

Alma Mater Studiorum – Università di Bologna

DOTTORATO DI RICERCA

**Dottorato di Ricerca in Ultrasonologia in
Medicina Interna e Veterinaria**

Ciclo XX

Settore scientifico disciplinare di afferenza:

Med 09

**UTILIZZAZIONE COMBINATA DELL' ECO-
DOPPLER E DELLA RISONANZA MAGNETICA
NUCLEARE PER LA VALUTAZIONE DELLA
VASODILATAZIONE PERIFERICA NEL
DISTRETTO MUSCOLARE IN PAZIENTI CON
CIRROSI EPATICA**

Presentata da: Dott. Marco Domenicali

Coordinatore Dottorato

Prof Luigi Bolondi

Relatore

Prof Mauro Bernardi

INDICE

INTRODUZIONE	pag 3
SCOPO DELLO STUDIO	pag 7
PAZIENTI E METODI	pag 8
RISULTATI	pag 17
DISCUSSIONE	pag 25
BIBLIOGRAFIA	pag 33

INTRODUZIONE

I pazienti con cirrosi epatica in stadio avanzato presentano spesso tachicardia, pressione arteriosa ridotta con un aumento della pressione differenziale, cute calda e subcianosi. Questi segni sono l'espressione clinica della sindrome iperdinamica, descritta da Kowalski e Abelman (1) circa mezzo secolo fa; tale sindrome è caratterizzata dall'elevazione della gittata cardiaca associata a una riduzione delle resistenze vascolari periferiche.

Le cause ed i fattori che condizionano la comparsa di questa sindrome non sono ancora stati completamente chiariti. Al contrario, la sua importanza clinica si è man mano definita nel corso degli anni. Attualmente, le evidenze a nostra disposizione indicano che la presenza di sindrome circolatoria iperdinamica non è un semplice epifenomeno della cirrosi epatica; ma rappresenta un fattore prognostico negativo (2), e rappresenta il substrato patogenetico di alcune gravi complicanze dell'insufficienza epatica che spesso dominano il quadro clinico, possono costituire causa di morte e rappresentare un'indicazione al trapianto ortotopico di fegato. Tra queste, ricordiamo la sindrome epatorenale (3) e la sindrome epatopolmonare (4), l'aumentata suscettibilità allo shock secondaria ad una riduzione del tono vasomotorio (5) e l'ipossia tissutale (6). Inoltre, la sindrome circolatoria iperdinamica contribuisce alla genesi ed al mantenimento dell'ipertensione portale (7) e, verosimilmente, alla patogenesi dell'encefalopatia epatica (8) e dell'edema cerebrale che complica l'insufficienza epatica fulminante (9). Infine la presenza di turbe emodinamiche può condizionare scelte e strategie terapeutiche. Infatti, l'impiego di farmaci (β -bloccanti, diuretici, vasodilatatori) e trattamenti non farmacologici (paracentesi, shunt peritoneo-giugulare, shunt porto-sistemico intraepatico transgiugulare) nel trattamento delle complicanze della cirrosi epatica può indurre risposte cardiovascolari del tutto peculiari.

La sindrome circolatoria iperdinamica è stata classicamente attribuita al verificarsi di una vasodilatazione arteriolare che evoca, quale risposta compensatoria, un incremento della gittata cardiaca (10). Tale vasodilatazione arteriosa non interessa in ugual maniera tutti i distretti vascolari. Infatti, è universalmente accettato che la vasodilatazione arteriosa si verifichi prevalentemente a livello splancnico (11-14). Per la definizione di questo evento patogenetico ha avuto un ruolo fondamentale il Doppler; infatti con tale tecnica si è documentato un marcato aumento del flusso ematico a livello dell'arteria mesenterica superiore e dell'arteria splenica nei pazienti cirrotici (13,14).

D'altro canto, i flussi ematici cerebrale e renale sono conservati o addirittura ridotti (15,16), ad indicare che la vasodilatazione non si verifica in tutti i distretti. Ancor meno definito è il comportamento del letto vascolare cutaneo e muscolare. Infatti clinicamente nel paziente portatore di cirrosi in fase avanzata si rilevano alcuni segni che fanno pensare che i distretti vascolari cutaneo e muscolare siano vasodilatati: la presenza di eritema palmare, spider nevi, elevata saturazione periferica dell'ossigeno ed estremità calde. Ma sorprendentemente gli studi riportati in letteratura che hanno cercato di quantificare questa impressione clinica non hanno raggiunto risultati concordi. Infatti dati ottenuti con tecniche pletismografiche, ormai datati, hanno evidenziato un incremento del flusso ematico dell'avambraccio (17). Tali evidenze non sono state confermate da Seino et al che hanno utilizzato la spettroscopia laser-Doppler, volta alla valutazione del microcircolo cutaneo (18), anzi con questa tecnica si è evidenziata una riduzione del flusso ematico cutaneo a livello del palmo delle mani e della pianta dei piedi. Anche l'utilizzazione di tecniche eco-color Doppler hanno prodotto risultati discordanti nella valutazione del flusso ematico a livello del distretto muscolare brachiale e femorale (19-21). Pertanto, a tutt'oggi, rimane ancora poco chiaro quale sia il ruolo giocato dalla circolazione del distretto muscolare nel contribuire alla genesi della sindrome iperdinamica in corso di cirrosi epatica.

Recentemente, La Villa et al.(22) hanno dimostrato come la riserva vascolare periferica degli arti inferiori sia conservata nei pazienti con cirrosi epatica che non presentino evidenza clinica di riduzione della massa muscolare. Quest'ultima osservazione, pone l'accento sul possibile ruolo che la massa muscolare potrebbe rivestire nell'interpretazione dei dati finora prodotti. Infatti, frequentemente si osserva nei pazienti con cirrosi epatica avanzata atrofia muscolare (23) e, pertanto, si può ipotizzare che il flusso arterioso femorale non risulti differente tra pazienti cirrotici e controlli sani perché i primi hanno una ridotta massa muscolare rispetto ai secondi. Quindi avremo da una parte una vasodilatazione su un territorio vascolarizzato dall'arteria femorale più povero di muscoli nei pazienti cirrotici e nei controlli esattamente in fenomeno contrario; cioè un circolo maggiormente vasocostretto, ma più ampio, perché deve irrorare una maggiore quantità di fibre muscolari. Questi fenomeni, sommandosi, potrebbero essere confondenti e generare la scarsa riproducibilità dei dati presenti in letteratura.

Proprio per evitare questo effetto confondente nella misurazione del flusso ematico femorale, gli studi eseguiti in ambito non epatologico hanno corretto il flusso rilevato a livello dell'arteria femorale con la massa muscolare, determinata con vari tipi di metodiche. Ad esempio, nel ratto il flusso ematico stimato con metodiche invasive, sotto sforzo, è stato valutato in rapporto alle singole fibre muscolari, per determinare quale tipo di muscolatura (bianca o rossa) venisse maggiormente irrorata (24). Di recente, Moreau et. al hanno valutato il flusso ematico dell'arteria femorale a riposo in rapporto alla massa muscolare dell'arto inferiore in donne in terapia sostitutiva post-menopausale per dimostrare come tale terapia preservi il flusso ematico distrettuale (25). In un altro studio, gli autori hanno normalizzato i valori di flusso arterioso femorale ottenuti con metodica Doppler per la massa muscolare dell'arto inferiore stimata con calcoli antropometrici per dimostrare che, a riposo, non sussistono differenze significative tra i flussi di pazienti anziani e soggetti giovani (26). Appare quindi opportuno applicare tali metodi di calcolo anche nei pazienti

cirrotici al fine di verificare l'eventuale impatto della sarcopenia del paziente cirrotico sulla vasodilatazione del distretto vascolare degli arti.

SCOPO DELLO STUDIO

Lo scopo dello studio è stato quello di valutare in controlli sani ed in pazienti con cirrosi epatica scompensata il flusso ematico dell'arteria femorale misurato tramite ultrasonografia Doppler, rapportandolo alla massa muscolare dell'arto inferiore omolaterale determinata in modo quantitativo con l'impiego della risonanza magnetica.

Ciascun individuo, inoltre, è stato sottoposto ad una valutazione strumentale non invasiva dell'emodinamica sistemica tramite bioimpedenziometria toracica, atta a definirne lo stato circolatorio al momento dell'indagine Doppler.

MATERIALI E METODI

Pazienti

Nello studio sono stati arruolati 13 pazienti con cirrosi epatica scompensata e 11 controlli sani, paragonabili per età e sesso. Le caratteristiche cliniche e demografiche della popolazione studiata sono riportate in tabella 1.

