

# La terapia medica dell'ischemia critica degli arti inferiori non immediatamente rivascularizzabile

Elio Melillo, Marco Nuti, Flavio Buttitta, Alberto Balbarini

U.O. Angiologia Universitaria, Dipartimento Cardio-Toracico, A.O. Universitaria Pisana, Pisa

*Key words:*

Diabetes mellitus;  
Iloprost; Ischemia;  
Mortality.

Revascularization by either bypass surgery or endovascular recanalization is considered the first-choice treatment in patients with critical limb ischemia (CLI).

Only conservative options are left in CLI patients in whom successful revascularization strategies are not possible: in these patients, at present, prostanoids (iloprost and prostaglandin [PGE1]) represent the pharmacological treatment of choice. Iloprost resulted more effective than PGE1, in a 6 month follow-up, in both limb salvage and in prevention of cardiovascular death, either in diabetic or non diabetic patients with unreconstructable CLI.

In our experience, in patients who have responded to a first cycle of therapy (early responders), performed for at least 2-3 weeks, cyclic annual further treatments with iloprost are usually able to stabilize arterial disease, with a regression to Fontaine II stage and, in absence of further arterial complications, with complete limb preservation for an unlimited period of time. 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).

Vice versa, in non-responders to repeat prostanoid cycles, it is useful to verify the outcomes of further attempts at saving, the symptomatic limb by surgical or endovascular re-timing, spinal cord stimulation, gene or stem cell therapy.

Our recent better outcomes are related to earlier microvascular diagnosis and to earlier, repeat, pharmacological treatments with iloprost.

Transcutaneous oxygen and carbon dioxide monitoring improves the possibility of an earlier diagnosis of microvascular damages and categorizes CLI patients in responders and non-responders after prostanoid treatments.

(G Ital Cardiol 2006; 7 (5): 317-335)

© 2006 CEPI Srl

Ricevuto il 21 ottobre 2005; nuova stesura l'11 gennaio 2006; accettato il 12 gennaio 2006.

*Per la corrispondenza:*

Prof. Alberto Balbarini

U.O. Angiologia Universitaria  
Dipartimento  
Cardio-Toracico  
A.O. Universitaria Pisana  
Via Paradisa, 2  
56124 Pisa  
E-mail: a.balbarini@  
dcap.med.unipi.it

## Introduzione

Con il termine di ischemia critica degli arti inferiori (ICAI) si definisce l'arteriopatia obliterante periferica cronica (AOPC), caratterizzata clinicamente dalla presenza di dolore cronico a riposo e/o lesioni trofiche, quali ulcere e/o gangrene, di natura aterosclerotica, insorti da oltre 15 giorni, documentata oggettivamente e il cui esito più probabile, in assenza di consistenti miglioramenti emodinamici, è rappresentato da un'amputazione maggiore nell'arco dei 6-12 mesi successivi<sup>1,2</sup>.

Tale condizione, sul piano emodinamico, è caratterizzata dalla presenza di pressioni arteriose sistoliche ridotte, sia alla caviglia (< 50 mmHg) sia all'alluce (< 30 mmHg) e/o, sul piano microcircolatorio, dalla riduzione locale della tensione transcutanea di ossigeno (< 30 mmHg) all'avampiede sintomatico<sup>2</sup>.

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 dalla European Consensus Conference<sup>1</sup> e confermato dalla TASC (TransAtlantic Inter-Society Consensus) del 2000<sup>2</sup>, appare più appropriato, perché chiarisce, attraverso una coerente spiegazione fisiopatologica, come le ostruzioni macroangiopatiche dei principali distretti arteriosi degli arti inferiori determinino la presenza di dolore a riposo e/o di lesioni trofiche, soltanto in presenza di grave scompenso tissutale microvascolare regionale, conseguente all'abolizione o alla marcata riduzione del flusso nutrizionale capillare, al di sotto della domanda minima perfunzionale tissutale locale.

Inoltre, la successione temporale di AOPC, basata, secondo Leriche-Fontaine, sull'evoluzione in quattro stadi clinici, progressivamente ingravescenti, risulta scola-

sticamente utile per fissare mnemonicamente un'ipotetica sequenza cronologica di eventi, ma, purtroppo, raramente si rispecchia concretamente nella pratica clinica del moderno laboratorio vascolare.

Infatti, ICAI può 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 2, nei quali ultimi, in particolare, la sintomatologia periferica, al precedente stadio di claudicatio intermittens, è spesso mascherata dalla concomitante neuropatia diabetica<sup>3,4</sup>.

La prevalenza e l'incidenza di ICAI, seppur difficili da determinare, risultano comunque largamente sottostimate in letteratura.

La numerosità di ICAI, infatti, viene abitualmente estrapolata dall'evoluzione di claudicatio intermittens, che è clinicamente presente in misura del 2-6% nella popolazione adulta e tende a crescere progressivamente con l'età<sup>5-8</sup>.

Nelle stime che fanno derivare l'incidenza di ICAI dall'evoluzione naturale di claudicatio intermittens, si ipotizza un tasso teorico complessivo del 5% di ischemia critica degli arti inferiori, nei 5 anni successivi alla diagnosi di claudicatio intermittens, e, quindi, un'incidenza annua di ICAI di 1%<sup>9</sup>.

Considerata la notevole diversità della prevalenza e incidenza di ICAI ottenute nelle varie casistiche internazionali, appare probabilmente più realistico l'altro corrente approccio epidemiologico che prevede il calcolo di ICAI a partire dal numero di amputazioni maggiori per causa ischemica effettuate in ambito nosocomiale a livello degli arti inferiori<sup>1,2</sup>.

In un nostro recente studio<sup>10</sup>, 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 ICAI degli arti inferiori una prevalenza di 117 amputazioni maggiori/annue per milione di abitanti, e una conseguente incidenza calcolata di ICAI (rivascolarizzabile e non), di 4 volte superiore, cioè di 468 nuovi casi annui per milione di abitanti, dal momento che, come comunemente assunto in letteratura<sup>1,2,11</sup>, già al momento della diagnosi di ICAI, circa il 25% dei pazienti sarà comunque costretto ad un'amputazione maggiore nel giro di un anno.

L'estrapolazione di tali dati a tutta la popolazione italiana<sup>10</sup> (57 milioni abitanti) mostra, pertanto, un'incidenza annua complessiva di ICAI che si attesta drammaticamente in circa 26 700 pazienti, con un totale di amputazioni maggiori, per cause di tipo ischemico, che raggiunge la cifra complessiva di circa 6700 casi per ogni anno.

La prognosi di ICAI risulta particolarmente severa, sia per le elevate percentuali di amputazioni, sia per i pesanti tassi di mortalità, ad essa direttamente correlati, evidenti nell'eguale misura di 20-25%, rispettiva-

mente già entro 1 anno di follow-up dalla diagnosi, con risultati nettamente peggiori nella ICAI non rivascolarizzabile, rispetto a quella ICAI rivascolarizzabile<sup>1,2,12</sup>.

Il precoce e pesantissimo tasso di mortalità dei soggetti ICAI risulta, pertanto, del tutto sovrapponibile a quello riscontrato nelle neoplasie più aggressive<sup>2</sup> e ciò spiega la necessità di instaurare rapidamente una terapia efficace, di tipo intensivo e possibilmente personalizzata, mirata alla cura delle complicanze aterosclerotiche locali e generali.

Dopo la diagnosi il trattamento locale di ICAI dovrà essere indirizzato preferenzialmente a pratiche invasive di rivascolarizzazione, di tipo ricostruttivo chirurgico e/o interventistico endovascolare (angioplastica endoluminale e/o applicazione di stent), di cui inizialmente beneficeranno circa il 50-60% dei pazienti, mentre un rimanente 20-25% andrà incontro ad amputazione primaria d'emblea e il restante 20-25% sarà sottoposto a trattamenti temporanei, comprendenti terapie mediche di tipo farmacologico e/o alternative (quali elettrostimolazione midollare cronica, ossigenoterapia iperbarica, ecc.)<sup>1,2</sup>.

Dal momento che circa un quarto dei pazienti ICAI risulta inoperabile già al momento della diagnosi e sarà, quindi, indirizzato a terapie mediche e di supporto presso reparti non chirurgici<sup>1,2,12,13</sup> in base alle nostre valutazioni epidemiologiche, ogni anno, in Italia un numero elevato di pazienti ICAI (circa 6700) necessiterà di terapie mediche intensive, sia a livello locale sia sistemico, nel tentativo di salvataggio farmacologico dell'arto, da condurre in ambiente nosocomiale protetto, possibilmente in reparti altamente qualificati e di tipo angiologico.

Da quanto esposto appare, inoltre, importante l'identificazione precoce dell'AOPC ad uno stadio clinico meno avanzato (quale quello di claudicatio intermittens), non solo per interrompere la progressione della malattia verso le lesioni trofiche o la gangrena, tipiche di ICAI, ma anche e soprattutto perché AOPC costituisce un marker preciso di ulteriori lesioni emodinamiche in altri distretti importanti, quali quelli cardiaci e cerebrali, a prognosi frequentemente molto peggiore della stessa arteriopatía periferica e che comportano nei claudicanti una mortalità 3-4 volte superiore a quella della popolazione generale<sup>1,2,9</sup>.

Poiché numerosi e importanti trial internazionali hanno ampiamente documentato l'effetto protettivo di antiaggreganti, inibitori dell'enzima di conversione dell'angiotensina (ACE-inibitori) e statine sui fattori di rischio cardiovascolari e hanno ipotizzato nei claudicanti un ruolo difensivo nella mancata progressione dell'arteriopatía degli arti inferiori, oltre che nella prevenzione primaria e secondaria delle eventuali complicanze cardiovascolari<sup>14-17</sup>, il loro impiego potrebbe trovare un razionale anche nella terapia sistemica dell'ischemia critica, anche se a tutt'oggi mancano ancora evidenze del miglioramento della prognosi di ICAI con il loro uso sistematico.

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 sia della microcircolazione periferica degli arti inferiori.

Lo studio della macrocircolazione prevede metodiche semplici e incruente, di primo livello, comprendenti: 1) misurazione delle pressioni segmentarie sistoliche, effettuate a livello del terzo superiore e inferiore di coscia e gamba; 2) misurazione della pressione sistolica alla caviglia e all'alluce; 3) misurazione del rapporto pressorio caviglia/braccio mediante sonda Doppler (ad onda continua). Le tecniche di imaging più sofisticate riguardano: 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-risonanza, Angio-tomografia e tomografia computerizzata spirale.

Anche se le tecniche ultrasonografiche potrebbero costituire attualmente una suggestiva alternativa all'angiografia, perché forniscono la maggior parte delle informazioni anatomiche e funzionali, tuttavia va sottolineato come, a tutt'oggi, siano necessari ulteriori studi per valutare fino a che punto le valutazioni strumentali non invasive, rappresentate oltre che dalle metodiche ultrasonografiche, soprattutto dalla angio-risonanza (e altre nuove modalità di indagine di imaging), possano realmente in futuro sostituire completamente l'angiografia periferica.

Le principali tecniche di tipo non invasivo utilizzate per lo studio della microcircolazione cutanea di ICAI, nell'odierno laboratorio vascolare, sono essenzialmente rappresentate dalla tensiometria transcutanea di ossigeno e anidride carbonica, dalla flussimetria laser Doppler e dalla capillaroscopia statica e dinamica, la cui dettagliata descrizione è stata ampiamente trattata altrove<sup>18</sup>.

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 e un'interpretazione dei risultati della rivascolarizzazione chirurgica e/o endovascolare e/o di terapie farmacologiche e alternative, non più affidata semplicemente alla soggettività del paziente.

La tensiometria transcutanea di ossigeno risulta la tecnica attualmente più diffusa perché semplice, affidabile, facilmente riproducibile sia a breve sia a lunga distanza di tempo<sup>19,20</sup> scarsamente operatore dipendente, nonché poco costosa<sup>21,22</sup>. La sua importanza viene sottolineata anche perché è l'unica misura microcircolatoria inclusa tra i criteri di definizione di ICAI<sup>1,2</sup>.

La tensione transcutanea di anidride carbonica 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<sup>23,24</sup> (zero strumentale).

## Terapia medica: principi generali

Alti tassi di morbilità e mortalità, per lo più per cause cardiovascolari<sup>1,2</sup> aggravano la prognosi di AOPC degli arti inferiori e, in particolare, l'ICAI. Infatti, molti dati di letteratura documentano la prevalenza di un alto grado di comorbilità tra AOPC e cardiopatia ischemica e dimostrano come l'entità della sua eventuale rilevazione sia largamente proporzionale alla sensibilità del test usato per individuarla<sup>25</sup>.

