di una nuova fase di rischio elevato di perdita d'arto (figura 8).

La necessità di trattamenti infusionali con ilprost, uni o pluri-annuali ripetuti è, peraltro, suggerita dalla osservazione dell'andamento emogasanalitico transcutaneo di O₂ e CO₂ osservato al piede sintomatico dei soggetti R, LR e NR nel corso del primo anno di follow-up (figura 9 e figura 10). In base a tale andamento, si può infatti ipotizzare che l'effetto favorevole del trattamento con ilprost, quando si manifesta, non si esaurisca al solo periodo temporale di terapia infusionale, come ritenuto in passato, ma che prosegua anche nei primi mesi successivi alla terapia stessa. Nei soggetti responders, infatti, gli effetti favorevoli di ilprost sul metabolismo locale dell'arto ischemico, espressi dall'incremento significativo di ossigeno all'avampiede sintomatico, si estrinsecano massimamente entro tre mesi, si stabilizzano nel primo semestre e tendono a ridursi nel semestre successivo, rendendo necessari, negli anni successi-

intrapolmonare (da ciò la necessità di infusioni prolungate per ore, per aumentarne l'efficacia), quando il reversibile vantaggio iniziale, conse-

guito con i primi trattamenti, è destinato ad esaurirsi, il paziente è costretto, in mancanza di ulteriori interventi terapeutici, sia di tipo farmacolo-

Figura 9. Valutazione di TCpO₂ supina al piede sintomatico (N=31 arti) nel follow-up a lungo termine (12 mesi) di 26 diabetici con ischemia critica degli arti inferiori, non immediatamente rivascolarizzabile, sottoposti ad uno (responders) o due cicli (responders tardivi e non responders) di terapia infusionale con ilprost (ILO).

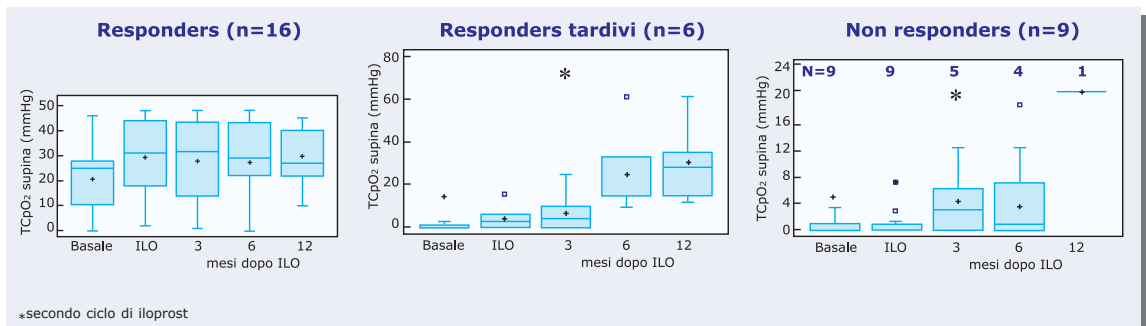
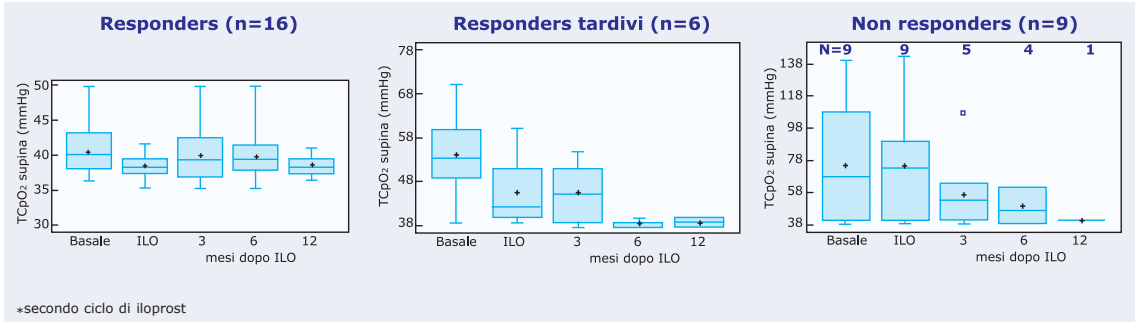


Figura 10. Valutazione di TCpO_2 supina al piede sintomatico (N=31 arti) nel follow-up a lungo termine (12 mesi) di 26 diabetici con ischemia critica degli arti inferiori, non immediatamente rivascolarizzabili, sottoposti ad uno (responders) o due cicli (responders tardivi e non responders) di terapia infusionale con ilprost (ILO).



vi, ulteriori cicli di terapia farmacologica per conservare il vantaggio iniziale conseguito col primo trattamento (figura 9 e figura 11). Nei soggetti LR solitamente un primo trattamento non aumenta significativamente l'ossimetria in clinostatismo, ma tende ad abbassare la corrispondente ed elevata CO_2 supina, mentre solo dopo un secondo trattamento si incrementano significativamente i valori ossimetrici e si stabilizzano definitivamente quelli capnometrici; anche in tali pazienti, la ciclicità annua dei successivi trattamenti tende a collocare i parametri gasanalitici al di fuori del range metabolico, in cui è presente rischio di perdita d'arto (figura 9, figura 10 e figura 12).

Nei pazienti NR, invece, i parametri ossi-capnometrici rimangono immutati dopo cicli ripetuti e soltanto la rimozione invasiva, chirurgica e/o endovascolare, di lesioni emodinamiche macroangiopatiche, può modificare il drammatico trend sfavorevole iniziale (figura 9, figura 10 e figura 13). La possibilità, peraltro che l'intervento chirurgico e/o endovascolare di riabilitazione vascolare degli arti inferiori possa essere preceduto

Figura 11. Valutazioni tensiometriche transcutanee di O_2 effettuate bilateralmente ed in posizione clino-ortostatica, all'avampiede di paziente diabetica con ischemia critica degli arti inferiori, non immediatamente rivascolarizzabile, responder a primo ciclo di terapia con ilprost, e sottoposta a successivi cicli infusionali, ripetuti annualmente.