Tabella 1. *Caratteristiche demografiche, antropometriche e cliniche dei pazienti con cirrosi epatica scompensata e dei controlli sani.* (valori del punteggio di Child, creatinina natremia ed attività reninica plasmatica sono stati espressi come mediana (range))

	Pazienti cirrotici (n = 13)	Controlli Sani (n = 11)
Età (anni)	52 (38 – 72)	50 (35 – 70)
Sesso (M / F)	11 / 2	10 / 1
Supeficie corporea (cm²)	1.83 (1.4 – 2.3)	1.94 (1.56 – 2.11)
Eziologia della cirrosi		
HBV	2	-
HCV	4	-
Alcol	5	-
Criptogenica	2	-
Classe diChild-Pugh (B / C)	6 / 7	-
Punteggio Child-Pugh	10 (7 – 13)	
Creatinina sierica (mg/dl)	1.16 (0.79 – 1.53)	-
Creatinina sierica ≤ 1,2 mg/dl (si/no)	9/4	
Natriemia (mmol/L)	134 (130 – 145)	-
Attività reninica plasmatica (ng/ml/h)	4.68 (1.6 – 31.1)	-

Diagnosi di Cirrosi La diagnosi di cirrosi è stata fatta sulla base di rilievi clinici, sulla presenza di varici esofagee e su aspetti ecografici.

Segni ecografici indicativi di cirrosi epatica Si è fatto riferimento ai parametri indicati dal documento della Associazione Italiana per lo Studio del Fegato (AISF) “Imaging e valutazione emodinamica nella diagnosi epatologica” (27). In particolare sono stati considerati come segni ecografici indicativi di cirrosi epatica: aumento delle dimensioni del lobo caudato, irregolarità della superficie, ecostruttura granulosa o disomogenea “coarse”, aumento dell’attenuazione degli ultrasuoni. Inoltre sono state considerati i segni di ipertensione portale rilevabili ecograficamente:

ectasia sistema portale: (un diametro superiore a 13 mm fornisce una sensibilità intorno al 50% ed una specificità di oltre il 95% per la diagnosi di ipertensione portale). In alternativa è stato misurato, nelle stesse condizioni, il diametro antero-posteriore della vena splenica nella porzione in cui incrocia la linea mediana, considerando come ectasia significativa un diametro superiore a 10 mm (tale reperto è meno specifico della valutazione del tronco portale).

riduzione dell’elasticità del sistema portale agli atti del respiro (cambiamento percentuale del calibro della vena mesenterica superiore o della vena splenica tra le fasi inspiratoria ed espiratoria di una ventilazione forzata. Un cambiamento inferiore al 10% è specifico di ipertensione portale ed ha sensibilità superiore al 90%)

splenomegalia: l’aumento dimensionale è stato considerato lieve-moderato se il diametro bipolare è superiore a 12 cm, ma inferiore a 14 cm, discreto se tra 14 e 16 cm, marcato se superiore a 16 cm.

presenza di circoli collaterali: scarsa sensibilità nelle fasi iniziali, ma specificità molto elevata;

presenza di ascite subclinica: anche questo segno presenta scarsa sensibilità nelle fasi iniziali, ma specificità molto elevata;

inversione del flusso portale: reperto raro (osservato solamente nel 8,3% dei pazienti cirrotici) quindi con scarsa sensibilità ma elevata specificità;

riduzione della velocità di flusso portale. considerando patologici valori < 16 cm/sec.

indici di resistenza arteriosa epatica e splenica, indici calcolati a partire dalla velocità portale e dai parametri arteriosi etc. o essere associati alla presenza di varici esofagee, ma non sono disponibili dati sufficienti di validazione clinica.

Identificazione della sindrome epatorenale

La presenza di Sindrome epatorenale di tipo 2 è stata posta sulla base dei criteri formulati dall' International Ascites Club (28). Nessuno dei pazienti arruolati presentava evidenza di sindrome epatorenale, come suggerito dai livelli di creatinina e sodio, che sono risultati sostanzialmente all'interno od al limite superiore dell'intervallo di normalità. Solo 4 pazienti, infatti, presentavano valori elevati di creatinemia che comunque erano sempre inferiori ai 2 (tabella 2). Come atteso, i livelli di attività retinica plasmatica erano elevati indicando una condizione di ipovolemia efficace

Criteri di inclusione

I pazienti con cirrosi epatica ad eziologia alcolica erano astinenti da almeno un anno ed, in questi, una normale performance ventricolare a riposo era stata dimostrata tramite ecocardiogramma effettuato nel corso di indagini routinarie. Nessuno dei pazienti arruolati aveva presentato, nei 30 giorni precedenti lo studio, episodi infettivi o emorragie gastrointestinali, né presentava insufficienza renale conclamata, neuropatia diabetica o patologie neoplastiche incluso il carcinoma epatocellulare; farmaci con azione sull'emodinamica sistemica (per esempio: beta bloccanti, midodrina) sono stati sospesi almeno 3 giorni prima dello studio ed i pazienti si sono alimentati con una dieta a contenuto controllato di sodio (100 mEq/die).

Disegno dello studio

La mattina del giorno dello studio sono stati effettuati prelievi ematici per la valutazione dei parametri necessari per determinare lo score di Child-Pugh, la funzione renale, gli elettroliti sierici e l'attività retinica plasmatica (PRA). Le valutazioni dell'emodinamica sistemica e l'indagine Doppler sono state effettuate in ambiente tranquillo e confortevole, a temperatura costante con paziente a digiuno, dopo mantenimento della posizione supina, a riposo, per almeno un'ora.

La Risonanza Magnetica (RM) per la determinazione della massa muscolare degli arti inferiori è stata eseguita a distanza di non più di 7 giorni dalle misurazioni emodinamiche.

Determinazione del flusso dell'arteria femorale

Le misurazioni Doppler sono state effettuate sul paziente a digiuno, supino da almeno un'ora, in contemporanea con l'esecuzione dell'indagine bioimpedenziometrica. In tutti i pazienti è stata studiata con ultrasonografia Doppler l'arteria femorale di destra, con l'impiego di una sonda lineare di 7.5-10 MHz di un ecografo Harmonic AU 5 (Esaote, Genova, Italy), con filtro di parete di 100 MHz. L'arteria femorale è stata studiata in scansione longitudinale, con angolo di insonazione compreso tra 30 e 60°, 2-3 cm. prima della sua biforcazione, ed in tale sede sono stati rilevati il diametro del vaso e la velocità media del flusso ematico; il flusso ematico è stato calcolato secondo la formula: $r^2 \times \pi \times \text{velocità media}$ (14,29).

Tutte le misure sono state effettuate dal medesimo operatore.

Determinazione della massa muscolare

In tutti i pazienti lo studio con risonanza magnetica (RM) dell'arto inferiore destro è stato eseguito con un'apparecchiatura GE (General Electric Medical System) Signa Horizon LX da 1 e da 1.5 Tesla con bobina body. I pazienti sono stati posizionati sul lettino della RM in decubito

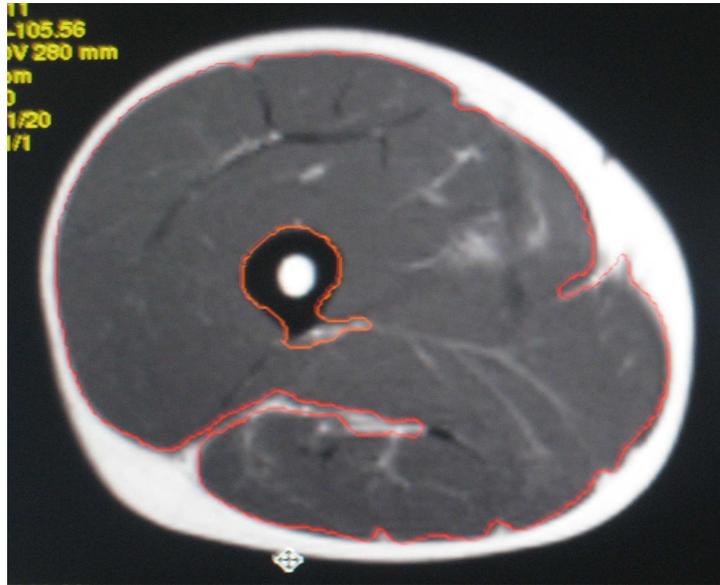
supino, con gli arti inferiori estesi, senza necessità di particolari preparazioni. Il protocollo d'imaging ha compreso l'acquisizione di multiple scansioni sul piano assiale (30), dal grande trocantere all'articolazione tibio-tarsica, utilizzando:

- Sequenze Fast Spin Eco (FSE) DP pesate (tempo di ripetizione 2000 msec, tempo di eco 18 msec, spessore 20 mm senza interslice gap, matrice 512 x 256, campo di vista 420 x 315 mm, numero di acquisizioni 2, lunghezza del treno di echi 5)

- Sequenze Fast Spin Eco (FSE) T 2 pesate (tempo di ripetizione 4000 msec, tempo di eco 102 msec, spessore 20 mm senza interslice gap, matrice 512 x 256, campo di vista 420 x 315 mm, numero di acquisizioni 2, lunghezza del treno di echi 14).