La comorbilità di cardiopatia ischemica nei pazienti arteriopatici si attesta intorno al 30-40% quando è basata sulla loro storia clinica ed elettrocardiografica, mentre raggiunge il 60% in studi che utilizzano il treadmill test<sup>26</sup> o la scintigrafia miocardica con dipiridamolo<sup>27</sup> e addirittura percentuali tra 70 e 90% quando i pazienti sono valutati mediante studi angiografici<sup>28</sup>.

Analogamente, anche negli studi che dimostrano un eccesso di malattie cerebrovascolari in AOPC la sensibilità del test diagnostico utilizzato riflette il grado di comorbilità tra le due patologie, poiché quando l'anamnesi di pregresso ictus è documentata solo clinicamente<sup>29</sup>, risulta positiva in circa il 15%, mentre lo screening ultrasonografico con eco-duplex (o eco-color Doppler) per stenosi carotidee > 30% evidenzia una prevalenza di malattie cerebrovascolari > 50% dei casi con AOPC<sup>30</sup>.

Tuttavia, nonostante l'ormai nota comorbilità tra AOPC, da una parte, e cardiopatia ischemica e/o malattia cerebrovascolare, dall'altra, risulta ancora poco comprensibile l'attuale e inveterata tendenza dei medici curanti a trattare i fattori di rischio cardiovascolare di AOPC meno intensivamente di quanto facciano in presenza di cardiopatia ischemica<sup>31</sup>.

Questo atteggiamento è probabilmente favorito dalla carenza di dati definitivi sul miglioramento della prognosi dell'arteriopatia periferica con il trattamento sistemico dell'aterosclerosi, ma appare evidente, alla luce delle precedenti considerazioni, come tale tendenza vada rovesciata per tentare di ridurre i pesanti tassi di morbilità e mortalità associati alla presenza di ICAI.

La terapia medica deve, pertanto, essere sia di tipo sistemico, mediante la correzione dei fattori di rischio (fumo, diabete mellito, ipertensione arteriosa, dislipidemia, sindromi da ipercoagulabilità), la prevenzione primaria e secondaria degli eventi cerebro- e cardiovascolari, il trattamento delle patologie concomitanti (cardiopatia ischemica, scompenso e aritmie cardiache, insufficienza respiratoria e renale croniche, ecc.), sia locale, mediante trattamento farmacologico intensivo di salvataggio di arto, indispensabile in caso di inoperabilità, dopo angiografia periferica, momentanea o de-

finitiva di ICAI, trattamento topico delle lesioni trofiche, efficace terapia analgesica, ecc.

## Terapia medica sistemica e locale

Nel trattamento complessivo di ICAI (Tabella 1) devono pertanto essere previsti:

- a) correzione dei fattori di rischio cardiovascolare 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 antipertensiva e anticolesterolemica);
- b) terapia farmacologica di supporto con antiaggreganti, anticoagulanti, statine e ACE-inibitori nella prevenzione primaria e secondaria degli eventi cerebro- e cardiovascolari;
- c) impiego di un'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 utilizzo di ossigenoterapia iperbarica);
- e) terapia antibiotica per via sistemica in presenza di lesioni trofiche infette (dopo tampone cutaneo e antibiogramma);
- f) terapia farmacologica con prostanoidi (che possono essere usati per via endoarteriosa o endovenosa) che

**Tabella 1.** Terapia medica sistemica e locale in pazienti con ischemia critica degli arti inferiori, non immediatamente rivascularizzabile.

- 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, ecc.
- b) Correzione 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 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 e antibiogramma)
- g) Terapia farmacologica con prostanoidi

ACE = enzima di conversione dell'angiotensina.

costituiscono attualmente il trattamento di elezione di pazienti ICAI.

Il trattamento con prostanoidi deve essere personalizzato e di tipo intensivo; ogni paziente necessita di uno stretto monitoraggio sia clinico sia strumentale microcircolatorio, da cui estrarre i parametri essenziali per valutare nel tempo quando effettuare la terapia farmacologica prostanoidea, stabilirne efficacemente sia la posologia sia la durata, predire il fabbisogno di ulteriori cicli di terapia.

I cicli di trattamento con prostanoidi possono variare da 2 a 4 settimane e possono essere ripetuti a distanza di tempo a seconda dei parametri clinici e microcircolatori osservati.

## Terapia farmacologica

Nel management odierno del paziente ICAI, la terapia che non preveda utilizzazione di tecniche chirurgiche e/o interventistiche può essere formulata con diverse sostanze farmacologiche, schematizzabili in tre differenti categorie:

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

## Terapia farmacologica senza prostanoidi

Nella categoria dei farmaci non prostanoidei vanno annoverati principalmente gli antiaggreganti piastrinici, gli anticoagulanti e fibrinolitici, gli emoreologici o vasoattivi.

Aspirina, ticlopidina e clopidogrel costituiscono i principali farmaci antiaggreganti e il loro meccanismo di azione principale è rappresentato dalla prevenzione del danno endoteliale secondario all'aggregazione piastrinica.

Questi farmaci hanno dimostrato un'efficace protezione cardiovascolare delle complicanze aterosclerotiche negli stadi più precoci di arteriopatia, anche se i dati favorevoli della terapia antiaggregante sono stati, infatti, estrapolati non da trial controllati, effettuati in pazienti ICAI, ma da studi su arteriopatici affetti da claudicatio intermittens.

Infatti, la ticlopidina ha ridotto sia la mortalità (del 29%) sia la morbilità per infarto miocardico e vasculopatie cerebrali (dell'11.4%) nei claudicanti confrontati con placebo (STIMS)<sup>32</sup>.

L'effetto favorevole di aspirina e ticlopidina, mediante riduzione di circa il 27% di eventi cardiovascolari maggiori (quali ictus, infarto miocardico e morte vascolare) nella claudicatio intermittens e riduzione della riocclusione dei graft periferici di circa il 22%<sup>14</sup>, è stato confermato nella recente metanalisi Antithrombotic Trialists' Collaboration effettuata nel 2002.

Nello studio CAPRIE, nel sottogruppo di oltre 6000 claudicanti trattati con clopidogrel (75 mg/die) fu documentata un'ulteriore riduzione annua dell'8.7% del rischio relativo di incidenza di infarto miocardico, ictus o morte vascolare, rispetto ai pazienti trattati con aspirina (325 mg/die)<sup>33</sup>.

Molto scarni risultano, invece, i dati riguardanti il trattamento di ICAI con antiaggreganti, dal momento che un solo studio, giapponese, del 1982 dimostrò, in soggetti trattati per 6 mesi con ticlopidina (500 mg/die), confrontati con trattati con placebo<sup>34</sup>, una percentuale più elevata di ulcere guarite (24 vs 14%) con un ridotto tasso di amputazione (2 vs 4%).

Tra i farmaci anticoagulanti, due studi, in aperto, con eparina a basso peso molecolare, attualmente preferita alla non frazionata per migliore facilità di impiego e tolleranza individuale, hanno mostrato una riduzione del dolore a riposo e un miglioramento delle ulcere trofiche resistenti ad altri trattamenti convenzionali, mentre risultano assenti trial dimostranti un'analogia efficacia dell'eparina non frazionata, utilizzata frequentemente nella profilassi o in associazione con procedure chirurgiche vascolari<sup>35,36</sup>.

I farmaci vasoattivi (pentossifillina, buflomedil, naftidrofuryl, calcioantagonisti) in passato impropriamente definiti vasodilatatori, perché capaci di aumentare la portata ematica distrettuale, sono risultati efficaci nella claudicatio intermittens, ma nessuno di essi ha mostrato effetti clinici favorevoli in studi controllati su ampie casistiche ICAI.

I loro effetti farmacologici principali si esplicano attraverso la riduzione della viscosità ematica, l'incremento della deformabilità eritrocitaria e la riduzione della contrattilità della miocellula arteriolare (e della sua responsività ai numerosi stimoli costrittori presenti nell'aterosclerosi tramite modulazione della liberazione degli ioni calcio), inibizione dell'aggregazione piastrinica e dell'attivazione leucocitaria, riduzione del rilascio di radicali liberi di ossigeno, aumento della perfusione tissutale, tramite azione modulatoria sull'endotelio con riequilibrio tra *microvascular flow regulating system* e *microvascular defense system*.

La pentossifillina impiegata per via parenterale (alla dose di 600 mg per 3 volte/die, per 3 settimane), in due trial multicentrici in ICAI controllati con placebo, dimostrò, in un primo studio europeo del 1995, un significativo miglioramento della sintomatologia dolorosa (58 vs 42%) nei pazienti con dolore a riposo. I risultati dello studio furono fortemente inficiati dall'uso degli analgesici in tutti i pazienti, dall'inesistente miglioramento del percorso di marcia su tappeto ruotante, oltre che dalla mancanza assoluta di risultati a 6 mesi<sup>37</sup>, mentre nel successivo studio norvegese, condotto con lo stesso protocollo, seppure in una casistica di pazienti ridotta, si osservò solo un lieve, ma non significativo, miglioramento nei pazienti trattati con pentossifillina<sup>38</sup>.

Buflomedil, farmaco a prevalente azione  $\alpha$ -1 e  $\alpha$ -2-antiadrenergica, testato in uno studio di pazienti ICAI

con necrosi cutanea controllati con placebo, mostrò un significativo miglioramento capillaroscopico (72 vs 23%), anche se successivamente non sono stati condotti ulteriori studi in soggetti ICAI<sup>39</sup>.

Naftidrofuryl, antagonista della serotonina, in uno studio relativo a pazienti ICAI con dolore a riposo dimostrò un incremento della distanza di marcia e un aumento della tensione transcutanea di ossigeno al piede sintomatico, mentre, in un piccolo studio di soggetti ICAI controllati con placebo, il miglioramento soggettivo risultò analogo in entrambi i gruppi<sup>40</sup>.

L'effetto favorevole sul sistema vascolare periferico dei calcioantagonisti, in particolare nifedipina, non è stato confermato da evidente beneficio clinico in ICAI<sup>41</sup>.

Tra i nuovi farmaci, in cui vanno annoverati L-arginina e  $\alpha$ -trinositolo, il primo, L-arginina, precursore dell'ossido nitrico endogeno, che induce una vasodilatazione periferica e inibisce l'aggregazione piastrinica, non ha dimostrato nessun effetto positivo sul follow-up a lungo termine, nonostante l'infusione singola del farmaco sia in grado di incrementare il flusso sanguigno nell'arteria femorale dei pazienti con ischemia severa<sup>42</sup>.

L' $\alpha$ -trinositolo, antagonista del neuropeptide NPY (cotrasmettitore simpatico con adrenalina, e perciò dotato di potente azione vasocostrittiva), nonostante abbia mostrato, in un piccolo studio clinico su diabetici ICAI, effetti favorevoli documentati con ossimetria transcutanea, flussimetria laser Doppler, capillaroscopia, deve ancora confermare la sua efficacia sul lungo periodo<sup>43</sup>.

Un farmaco più recente, cilostazolo, inibitore della fosfodiesterasi, ad azione antiaggregante e vasodilatatoria, in commercio attualmente solo negli Stati Uniti, ha mostrato in un trial randomizzato e in doppio cieco, effetti favorevoli sull'aumento della distanza di marcia e sulla qualità di vita, anche se non privo di importanti effetti collaterali, quali cefalea e diarrea, che comunque ne sconsigliano l'impiego nei pazienti con ridotta riserva cardiaca<sup>44</sup>.

A commento finale sull'impiego della terapia farmacologica senza prostanoidi, in ICAI, si può sottolineare come i pochi farmaci vasoattivi, testati in modo appropriato nel trattamento di tale patologia, abbiano fornito risultati poco convincenti o negativi e, pertanto, il loro impiego non può essere attualmente suggerito in tale tipologia di pazienti.

Viceversa, pur in assenza di conclusioni definitive sull'uso degli antiaggreganti in ICAI, tale terapia deve essere fortemente raccomandata proprio per la sua dimostrata capacità di ridurre significativamente l'incidenza di infarto del miocardio e di ictus 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

L'introduzione di geni nelle cellule di organi bersaglio per indurre l'espressione di un determinato fenotipo viene definita terapia genica. La veicolazione dei geni può avvenire mediante plasmidi (tratti di DNA) nudi, inseriti passivamente nelle cellule, mediante introduzione di DNA all'interno di liposomi aderenti alla membrana cellulare e liberanti il contenuto nel citoplasma cellulare, oppure, ed è il sistema più utilizzato, utilizzando il 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 l'induzione dell'angiogenesi, alla cui realizzazione contribuiscono principalmente la liberazione di diversi fattori di crescita vascolare, tra i quali particolarmente importanti risultano il fattore di crescita endoteliale (VEGF), angiopoietina e il fattore di crescita fibroblastico (FGF).

In anni recenti è stato dimostrato come, in un arto ischemico, si possa realizzare l'incremento della circolazione collaterale mediante formulazioni ricombinanti di fattori di crescita angiogenetici.