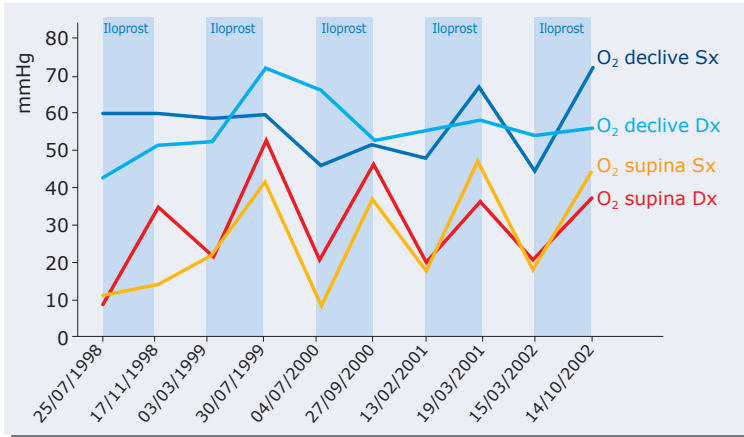


Figura 12. Valutazioni tensiometriche transcutanee di O_2 e CO_2 effettuate al piede sintomatico di paziente diabetica, con ischemia critica degli arti inferiori, non immediatamente rivascolarizzabile, responder tardiva dopo secondo ciclo di terapia con ilprost e sottoposta a successivi cicli infusionali, ripetuti annualmente.

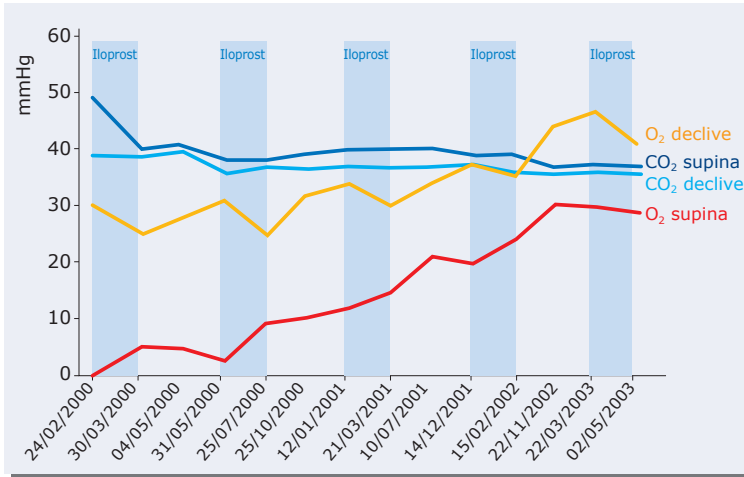


Figura 13. Valutazioni tensiometriche transcutanee di O₂ e CO₂ effettuate bilateralmente ed in posizione supina all'avampiede di paziente diabetica, con ischemia critica degli arti inferiori, non immediatamente rivascularizzabile, non responder dopo secondo ciclo di terapia con iloprost e sottoposta con successo ad angioplastica percutanea.

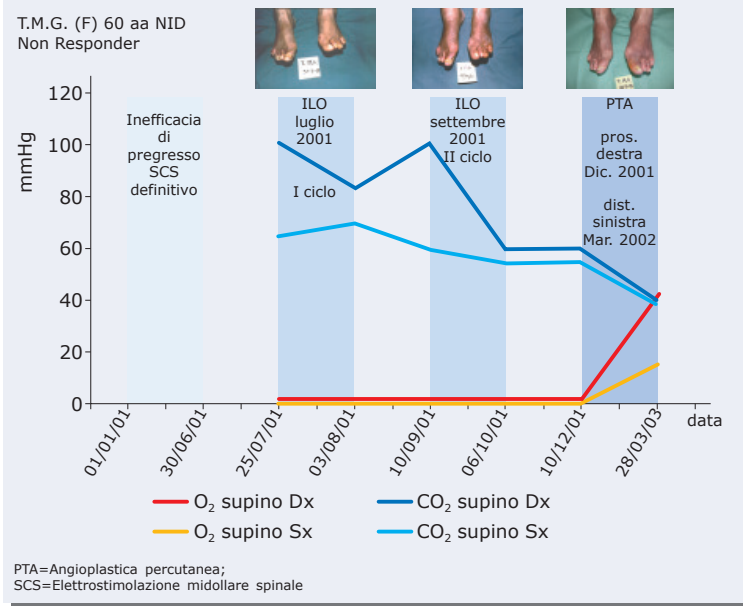
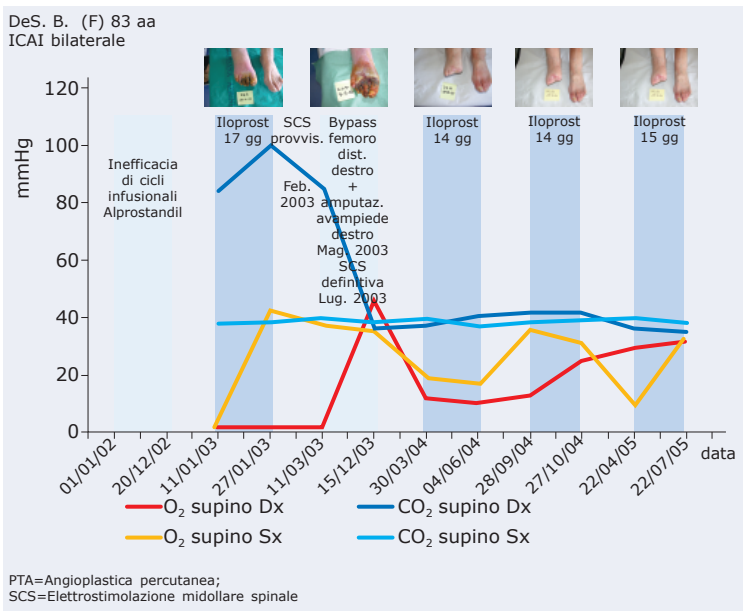