Il calcolo della massa muscolare è stato effettuato utilizzando una workstation Advantage Windows (General Electric Medical System). Mediante uno specifico programma di analisi (dapprima determinando il profilo esterno dell'intera massa muscolare e poi delimitando il profilo periferico dell'osso, del tessuto adiposo e delle principali strutture vascolo-nervose presenti all'interno di ogni singola sezione) viene calcolato, *slice per slice*, in base allo spessore della stessa, il volume globale della massa muscolare di ogni singola *slice* attraverso la sottrazione automatica dei volumi delle strutture osteo-adipose dal volume globale delle strutture in esame. La misura del volume dei muscoli, così ottenuta per ogni singola *slice*, viene sommata automaticamente a quella delle singole *slice* acquisite, fornendo, con elevata approssimazione, il valore finale del volume complessivo dell'intera massa muscolare compresa tra la radice dell'arto e l'articolazione tibio-tarsica.

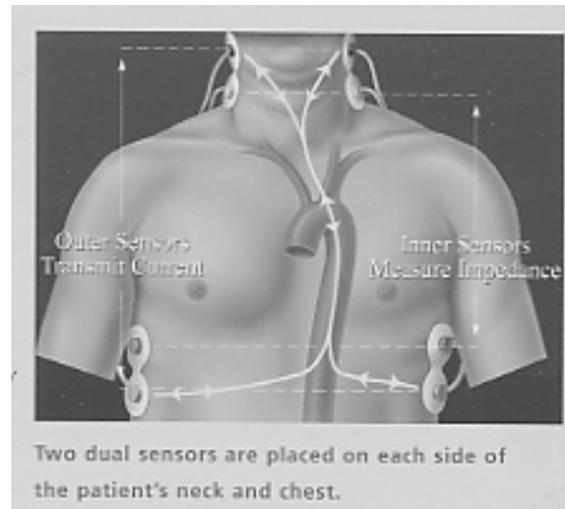
Figura 1. *RM della massa muscolare dell'arto inferiore destro.*



Determinazione dell'emodinamica sistemica

I parametri emodinamici sono stati valutati tramite bioimpedenziometria elettrica transtoracica, impiegando un BioZ.comTM (CardioDynamics International Corporation, San Diego, CA, USA) (31,32). Il BioZ.comTM rileva le modificazioni dell'impedenza toracica tramite l'invio di una corrente elettrica alternata ad alta frequenza (70 kHz) e bassa ampiezza (2.5 mA) attraverso il torace, tramite quattro paia di elettrodi cutanei posti rispettivamente ai due lati del collo e del torace; il BioZ.comTM è inoltre provvisto di un bracciale per il rilievo automatico della pressione arteriosa.

Figura 2. *Disposizione degli elettrodi del bioimpedenziometro.*



I parametri oggetto di studio sono stati i seguenti: gittata sistolica (GS), frequenza cardiaca (FC), gittata cardiaca (GC), il volume sistolico (SV), pressione arteriosa media (MAP) e resistenze vascolari periferiche totali (RVP).

Per assicurare la precisione e la stabilità nella visualizzazione dei parametri forniti, viene calcolata la media dei dati relativi ad un intervallo di 30 battiti cardiaci. I dati vengono quindi aggiornati ogni 10 battiti cardiaci; di conseguenza, i valori visualizzati si basano sui dati relativi ai 10 battiti più recenti sommati agli ultimi 20 battiti del precedente aggiornamento di dati.

Gittata Sistolica

Il bioimpedenziometro calcola la GS in accordo con la seguente formula:

$$GS = VTPE \times TEVS \times IV = VTPE \times TEVS \times [(dZ/dt_{MAX})/ITB]$$

dove VTPE = volume del tessuto conduttore (variabile in funzione di altezza, peso e sesso del soggetto); TEVS = tempo di eiezione del ventricolo

sinistro; IV = indice di velocità (velocità di picco del flusso sanguigno in aorta); dZ/dt_{MAX} = velocità di variazione dell'impedenza toracica durante la sistole e ITB = impedenza toracica basale.

Frequenza Cardiaca

La FC viene rilevata automaticamente dal bioimpedenziometro.

Gittata Cardiaca

La GC viene calcolata automaticamente dal bioimpedenziometro moltiplicando il valore della GS per la FC rilevata al momento della misurazione.

Pressione Arteriosa Media

La pressione arteriosa viene misurata dallo sfigmomanometro fornito dalla strumentazione del biomipedenziometro. La PAM è stata calcolata secondo la formula: pressione diastolica + 1/3 pressione sistolica.

Resistenze Vascolari Periferiche Totali

Le RVP vengono calcolate dal bioimpedenziometro con l'applicazione della seguente formula:

$$RVP = [(MAP - PVC) / GC] \times 80$$

dove MAP = pressione arteriosa media, calcolata come: P diastolica + 1/3 (P sistolica - P diastolica); PVC = pressione venosa centrale, predefinita con un valore pari a 6 mmHg.

I parametri ottenuti (ad esclusione della MAP) sono stati indicizzati (I) rapportandoli all'area della superficie corporea (ASC), anch'essa fornita dal biomipedenziometro, calcolata con la formula di DuBois e DuBois:

$$ASC = W^{0,425} \times H^{0,725} \times 0,007184$$

dove W = peso del paziente in Kg e H = altezza del paziente in cm.

Analisi statistica

I dati sono espressi come media \pm deviazione standard. Le differenze tra i gruppi sono state valutate con il test non parametrico Mann Whitney test. Mentre le correlazioni sono state calcolate con il test di Pearson. Sono state considerate differenze statisticamente significative valori di $p < 0.05$. L'elaborazione statistica è stata eseguita utilizzando il software SPSS 11.0 installato su un PC con il sistema operativo Windows XP.

RISULTATI

I pazienti cirrotici e I controlli sani presentavano età sesso superficie corporea comparabile (Tabella 1). Tutti i pazienti con cirrosi epatica presentavano una malattia evoluta con classe di Child-Pugh compresa tra B e C. Nessuno presentava sindrome epatorenale di tipo 1 mentre due presentavano una sindrome epatorenale di tipo 2 ed altri due pazienti presentavano una creatininemia superiore ai limiti previsti dal nostro laboratorio (1.2 mg/dl). L'attività reninica plasmatica era superiore ai valore massimo di normalità previsto dal nostro laboratorio in tutti i pazienti tranne 2 e presentava una correlazione statisticamente significativa con la concentrazione sierica della creatinina ($r = 0.64$; $p = 0.018$).

I valori delle emodinamica sistemica sono riportati in tabella 2 Come atteso nei pazienti erano presenti I segni della circolazione iperdinamica: aumentata frequenza cardiaca e dell'indice cardiaco e riduzione della pressione arteriosa media e delle resistenze vascolari periferiche. Inoltre i pazienti cirrotici presentano una riduzione della massa muscolare dell'arto inferiore (Tabella 2) (Figura 3).

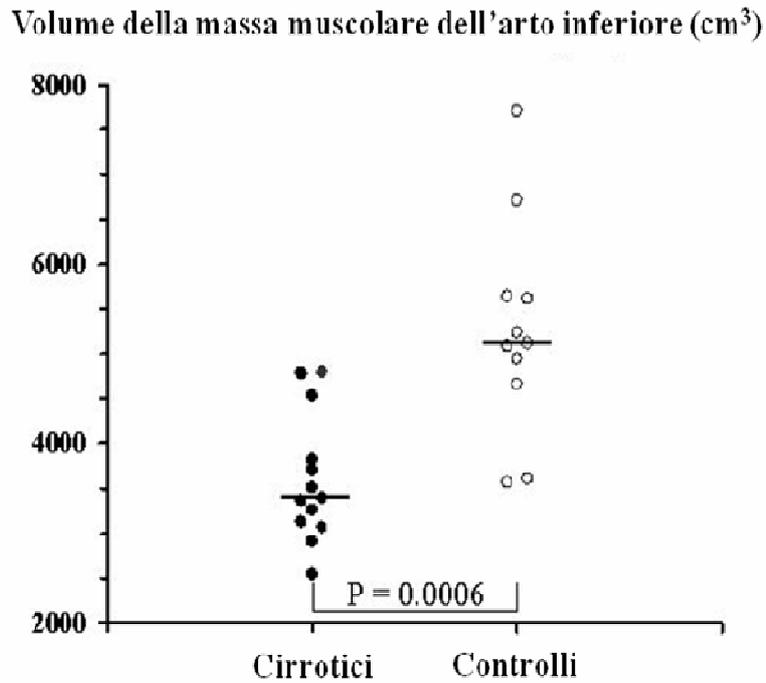
Il flusso ematico nell'arteria femorale espresso sia come valore assoluto che come percentuale della gittata cardiaca non differisce tra pazienti cirrotici e controlli sani (Tabella 2) (Figure 3 e 4).