I primi studi sperimentali e clinici sull'angiogenesi furono realizzati mediante la somministrazione o l'induzione *in loco* di un singolo fattore di crescita, quale il VEGF, che può essere prodotto da varie linee cellulari, in particolare cellule endoteliali e muscolari lisce.

Dal momento che VEGF ha come unico bersaglio la cellula endoteliale, ciò configura contestualmente sia un sistema paracrino, perché le cellule muscolari lisce sono poste nella parete vascolare accanto a quelle endoteliali, sia 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 dall'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), l'induzione del rilascio di ossido nitrico e di proteasi interstiziali che favoriscono il rimodellamento vasale della neoangiogenesi.

La terapia genica fu effettuata in tre pazienti ICAI, con dolore a riposo, trattati mediante trasferimento del plasmide DNA-VEGF a dosi scalari (1000 mg a partire da 100 mg); l'incremento della dose a 2000 mg evidenziò la formazione di neoangiogenesi sia istologica sia angiografica e, dopo 1 anno di follow-up, furono osservati un incremento di flusso sanguigno e scomparsa del dolore<sup>45</sup>.

Nel 1998 Baumgartner et al.<sup>46</sup> somministrarono plasmide nudo di VEGF, al dosaggio di 4000 microgrammi, mediante microiniezioni nelle masse muscolari di 10 arti ischemici di ICAI non rivascolarizzabili (di cui 7 con ulcere trofiche), osservando dopo 2 settimane un picco nella concentrazione di VEGF nella vena reflua

dall'arto, un incremento dell'indice pressorio caviglia/braccio, neoformazione (in 7 arti) di vasi collaterali visibili angiograficamente e un aumento di flusso distale (in 8 casi) documentato dalla risonanza magnetica. In 4/7 arti ischemici le ulcere trofiche guarirono o migliorarono, contribuendo al salvataggio dell'arto di 3 pazienti destinati ad amputazione sottogenicolata, altrimenti inevitabile, mentre le complicanze locali furono limitate ad edema transitorio degli arti inferiori, secondario all'aumentata permeabilità capillare VEGF-dipendente.

In uno studio cinese non randomizzato, VEGF veicolato da plasmide a dosi variabili tra 400 e 2000 mg venne iniettato direttamente nell'arto ischemico di 21 pazienti ICAI (16 con ulcere trofiche), e l'iniezione intramuscolare fu ripetuta dopo 28 giorni, al medesimo dosaggio<sup>47</sup>. L'efficacia clinica del trattamento fu testimoniata dalla guarigione o dal miglioramento delle ulcere nel 75% dei casi e dalla cessazione del dolore a riposo in 20/21 pazienti, mentre la risonanza magnetica documentò la neoformazione di vasi. In questo studio venne confermato l'effetto dose-dipendente della terapia così come l'assenza di eventi collaterali sfavorevoli, ad eccezione della comparsa di edema dell'arto sintomatico trattato<sup>47</sup>.

Gli studi clinici che hanno utilizzato VEGF in ICAI seppur promettenti, hanno il limite di rimanere, tuttavia, ancora aneddotici e non controllati.

In generale, inoltre, va attentamente valutata, nell'utilizzazione clinica dei fattori vascolari di crescita, la possibilità di sviluppo di tumori preesistenti, di peggioramento della retinopatia diabetica, nonché l'induzione di angiogenesi all'interno di una placca aterosclerotica stabile, che potrebbe determinarne una pericolosa instabilità.

Prospettive terapeutiche più recenti nell'induzione della neoangiogenesi sono derivate dall'impiego di 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<sup>48,49</sup>.

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 sia nel vantaggio di poter usare elementi naturali.

L'angiogenesi stimolata dalle cellule staminali, infatti, può essere conseguita mediante impiego di tutta la popolazione midollare o della sola frazione mononucleata, comprendente, in particolare, cellule monocitoidi o linfocitoidi che sembrano contenere le EPC, o, infine, mediante una popolazione cellulare selezionata contenente le sole EPC.

Nel trial giapponese TACT randomizzato e in doppio cieco di Tateishi-Yuyama et al.<sup>50</sup>, fu studiata la possibilità di neoangiogenesi mediante innesto autologo di cellule midollari nell'arto ischemico di pazienti ICAI. In tale studio, nel sottogruppo trattato con cellule mononucleate midollari fu dimostrato un consistente beneficio clinico, caratterizzato in 15/20 casi dal salvataggio da amputazioni digitali, dal miglioramento delle ulcere trofiche in 6/10 casi e dalla remissione completa del dolore a riposo in 22 pazienti; sul piano strumentale, venivano documentati contestualmente l'incremento degli indici pressori, angiografici e ossimetrici a carico dell'arto ischemico rispetto ai controlli.

Viceversa, l'inoculazione, in un sottogruppo ICAI, di cellule mononucleate del sangue periferico non conseguì risultati positivi, quali quelli ottenuti con l'impiego delle cellule staminali midollari, in contrasto con altri studi osservazionali che avevano utilizzato favorevolmente elementi corpuscolari periferici, quali cellule mononucleate periferiche<sup>51</sup> o leucociti periferici<sup>52</sup>.

L'infusione endoarteriosa di cellule staminali autologhe di tipo monocitoide isolate dal sangue periferico risultò, altresì, efficace in una piccola casistica di 7 pazienti ICAI inoperabili, dimostrando nel follow-up a 3 mesi un miglioramento dell'indice pressorio caviglia/braccio, di quello ossimetrico, della capacità di vasodilatazione flusso-dipendente dopo infusione di adenosina e della capacità vasodilatatoria endotelio-dipendente dopo acetilcolina<sup>53</sup>.

A commento finale sull'impiego della terapia genica e cellulare staminale, in ICAI, si può sottolineare come, tutt'oggi, risultino ancora pochi i lavori clinici effettuati e, quindi, si rilevi la necessità di condurre studi ben controllati in grado di dimostrare l'efficacia del trattamento, i meccanismi fisiopatologici sottesi e la durata nel tempo dei risultati ottenuti. In particolare, va definitivamente dimostrato, mediante endpoint condivisi, che la neoangiogenesi ottenuta sperimentalmente nel muscolo di ratto o coniglio, preventivamente e acutamente ischemizzato, sia ottenibile anche nell'arto cronicamente 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 della perfusione locale dell'arto ischemico.

## Terapia con prostanoidi

I prostanoidi rappresentano attualmente i farmaci di prima scelta nell'ICAI inoperabile e ad alto rischio di perdita di arto<sup>1,2,54</sup>. Questi farmaci, che hanno dato luogo al più grande numero di studi su ICAI negli ultimi 15 anni, inizialmente hanno dato risultati spettacolari e incoraggianti su casistiche limitate, mentre studi controllati successivi hanno parzialmente mitigato l'ottimismo iniziale.

La dissonanza rilevata tra i diversi risultati di letteratura può probabilmente essere attribuita alla maggiore o minore precocità con cui viene posta la diagnosi di ischemia critica, oltre che alla tempestività con cui la terapia è instaurata. In aggiunta, vi è da sottolineare che poiché la potente azione dei prostanoidi si svolge esclusivamente a livello microcircolatorio, il loro impiego risulta tanto più efficace, quanto minore risulta il grado di deterioramento della riserva microvascolare cutanea nell'arto sintomatico.

I prostanoidi maggiormente usati sono stati prostaglandina (PGE1), prostaciclina naturale (PGI2) e la prostaciclina stabile di natura sintetica (iloprost).

Poiché la prostaciclina naturale, impiegata nei primi studi su ICAI, ha un'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 in ICAI.

Una metanalisi di trial randomizzati e controllati vs placebo in pazienti al III e IV stadio di Fontaine trattati con diversa terapia farmacologica (ancrod, naftidrofuryl, PGI2, PGE1, iloprost) documentò un beneficio clinico caratterizzato dalla riduzione di dolore a riposo e guarigione di ulcere trofiche, mentre, nell'analisi di endpoint finali costituiti da tassi di amputazione maggiore e di mortalità nel lungo periodo, soltanto il trattamento con iloprost mostrò superiorità di effetti favorevoli statisticamente significativi<sup>54</sup>.

### *Prostaglandina (alprostadi)*

PGE1 (alprostadi) fu impiegato nei primi studi clinici per via intrarteriosa, allo scopo di evitare la sua rapida inattivazione polmonare, mentre successivamente fu utilizzato in pazienti al III stadio di Fontaine tramite accesso endovenoso e confrontato con pentossifillina, che tuttavia non può essere considerata una terapia attiva di riferimento<sup>55</sup>.

Alstaedt et al.<sup>56</sup> in uno studio randomizzato controllato, in aperto, relativo a 228 pazienti con ulcere trofiche, con e senza diabete mellito, dimostrarono una responsività complessiva (assenza di dolore ischemico e guarigione delle ulcere trofiche) di PGE1, confrontata con iloprost, di grado minore (43.1 vs 52.7%). In ICAI sottoposta a PGE1 la responsività dei diabetici, rispetto ai non diabetici, apparve significativamente minore (36 vs 53%) mentre la risposta fu analoga nei sottogruppi di ICAI trattati con iloprost (53 vs 51%). Nel follow-up a 6 mesi la percentuale di pazienti sopravvissuti e con arto integro risultò uguale (62%) nei due gruppi, mentre i soggetti sottoposti a terapia con PGE1 mostrarono, rispetto ai trattati con iloprost, un tasso di amputazione lievemente minore (27 vs 32%) contro quello di mortalità nettamente più alto (14.6 vs 7.5%)<sup>56</sup>.

Nello studio italiano ICAI<sup>57</sup> multicentrico, controllato e randomizzato, condotto in aperto su 1560 pazienti trattati con alprostadi o con terapia convenzionale (per un periodo massimo di 28 giorni) si dimostrò

come la terapia con alprostadil avesse significativamente ridotto l'incidenza di gravi sovraggiunti eventi cardiovascolari (mortalità, amputazioni maggiori, infarto del miocardio, ictus e persistenza di ischemia critica), 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 6 mesi (52.6 vs 57.5%, rispettivamente, con rischio relativo di 0.92,  $p < 0.074$ ).

Per quanto riguarda la terapia con alprostadil va sottolineato come, in tutti i lavori precedentemente citati, siano però mancate le indicazioni relative al trattamento dei soggetti con ICAI persistente e al loro successivo destino.

### **Iloprost**

Iloprost costituisce l'analogo stabile di sintesi della prostaciclina PGI<sub>2</sub>, dotato, *in vitro*, di potente azione antiaggregante piastrinica (aumento di formazione di AMPc intrapiastrinico mediato dall'attivazione dell'adenilciclasi) e vasodilatante, prevalente sul distretto arterioso, da attribuire soprattutto all'aumento dei livelli di AMPc nelle cellule muscolari lisce vasali e, in parte, ad altri meccanismi (riduzione della risposta vasocostrittrice al trombossano A<sub>2</sub> e interazione con la neurotrasmissione simpatica, sia pre- sia postsinaptica, della muscolatura liscia vasale)<sup>58</sup>.

Recenti lavori sperimentali su modello corneale murino, inoltre, dimostrano *in vivo* il ruolo angiogenetico di iloprost, mediato dall'induzione del fattore di crescita vascolare endoteliale (e fortemente ridotto dall'inibizione di VEGF) e modulato dall'attivazione specifica di recettori localizzati nel nucleo cellulare<sup>59</sup>.

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 e endotelio danneggiato, determinando il miglioramento del flusso ematico e il ripristino dell'equilibrio fisiologico tra prostanoidi endogeni, soprattutto prostaciclina e trombossano.

Inizialmente l'efficacia di iloprost fu favorevolmente testata in sei studi prospettici, multicentrici, randomizzati e in doppio cieco, condotti in diversi paesi europei nei primi anni '90 ed effettuati su un insieme di 705 pazienti ICAI, al III e IV stadio di Fontaine, non rivascularizzabili chirurgicamente e trattati con cicli di terapia variati da 2 a 4 settimane consecutive al dosaggio di 0.5-2 ng/kg/min per 6 h consecutive/die<sup>54</sup>.

La metanalisi dei risultati dei sei studi sostanzialmente una significativa percentuale di responder (R) a iloprost rispetto ai pazienti trattati convenzionalmente (51.5 vs 29.1%), mostrando contestualmente una significativa riduzione del dolore ischemico (odds ratio = 1.58) e un incremento di almeno il 30% di guarigione delle ulcere trofiche (odds ratio = 2.48)<sup>54</sup>.

In aggiunta, la metanalisi di 3 studi con follow-up completato a 3 (studio francese) e 6 mesi (studi inglese

e svedese) mostrò, inoltre, una significativa riduzione del tasso di amputazione maggiore dell'arto ischemico a favore di iloprost ( $p < 0.001$ ).