Figura 14. Valutazioni tensiometriche transcutanee di O₂ e CO₂ effettuate bilateralmente ed in posizione supina all'avampiede di paziente non diabetica, con ischemia critica degli arti inferiori, non immediatamente rivascularizzabile, non responder dopo secondo ciclo di terapia con iloprost ed a SCS provvisorio, sottoposta con successo a rivascularizzazione mediante bypass femoro distale e trattata successivamente con cicli ripetuti di iloprost.



o seguito da ulteriori cicli di terapia farmacologica con prostanoidi, è evenienza tutt'altro che infrequente, e trova un suo razionale, nel management di ICAI, diabetica e non, soprattutto quando viene utilizzata routinariamente la valutazione microcircolatoria transcutanea di O₂ e CO₂, che permette il trattamento intensivo farmacologico nei momenti più indicati (figura 14).

Conclusioni

Il trattamento medico di tipo farmacologico in prima intenzione attualmente riguarda circa il 20-25% dei pazienti ICAI, oltre ad una piccola percentuale di soggetti per i quali, dopo il fallimento parziale o totale dell'atto chirurgico, una amputazione secondaria d'embliée possa essere evitata. La terapia farmacologica rimane di seconda scelta (da effettuarsi quando la chirurgia non è assolutamente eseguibile o quando è sconsigliata nell'immediato), ma non deve essere considerata solo come l'estremo tentativo da praticare in caso di fallimento o di improponibilità di rivascularizzazione cruenta, quanto piuttosto come intervento talora complementare o finalizzato a pratiche di rivascularizzazione che diano maggiori risultati a distanza (figura 8). Il trattamento farmacologico si giova essenzialmente dell'uso dei prostanoidi, ed in particolare di un analogo della prostaciclina, iloprost, che mostra una maggior efficacia rispetto alla prostaglandina PGE₁, soprattutto nei soggetti diabetici, seppur in presenza di un maggior numero di effetti collaterali. La nostra esperienza suggerisce che il primo trattamento con iloprost può

essere ottimizzato limitando la terapia ad un periodo di due-tre settimane consecutive (anziché quattro), ad un dosaggio ridotto (1.2 ng/kg/min) e prolungato fino a 10 h/die, che risulta molto meglio tollerato dal paziente e mostra efficacia sovrapponibile a quella delle massime dosi titrabili consigliate inizialmente dall'industria farmaceutica. Nei soggetti responders, la ripetizione ciclica annua di un singolo trattamento con iloprost della durata di due-tre settimane, a dosaggi ridotti, è in grado di stabilizzare la arteriopatia, evitando, in assenza di complicanze macroangiopatiche, la perdita d'arto per periodi di tempo illimitati (figura 8).

Nei soggetti non responders, un secondo ciclo di terapia con iloprost, effettuato a distanza di pochi mesi dal primo, può contribuire ad elevare in misura percentualmente consistente la responsività (tardiva) di ulteriori arteriopatici ICAI, anche quando un primo ciclo di terapia è apparso inefficace. La sola valutazione clinica nel monitoraggio a lungo tempo dei pazienti ICAI è, a nostro avviso, insufficiente nel decidere l'opportunità di effettuare eventuali ulteriori periodici trattamenti con prostanoidi, uni- o pluri-annuali. Lo studio della microcircolazione cutanea periferica e, in particolare, l'uso della tensiometria transcutanea di O₂ e CO₂ appare il parametro più sensibile nel monitoraggio della ICAI (figura 8). Dopo un primo trattamento con iloprost, infatti, la persistenza di marcata ischemia ipossica del piede sintomatico, in posizione supina/declive, in concomitanza di persistente ipercapnia clinostatica (superiore a 53 mmHg), conferma

pericolo di perdita d'arto e configura la necessità di prolungare il trattamento con ulteriori cicli di iloprost e/o il ricorso eventuale a terapie alternative (per esempio elettrostimolazione midollare cronica, terapia genica/staminale) o la eventuale riproposizione di pratiche invasive (re-timing chirurgico, angioplastica distale), in prima istanza non praticabili per motivazioni diverse (figura 8). Viceversa, una terapia con iloprost che abbia determinato un incremento tensiometrico supino di O₂ superiore a 23 mmHg con normocapnia, indica miglioramento della ICAI con relativa stabilizzazione della macroangiopatia e regressione clinica al II stadio di Leriche-Fontaine. Valori ossimetrici clinostatici intermedi (tra 1 e 23 mmHg) con normocapnia indicano invece la persistenza di una ancora relativa instabilità della macroangiopatia ICAI, che pertanto necessita di un più stretto monitoraggio diagnostico strumentale e terapeutico, ma che, con molta probabilità, potrà beneficiare favorevolmente del solo trattamento medico con prostanoidi. La selezione dei pazienti ICAI da trattare con prostanoidi è comunque necessaria, poiché è del tutto inutile proporre un trattamento lungo e costoso, che allevi solo parzialmente il perdurante corteo sintomatologico e faccia posticipare solo di qualche settimana una amputazione altrimenti inevitabile in soggetti da molto tempo provati psichicamente e fisicamente (figura 8). Risulta invece essenziale formulare al più presto la diagnosi di ischemia critica e sottoporre il paziente ICAI inoperabile ad un trattamento medico intensivo persona-

lizzato, in cui sia previsto anche un largo uso di prostanoidi, ben sapendo che, comunque, il costo sociale di una amputazione risulta decisamente superiore ad un trattamento intensivo prolungato nel tempo.