Tabella2. Emodinamica sistemica e nell'arteria femorale e massa muscolare dei pazienti cirrotici scompensati e dei controlli sani (valori espressi come mediana (range))

	Pazienti cirrotici (n = 13)	Controlli Sani (n = 11)	P
Frequenza Cardiaca (bpm)	85 (59 – 97)	66 (50 – 72)	0.002
Pressione arterosa media (mmHg)	78 (56 – 92)	85 (80 – 103)	0.004
Volume sistolico (ml)	82 (58 – 126)	88 (58 – 99)	Ns
Volume sistolico i (ml/m ²)	50.3 (30.9 – 67.2)	45.8 (33.8 – 48.9)	Ns
Gittata cardiaca (L/min)	6.88 (5.09 – 11.93)	5.71 (4.06 – 6.77)	0.008
Gittata Cardiaca i (L/min x m ²)	3.76 (2.79 – 6.52)	2.74 (2.11 – 3.37)	0.0007
Resistenze vascolari periferiche (dyn x sec/cm ⁵)	733.7 (496.2 – 1,351.1)	1,321 (993.0 – 1,536.9)	0.0004
Resistenze vascolari periferiche i (dyn x sec/cm ⁵ x m ²)	1,354.5 (908.0 – 2,364.5)	2,450 (1,900 – 2882,5)	0.0001
Massa muscolare (cm ³)	3,391 (2,546 – 4,793)	5,118 (3,562 – 7,077)	0.0006
Flusso ematico femorale Valore assoluto(ml/min)	338.8 (203.1 – 499.0)	255.8 (179.7 – 410.3)	ns
% della gittata cardiaca	4.33 (2.09 – 6.87)	4.79 (3.53 – 6.45)	ns
Corretto per la massa muscolare Valore assoluto	91.1 (59.9 – 119.4)	50.5 (38.6 – 69.8)	0.0001
% della gittata cardiaca	1.35 (0.64 – 1.88)	0.94 (0.67 – 1.24)	0.012

Nota per indicizzato si considera un parametro emodinamico diviso per la superficie corporea espresso in media.

Figura 3 Volume della massa muscolare dell'arto inferiore nei pazienti e nei controlli sani.

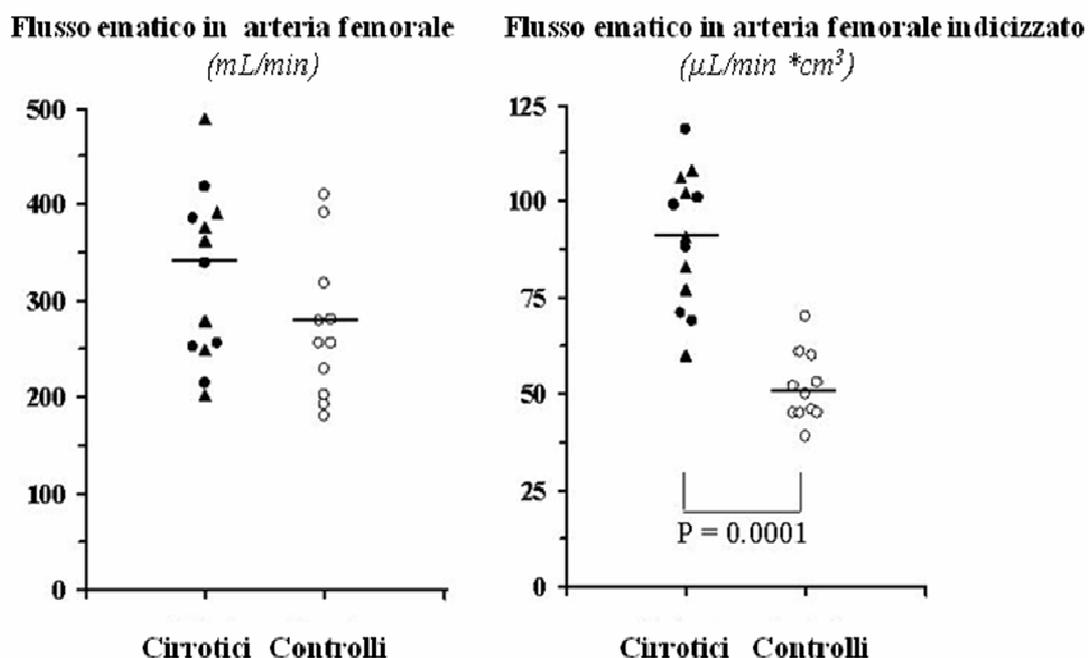


Il flusso ematico in arteria femorale non differisce tra pazienti in classe B di Child-Pugh (297.4 [215.1 – 418.1] ml/min) o con concentrazione sierica di creatinina \leq 1.2 mg/dl (338.8 [215.1 – 489.9] ml/min) rispetto ai pazienti in classe C (362.2 [203.1 – 489.9] ml/min) o con creatininemia $>$ 1.2 mg/dl (317.3 [203.1 – 391.0] ml/min) (Figure. 3 e 4).

Figura 4 Flusso ematico in arteria femorale

A destra il flusso ematico in arteria femorale destra misurato a soggetto supino in pazienti cirrotici in classe di Child-Pugh B (●) o C (▲), ed in controlli sani (○).

A sinistra: flusso ematico in arteria femorale destra misurato a soggetto supino indicizzato per il volume della massa muscolare dell'arto inferiore in pazienti cirrotici in classe di Child-Pugh B (●) o C (▲), ed in controlli sani (○). La linea orizzontale rappresenta la mediana.



Quando si corregge il flusso ematico per la massa muscolare dell'arto inferiore si verifica un aumento del flusso nell'arteria femorale dei pazienti cirrotici senza che si verifichino differenze significative tra pazienti in classe B o C di Child Pugh infatti il valori risultano rispettivamente di (93.61 [68.88 – 119.4] µL/min x cm³) (91.05 [59.88 – 107.61] µL/min x cm³) non si verificano differenze anche se si comparano pazienti con creatininemia ≤ 1.2 mg/dl (91.05 [68.88 – 119.4] µL/min x cm³) con i pazienti che presentano questo parametro > 1.2 mg/dl (88.82 [59.88 – 105.43] µL/min x cm³).

Se si valuta la percentuale della gittata cardiaca che giunge all'arteria femorale si osserva un andamento simile, infatti se si considera questo valore senza indicizzarlo per la massa muscolare non si osservano differenze statisticamente significative, ma tenendo presente la sarcopenia del paziente cirrotico si verificano differenze statisticamente significative. (Figura 5)

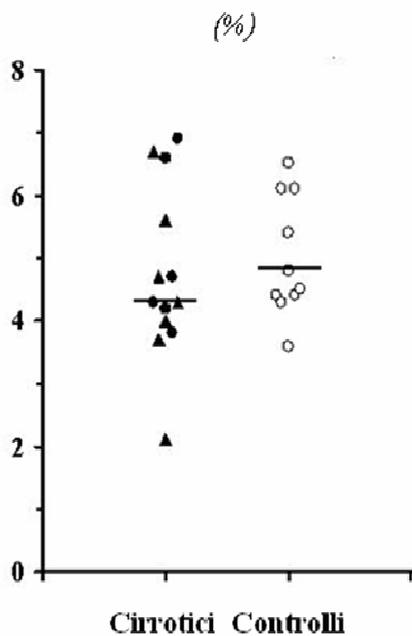
Nei pazienti il flusso ematico in arteria femorale indicizzato per la massa muscolare è significativamente correlato con l'attività reninica plasmatica ($r = 0.60$; $p = 0.031$) ed inversamente correlata con le resistenze vascolari periferiche indicizzate ($r = - 0.65$; $p = 0.012$) (Figura 6). Inoltre questa variabile correla con l'indice cardiaco ($r = 0.57$; $p = 0.042$) (Figura 7); Infine si riscontra anche una correlazione inversa tra indice cardiaco e percentuale della gittata cardiaca che giunge all'arteria femorale indicizzata per la massa muscolare ($r = - 0.57$; $p = 0.042$) (Figura 8). Al contrario non sono state riscontrate correlazioni statisticamente significative tra flusso ematico in arteria femorale corretto per la massa muscolare e resistenze vascolari periferiche indicizzate o indice cardiaco nei controlli sani.