Nei due studi con follow-up a 6 mesi, infine, si osservò una significativa riduzione della prevalenza di endpoint combinato (dei tassi di amputazioni maggiori e di mortalità) nel gruppo trattato con iloprost (35%;  $n = 45/130$ ), rispetto a quello trattato con placebo (55%;  $n = 68/124$ ), dimostrando definitivamente come l'uso di iloprost, nel paziente ICAI, fosse significativamente associato ( $p < 0.001$ ) ad una più elevata probabilità di sopravvivenza e con i propri arti ancora integri<sup>54</sup>.

Tali sperimentazioni indussero gli autori ad abbandonare, nei trial controllati ed effettuati negli anni successivi, l'uso del placebo per motivi etici, limitando il confronto vs iloprost alla terapia medica convenzionale o ad altra classe di prostanoidi, come PGE<sub>1</sub>, oppure misurando, in aperto, l'efficacia e la tollerabilità di iloprost mediante valutazione nel follow-up a distanza di endpoint "duri", rappresentati dai tassi di amputazione maggiore, di mortalità e di gravi complicanze cardiovascolari.

Il GISAP Study, studio multicentrico italiano<sup>60</sup> effettuato nel 1994 e relativo a 146 ICAI trattati per 3-8 settimane alla dose massima tollerata di 2 ng/kg/min per 6 h consecutive, mostrò, ad 1 anno di follow-up, tassi complessivi di amputazioni, maggiori e minori (19.9%) e di mortalità (6.8%), concentrati, in misura di due terzi, sul totale delle amputazioni e, di circa metà, sul totale dei decessi, entro il primo mese dal trattamento farmacologico. Nel GISAP Study, infine, la distribuzione degli eventi risultò ben bilanciata tra pazienti ICAI diabetici e non diabetici, con un tasso di amputazione significativamente più elevato al IV stadio (26%) rispetto al III (6.5%)<sup>60</sup>.

La Consensus Europea sull'ischemia critica aveva mostrato, viceversa, dopo 1 anno di follow-up, una percentuale di ICAI sopravvissuti e con arti ancora integri nel solo 55% dei casi, associati ad un altro 25% di amputazioni maggiori e un rimanente 20% di exitus<sup>1,2</sup>.

Nello studio tedesco del 1993 di Alstaedt et al.<sup>56</sup>, precedentemente menzionato, il sottogruppo di pazienti ICAI, di natura diabetica, trattato con iloprost, dimostrò una percentuale di R significativamente più elevata di quelli trattati con PGE<sub>1</sub> (53 vs 36.6%,  $p < 0.05$ ).

Lo studio tedesco di Staben e Albring<sup>61</sup>, in aperto, effettuato nel 1996 e relativo a 900 pazienti ICAI al III e IV stadio di Fontaine, dimostrò il rapporto inverso esistente tra maggior efficacia del trattamento con prostanoidi e grado minore di compromissione microcircolatoria, espressa dallo stadio clinico di appartenenza dei pazienti. Infatti, nella ICAI di natura non diabetica, la percentuale complessiva di R a iloprost fu del 66% allo stadio III e del 41.8% nello stadio IV di Fontaine, mentre nella ICAI diabetica le percentuali furono di 75.9 e di 44.6% al III e IV stadio, rispettivamente, con un'efficacia, quindi, del trattamento con iloprost sostanzialmente sovrapponibile sia nei soggetti non diabetici sia diabetici.

Nel DAWID Study Group<sup>62</sup>, ulteriore studio tedesco di 302 pazienti ICAI, suddivisi in 4 sottogruppi, sottoposti, rispettivamente, a trattamento con dosaggi crescenti di iloprost (25, 50, 100 e 200 mg/die per 4 settimane), si dimostrò, invece, come l'effetto favorevole della terapia, monitorata attraverso scomparsa di dolore a riposo e miglioramento di lesioni trofiche, attestatosi complessivamente tra 48.7 e 53.5%, non fosse dose-dipendente, e come il dosaggio ridotto a 50 mg (che è quello attualmente in commercio) avesse la stessa efficacia di quello massimo titrabile, con il consistente vantaggio di ridurre sensibilmente gli spiacevoli e frequenti effetti collaterali del farmaco (cefalea, rush cutanei, nausea, diarrea, ecc.) dovuti alla sua potente azione vasodilatatoria.

Infine, la responsività alla terapia (espressa contestualmente dalla sensibile riduzione o scomparsa di dolore ischemico, dal miglioramento delle lesioni trofiche e dall'incremento del percorso di marcia) si attestò al 47%, nello studio francese del 2000 di Duthois et al.<sup>63</sup>, relativo a 90 ICAI trattati con iloprost per 28 giorni consecutivi. In tale lavoro la valutazione clinica dopo 6 mesi, 1 e 2 anni di follow-up documentò un tasso di mortalità rispettivamente di 11, 20 e 25% e uno di amputazioni maggiori di 27, 30 e 32%, con una percentuale complessivamente decrescente di pazienti vivi e con arti integri, variata da 68 a 62 a 56% nei medesimi periodi di tempo. Anche in questo studio non si evidenziarono differenze significative, nel confronto a 6 mesi, tra ICAI diabetici e ICAI non diabetici in relazione, rispettivamente, alle percentuali di mortalità (12 vs 10%), di amputazioni maggiori (23 vs 35%) o di pazienti vivi e con arti integri (70 vs 65%)<sup>63</sup>.

In 66/90 pazienti ICAI in cui fu utilizzata l'ossimetria transcutanea (TCpO<sub>2</sub>) come indice predittivo, si dimostrò, nei R l'incremento significativo di TCpO<sub>2</sub> in posizione supina/declive, dai valori basali medi di 6/34 mmHg a quelli di 26/42 mmHg, dopo terapia con iloprost per 28 giorni, mentre TCpO<sub>2</sub> rimase pressoché immodificata nei non responder (NR), passando mediamente da valori, rispettivamente, pre- e post-terapia, di 5/29 e 13/28 mmHg<sup>63</sup>.

A commento finale sull'impiego della terapia con prostanoidi in ICAI, si può sottolineare come, attualmente, tale trattamento farmacologico debba essere considerato di elezione nei pazienti con rischio di perdita di 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.

Va sottolineato, comunque, che per sfruttare a fondo la grande potenzialità di questi farmaci occorre sollecitare l'impiego soprattutto nelle fasi iniziali dell'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).

## Nostra esperienza nel trattamento di ischemia critica degli arti inferiori con iloprost

La quasi totalità degli studi effettuati mediante l'impiego di prostanoidi in casistiche di pazienti ICAI si è basata su soli dati clinici e ciò può aver condizionato risultati apparentemente contraddittori, formulati su valutazioni soggettive sostanzialmente divergenti. Per superare queste difficoltà, nel nostro laboratorio vascolare viene routinariamente effettuato lo studio del microcircolo cutaneo dell'arto ischemico mediante l'utilizzo bilaterale agli arti inferiori di almeno una delle tecniche non invasive più comuni, quali la misura transcutanea delle pressioni parziali di ossigeno (TCpO<sub>2</sub>) e anidride carbonica (TCpCO<sub>2</sub>), quella della flussimetria laser Doppler e della videocapillaroscopia a sonda ottica<sup>18</sup>.

In un nostro primo studio effettuato nel 1995<sup>64</sup>, 8 pazienti consecutivi (7 maschi, 1 femmina, età media di 66 anni, 1 diabetico, 87% al IV stadio di Fontaine), affetti da ICAI, considerata dai chirurghi vascolari, dopo valutazione angiografica, non immediatamente rivascolarizzabile, furono trattati con iloprost, al dosaggio medio di 1.6 ng/kg/min per 6 h/die e per 28 giorni consecutivi.

Nel follow-up a breve termine la risposta clinica al trattamento fu giudicata favorevole in presenza di completa scomparsa del dolore ischemico, di cessazione assoluta dell'uso degli analgesici e/od oppiacei<sup>65</sup> e di parziale guarigione delle lesioni trofiche distali.

Dopo la terapia con iloprost, risultarono R 3 pazienti (38%), di cui 2 precedentemente sottoposti, senza esito, a simpaticolisi percutanea fenolica e i rimanenti 5 furono NR (62%), dei quali 3 già sottoposti, nel passato, a simpaticolisi fenolica e 2 ad elettrostimolazione midollare epidurale cronica.

Nel follow-up a 3 mesi si registrarono un decesso tra i R e, tra i NR, due tentativi estremi di rivascolarizzazione chirurgica, di cui uno fallito e complicato da un'amputazione maggiore e uno seguito da exitus, nei mesi successivi.

Nel follow-up a 6 mesi solo la metà degli 8 pazienti ICAI della nostra casistica (50%) risultò ancora vivente e con arto integro, mentre si evidenziarono tassi ugualmente elevati sia di amputazione maggiore (25%) sia di mortalità (25%). Nel follow-up a 12 mesi tali percentuali risultarono invariate.

Nella nostra esperienza, pertanto, si documentò il *re-timing* chirurgico, da parte dei chirurghi vascolari, mediante due tentativi estremi di riabilitazione vascolare, precedentemente esclusa dopo indagine angiografica. Tale atteggiamento non deve essere considerato

contraddittorio, dal momento che recenti autorevoli indicazioni confermano che la terapia con prostanoidi debba essere effettuata quando gli interventi di chirurgia ricostruttiva e/o endovascolare risultino impossibili, abbiano poca possibilità di successo o siano precedentemente falliti<sup>1,2</sup> e suggeriscono, altresì, il loro impiego anche nei pazienti ICAI eventualmente eleggibili per la chirurgia ricostruttiva, quando il disegno sperimentale dello studio non risulta pregiudicato da una terapia farmacologica con prostanoidi che rimandi o ritardi eccessivamente l'intervento ricostruttivo e/o endovascolare, compromettendone così l'esito<sup>65</sup>.

Dal punto di vista strumentale microcircolatorio, il nostro studio, inoltre, enfatizzò l'importanza di utilizzare la misurazione bilaterale supino/declive di TCpO<sub>2</sub> e TCpCO<sub>2</sub> all'avampiede, previo riscaldamento della sonda termostata a 44°C, nel monitoraggio a breve termine dei pazienti.

La TCpO<sub>2</sub> supina mostrò complessivamente un andamento erratico al piede sintomatico, con incremento ossimetrico significativo, nei 3 R (passati da valori basali di 0, 3 e 24 mmHg a quelli finali di 11, 45 e 50 mmHg, rispettivamente) e rimanendo, invece, pressoché invariata dopo terapia con ilprost, nei restanti 5 NR. In posizione ortostatica, viceversa, i livelli di TCpO<sub>2</sub> si incrementarono significativamente ( $p < 0.02$ ) in tutti i pazienti dopo trattamento con ilprost.

Contestualmente, la TCpCO<sub>2</sub> supina al piede sintomatico mostrò un netto decremento, dopo terapia con ilprost, nei 3 R, passando, rispettivamente, dai valori basali di 99, 44 e 40 mmHg a quelli finali, para-fisiologici di 41, 38 e 37 mmHg, correlandosi così inversamente con il corrispondente e significativo incremento ossimetrico supino/declive, mentre, viceversa, nei 5 NR, la TCpCO<sub>2</sub> risultò immo-dificata o addirittura si incrementò ulteriormente, in parallelo ad una corrispondente ossimetria, risultata sovrapponibile a 0 mmHg, e rimasta pressoché immo-dificata dopo ilprost. All'avampiede dell'arto controlaterale si documentarono, in tutti gli 8 pazienti, significativi ( $p < 0.02$ ) e paralleli incrementi ossimetrici e decrementi capnometrici, sia in posizione supina sia declive, confermando, anche in tale sede, l'effetto sistemico di ilprost, senza alcun fenomeno di emostorno dal lato sintomatico.

Alla luce dell'andamento bilaterale dei parametri gas analitici transcutanei, all'avampiede dei pazienti ICAI, pertanto, si può ipotizzare un modello sperimentale, costituito da un arto sintomatico, in gravissima ischemia critica, e uno controlaterale, corrispondente ad uno stadio meno severo di ICAI, confermando, peraltro indirettamente, come la terapia farmacologica con prostanoidi risulti tanto più efficace, quanto più instaurata precocemente (dopo la diagnosi strumentale di ICAI non immediatamente rivascolarizzabile).

Nella nostra casistica, infatti, si è registrata una completa responsività a ilprost nella totalità degli arti controlaterali, in cui la compromissione limitata e re-

versibile del metabolismo microcircolatorio locale ha corrisposto a stadi clinici di ICAI meno severa. Al piede sintomatico, invece, la riserva microvascolare cutanea è risultata solo parzialmente compromessa, nei R, permettendo sul piano clinico la scomparsa di dolore a riposo e la lenta guarigione di lesioni trofiche.