La elevata mortalità di ICAI per cause cardiovascolari (25% entro un anno dalla diagnosi secondo TASC 2000) rende indispensabile il ricorso a terapie farmacologiche di supporto con antiaggreganti, statine, ACE-inibitori, proprio per la prevenzione delle temibili complicanze cardiache e cerebrali tipiche dell'arteriopatia cronica periferica (figura 8). I risultati promettenti ottenuti nell'ultimo decennio con l'uso dei prostanoidi nei reparti di angiologia e chirurgia vascolare impegnati nei grandi trials nazionali ed internazionali, con tutta probabilità, non sono automaticamente estensibili a centri ospedalieri non specializzati nel trattamento di questi pazienti. Da tutto ciò, a nostro avviso, sorge la necessità di creare strutture angiologiche e/o chirurgiche vascolari o comunque centri di riferimento con competenze pluri-specialistiche integrate e qualificate, in grado di fornire competenze mediche capaci non solo di evitare amputazioni estese in pazienti anziani e defedati, ma anche di fornire scelte terapeutiche complessive, adatte a garantire una qualità di vita accettabile per arteriopatici gravemente e sistemicamente compromessi.

Bibliografia

1. **Second European Consensus Document.** Eur J Vasc Surg 1992; 6(Suppl A):1-32.

2. **TransAtlantic Inter-Society Consensus (TASC).** Management of Peripheral Arterial Disease. Supplement to Journal of Vascular Surgery 2000; 31:1-296.
3. **Dolan NC, Liu K, Criqui MH, et al.** Peripheral artery disease, diabetes, and reduced lower extremity functioning. *Diabetes Care* 2002; 25:113-120.
4. **Matzke S, Lepantalo M.** Claudication does not always precede critical leg ischemia. *Vasc Med* 2001; 6:77-80.
5. **Dormandy JA, Belcher G, Brosos P, et al.** A prospective study of 713 below-knee amputations for ischaemia and the effect of a prostacyclin analogue on healing. *Br J Surg* 1994; 81:33-37.
6. **Hughson WG, Mann JI, Garrod A.** Intermittent claudication: prevalence and risk factors. *Br Med J* 1978; 1:1379-1381.
7. **Reunanen A, Takkunen H, Aromaa A.** Prevalence of intermittent claudication and its effect on mortality. *Acta Med Scand* 1982; 211:249-256.
8. **De Backer IG, Kornitzer M, Sobolski J, et al.** Intermittent claudication: epidemiology and natural history. *Acta Cardiol* 1979; 34:1115-1124.
9. **Smith WCS, Woodward M, Tunstall-Pedoe.** Intermittent claudication in Scotland. In Fowkes FGR, ed: *Epidemiology of Peripheral Vascular Disease*. London: Springer-Verlag, 1991:109-115.
10. **Novo S, Avellone G, Di Garbo V, et al.** Prevalence and risk factors in patients with peripheral arterial disease: a clinical and epidemiological evaluation. *International Angiology* 1992; 11:218-229.
11. **Fowkes FGR, Housley E, Cawood EH, et al.** Edinburgh Artery Study: prevalence of asymptomatic and symptomatic peripheral arterial disease in the general population. *Int J Epidemiol* 1992; 20:384-392.
12. **Widmer LK, Greensher A, Kannel WB.** Occlusion of peripheral arteries: a study of 6400 working subjects. *Circulation* 1964; 30:836-842.
13. **Gofin R, Kark JD, Friedlander Y, et al.** Peripheral vascular disease in a middle-aged population sample. The Jerusalem Lipid Research Clinic Prevalence Study. *Isr J Med Sci* 1987; 23:157-167.
14. **Kannel WB, Skinner JJ Jr, Schwartz MJ, et al.** Intermittent claudication: incidence in the Framingham study. *Circulation* 1970; 41:875-883.
15. **Bowlin SJ, Medalie JH, Flocke SA, et al.** Epidemiology of intermittent claudication in middle aged men. *Am J Epidemiol* 1994; 140:418-430.
16. **Criqui MH, Fronck A, Barrett-Connor, et al.** The prevalence of peripheral arterial disease in a defined population. *Circulation* 1985; 71:510-515.
17. **Stoffers HE, Rinkens PE, Kester AD, et al.** Prevalence of asymptomatic and unrecognized peripheral arterial occlusive disease. *Int J Epidemiol* 1996; 25:282-290.
18. **Mejer WT, Hoes AW, Rutgers DM, et al.** Peripheral arterial disease in the elderly: the Rotterdam study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998; 18:185-192.
19. **Widmer LK, Da Silva A.** Historical perspectives and the Basle study. In Fowkes FGR, ed: *Epidemiology of Peripheral Vascular Disease*. London: Springer-Verlag, 1991:69-83.
20. **Brevetti G, Oliva G, Silvestro A, et al; Peripheral Arteriopathy and Cardiovascular Events (PACE) Study Group.** Prevalence, risk factors and cardiovascular comorbidity of symptomatic peripheral arterial disease in Italy. *Atherosclerosis* 2004; 175:131-138.
21. **Heliovaara M, Karvonen MJ, Vilhunen R, et al.** Smoking, carbon monoxide, and atherosclerotic diseases. *Br Med J* 1978; 1:268-270.
22. **Diehm C, Schuster A, Allenberg JR, et al.** High prevalence of peripheral arterial disease and co-morbidity in 6880 primary care patients: cross-sectional study. *Atherosclerosis* 2004; 172:95-105.
23. **Hiatt Wr, Hoag S, Hammen RF.** Effect of diagnostic criteria on the prevalence of peripheral artery disease. *Circulation* 1995; 92:1472-1479.
24. **Dormandy JA, Murray GD.** The fate of the claudicant: a prospective study of 1969 claudicants. *Eur J Vasc Surg* 1991; 5:131-133.
25. **The Vascular Surgical Society of Great Britain and Ireland.** Critical limb ischaemia: management and outcome. Report of a national survey. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 1995; 10:108-113.
26. **Melillo E, Nuti M, Bongiorno L, et al.** Major and minor amputation rates and lower critical limb ischemia: the epidemiological data of western Tuscany. *Ital Heart J* 2004; 5:794-805.
27. **Dormandy J, Heeck L, Vig S.** Predicting which patients will develop chronic critical leg ischemia. *Semin Vasc Surg* 1999; 12:138-141.
28. **Melillo E, Nuti M, Buttitta F, et al.** Salvataggio d'arto farmacologico mediante iloprost nella ischemia critica degli arti inferiori non rivascolarizzabile: conferme e modifiche della nostra condotta terapeutica negli ultimi otto anni. *Min Cardioang* 2003; 51(Suppl 1-6):253-255.
29. **Gordon T, Kannel WB.** Predisposition to atherosclerosis in the head, heart and legs. The Framingham study. *JAMA* 1972; 221:661-666.
30. **Lifestyle measures to tackle atherosclerotic disease.** *DTB* 2001; 39:21-24.
31. **Mokdad AH, Bowman BA, Ford ES, et al.** The continuing epidemics on obesity and diabetes in the United States. *JAMA* 2001; 286:1195-1200.
32. **Kjaergaard SC, Hansen HH, Fog L, et al.** In-hospital outcome for diabetic patients with acute myocardial infarction in the thrombolytic era. *Scand Cardiovasc J* 1999; 33:166-170.
33. **Haffner SM, Lehto S, Ronne-maa T, et al.** Mortality from coronary heart disease in subjects with type 2 diabetes and in non-diabetic subjects with and without prior myocardial infarction.