Figura 5: Frazione della gittata cardiaca (GC) che giunge all'arteria femorale

A destra il flusso ematico in arteria femorale destra misurato a soggetto supino in pazienti cirrotici in classe di Child-Pugh B (●) o C (▲), ed in controlli sani (○).

A sinistra: flusso ematico in arteria femorale destra misurato a soggetto supino indicizzato per il volume della massa muscolare dell'arto inferiore in pazienti cirrotici in classe di Child-Pugh B (●) o C (▲), ed in controlli sani (○). La linea orizzontale rappresenta la mediana.

Frazione della GC in arteria femorale



Frazione della GC in arteria femorale indicizzata per la massa muscolare

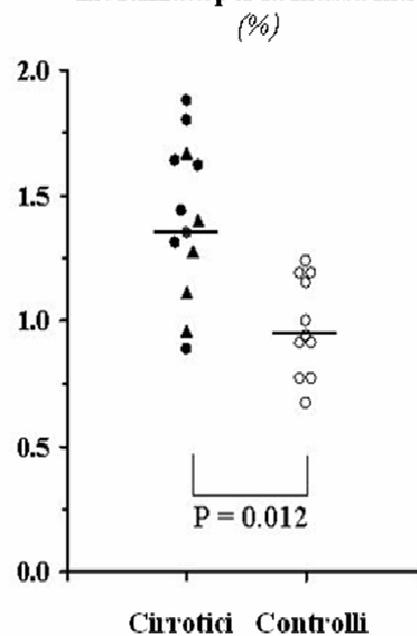


Figura 6. Correlazione inversa statisticamente significativa tra resistenze vascolari periferiche indicizzate (PVRI) e il flusso ematico in arteria femorale indicizzato per il volume della massa muscolare in pazienti con cirrosi avanzata.

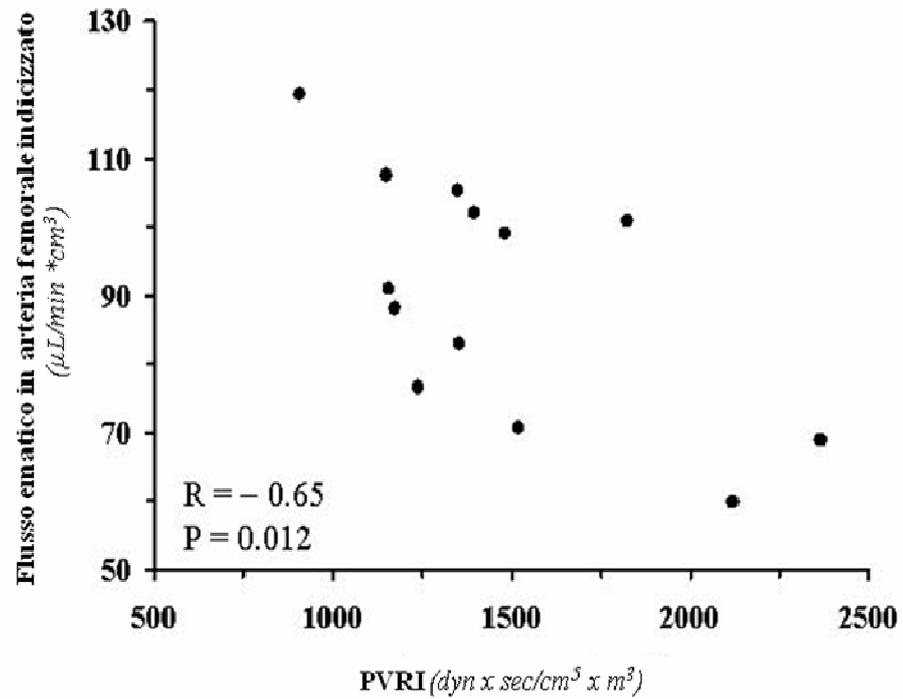


Figura 7. Correlazione statisticamente significativa tra il flusso ematico in arteria femorale indicizzato per il volume della massa muscolare e l'indice cardiaco in soggetti con cirrosi avanzata

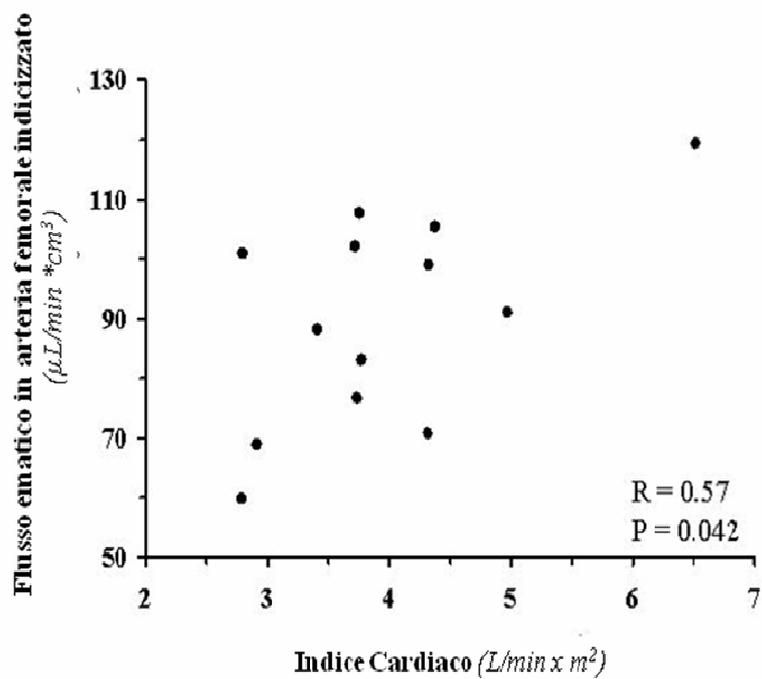
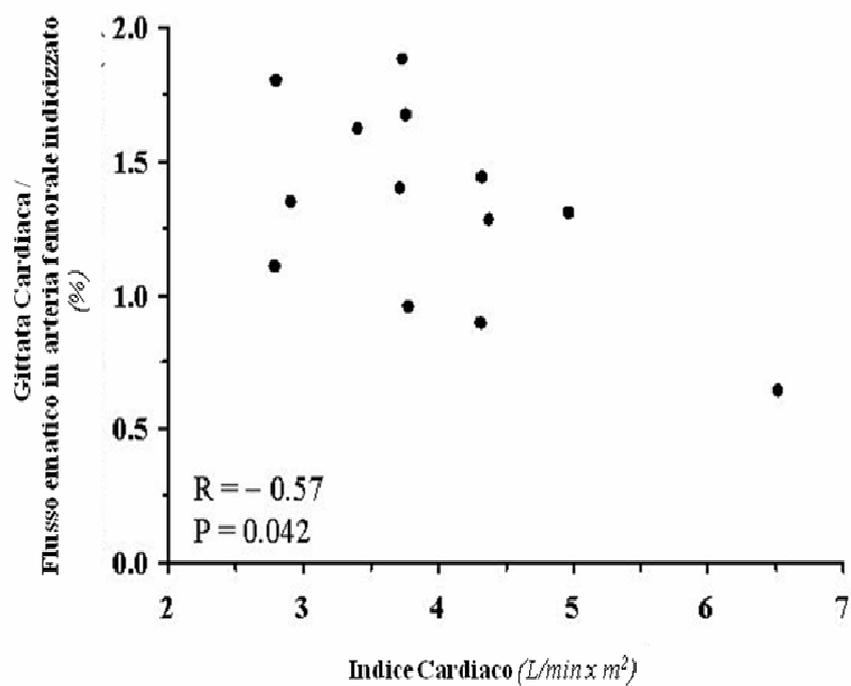


Figura 8. Correlazione inversa statisticamente significativa tra La percentuale della Gittata Cardiaca (GC) che giunge all'arteria femorale indicizzato per il volume della massa muscolare e l'indice cardiaco in pazienti con cirrosi avanzata.



DISCUSSIONE

Uno degli aspetti più interessanti di questo studio è rappresentato dall'impiego di varie tecniche diagnostiche per definire il ruolo della vasodilatazione nel distretto vascolare degli arti inferiori nelle alterazioni emodinamiche che si verificano nei pazienti con cirrosi avanzata. Infatti si sono utilizzate tecniche ecografiche, di risonanza magnetica e impedenziometriche al fine di caratterizzare le alterazioni che precedenti lavori, che scaturiscono dall'utilizzazione per lo più di una singola tecnica, non erano riusciti a tipizzare con precisione.