Specularmente, l'insuccesso registrato all'avampiede sintomatico dei NR è stato probabile conseguenza di una condizione molto più avanzata di ICAI, in cui la suddetta riserva microvascolare è risultata irreversibilmente esaurita, con conseguenze metaboliche che si sono tradotte nella persistenza di marcata ischemia iposica, associata a grave acidosi tissutale locale e sul piano clinico, da 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 sull'individuazione di un eventuale iter diagnostico-terapeutico di tipo intensivo, da adattare al singolo paziente e da sviluppare, nel follow-up a lungo termine di ICAI, cercando di definire più precisamente, nel management farmacologico di ICAI non immediatamente rivascolarizzabile, la posologia, la durata e la periodicità dei cicli di terapia con prostanoidi<sup>13</sup>.

Ventisei pazienti ICAI consecutivi (21 con presenza di lesioni trofiche distali, 31 arti sintomatici, 15 maschi, età media 75.9 anni), portatori da molti anni di diabete mellito di tipo 2 (media, 15.6+/-10.1 anni) 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 2-3 settimane, mediante infusione giornaliera di ilprost (mediana di 1.2 ng/kg/min e.v., per 6-10 h consecutive die)<sup>13</sup>.

I pazienti furono sottoposti a valutazioni cliniche e microcircolatorie (mediante TCpO<sub>2</sub> e TCpCO<sub>2</sub> degli arti inferiori) effettuate in condizioni basali, alla fine del ciclo di terapia con ilprost, dopo 3, 6, 12, 18, 24 e 36 mesi di follow-up.

Anche in questo studio la responsività al trattamento fu giudicata favorevole in presenza di associazione di un marcato miglioramento clinico (completa remissione del dolore ischemico e cessazione della terapia antalgica, progressiva guarigione delle lesioni trofiche, eventuale incremento di autonomia di marcia) con quello microcircolatorio, espresso dal significativo incremento di TCpO<sub>2</sub> in clino-ortostatismo e dal ripristino di valori fisiologici di TCpCO<sub>2</sub> in clinostatismo.

Sul piano clinico, dopo un primo ciclo di terapia con ilprost, 14 pazienti (54%) risultarono R e i rimanenti 12 (46%) furono giudicati NR. Dopo conferma, nel corso del follow-up, del buon andamento clinico e strumentale della ICAI diabetica, i 14 R furono invitati ad effettuare un nuovo ciclo di terapia con prostanoidi per la durata di almeno 2 settimane, 1 volta all'anno, a partire dall'anno successivo al primo trattamento.

L'evoluzione clinica dei rimanenti 12 (46%) NR risultò molto diversificata, dal momento che 3 pazienti (12%) furono riconsiderati, nei mesi successivi, per riabilitazione chirurgica dell'arto sintomatico, nel tentativo estremo di salvataggio d'arto, 1 (4%) subì un'amputazione maggiore, non più evitabile, mentre gli 8 pazienti rimanenti (30%) effettuarono, nel giro di 3 mesi, un nuovo ciclo di terapia con ilprost, per dosaggio (1.2 ng/kg/min ev) e durata (media di 2 settimane), analogo al primo trattamento. Cinque degli 8 pazienti NR sottoposti a secondo ciclo di ilprost mostrarono, seppur tardivamente, una risposta favorevole alla terapia (late responder, LR), elevando così la percentuale complessiva dei R (19/26) da un iniziale 54% fino a 73% a 6 mesi.

Degli altri 3 pazienti NR trattati secondariamente con ilprost, senza esito favorevole, uno subì un'amputazione maggiore per infezione osteomielitica del calcagno sintomatico, nonostante il cospicuo miglioramento della perfusione locale indotto dall'elettrostimolatore midollare spinale, impiantato dopo ilprost, un'altra paziente fu sottoposta ad angioplastica distale bilateralmente, 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 e antidolorifici, conservando però a distanza di 36 mesi l'integrità dell'arto ischemico. Nel follow-up a 6 mesi dei diabetici ICAI si registrarono due amputazioni maggiori (6.5% su 31 arti sintomatici), ma non si evidenziò alcun decesso e quindi, a tale data, si documentò complessivamente un tasso di sopravvivenza di 100% (73% di R e 27% di NR) (Figura 1). Nel follow-up a 12 mesi, invece, il tasso complessivo di mortalità fu dell'11% (n = 3 pazienti, di cui uno precedentemente amputato) per cause cardiovascolari, mentre vi furono tre amputazioni maggiori (9.7% su 31 arti) e una mi-

nore (limitata a un dito) in una paziente precedentemente sottoposta con successo ad angioplastica distale. Entro 1 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 1).

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 rivascolarizzazioni o terapie antidolorifiche aggiuntive.

In conclusione, i pazienti ancora vivi e con arto integro costituirono una percentuale complessiva a 18 mesi del 77% (n = 20/26) e a 24 mesi del 73% (19/26), rispetto alla casistica totale iniziale (Figura 1).

La notevole gravità di ICAI diabetica della nostra casistica venne documentata sul piano strumentale microcircolatorio, sia dalla marcata riduzione della TCpO<sub>2</sub> in clino-ortostatismo, sia dal discreto incremento ortostatico di TCpCO<sub>2</sub> al piede sintomatico (Tabella 2).

In condizioni basali, infatti, la TCpO<sub>2</sub> supina mostrò valori ossimetrici < 5 mmHg nel 55% dei casi e la TCpO<sub>2</sub> declive risultò < 30 mmHg nel 52% dei pazienti, mentre la TCpCO<sub>2</sub> in clinostatismo fu > 50 mmHg in oltre un terzo (35%) dei pazienti (Tabella 2).

Il dato strumentale microcircolatorio ossicapnometrico risultò ben correlato con la suddivisione clinica dei pazienti in R e NR a seconda dell'efficacia del primo ciclo di trattamento farmacologico con ilprost.

Dal punto di vista microcircolatorio, infatti, la risposta (favorevole o sfavorevole) dopo primo ciclo di ilprost fu stratificata mediante tertili di TCpO<sub>2</sub> (< 1 mmHg, tra 1 e 23 mmHg e > 23 mmHg) e di TCpCO<sub>2</sub>

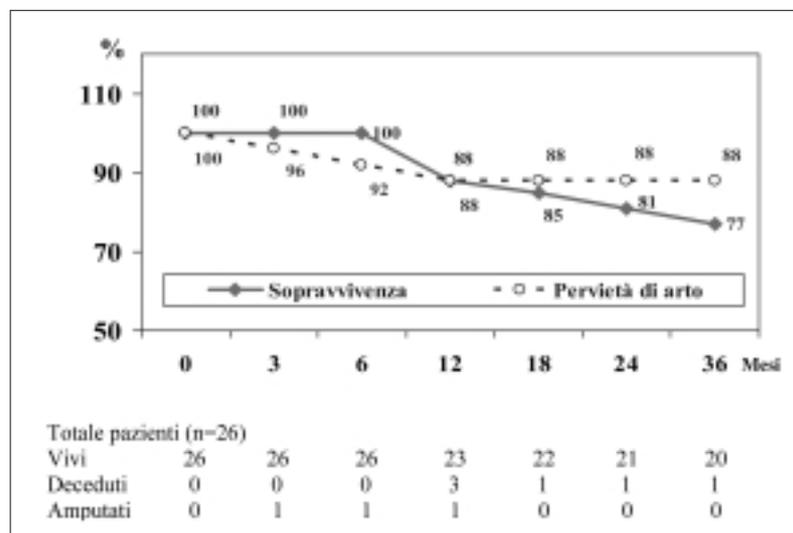


Figura 1. Tassi di sopravvivenza e di pervietà di arto nel follow-up a lungo termine (36 mesi) di 26 diabetici con ischemia critica degli arti inferiori, non immediatamente rivascolarizzabile e sottoposti a cicli ripetuti di terapia con ilprost.

**Tabella 2.** Distribuzione dei valori tensiometrici medi di ossigeno (TCpO<sub>2</sub>) e anidride carbonica (TCpCO<sub>2</sub>) rilevati basalmente all'avampiede sintomatico (31 arti) di 26 diabetici con ischemia critica degli arti inferiori, non immediatamente rivascolarizzabile. I valori sono rapportati all'esito clinico del follow-up a 6 mesi dopo trattamento con uno o due cicli infusionali di iloprost.

	Pazienti (n=26, 31 arti)	Responder (n=14, 16 arti)	Responder tardivi (n=5, 6 arti)	Non responder (n=7, 9 arti)
TCpCO <sub>2</sub> supina (mmHg)				
< 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
TCpO <sub>2</sub> declive (mmHg)				
< 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%)
TCpCO <sub>2</sub> supina (mmHg)				
< 40	17 (35%)	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%)

(< 40 mmHg; tra 40 e 53 mmHg e > 53 mmHg), mentre mediante likelihood ratio<sup>66</sup> fu quantificato il potere predittivo positivo (percentuale di successi diviso percentuale di fallimenti) o negativo (percentuale 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 TCpCO<sub>2</sub> che fossero di utilità pratica nella categorizzazione diagnostica e nella predittività prognostica dei pazienti ICAI<sup>67</sup>.

Negli ICAI più compromessi (tertile di TCpCO<sub>2</sub> > 53 mmHg e di TCpO<sub>2</sub> < 1 mmHg) le rispettive likelihood ratio corrisposero, rispettivamente a 10.7 e 3.3, mentre, viceversa, nei diabetici ICAI meno gravi (tertile di TCpO<sub>2</sub> > 23 mmHg e di TCpCO<sub>2</sub> < 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, nella nostra casistica, la predittività negativa (di insuccesso del trattamento con iloprost)

sia stata espressa molto più efficacemente dall'incremento di TCpCO<sub>2</sub> > 53 mmHg (10/11 arti) piuttosto che dalla riduzione di TCpO<sub>2</sub> < 1 mmHg (10/13 arti).

Al contrario, la predittività positiva (del successo della terapia) è stata espressa molto più validamente da misure di TCpO<sub>2</sub> > 23 mmHg (9/9 arti) di quanto abbia contribuito la TCpCO<sub>2</sub> < 40 mmHg (8/10 arti), con un indubbio vantaggio clinico derivante dalla possibilità di più precise stratificazioni prognostiche e di più razionali strategie terapeutiche<sup>67</sup>.

L'ulteriore suddivisione clinica dei pazienti NR<sup>13</sup>, dopo un secondo ciclo di iloprost, effettuato entro pochi mesi di distanza dal primo, nei due sottogruppi di LR e definitivi NR, inoltre, risultò correlato con i rispettivi, parziali o assenti, miglioramenti dei parametri tensiometrici indicativi della gravità di ICAI, già dopo il primo ciclo di iloprost (Tabella 3). Il miglioramento degli indici metabolici più severamente compromessi (TCpO<sub>2</sub> supina < 5 mmHg, TCpO<sub>2</sub> declive < 30 mmHg e TCpCO<sub>2</sub> supina > 50 mmHg), infatti, fu osservato solo parzialmente in LR, ma risultò completamente assente in NR, dopo il primo ciclo di iloprost (Tabella 3).

**Tabella 3.** Distribuzione dei valori tensiometrici medi di ossigeno (TCpO<sub>2</sub>) e anidride carbonica (TCpCO<sub>2</sub>), metabolicamente più compromessi, rilevati all'avampiede sintomatico (n = 31 arti) di 26 diabetici con ischemia critica degli arti inferiori, non immediatamente rivascolarizzabile, prima e dopo unico ciclo di terapia con iloprost e suddivisi in base alla risposta clinica del paziente nel follow-up di 6 mesi.