- tion. *N Engl J Med* 1998; 339:229-234.
34. **Farkouh ME, Rihal CS, Gersh BJ, et al.** Influence of coronary heart disease on morbidity and mortality after lower extremity revascularization surgery: a population-based study in Olmsted County, Minnesota (1970-1987). *J Am Coll Cardiol* 1994; 24:1290-1296.
 35. **Makin A, Lip GY, Silverman S, et al.** Peripheral vascular disease and hypertension: a forgotten association? *J Hum Hypertens* 2001; 15:447-454.
 36. **Prevention of Atherosclerotic Complications with Ketanserin Trial Group.** Prevention of atherosclerotic complications: controlled trial of ketanserin. *Br Med J* 1989; 298:424-430.
 37. **Balsano F, Violi F; and the ADEP group.** Effect of Picotamide on the clinical progression of peripheral vascular disease: a double-blind placebo-controlled study. *Circulation* 1993; 87:1563-1569.
 38. **Boushey CJ, Beresford SA, Omenn GS, et al.** A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease: probable benefits of increasing folic acid intake. *JAMA* 1995; 274:1049-1057.
 39. **Taylor LM Jr, DeFrang RD, Harris EJ, et al.** The association of elevated plasma homocyst(e)inemia with progression of symptomatic peripheral arterial disease. *J Vasc Surg* 1991; 13:128-136.
 40. **Molgaard J, Malinow MR, Lasvik C, et al.** Hyperhomocyst(e)inemia: an independent risk factor for intermittent claudication. *J Intern Med* 1992; 231:273-279.
 41. **Clarke R, Daly L, Robinson K, et al.** Hyperhomocysteinemia: an independent risk factor for vascular disease. *N Engl J Med* 1991; 324:1149-1155.
 42. **Regensteiner JG, Hiatt WR.** Current medical therapies for patients with peripheral arterial disease: a critical review. *Am J Med* 2002; 112:49-57.
 43. **Smith FB, Lowe GD, Lee AJ, et al.** Smoking, hemoreologic factors, and progression of peripheral arterial disease in patients with claudication. *J Vasc Surg* 1998; 28:129-135.
 44. **Pedrinelli R, Dell'Omo G, Barchioli A, et al.** Fibrinogen and mortality in Chronic Critical Limb Ischaemia. *J Int Med* 1999; 245:75-81.
 45. **Ross R.** Atherosclerosis-an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999; 340:115-126.
 46. **Bassuk SS, Rifai N, Ridker PM.** High-Sensitivity C-Reactive Protein: Clinical Importance. *Curr Probl Cardiol* 2004; 29:439-493.
 47. **Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ, et al.** Plasma concentration of C-reactive protein and risk of developing peripheral vascular disease. *Circulation* 1998; 97:425-428.
 48. **Kok FJ, Kromhout D.** Atherosclerosis: Epidemiological studies on the health: effects of a Mediterranean diet. *Eur J Nutr* 2004; 43(Suppl 1):12-15.
 49. **Martinez-Gonzalez MA, Sanchez-Villegas A.** The emerging role of Mediterranean diets in cardiovascular epidemiology: monounsaturated fats, olive oil, red wine or the whole pattern? *Eur J Epidemiol* 2004; 19: 9-13.
 50. **Ventura P, Bini A, Panini R, et al.** Red wine consumption prevents vascular oxidative stress induced by a high-fat meal in healthy volunteers. *Int J Vitam Nutr Res* 2004; 74:137-143.
 51. **Casani L, Segales E, Vilahur G, et al.** Moderate daily intake of red wine inhibits mural thrombosis and monocyte tissue factor expression in an experimental porcine model. *Circulation* 2004; 110:460-465.
 52. **Estruch R, Sacanella E, Badia, et al.** Different effects of red wine and gin consumption on inflammatory biomarkers atherosclerosis: a prospective randomized crossover trial. Effects of wine on inflammatory markers. *Atherosclerosis* 2004; 175:117-123.
 53. **Menotti A, Lanti M, Puddu PE, et al.** Coronary heart disease incidence in northern and southern European populations: a reanalysis of the seven countries study for a European coronary risk chart. *Heart* 2000; 84:238-244.
 54. **Antiplatelet Trialist' Collaboration.** Collaborative overview of randomized trials of antiplatelet therapy, II: maintenance of vascular grafts or arterial patency by antiplatelet therapy. *Br Med J* 1994; 308:159-168.
 55. **Antithrombotic Trialists' Collaboration.** Collaborative meta-analysis of randomised trials of antiplatelet therapy for prevention of death, myocardial infarction, and stroke in high risk patients. *BMJ* 2002; 324:71-86.
 56. **Patrono C, Bachmann F, Baigent C, et al.** European Society of Cardiology. Expert consensus document on the use of antiplatelet agents. The task force on the use of antiplatelet agents in patients with atherosclerotic cardiovascular disease of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 2004; 25:166-181.
 57. **Aronow WS, Nayak D, Woodworth S, et al.** Effect of simvastatin *versus* placebo on treadmill exercise time until the onset of intermittent claudication in older patients with peripheral arterial disease at six months and at one year after treatment. *Am J Cardiol* 2003; 92:711-712.
 58. **Schillinger M, Exner M, Mlekusch W, et al.** Statin therapy improves cardiovascular outcome of patients with peripheral artery disease. *Eur Heart Journal* 2004; 25:742-748.
 59. **Ostergren J, Sleight P, Yusuf S, et al.** HOPE study investigators. Impact of ramipril in patients with evidence of clinical or subclinical peripheral arterial disease. *Eur Heart J* 2004; 25:17-24.
 60. **Warner GT, Perry CM.** Ramipril: a review of its use in the prevention of cardiovascular outcomes. *Drugs* 2002; 62:1381-1405.
 61. **Wolfe JN.** Defining the outcome of critical ischaemia: a one year prospective study. *Br J Surg* 1986; 73:321.
 62. **The ICAI Group (gruppo di studio sull'ischemia critica cri-**