Infatti, le prime ricerche mirate a verificare se vi fosse nel paziente cirrotico una vasodilatazione del distretto muscolo-cutaneo sembrarono indicare la presenza di un aumentato flusso ematico a carico della cute e, in minor misura, delle masse muscolari (33). Questa opinione si è consolidata, trovando poi conferma in studi pletismografici (17,34), che hanno documentato un aumentato flusso ematico a carico dell'avambraccio.

L'avvento ed il perfezionamento delle tecniche duplex-Doppler, che permettono la valutazione non invasiva dei flussi arteriosi, ha dato ulteriore impulso allo studio dell'emodinamica regionale. Questa tecnica non è priva di potenziali sorgenti di errore ed è ampiamente influenzata dall'abilità dell'operatore (34). Tuttavia, il coefficiente di variazione intra-osservatore riportato da gruppi diversi è dell'ordine del 10%, il che rappresenta un valore accettabile. Inoltre, i valori di gittata cardiaca e di flusso ematico a livello delle arterie mesenterica superiore, femorale e renale in soggetti sani riportati in differenti studi da parte di vari gruppi di ricerca indipendenti hanno prodotto valori comparabili tra loro (16,20,33).

I risultati ottenuti sull'emodinamica periferica con l'impiego di tecniche duplex-Doppler in pazienti con cirrosi epatica non sono univoci. I primi a valutare l'emodinamica sistemica, renale e femorale dei pazienti con cirrosi epatica scompensata sono stati Fernandez-Seara et al. (19). Essi hanno riscontrato che i pazienti con funzione renale non compromessa, comparati ai controlli sani, avevano gittata cardiaca aumentata, ridotte resistenze

vascolari periferiche, flusso dell'arteria renale sostanzialmente conservato ed un incremento della frazione della gittata cardiaca che giunge all'arteria femorale. Altri Autori non hanno confermato l'aumento del flusso in arteria femorale ed addirittura la frazione femorale della gittata cardiaca risultava ridotta (20). Iwao et al, infine, hanno riscontrato un comportamento discordante tra pazienti in classe B di Child rispetto a quelli in classe C. Infatti nei primi il flusso femorale aumentava, mentre nei secondi la frazione femorale della gittata cardiaca risultava ridotta (21).

Tuttavia, è opportuno sottolineare come, negli studi sopra menzionati, la misurazione del flusso ematico nell'arteria femorale è stata sempre effettuata come numero assoluto, senza correggerla per la massa muscolare, che nei pazienti con cirrosi epatica in fase avanzata è generalmente ridotta (23), come dimostrano anche i nostri risultati. Al contrario, in ambito non epatologico, numerosi studi condotti sia su modelli sperimentali che sull'uomo correggono il flusso rilevato a livello dell'arteria femorale con la massa muscolare (24-26). Tale approccio potrebbe rivestire particolare interesse data la progressiva atrofia muscolare che si rileva nei pazienti con cirrosi epatica e che aumenta con il progredire della malattia.(23)

Per la valutazione quantitativa della massa muscolare non esiste un gold standard universalmente riconosciuto, e sono state pertanto impiegate a scopi scientifici metodiche di tipo antropometrico (26), ecografico (37-40) e, più di recente, la risonanza magnetica, che consente di escludere con buona approssimazione dalla stima le strutture ossee, vascolari ed il tessuto adiposo (30,42-49).

Recentemente Infantolino et al hanno dimostrato su cadavere che il volume del muscolo vasto mediale misurato ecograficamente nel cadavere presenta una buona correlazione a quello misurato con metodo idrostatico dopo dissezione dalla salma. Questo genere di misurazione presenta, inoltre, una buona riproducibilità tra un operatore ed un altro (38). In un altro studio Esformes et al hanno dimostrato che la misurazione del muscolo tibiale anteriore presenta, nel soggetto sano, una buona riproducibilità tra ecografia e risonanza magnetica nucleare (39). Si può quindi affermare che l'ecografia

ben si presta alla misurazione del volume di un muscolo, e può essere utilizzata nel monitoraggio di traumi (37) o della risposta ad un trattamento riabilitativo. Al contrario non vi sono ancora parametri ecografici che possano dare una stima del volume muscolare totale di un distretto come era necessario per questo studio. Infatti, allo stato attuale, infatti esistono parametri ecografici per la stima della massa magra solamente per i feti (40,41) ma non nell'adulto. Al contrario la risonanza magnetica è stata ampiamente utilizzata in studi in cui si doveva misurare la deplezione di masse muscolari perché riesce a discriminare con precisione tessuto muscolare da quello adiposo e a stimare il volume complessivo del tessuto muscolare di un distretto. Inoltre presenta una scarsa variabilità intra-operatore (42-49)

Oltre all'impiego della risonanza magnetica per la stima della massa muscolare dell'arto inferiore, questo studio propone anche la valutazione non invasiva dell'emodinamica sistemica tramite bioimpedenziometria toracica (BET). La BET sfrutta la differente conducibilità elettrica dei tessuti biologici, tra i quali il sangue è il miglior conduttore. L'attività contrattile ventricolare determina variazioni fasiche dei volumi di sangue all'interno del sistema arterioso toracico ed, in particolare, all'interno dell'aorta. Tali variazioni si traducono in cambiamenti della conduttività e, di conseguenza, dell'impedenza del torace alla corrente elettrica. Il bioimpedenziometro, con l'impiego di una corrente elettrica alternata ad alta frequenza e bassa ampiezza, rileva il cambiamento dell'impedenza toracica in funzione del tempo, misurando così, in modo non invasivo, la gittata sistolica e calcolando molti altri parametri emodinamici (30-31).

Tale metodica rappresenta un sistema non invasivo ed operatore indipendente per misurare le variabili emodinamiche. In particolare due meta-analisi hanno dimostrato che l'impedenziometria è particolarmente indicata qualora si voglia seguire l'evoluzione clinica di differenti gruppi di pazienti e presenta risultati che sono correlati con la termodiluizione che rappresenta il gold standard per questo tipo di misurazione (50-51). Un altro metodo utilizzato per misurare la gittata cardiaca è rappresentato

dall'ecocardiografia. Recentemente il nostro gruppo ha dimostrato proprio in pazienti cirrotici che tale metodica permette di effettuare misurazioni comparabili con quelle ottenibili con l'impedenziometria anche nel caso di patologia avanzata (31).

I vantaggi dell'impedenziometria sono rappresentati dalla non invasività, praticità d'uso, basso costo, alta riproducibilità dei risultati ed indipendenza dall'operatore, unite alla possibilità di monitorare le variabili emodinamiche in continuo ed in tempo reale. Nel nostro studio, tali caratteristiche ci hanno permesso di misurare i parametri dell'emodinamica sistemica contemporaneamente al flusso arterioso femorale, mantenendo il paziente nella posizione richiesta dalla determinazione Doppler (31) cosa che non sarebbe stato possibile con l'ecocardiografia e molto difficoltoso con la termodiluaizione. Infatti per poter calcolare con precisione la percentuale di gittata cardiaca che giunge nel distretto femorale è fondamentale che la gittata cardiaca e il flusso femorale siano misurati contemporaneamente.

Tutti i pazienti arruolati in questo studio presentavano una malattia epatica avanzata con una classe di Child-Pugh compresa tra B e C, e presentavano chiari segni di circolazione iperdinamica: riduzione delle resistenze vascolari periferiche e della pressione arteriosa media ed aumento della gittata cardiaca della frequenza. Inoltre l'aumento della attività reninica plasmatica conferma la riduzione della volemia efficace che si verifica in questi pazienti in cui la circolazione iperdinamica rappresenta un tentativo di compenso (10). L'aumento dell'attività reninica plasmatica influenza la funzione renale ed infatti nei pazienti cirrotici arruolati in questo studio si osserva una correlazione tra creatininemia sierica ed attività reninica plasmatica. Le nostre misurazioni del flusso ematico femorale, sia come valore assoluto che come frazione della gittata cardiaca, non mostrano variazioni significative rispetto ai soggetti sani; ma, se si correggono entrambe queste misure per il volume della massa muscolare, si verificano delle nette differenze tra pazienti cirrotici e controlli. Infatti i primi presentano un flusso per cm^3 di muscolo nettamente superiore ai secondi. La