	Pazienti (n=26)	Arti sintomatici (n=31)	TCpO <sub>2</sub> Supina < 5 mmHg		TCpO <sub>2</sub> Declive < 30 mmHg		TCpCO <sub>2</sub> Supina > 50 mmHg	
			Basale	Post-terapia	Basale	Post-terapia	Basale	Post-terapia
			Responder	14	16	25%	0%	38%
Responder tardivi	5	6	83%	66%	50%	66%	67%	33%
Non responder	7	9	89%	89%	78%	78%	67%	67%

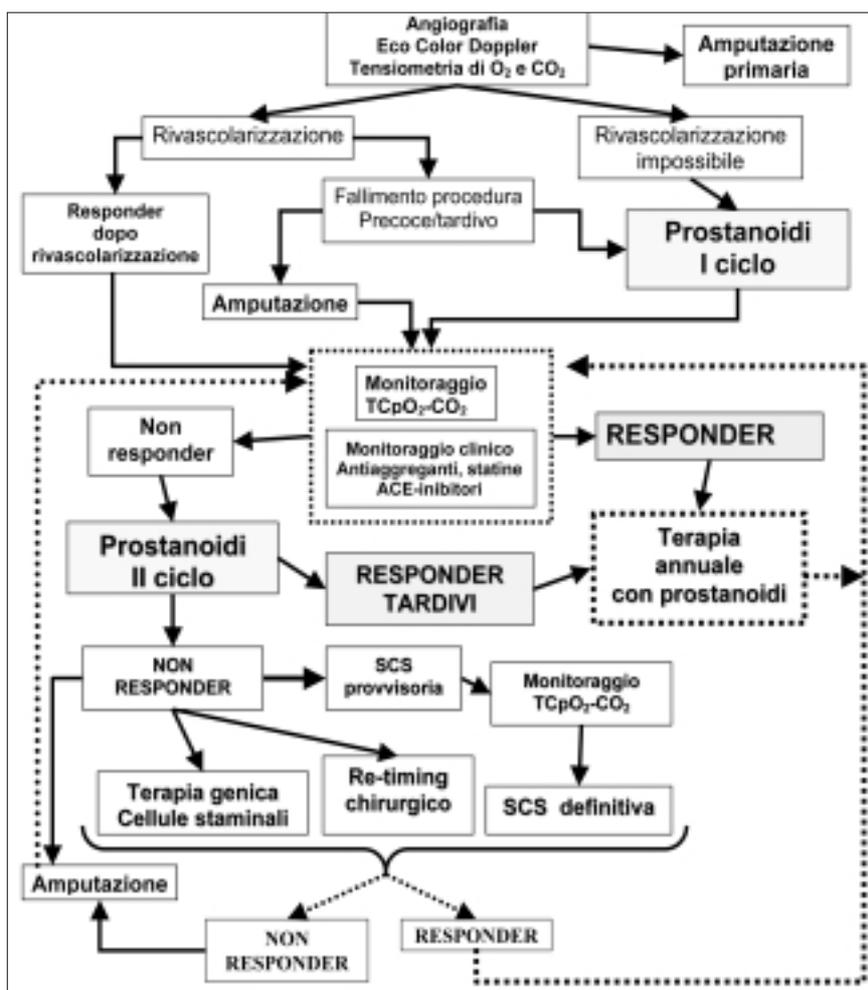
Nel confronto tra i diversi parametri analizzati nell'ambito dei nostri due lavori, viene sottolineato come i migliori risultati siano stati ottenuti nel secondo (54 R vs 38%,  $p = 0.01$ ), in cui i pazienti ICAI, pur essendo più anziani (media 75.6 vs 65.9 anni,  $p = 0.01$ ) e più compromessi (81% di appartenenti al IV stadio vs 75%,  $p = NS$ ), usufruirono, paradossalmente, di un trattamento con ilprost più efficace, effettuato per un periodo più breve (media = 14.1 vs  $m = 28$  gg,  $p = 0.001$ ) e a dosaggi ridotti (1.2 vs 1.6 ng/kg/min,  $p = 0.01$ ). Tale paradosso trova possibile spiegazione in una maggior precocità di diagnosi microcircolatoria, sopravvenuta negli anni più recenti, che ha consentito la tempestiva intercettazione di ICAI in una fase caratterizzata da una riserva microvascolare meno compromessa (e perciò teoricamente più reattiva a ilprost), come evidenziato dalla percentuale ridotta dei parametri metabolici ossicpnometrici più gravi (TCpO<sub>2</sub> supina < 5 mmHg, TCpO<sub>2</sub> declive < 30 mmHg e TCpCO<sub>2</sub> supina > 50 mmHg) che costituivano rispettivamente 55, 52 e 35% nel secondo studio contro 87, 62 e 50% nel primo ( $p = 0.01$ ).

### Algoritmo terapeutico

Un importante punto da sottolineare è costituito dalla carenza di linee guida internazionali, che indichino il percorso diagnostico-terapeutico da seguire nel management del paziente ICAI, sia nell'osservazione a breve termine sia, soprattutto, nel follow-up a lungo termine (Figura 2).

È presumibile, infatti, sul piano fisiopatologico, ipotizzare che, data la brevità dell'emivita di ilprost, che viene inattivato al primo passaggio intrapolmonare (da ciò la necessità di infusioni prolungate per ore), il vantaggio microcircolatorio iniziale, conseguito con i primi trattamenti, risulti reversibile e tenda ad esaurirsi, e la conseguenza per il paziente, sul piano clinico, in mancanza di ulteriori interventi terapeutici, sia di tipo farmacologico sia non, sia il ritorno dallo stadio clinico di claudicatio a quello di claudicatio severa e infine di ischemia critica con rischio elevato di perdita di arto (Figura 2).

La necessità di trattamenti infusionali con ilprost, uni o pluriannuali ripetuti è, peraltro, suggerita dall'os-



**Figura 2.** Algoritmo diagnostico terapeutico dell'ischemia critica degli arti inferiori. ACE = enzima di conversione dell'angiotensina; CO<sub>2</sub> = anidride carbonica; O<sub>2</sub> = ossigeno; SCS = elettrostimolazione midollare spinale; TCpO<sub>2</sub> = tensiometria transcutanea di ossigeno; TCpCO<sub>2</sub> = tensiometria transcutanea di anidride carbonica.

servazione dell'andamento gasanalitico transcutaneo di ossigeno e anidride carbonica osservato all'avampiede sintomatico dei soggetti R, LR e NR, nel corso del primo anno di follow-up (Figura 3).

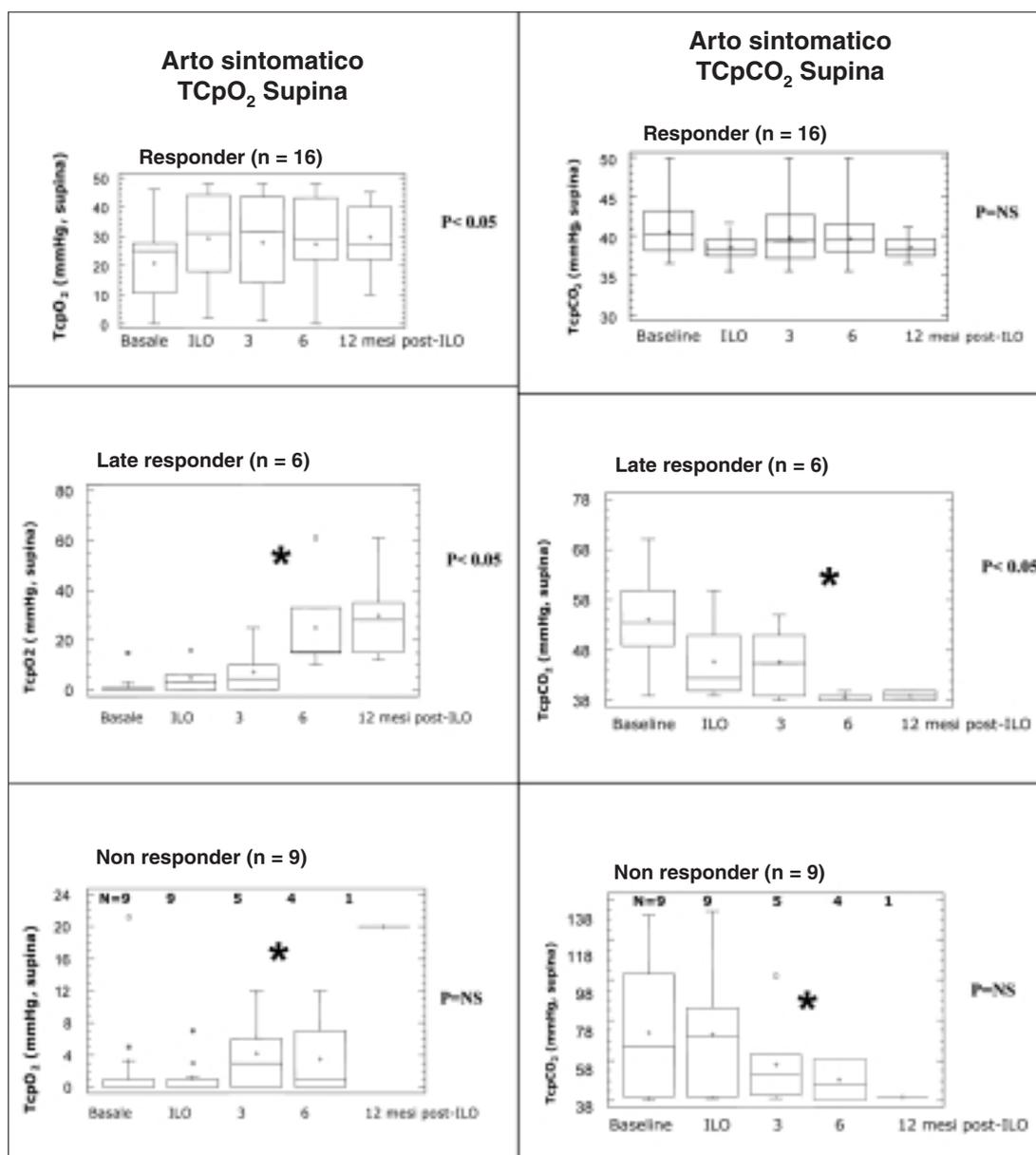
In base a tale andamento si può, infatti, dimostrare come, quando si manifesta favorevolmente, l'effetto del trattamento con iloprost non si esaurisca al solo periodo temporale di terapia infusioneale, come ritenuto in passato, ma prosegue anche nei primi mesi successivi alla terapia stessa.

Nei soggetti R, infatti, gli effetti favorevoli di iloprost sul metabolismo locale dell'arto ischemico, espressi dall'incremento significativo di TCpO<sub>2</sub> all'avampiede sintomatico, si estrinsecano massimamente

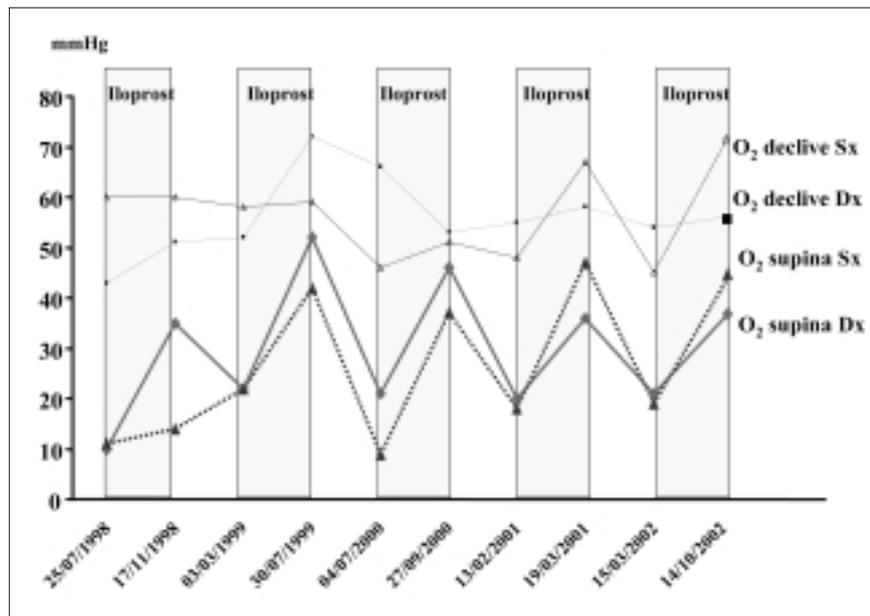
entro 3 mesi, si stabilizzano nel primo semestre e tendono a ridursi nel semestre successivo, rendendo necessari, negli anni successivi, ulteriori cicli di terapia farmacologica per conservare il vantaggio iniziale conseguito col primo trattamento (Figure 3 e 4).

Nei soggetti LR solitamente un primo ciclo di iloprost non aumenta significativamente TCpO<sub>2</sub> in clinostatismo, ma tende ad abbassare la corrispondente ed elevata anidride carbonica supina, ed è solo dopo un secondo analogo trattamento che si incrementano significativamente i valori ossimetrici e si stabilizzano definitivamente quelli capnometrici (Figura 3).

Anche nei pazienti LR la ciclicità annua dei successivi trattamenti tende a collocare i parametri gasanalitici



**Figura 3.** Valutazione di tensiometria transcutanea di ossigeno (TCpO<sub>2</sub>) e di anidride carbonica (TCpCO<sub>2</sub>) supina al piede sintomatico (31 arti) nel follow-up a lungo termine (12 mesi) di 26 diabetici con ischemia critica degli arti inferiori, non immediatamente rivascularizzabile, sottoposti ad uno (responder) o due cicli (late responder e non responder) di terapia infusioneale con iloprost (ILO). \*secondo ciclo di iloprost.