- tica degli arti inferiori). Long term mortality and its predictors in patients with critical leg ischaemia. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 1997; 14: 91-95.
63. **Rieker O, Duber C, Neufang A, et al.** CT angiography versus intraarterial digital subtraction angiography for assessment of aortoiliac occlusive disease. *Am J Roentgenol* 1997; 169:1133-1138.
 64. **Owen RS, Carpenter JP, Baum RA, et al.** Magnetic resonance imaging of angiographically occult runoff vessels in peripheral arterial occlusive disease. *N Engl J Med* 1992; 326:1577-1581.
 65. **Melillo E.** La diagnostica microcircolatoria In F. Manusia: "La Malattia ischemica periferica" Edizioni Aurelia, Grosseto; Novembre 2001: 77-90.
 66. **Rooke TW, Osmundson PJ.** Variability and reproducibility of transcutaneous oxygen tension measurements in the assessment of peripheral vascular disease. *Angiology* 1989; 695-698.
 67. **Melillo E, Catapano G, Ferrari M, et al.** Transcutaneous oxygen tension measurement in patient with chronic arterial obstructive disease: reliability and long term variability of the method. *Angiology* 1994; 45:469-475.
 68. **Scheffler A, Rieger H.** Clinical information content of transcutaneous oxymetry (tcpO₂) in peripheral arterial occlusive disease (a review of the methodological and clinical literature with a special reference to critical limb ischaemia). *Vasa* 1992; 21:111-126.
 69. **Bongard O, Krahenbuhl B.** Predicting amputation in severe ischaemia. The value of transcutaneous PO₂ measurement. *J Bone Joint Surg Br* 1988; 70:465-467.
 70. **Wyss CR, Matsen FA 3rd, Simmons CW, et al.** Transcutaneous oxygen tension measurements on limbs of diabetic and non diabetic patients with peripheral vascular disease. *Surgery* 1984; 95:339-346.
 71. **Samson RH, Gupta SK, Goldstein R, et al.** Use of transcutaneous oxygen tension measurements [PtcO₂] in the diagnosis of peripheral vascular insufficiency. *Ann Surg* 1985; 202:130-131.
 72. **Becker F, Gabrielle F, Raoux MH, et al.** Value of measuring transcutaneous oxygen pressure in arterial disease of the legs. *Ann Cardiol Angeiol* 1989; 38:465-472.
 73. **Ubbink DT, Spincemaille GH, Reneman RS, et al.** Prediction of imminent amputation in patients with non-reconstructible leg ischemia by means of microcirculatory investigations. *J Vasc Surg* 1999; 30:114-121.
 74. **Melillo E, Catapano G, Del'Omio G, et al.** Transcutaneous oxygen and carbon dioxide measurement in peripheral vascular disease. *Vascular Surgery* 1995; 29:273-280.
 75. **Melillo E, Pedrinelli R, Nuti M, et al.** Can limb loss in patients with lower limb critical ischemia (CLI) be predicted by transcutaneous oxygen and carbon dioxide measurements? *Int Angiology* 2004; 23(Suppl 1):197.
 76. **Melillo E, Iabichella ML, Pedrinelli R, et al.** Riproducibilità del segnale laser Doppler in soggetti adulti, sani, non fumatori e di sesso maschile mediante valutazione clinico-ortostatica agli arti inferiori. *Minerva Cardioangiol* 2003; 51(Suppl 1):169-171.
 77. **Melillo E, Iabichella ML, Berchiolli R, et al.** Laser-Doppler Flowmetry in Peripheral Arterial Occlusive Disease (PAOD) *Int Angiology* 1995; 14(Suppl 1):269.
 78. **Scheffler A, Rieger H.** Spontaneous oscillation of laser Doppler skin flow flux in peripheral arterial occlusive disease. *J Microcirc Clin Exp* 1992; 11:249.
 79. **Belcaro G, Vasdekis S, Rulo A, et al.** Evaluation of skin blood flow and veno-arteriolar response in patients with diabetes and peripheral vascular disease by laser Doppler flowmetry. *Angiology* 1989; 40:953.
 80. **Seifert H, Jager K, Bollinger A.** Analysis of flow motion by Laser Doppler technique in patients with peripheral arterial occlusive disease. *J Microcirc Clin Exp* 1988; 7:223.
 81. **Hoffmann U, Seifert H, Beinder E, et al.** Skin Flow Flux in Peripheral Arterial Occlusive Disease. In *Laser Doppler* edited by Belcaro G, Hoffmann U, Bollinger A, Nicolaides AN; MED-ORION Publishing Company; London, Los Angeles, Nicosia, 1994.
 82. **Fagrell B, Fronck A, Intaglietta M.** A microscope-television system for studying flow velocity. *Am J Physiol* 1977; 233:318.
 83. **Bollinger A, Fagrell B.** Clinical capillaroscopy. Toronto, Hogrefe and Huber Publ 1990; 24-25.
 84. **Fagrell B, Eriksson, Malmstrom S, et al.** Computerized data analysis of capillary blood cell velocity. *J Microcirc Clin Exp* 1988; 7:276.
 85. **Thulesius O.** Capillaroscopy with fiberoptic video microscopy. *Vasa* 1992; 21:87.
 86. **Curri SB.** Una nuova tecnica capillaroscopica per lo studio della microcircolazione cutanea in sedi corporee di interesse dermocosmetologico: la Videocapillaroscopia a sonda ottica. *Atti del XIV Congresso Naz It Med Est* 1992; 10-12.
 87. **Fagrell B.** Vital capillary microscopy. A clinical method for studying changes of the nutritional skin capillaries in legs with arteriosclerosis obliterans. *Scand J Clin Lab Invest Suppl* 1973; 133:2-50.
 88. **Fagrell B, Lundberg G.** A simplified evaluation of vital capillary microscopy for predicting skin viability in patients with severe arterial insufficiency. *Clin Physiol* 1984; 4:403.
 89. **Criqui MH.** Systemic Atherosclerotic Risk and the Mandate for Intervention in Atherosclerotic Peripheral Arterial Disease. *Am J Card* 2001; 88:43J-47J.
 90. **Vecht RJ, Nicolaides AN, Brandao E, et al.** Resting and treadmill electrocardiographic findings in patients with intermittent claudication. *Int J Angiol* 1982; 1:119-121.