comparazione dei nostri risultati con gli altri presenti in letteratura mette in evidenza alcuni aspetti peculiari. In primo luogo il flusso nell'arteria femorale, misurato nei controlli sani è circa la metà di quello misurato da Fernandez et al. (19), che esprime i suoi risultati come flusso bilaterale; ma risulta simile ai valori pubblicati in altri studi in cui si è utilizzato il Doppler (20,21,52,53). Questa indicazione è importante per stabilire che le misurazioni non presentano degli errori metodologici ma che può presentare una grande variabilità a seconda dell'operatore (33) e probabilmente per l'attrezzatura impiegata (27). Altra osservazione interessante sui risultati scaturisce dal fatto che in questo studio il flusso femorale non risulta influenzato dalla presenza di alterazioni renali, infatti non vi sono differenze statisticamente significative di questo parametro tra i pazienti con funzione renale conservata e quelli che la presentavano compromessa come riportato da Fernandez et al. (19) e da Iwao et al. (21). In realtà il numero di pazienti che presentavano questa alterazione arruolati nello studio è basso, ed in particolare, nessuno presentava sindrome epatorenale di tipo I. In conclusione si può affermare che mentre alla prima apparenza i nostri risultati sembrano dimostrare che la circolazione del distretto muscolare degli arti inferiori non contribuisca alla sindrome iperdinamica, in realtà, se si tiene in considerazione che nei pazienti cirrotici con malattia avanzata si verifica una deplezione della massa muscolare, e si corregge conseguentemente il flusso muscolare per questa grandezza, si evidenzia una vasodilatazione anche di questo distretto vascolare nei pazienti cirrotici rispetto ai controlli sani. La perdita di tessuto muscolare è una caratteristica tipica della cirrosi in stadio avanzato. (15,23,54), ed è stata confermata anche dalle nostre osservazioni, nonostante il fatto che i pazienti cirrotici presentino una superficie corporea ed un'età comparabile ai controlli sani questi ultimi presentano una massa muscolare nettamente superiore.

Il metabolismo muscolare è di fondamentale importanza nel modulare il flusso ematico (55-57). Pertanto una corretta valutazione del flusso ematico non può prescindere dalla misurazione di questa variabile (57). E proprio questo tipo di valutazione mette in luce una vasodilatazione del distretto

muscolare nei pazienti cirrotici scompensati. Inoltre è interessante osservare che l'indice cardiaco e il flusso ematico femorale indicizzato per il volume della massa muscolare dell'arto inferiore sono direttamente correlati suggerendo la vasodilatazione dell'arto inferiore aumenta parallelamente al peggioramento della sindrome iperdinamica. Pertanto è razionale ipotizzare che la vasodilatazione che si sviluppa nella cirrosi avanzata coinvolga anche il distretto muscolare dell'arto inferiore: Tale ipotesi è confermata dalla correlazione statisticamente significativa esistente tra le resistenze vascolari periferiche ed il flusso ematico femorale sempre corretto per la massa muscolare dell'arto inferiore; ma tale correlazione si verifica solo nei soggetti cirrotici ma non nei controlli sani. Questo dato conferma quanto osservato in modelli sperimentali animali (58). Questi dati però non contraddicono le forti evidenze dimostrate in modelli animali di ipertensione portale o di cirrosi ed in pazienti cirrotici che dimostrano il ruolo fondamentale della vasodilatazione del circolo splancnico nel causare la circolazione iperdinamica (58-61). Al contrario i nostri risultati rinforzano il ruolo fondamentale della vasodilatazione splancnica. Prima di tutto in condizioni di riposo solo il 10% circa della gittata cardiaca giunge alle due arterie femorale. Poi, quando noi andiamo a esprimere la percentuale della gittata cardiaca che giunge all'arteria femorale correggendola per il volume della massa muscolare notiamo che le differenze tra controlli e soggetti cirrotici sono meno marcate di quelle osservate quando si usano i valori flussimetrici grezzi. Infine nei nostri dati si osserva una correlazione inversa tra indice cardiaco e percentuale della gittata cardiaca che giunge all'arteria femorale corretta per il volume della massa muscolare è inversa. Questo dato suggerisce che con il progredire della malattia una parte del flusso viene dirottato verso una sede che è differente dall'arto inferiore, probabilmente quindi verso il circolo splancnico.

In conclusione questo studio dimostra che la circolazione del distretto muscolare contribuisce alla vasodilatazione che si osserva nella circolazione iperdinamica del paziente con cirrosi epatica avanzata anche se

verosimilmente il circolo splancnico rappresenta la sede dove questa vasodilatazione è maggiormente pronunciata. Queste evidenze sono un forte razionale per utilizzare farmaci vasocostrittori non selettivi come la norepinefrina e la midodrina per trattare le complicanze della cirrosi che possono essere dipendenti dalle alterazioni emodinamiche; come ad esempio la sindrome epatorenale (62-63).

Come prospettiva futura si potrebbe indicare la necessità di mettere a punto parametri ecografici che permettano di stimare la presenza di sarcopenia nell'adulto e non solo di poter misurare il volume di ogni singolo muscolo. In modo da poter studiare questo fenomeno clinicamente con ecografia permettendo una maggiore facilità nell'eseguire questo tipo di studi soprattutto se si intendono eseguire misure seriate.

BIBLIOGRAFIA

1. Kowalski HJ, Abelman WH. The cardiac output at rest in Laennec cirrhosis. *J Clin Invest* 1953; 32: 1025-1033.
2. Llach J, Ginès P, Arroyo V. Prognostic value of arterial pressure, endogenous vasoactive systems and renal function in cirrhosis with ascites. *Gastroenterology* 1988; 94: 482-487.
3. Arroyo V, Bernardi M, Epstein M, et al. Pathophysiology of ascites and functional renal failure in cirrhosis. *J Hepatol* 1988; 6: 239-257.
4. Agusti AGN, Roca J, Bosch J. The lung in patients with cirrhosis. *J Hepatol* 1990; 10: 251-257.
5. Ryan J, Sudhir K, Jenneings G, et al. Impaired reactivity of the peripheral vasculature to pressor agents in alcoholic cirrhosis. *Gastroenterology* 1995; 105: 1167-1172.
6. Moreau R, Lee SS, Soupison T. Abnormal tissue oxygenation in patients with cirrhosis and liver failure. *J Hepatol* 1988; 7: 98-105.
7. Sikuler E, Kravetz D, Groszmann RJ. Evolution of portal hypertension and mechanisms involved in its maintenance in a rat model. *Am J Physiol* 1985; 248: G618-625.
8. Lockwood AH, Yap EWH, Wong W. Cerebral ammonia metabolism in patients with severe liver disease and minimal hepatic encephalopathy. *J Cerebr Blood Flow Metab* 1991; 11: 337-341.
9. Aggarwal S, Kramer D, Yonas H. Cerebral hemodynamics and changes in fulminant hepatic failure: a retrospective study. *Hepatology* 1994; 19: 80-87.
10. Schrier RW, Arroyo V, Bernardi M et al. Peripheral arterial vasodilation hypothesis: a proposal for the initiation of renal sodium and water retention in cirrhosis. *Hepatology* 1988; 8: 1151-1157.
11. Vorobioff J, Bredfeldt JE, Groszmann RJ. Hyperdynamic circulation in portal-hypertensive rat model: a primary factor for maintenance of chronic portal hypertension. *Am J Physiol* 1983; 244: G52-57.

12. Vorobioff J, Bredfeldt JE, Groszmann RJ. Increased blood flow through the portal system in cirrhotic rats. *Gastroenterology* 1984; 87:1120-1126.
13. Sato S, Ohnishi K, Sugita S et al. Splenic artery and superior mesenteric artery blood flow: nonsurgical Doppler US measurement in healthy subjects and patients with chronic liver disease. *Radiology* 1987; 164: 347-352.
14. Iwao T, Toyonaga A, Oho K et al. Postprandial splanchnic hemodynamic response in patients with cirrhosis of the liver: evaluation with "triple-vessel" duplex US. *Radiology* 1996; 201: 711-715.
15. Guevara M, Bru C, Gines P et al. Increased cerebrovascular resistance in cirrhotic patients with ascites. *Hepatology* 1981; 28: 39-44.
16. Sacerdoti D, Bolognesi M, Merkel C et al. Renal vasoconstriction in cirrhosis evaluated by duplex Doppler ultrasonography. *Hepatology* 1994; 20: 539-541.
17. Kontos HA, Shapiro W, Mauck HP et al. General and regional circulatory alterations in cirrhosis of the liver. *Am J Med.* 1964;37: 526-535.
18. Seino Y, Ohki K, Nakamura T et al. Pathophysiological characteristics of cutaneous microcirculation in patients with liver cirrhosis: relationships to cardiovascular hemodynamics and plasma neurohormonal factors. *Microvasc Res.* 1993; 46: 206-215.
19. Fernandez-Seara J, Prieto J, Quiroga J et al. Systemic and regional hemodynamics in patients with liver cirrhosis and ascites with and without functional renal failure. *Gastroenterology* 1989; 97:1304-1312.
20. Maroto A, Gines P, Arroyo V et al. Brachial and femoral artery blood flow in cirrhosis: relationship to kidney dysfunction. *Hepatology* 1993; 17: 788-793.
21. Iwao T, Oho K, Sakai T et al. Splanchnic and extrasplanchnic arterial hemodynamics in patients with cirrhosis. *J Hepatol.* 1997; 27: 817-823.
22. La Villa G, Barletta G, Righi D et al. Vascular reserve in the lower limbs of cirrhotic patients: a duplex Doppler ultrasound study. *Dig Liver Dis.* 2002; 34: 717-722.
23. Guglielmi FW, Panella C, Buda A et al. Nutritional state and energy balance in cirrhotic patients with or without hypermetabolism Multicentre