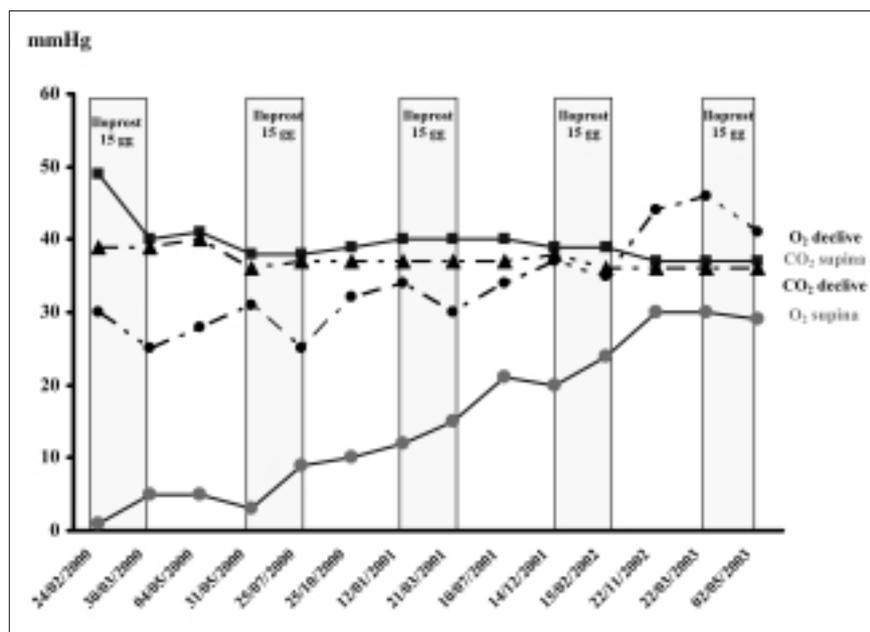
**Figura 4.** Valutazioni tensiometriche transcutanee di ossigeno (O<sub>2</sub>) effettuate in posizione clino-ortostatica, all'avampiede di paziente diabetica (77 anni) con ischemia critica degli arti inferiori, bilaterale, non immediatamente rivascolarizzabile, responder a primo ciclo di terapia con iloprost e sottoposta a successivi cicli infusionali, ripetuti annualmente. La tensiometria transcutanea di anidride carbonica non è stata riportata perché nei limiti della norma.

ci di TCpO<sub>2</sub> e TCpCO<sub>2</sub> al di fuori del range metabolico, in cui è presente rischio di perdita di arto (Figura 5).

Nei pazienti NR, invece, i parametri ossicapnometrici rimangono immutati anche dopo cicli ripetuti e soltanto la rimozione invasiva, chirurgica e/o endovascolare, di lesioni emodinamiche macroangiopatiche, laddove siano fallite anche ulteriori pratiche alternative

quali, ad esempio, elettrostimolazione midollare spinale cronica, può modificare il drammatico trend sfavorevole iniziale (Figure 3 e 6).

La possibilità, inoltre, che l'intervento chirurgico e/o endovascolare di riabilitazione vascolare degli arti inferiori possa essere preceduto o seguito da ulteriori cicli di terapia farmacologica con prostanoidi, è eve-



**Figura 5.** Valutazioni tensiometriche transcutanee di ossigeno (O<sub>2</sub>) e anidride carbonica (CO<sub>2</sub>) effettuate in posizione clino-ortostatica, all'avampiede sintomatico di paziente diabetica (81 anni) con ischemia critica degli arti inferiori, monolaterale non immediatamente rivascolarizzabile, responder tardiva dopo secondo ciclo di terapia con iloprost e sottoposta a successivi cicli infusionali, ripetuti annualmente.

nienza 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 ossigeno e anidride carbonica che permette il trattamento intensivo farmacologico nei momenti più indicati (Figura 6).

### Conclusioni

In generale, il trattamento medico di tipo farmacologico in prima intenzione riguarda attualmente circa il 20-25% di ICAI, oltre ad una piccola percentuale di pazienti per i quali, dopo il fallimento parziale o totale dell'atto chirurgico, un'amputazione secondaria *d'emblée* possa essere evitata.

Anche se la terapia farmacologica diventa obbligatoria quando le pratiche chirurgiche e/o endovascolari non sono assolutamente eseguibili o quando sono sconsigliate nell'immediato, essa non deve essere considerata solo come l'estremo tentativo da praticare in caso di fallimento o di improponibilità di rivascolarizzazione cruenta, quanto piuttosto come intervento, talora autonomo, talora complementare a pratiche di rivascolarizzazione, finalizzato comunque a dare maggiori risultati a distanza.

Il trattamento farmacologico di ICAI si giova essenzialmente dell'uso dei prostanoidi e in particolare di iloprost, che ha mostrato una maggiore efficacia, rispetto a

PGE1, soprattutto nei soggetti diabetici, seppure in presenza di un maggior numero di effetti collaterali.

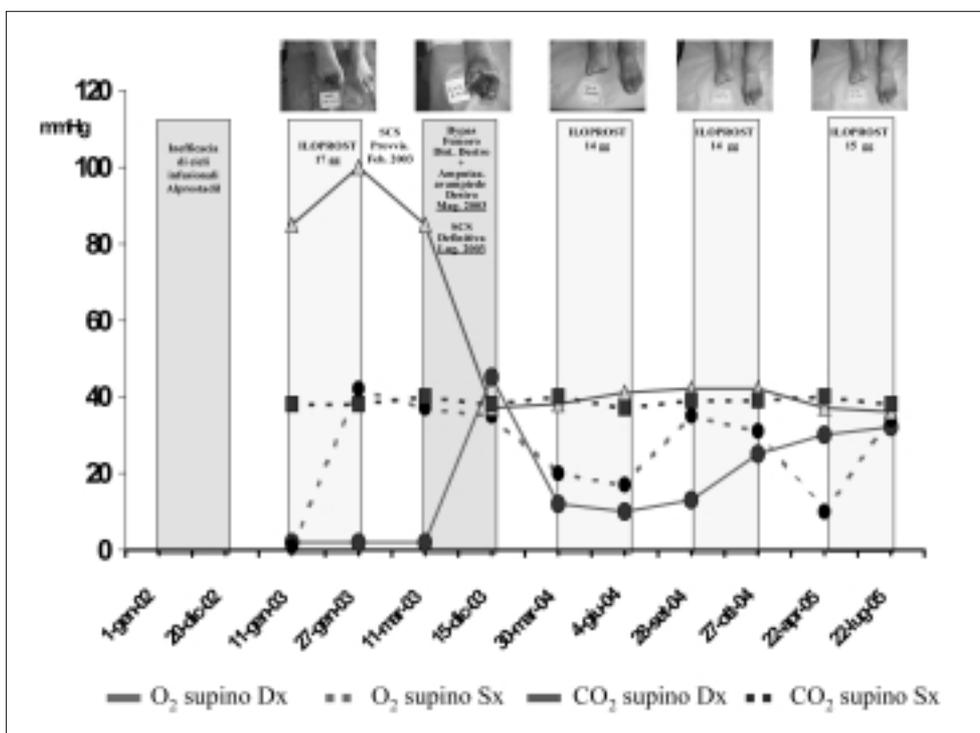
La nostra esperienza suggerisce che il primo trattamento con iloprost può essere ottimizzato limitando la terapia ad un periodo di 2-3 settimane consecutive (anziché 4), ad un dosaggio ridotto (1.2 ng/kg/min) e prolungato anche fino a 10 h/die, che risulta molto meglio tollerato dal paziente e mostra efficacia sovrapponibile a quella delle massime dosi titrabili consigliate inizialmente dall'industria farmaceutica.

Nei R la ripetizione ciclica annua di un singolo trattamento con iloprost, della stessa durata e stesso dosaggio del primo ciclo, è in grado di stabilizzare l'arteriopatia, evitando, in assenza di ulteriori complicanze macroangiopatiche, la perdita di arto per periodi di tempo molto prolungati.

Nei NR, inoltre, 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 pazienti ICAI, anche quando un primo ciclo di terapia è risultato apparentemente inefficace.

Nel monitoraggio a lungo tempo dei pazienti ICAI, la sola valutazione clinica è, a nostro avviso, insufficiente nel decidere in modo oggettivo l'opportunità di effettuare eventuali periodici trattamenti, uni- o pluriannuali, con prostanoidi.

Lo studio della microcircolazione cutanea periferica e, in particolare, l'uso della tensiometria transcutanea



**Figura 6.** Valutazioni tensiometriche transcutanee di ossigeno (O<sub>2</sub>) e anidride carbonica (CO<sub>2</sub>) effettuate in posizione supina all'avampiede di una paziente non diabetica (83 anni) con ischemia critica degli arti inferiori, bilaterale, non immediatamente rivascolarizzabile, non responder dopo ciclo di terapia con iloprost e applicazione di elettrostimolazione midollare spinale (SCS) provvisoria, sottoposta con successo a rivascolarizzazione mediante bypass femorodistale e trattata successivamente con SCS definitiva e cicli infusionali ripetuti di iloprost.

nea di ossigeno e anidride carbonica appare il parametro più sensibile nel management strumentale di ICAI.

Dopo un primo trattamento con iloprost, infatti, la persistenza di marcata ischemia ipossica (< 1 mmHg) all'avampiede sintomatico, in posizione supina/declive, in concomitanza di persistente ipercapnia clinostatica (> 53 mmHg), conferma pericolo di perdita di arto e configura la necessità di prolungare il trattamento con ulteriori cicli di iloprost, il ricorso a terapie alternative (elettrostimolazione midollare spinale cronica, terapia genica/staminale) o l'eventuale riproposizione di pratiche invasive (*re-timing* chirurgico, angioplastica distale) in prima istanza escluse per le compromesse condizioni generali del paziente o, comunque, perché l'eventuale posposizione dell'atto operatorio di riabilitazione vascolare non risulta pregiudicata, ma semmai favorita, dalla terapia con prostanoidi.

Viceversa, una terapia con iloprost che abbia determinato un incremento tensiometrico supino di ossigeno > 23 mmHg con normocapnia, indica netto miglioramento della ICAI, relativa stabilizzazione della macroangiopatia e regressione clinica al II stadio di Leriche-Fontaine.

TCpO<sub>2</sub> supina con valori intermedi (tra 1 e 23 mmHg) e normocapnia indicano invece ancora la persistenza di una 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 un'amputazione altrimenti inevitabile in soggetti da molto tempo provati psichicamente e fisicamente.

Risulta, invece, essenziale formulare al più presto la diagnosi di ICAI inoperabile per sottoporre il paziente ad un trattamento medico intensivo personalizzato con un largo uso di prostanoidi, ben sapendo che, comunque, il costo sociale di un'amputazione risulta decisamente superiore ad un trattamento intensivo prolungato nel tempo.

L'elevata mortalità di ICAI per cause cardiovascolari (circa 25% entro 1 anno dalla diagnosi) rende indispensabile il ricorso a terapie farmacologiche di supporto con antiaggreganti, statine, ACE-inibitori, proprio per la prevenzione primaria e secondaria di eventuali temibili complicanze cardiache e cerebrali tipiche dell'impegno sistemico dell'aterosclerosi.

I risultati promettenti ottenuti nell'ultimo decennio con l'uso dei prostanoidi nei reparti di angiologia e chirurgia vascolare impegnati nei grandi trial nazionali e internazionali, con tutta probabilità, non sono automaticamente estensibili a centri ospedalieri non specializzati nel trattamento di questi pazienti.

Da tutto ciò, a nostro avviso, emerge la necessità di creare strutture angiologiche o, comunque, centri di riferimento con competenze plurispecialistiche integrate e qualificate, in grado di fornire competenze mediche e paramediche, 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.

## Riassunto

La riabilitazione per via chirurgica e/o endovascolare è considerata la scelta di elezione nel trattamento dei pazienti con ischemia critica degli arti inferiori (ICAI). I prostanoidi (iloprost e prostaglandina [PGE1]) costituiscono il trattamento farmacologico attuale di ICAI nell'immediato o in assoluto, non rivascolarizzabile.

Iloprost, analogo della prostaciclina, ha mostrato, entro 6 mesi dalla terapia di ICAI, diabetica e non, con prostanoidi, risultati nettamente più favorevoli di PGE1, sia nell'incremento di salvataggio dell'arto ischemico sia nella riduzione di morte cardiovascolare.

La nostra esperienza evidenzia che un primo ciclo di terapia con iloprost, della durata di 2-3 settimane, nei soggetti ICAI precocemente responder (R), è solitamente in grado, di stabilizzare l'arteriopatia, facendola regredire allo stadio II di Fontaine. Nei pazienti non responder (NR), ma comunque non destinati ad una precoce amputazione, un secondo ciclo di terapia con iloprost, effettuato entro pochi mesi dal primo, spesso permette di incrementare sensibilmente la percentuale complessiva di R (in questo caso late responder [LR]) al trattamento con iloprost.

La ripetizione ciclica, almeno 1 volta all'anno, di trattamenti aggiuntivi con iloprost, nei pazienti R e LR permette la conservazione di arto integro per periodi di tempo teoricamente illimitati, in assenza di ulteriori complicanze macroangiopatiche.