91. **Brewster DC, Okada RD, Strass HW, et al.** Selection of patients for preoperative coronary angiography: use of dipyridamole-stress-thallium myocardial imaging. *J Vasc Surg* 1985; 2:504-510.
92. **Valentine RJ, Grayburn PA, Eichorn EJ, et al.** Coronary artery disease is highly prevalent among patients with premature peripheral vascular disease. *J Vasc Surg* 1994; 19:668-674.
93. **Hertzner NR, Beven EG, Young JR, et al.** Coronary artery disease in peripheral vascular patients. A classification of 1.000 coronary angiograms and results of surgical management. *Ann Surg* 1984; 199:223-233.
94. **Hugson WG, Mann JI, Tibbs DJ, et al.** Intermittent claudication: factors determining outcome. *BMJ* 1978; 1:1377-1379.
95. **Alexandrova NA, Gibson WC, Norris JW, et al.** Carotid artery stenosis in peripheral vascular disease. *J Vasc Surg* 1996; 23:645-649.
96. **McDermott MM, Mehta S, Ahn H, et al.** Atherosclerotic risk factors are less intensively treated in patients with peripheral arterial disease than in patients with coronary artery disease. *J Gen Intern Med* 1997; 12:209-215.
97. **Janzon L, Bergquist D, Boberg J.** Prevention of myocardial infarction and stroke in patients with intermittent claudication: effects of ticlopidine: results from STIMS, the Swedish Ticlopidine Multicentre Study. *J Int Med* 1990; 227:301-308.
98. **A randomised, blinded trial of clopidogrel versus aspirin in patients at risk of ischaemic events (CAPRIE).** *Lancet* 1996; 348:1329-1339.
99. **Katsumura T, Mishima Y, Kamiya K, et al.** Therapeutic effects of ticlopidine, a new inhibitor of platelet aggregation on chronic arterial occlusive diseases, a double-blind study versus placebo. *Angiology* 1982; 2:357-367.
100. **Gauthier O.** Efficacy and safety of CY216 in the treatment of specific leg ulcers. In Breddin K, Fareed J, Samama M (eds.): *Fra-xiparine: analytical and structural data, pharmacology, clinical trials.* Stuttgart, Schattauer 1987; 21.
101. **Jornekog G, Brismar K, Fagrell B.** Low molecular weight heparin seems to improve local capillary circulation and healing of chronic foot ulcers in diabetic patients. *VASA* 1993; 22:137-142.
102. **Kretschmer G, Herbet F, Prager M, et al.** A decade of oral anticoagulant treatment to maintain autologous vein grafts for femoropopliteal atherosclerosis. *Arch Surg* 1992; 127:112-115.
103. **The European Study Group.** Intravenous pentoxifylline for the treatment of chronic critical limb ischemia. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 1995; 9:426-436.
104. **Norwegian Pentoxifylline Multicenter Trial Group.** Efficacy and clinical tolerance of parenteral pentoxifylline in the treatment of critical lower limb ischemia: a placebo controlled multicenter study. *Int Angiol* 1996; 15:75-80.
105. **Fagrell B, Hermansson IL.** Effect of buflomedil on microcirculation of the skin in acral gangrene. *Fortschr Med* 1985; 103:23-27.
106. **Horsch S.** Uber den Einsatz von naftidrofuryl im Stadium III-IV einer peripher arteriellen Verschlusskrankheit. *VASA* 1988; 24:38-43.
107. **Greenhalgh RM.** Naftidrofuryl for ischemic rest pain: a controlled trial. *Br J Surg* 1981; 68:265-266.
108. **Dormandy J.** Clinical use of calcium antagonists in peripheral circulatory disease. *Ann NY Acad Sci* 1988; 522:611-620.
109. **Bode-Boger SM, Boger RH, Alfke H, et al.** L-arginine induces nitric oxide-dependent vasodilatation in patients with critical limb ischemia: a randomised, controlled study. *Circulation* 1996; 93:85-90.
110. **Nilsson L, Apelqvist J, Edvinsson L.** Effects of alfa-Trinositol on peripheral circulation in diabetic patients with critical limb ischemia. A pilot study using laser doppler fluximetry, transcutaneous oxygen tension measurements and dynamic capillaroscopy. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 1998; 15:331-336.
111. **Beebe HG, Dawson DL, Cutler BS, et al.** A new pharmacological treatment for intermittent claudication: results of a randomised, multicenter trial. *Arch Intern Med* 1999; 159:2041-2050.
112. **Isner JM, Walsh K, Symes JF, et al.** Arterial gene therapy for therapeutic angiogenesis in patients with peripheral artery disease. *Circulation* 1995; 91:2687-2692.
113. **Baumgartner I, Pieczek A, Manor O, et al.** Constitutive expression of phVEGF165 after intramuscular gene transfer promotes collateral vessel development in patients with critical limb ischemia. *Circulation* 1998; 97:1114-1123.
114. **Shyu KG, Chang N, Wang BW, et al.** Intramuscular endothelial growth factor gene therapy in patients with critical limb ischemia. *Am J Med* 2003; 114:85-92.
115. **Asahara T, Murohara T, Sullivan A, et al.** Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science* 1997; 275:964-967.
116. **Kalka C, Masuda H, Takahashi T, et al.** Transplantation of ex vivo expanded endothelial progenitor cells for therapeutic neovascularization. *Proc Natl Acad Sci* 2000; 97:3422-3427.
117. **Tateishi-Yuyama E, Matsuhara H, Murohara T, et al; for the therapeutic Angiogenesis using Cell Transplantation (TACT) Study investigators.** Therapeutic Angiogenesis for patients with limb ischaemia by autologous transplantation of bone-marrow cells: a pilot study and a randomised controlled trial. *Lancet* 2002; 360:427-435.
118. **Minamino T, Toko H, Tateno K, et al.** Peripheral-blood or bone-marrow mononuclear cells for therapeutic Angiogenesis. *Lancet* 2002; 360:2083-2084.
119. **Inaba S, Egashira K, Komori**