Viceversa, i soggetti NR a cicli ripetuti di prostanoidi saranno indirizzati rapidamente a ulteriori tentativi di salvataggio non farmacologico di arto, effettuati mediante eventuale *re-timing* chirurgico o metodiche alternative (elettrostimolazione midollare cronica), terapia genica o staminale.

Il monitoraggio transcutaneo di ossigeno e anidride carbonica permette di selezionare precocemente i pazienti R e/o LR, consentendo di scegliere, nel follow-up successivo, i periodi più adatti per l'effettuazione di ulteriori cicli annuali di terapia con iloprost e viceversa, indirizza, più rapidamente, i NR a pratiche di riabilitazione vascolare e/o alternative che permettano l'eventuale salvataggio dell'arto.

*Parole chiave:* Diabete mellito; Iloprost, Ischemia; Mortalità.

## Bibliografia

1. Second European Consensus Document on chronic critical leg ischemia. Eur J Vasc Surg 1992; 6 (Suppl A): 1-32.
2. Dormandy JA, Rutherford RB. Management of peripheral arterial disease (PAD). TASC Working Group. TransAtlantic Inter-Society Consensus (TASC). J Vasc Surg 2000; 31 (Pt 2): S1-S296.
3. Dolan NC, Liu K, Criqui MH, et al. Peripheral artery disease, diabetes, and reduced lower extremity functioning. Diabetes Care 2002; 25: 113-20.

4. Matzke S, Lepantalo M. Claudication does not always precede critical leg ischemia. *Vasc Med* 2001; 6: 77-80.
5. Fowkes FGR, Housley E, Cawood EH, Macintyre CC, Ruckley CV, Prescott RJ. Edinburgh Artery Study: prevalence of asymptomatic and symptomatic peripheral arterial disease in the general population. *Int J Epidemiol* 1991; 20: 384-92.
6. Kannel WB, Skinner JJ Jr, Schwartz MJ, Shurtleff D. Intermittent claudication. Incidence in the Framingham study. *Circulation* 1970; 41: 875-83.
7. Meijer WT, Hoes AW, Rutgers DM, Bots ML, Hofman A, Grobbee DE. Peripheral arterial disease in the elderly: the Rotterdam Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998; 18: 185-92.
8. Brevetti G, Oliva G, Silvestro A, et al, for the Peripheral Arteriopathy and Cardiovascular Events (PACE) Study Group. Prevalence, risk factors and cardiovascular comorbidity of symptomatic peripheral arterial disease in Italy. *Atherosclerosis* 2004; 175: 131-8.
9. Dormandy JA, Murray GD. The fate of the claudicant: a prospective study of 1969 claudicants. *Eur J Vasc Surg* 1991; 5: 131-3.
10. Melillo E, Nuti M, Bongiorno L, Golgini E, Balbarini A. Tassi di amputazione maggiore e minore ed ischemia critica degli arti inferiori: dati epidemiologici dalla toscana occidentale. *Ital Heart J* 2004; 5: 794-805.
11. Dormandy J, Heeck L, Vig S. Predicting which patients will develop chronic critical leg ischemia. *Semin Vasc Surg* 1999; 12: 138-41.
12. Wolfe JN. Defining the outcome of critical ischaemia: a one year prospective study. *Br J Surg* 1986; 73: 321.
13. Melillo E, Nuti M, Buttitta F, et al. Salvataggio d'arto farmacologico mediante iloprost nella ischemia critica degli arti inferiori non rivascularizzabile: conferme e modifiche della nostra condotta terapeutica negli ultimi otto anni. *Minerv Cardioangiol* 2003; 51 (Suppl 1): 253-55.
14. Anti-thrombotic 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.
15. Patrono C, Bachmann F, Baigent C, et al. 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: 166-81.
16. Schillinger M, Exner M, Mlekusch W, et al. Statin therapy improves cardiovascular outcome of patients with peripheral artery disease. *Eur Heart J* 2004; 25: 742-8.
17. Ostergren J, Sleight P, Dagenais G, et al, for the HOPE Study Investigators. Impact of ramipril in patients with evidence of clinical or subclinical peripheral arterial disease. *Eur Heart J* 2004; 25: 17-24.
18. Melillo E. La diagnostica microcircolatoria. In: Manusia F, ed. *La malattia ischemica periferica*. Grosseto, Edizioni Aurelia, 2001: 77-90.
19. Rooke TW, Osmundson PJ. Variability and reproducibility of transcutaneous oxygen tension measurements in the assessment of peripheral vascular disease. *Angiology* 1989; 40: 695-700.
20. Melillo E, Catapano G, Ferrari M, Pedrinelli R. Transcutaneous oxygen tension measurement in patients with chronic arterial obstructive disease: reliability and long-term variability of the method. *Angiology* 1994; 45: 469-75.
21. Scheffler A, Rieger H. Clinical information content of transcutaneous oxymetry (tcpO<sub>2</sub>) in peripheral arterial occlusive disease (a review of the methodological and clinical literature with a special reference to critical limb ischaemia). *Vasa* 1992; 21: 111-26.
22. Ubbink DT, Spincemaille GH, Reneman RS, Jacobs MJ. Prediction of imminent amputation in patients with non-reconstructible leg ischemia by means of microcirculatory investigations. *J Vasc Surg* 1999; 30: 114-21.
23. Melillo E, Catapano G, Dell'Omo G, et al. Transcutaneous oxygen and carbon dioxide measurement in peripheral vascular disease. *Vasc Surg* 1995; 29: 273-80.
24. Melillo E, Nuti M, Pedrinelli R, Ferrari M, Balbarini A. Prognostic values of transcutaneous oxygen and carbon dioxide measurements in patients with lower limb critical ischaemia. (abstr) *Eur Heart J* 2005; 26: 701.
25. Criqui MH. Systemic atherosclerotic risk and the mandate for intervention in atherosclerotic peripheral arterial disease. *Am J Cardiol* 2001; 88: 43J-47J, 2001.
26. Vecht RJ, Nicolaides AN, Brandao E, et al. Resting and treadmill electrocardiographic findings in patients with intermittent claudication. *Int J Angiol* 1982; 1: 119-21.
27. Brewster DC, Okada RD, Strauss HW, Abbott WM, Darling RC, Boucher CA. Selection of patients for preoperative coronary angiography: use of dipyridamole-stress-thallium myocardial imaging. *J Vasc Surg* 1985; 2: 504-10.
28. Hertzner NR, Beven EG, Young JR, et al. Coronary artery disease in peripheral vascular patients. A classification of 1000 coronary angiograms and results of surgical management. *Ann Surg* 1984; 199: 223-33.
29. Hughson WG, Mann JI, Tibbs DJ, Woods HF, Walton I. Intermittent claudication: factors determining outcome. *BMJ* 1978; 1: 1377-79.
30. Alexandrova NA, Gibson WC, Norris JW, Maggesano R. Carotid artery stenosis in peripheral vascular disease. *J Vasc Surg* 1996; 23: 645-9.
31. McDermott MM, Mehta S, Ahn H, Greenland P. 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: 209-15.
32. Janzon L, Bergqvist D, Boberg J, et al. Prevention of myocardial infarction and stroke in patients with intermittent claudication; effects of ticlopidine. Results from STIMS, the Swedish Ticlopidine Multicentre Study. *J Intern Med* 1990; 227: 301-8.
33. A randomised, blinded, trial of clopidogrel versus aspirin in patients at risk of ischaemic events (CAPRIE). CAPRIE Steering Committee. *Lancet* 1996; 348: 1329-39.
34. Katsumura T, Mishima Y, Kamiya K, Sakaguchi S, Tanabe T, Sakuma A. Therapeutic effects of ticlopidine, a new inhibitor of platelet aggregation, on chronic arterial occlusive diseases: a double-blind study versus placebo. *Angiology* 1982; 33: 357-67.
35. Jorneskog 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: 137-42.
36. Kretschmer G, Herbst F, Prager M, et al. A decade of oral anticoagulant treatment to maintain autologous vein grafts for femoropopliteal atherosclerosis. *Arch Surg* 1992; 127: 1112-5.
37. The European Study Group. Intravenous pentoxifylline for the treatment of chronic critical limb ischemia. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 1995; 9: 426-36.
38. 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.
39. Fagrell B, Hermansson IL. Effect of buflomedil on microcirculation of the skin in acral gangrene. *Fortschr Med* 1985; 103: 23-7.
40. Greenhalgh RM. Naftidrofuryl for ischemic rest pain: a controlled trial. *Br J Surg* 1981; 68: 265-6.

41. Dormandy J. Clinical use of calcium antagonists in peripheral circulatory disease. *Ann NY Acad Sci* 1988; 522: 611-20.
42. Bode-Boger SM, Boger RH, Alfke H, et al. L-arginine induces nitric oxide-dependent vasodilatation in patients with critical limb ischemia: a randomized, controlled study. *Circulation* 1996; 93: 85-90.
43. Nilsson L, Apelqvist J, Edvinsson L. Effects of alpha-tri-nositol on peripheral circulation in diabetic patients with critical limb ischaemia. A pilot study using laser Doppler fluxmetry, transcutaneous oxygen tension measurements and dynamic capillaroscopy. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 1998; 15: 331-6.
44. Beebe HG, Dawson DL, Cutler BS, et al. A new pharmacological treatment for intermittent claudication: results of a randomized, multicenter trial. *Arch Intern Med* 1999; 159: 2041-50.
45. Isner JM, Walsh K, Symes JF, et al. Arterial gene therapy for therapeutic angiogenesis in patients with peripheral artery disease. *Circulation* 1995; 91: 2687-92.
46. Baumgartner I, Pieczeck 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: 1114-23.
47. Shyu KG, Chang H, Wang BW, Kuan P. Intramuscular endothelial growth factor gene therapy in patients with chronic critical leg ischemia. *Am J Med* 2003; 114: 85-92.
48. Asahara T, Murohara T, Sullivan A, et al. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science* 1997; 275: 964-7.
49. Kalka C, Masuda H, Takahashi T, et al. Transplantation of ex vivo expanded endothelial progenitor cells for therapeutic neovascularization. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 3422-7.
50. Tateishi-Yuyama E, Matsubara 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: 427-35.
51. Minamino T, Toko H, Tateno K, Nagai T, Komuro I. Peripheral-blood or bone-marrow mononuclear cells for therapeutic angiogenesis? *Lancet* 2002; 360: 2083-4.
52. Inaba S, Egashira K, Komori K. Peripheral-blood or bone-marrow mononuclear cells for therapeutic angiogenesis? (letter) *Lancet* 2002; 360: 2083.
53. Lenk K, Adams V, Lurz P, et al. Therapeutical potential of blood-derived progenitor cells in patients with peripheral arterial occlusive disease and critical limb ischaemia. *Eur Heart J* 2005; 26: 1903-9.
54. Loosemore TM, Chalmers TC, Dormandy JA. A meta-analysis of randomized placebo control trials in Fontaine stages III and IV peripheral occlusive arterial disease. *Int Angiol* 1994; 13: 133-42.
55. Trubestein G, Diehm C, Gruss JD, Horsch S. Prostaglandin E1 in chronic arterial disease: a multicenter study. *Vasa* 1987; 17 (Suppl): 39-43.
56. Alstaedt HO, Berzewski B, Breddin HK, et al. Treatment of patients with peripheral arterial occlusive disease Fontaine stage IV with intravenous iloprost and PGE1: a randomized open controlled study. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 1993; 49: 573-8.
57. The ICAI Study Group. Prostanoids for chronic critical leg ischaemia: a randomized, controlled, open-label trial with prostaglandin E1. *Ann Intern Med* 1999; 130: 412-21.
58. 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.
59. 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: 363-70.
60. GISAP Study. Evaluation of a conservative treatment with iloprost in severe peripheral occlusive arterial disease (POAD). *Int Angiol* 1994; 13: 70-4.
61. 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 Leukot Essent Fatty Acids* 1996; 54: 327-33.
62. Beischer W, Dembski JC, Gruss JD, et al. Low-dose iloprost infusions compared to the standard dose in patients with peripheral arterial occlusive disease Fontaine stage IV. DAWID Study Group. *Vasa* 1998; 27: 15-9.
63. Duthois S, Cailleux N, Benosman B, Levesque H. 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.
64. 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: 60-4.
65. Labs KH, Dormandy JA, Jaeger KA, Stuerzebecher CF, Hiatt WR. Transatlantic Conference on Clinical Trial Guidelines in Peripheral Arterial Disease: clinical trial methodology. Basel PAD Clinical Methodology Group. *Circulation* 1999; 100: 75-81.
66. Deeks JJ, Altman DG. Diagnostic tests 4: likelihood ratios. *BMJ* 2004; 329: 168-9.
67. Melillo E, Ferrari M, Balbarini A, Pedrinelli R. Transcutaneous gases determination in diabetic critical limb ischemia. *Diabetes Care* 2005; 28: 2081-2.