- K. Peripheral-blood or bone-marrow mononuclear cells for therapeutic Angiogenesis. *Lancet* 2002; 360:2083.
120. **Loosemore TM, Chalmers TC, Dormandy JA.** A meta-analysis of randomized placebo control trials in Fontaine stages III and IV peripheral occlusive arterial disease. *Intern Angiol* 1994; 13:133-142.
 121. **Trubestein G, Diehm C, Gruss JD, et al.** Prostaglandin E1 in chronic arterial disease: a multicenter study. *VASA* 1987; 17(Suppl):39-43.
 122. **Alstaedt HO, Berzewski B, Taschke C, et al.** Treatment of patients with peripheral arterial occlusive disease Fontaine stage IV with intravenous iloprost and PGE1: a randomized open controlled study. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids* 1993; 49:573-578.
 123. **The ICAI Study Group.** Prostanoids for chronic critical leg ischaemia: a randomized, controlled, open-label trial with prostaglandin E1. *Ann Int Med* 1999; 130:412-421.
 124. **Grant SM, Goa KL.** Iloprost. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic potential in peripheral vascular disease, myocardial ischaemia and extracorporeal circulation procedures. *Drugs* 1992; 43:889-924.
 125. **Pola R, Gaetani E, Flex A, et al.** Comparative analysis of the *in vivo* angiogenic properties of stable prostacyclin analogs: a possible role for peroxisome proliferator-activated receptors. *J Mol Cell Cardiol* 2004; 36:363-370.
 126. **Bliss B, Wilkins D, Campbell WB.** Treatment of limb threatening ischaemia with intravenous Iloprost: a randomised double blind placebo-controlled study. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 1991; 5:511-516.
 127. **Norgren L, Alwmark A, Angqvist KA, et al.** A stable prostacyclin analogue (Iloprost) in the treatment of ischaemic ulcers of the lower limb: a Scandinavian-Polish placebo-controlled randomized multicentre study. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 1990; 4:463-467.
 128. **Brock FE, Abri O, Baitsch G, et al.** Iloprost in the treatment of ischemic tissue lesions in diabetics: Results of a placebo-controlled multicenter study with a stable prostacyclin derivative. *Schweiz Med Wochenschr* 1990; 120:1477-1482.
 129. **GISAP Study.** Evaluation of a conservative treatment with Iloprost in severe peripheral occlusive arterial disease (POAD). *International Angiology* 1994; 13:70-74.
 130. **Staben P, Albring M.** Treatment of patients with peripheral arterial occlusive disease Fontaine stage III and IV with intravenous iloprost: an open study in 900 patients. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids* 1996; 54:327-333.
 131. **DAWID Study Group.** Low-dose iloprost infusions compared to the standard dose in patients with peripheral arterial occlusive disease Fontaine stage IV. *VASA* 1998; 27:15-19.
 132. **Duthois S, Cailleux N, Benosman B, et al.** Tolerance of Iloprost and results of treatment of chronic severe lower limb ischaemia in diabetic patients. A retrospective study of 64 consecutive cases. *Diabetes Metab* 2003; 29:36-43.
 133. **Melillo E, Iabichella L, Berchiolli R, et al.** Transcutaneous oxygen and carbon dioxide during treatment of Critical Limb ischemia with iloprost, a prostacyclin derivative. *Int J Microcirc* 1995; 15:60-64.
 134. **Labs KH, Dormandy JA, Jaeger KA, et al.** On Behalf of the Basel PAD Clinical Trial Methodology Group. *Circulation* 1999; 26:1-7.
 135. **Melillo E, Ferrari M, Balbarini A, et al.** Transcutaneous Gases Determination in Diabetic Critical Limb Ischemia. *Diabetes Care* 2005; 28:2081-2082.