- prospective study by the 'Nutritional Problems in Gastroenterology' Section of the Italian Society of Gastroenterology (SIGE). *Dig Liver Dis* 2005; 37: 681-688.
24. Laughlin MH, Armstrong RB. Muscular blood flow distribution patterns as a function of running speed in rats. *Am J Physiol*. 1982; 243: 296-306.
 25. Moreau KL, Donato AJ, Tanaka H et al. Basal leg blood flow in healthy women is related to age and hormone replacement therapy status. *J Physiol* 2003; 15: 309-316.
 26. Donato AJ, Uberoi A, Wray DW et al. Differential effects of aging on limb blood flow in humans. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2006;290:H272-8
 27. AISF "Imaging E Valutazione Emodinamica Nella Diagnostica Epatologica AISF 2003 reperibile nel sito www.webaisf.org alla voce commissioni
 28. Arroyo V, Ginés P, Gerbes AL, Dudley FJ, Gentilini P, Laffi G, Reynolds TB, Ring-Larsen H, Schölmerich J. Definition and diagnostic criteria of refractory ascites and hepatorenal syndrome in cirrhosis. *International Ascites Club. Hepatology* 1996; 23: 164-76.
 29. Nakamura T, Moriyasu F, Ban N et al. Quantitative measurement of abdominal arterial blood flow using image-directed Doppler ultrasonography : superior, mesenteric, splenic and common hepatic arterial blood flow in normal adults. *J Clin Ultrasound* 1989; 17: 261-268.
 30. Lund H, Christensen L, Savnik A et al. Volume estimation of extensor muscles of the lower leg based on MR imaging. *Eur Radiol*. 2002; 12: 2982-2987.
 31. BioZ.com[®] Operator's manual, Revision E, November 2001
 32. Dazzani F, Micati M, Caraceni P et al. Transthoracic electrical bioimpedance: A non-invasive technique for the evaluation of the haemodynamic alterations in patients with liver cirrhosis. *Dig Liver Dis*. 2005; 37: 786-792.
 33. Martini GA. Über Fefässveränderungen der Haut bei Leberkranken. *Z Klin Med* 1955; 153: 470-526.

34. Campillo B, Chabrier PE, Pelle G, et al. Inhibition of nitric oxide synthesis in the forearm arterial bed of patients with advanced cirrhosis. *Hepatology* 1995; 22: 1423-1429.
35. Taylor KJW, Holland S. Doppler ultrasound. Part 1. Basic principles, instrumentation, and pitfalls. *Radiology* 1990; 174: 297-307.
36. Iwao T, Toyonaga A, Sato M, et al. Effect of posture-induced blood volume expansion on systemic and regional hemodynamic in patients with cirrhosis. *J Hepatol* 1997; 27: 484-491.
37. Uremovic M, Pasic MB, Seric V et al.. Ultrasound measurement of the volume of musculus quadriceps after knee joint injury. *Coll Antropol.* 2004; 28 Suppl 2: 227-23.
38. Infantolino BW, Gales DJ, Winter SL et al The validity of ultrasound estimation of muscle volumes. *J Appl Biomech.* 2007;23:213-7.
39. Esformes JI, Narici MV, Maganaris CN. Measurement of human muscle volume using ultrasonography *Eur J Appl Physiol.* 2002;87:90-2.
40. Crane SS, Avallone DA, Thomas AJ et al. Sonographic estimation of fetal body composition with gestational diabetes mellitus at term. *Obstet Gynecol.* 1996;88:849-54.
41. Bernstein I. Fetal body composition. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2005;8:613-7.
42. Leroy-Willig A. Quantitative MR evaluation of body composition in patients with Duchenne muscular dystrophy. *Eur Radiol.* 2003;13:2710-2712.
43. Pichiecchio A, Uggetti C, Egitto MG et al. Quantitative MR evaluation of body composition in patients with Duchenne muscular dystrophy. *Eur Radiol.* 2002;12:2704-9.
44. Gong QY, Phoenix J, Kemp GJ et al. Whitehouse GH, Roberts N. Estimation of body composition in muscular dystrophy by MRI and stereology. *J Magn Reson Imaging.* 2000 ;12:467-75.
45. Leroy-Willig A, Willig TN, Henry-Feugeas MC et al. Body composition determined with MR in patients with Duchenne muscular dystrophy, spinal

- muscular atrophy, and normal subjects. *Magn Reson Imaging*. 1997;15:737-44.
46. McCully K Magnetic resonance as a tool to study sarcopenia. *Muscle Nerve Suppl*. 1997;5:S102-6.
 47. Heymsfield SB, Gallagher D, Visser M et al. Measurement of skeletal muscle: laboratory and epidemiological methods. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 1995;50 Spec No:23-9.
 48. Wang Z, Heo M, Lee RC et al. Muscularity in adult humans: proportion of adipose tissue-free body mass as skeletal muscle. *Am J Hum Biol*. 2001;13:612-9.
 49. Foley JM, Jayaraman RC, Prior BM, Pivarnik JM, Meyer RA. MR measurements of muscle damage and adaptation after eccentric exercise. *J Appl Physiol* 1999; 87: 2311–8.
 50. Raaijmakers E, Faes T, Scholten R, et al. A meta-analysis of three decades of validating thoracic impedance cardiography. *Crit Care Med* 1999; 27: 1203-1213.
 51. Barin E, Haryadi D, Schookin S et al. Evaluation of a thoracic bioimpedance cardiac output monitor during cardiac catheterization. *Crit Care Med* 2000; 28: 698-702.
 52. Holland CK, Brown JM, Scutt LM, et al. Lower extremity volumetric arterial blood flow in normal subjects. *Ultrasound Med Biol* 1998; 24: 1079-86.
 53. MacDonald MJ, Shoemaker JK, Tschakovsky ME, et al. Alveolar oxygen uptake and femoral artery blood flow dynamics in upright and supine leg exercise in humans. *J Appl Physiol* 1998; 85: 1622-8.
 54. Tessari P. Protein metabolism in liver cirrhosis: from albumin to muscle myofibrils. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2003; 6: 79-85.
 55. Dinenna FA, Jones PP, Seals DR, Tanaka H. Limb blood flow and vascular conductance are reduced with age in healthy humans: relation to elevations in sympathetic nerve activity and declines in oxygen demand. *Circulation* 1999; 100: 164–70.

56. Dinunno FA, Tanaka H, Stauffer BL, and Seals DR. Reductions in basal limb blood flow and vascular conductance with human ageing: role for augmented α -adrenergic vasoconstriction. *J Physiol* 2001; 536: 977–83.
57. Radegran G, Blomstrand E, Saltin B. Peak muscle perfusion and oxygen uptake in humans: importance of precise estimates of muscle mass. *J Appl Physiol* 1999; 87: 2375-80.
58. Vorobioff J, Bredfeldt JE, Groszmann RJ. Increased blood flow through the portal system in cirrhotic rats. *Gastroenterology* 1984; 87: 1120-6.
59. Pizcueta P, Piqué JM, Fernández M, Bosch J, Rodés J, Whittle BJ, Moncada S. Modulation of the hyperdynamic circulation of cirrhotic rats by nitric oxide inhibition. *Gastroenterology* 1992; 103: 1909-15.
60. Sato S, Ohnishi K, Sugita S et al Splenic artery and superior mesenteric artery blood flow: nonsurgical Doppler US measurement in healthy subjects and patients with chronic liver disease. *Radiology* 1987; 164: 347-52.
61. Fernández-Muñoz D, Caramelo C, Santos JC et al. Systemic and splanchnic hemodynamic disturbances in conscious rats with experimental liver cirrhosis without ascites. *Am J Physiol* 1985; 249: G316-20.
62. Angeli P, Volpin R, Gerunda G, Craighero R, Roner P, Merenda R, Amodio P, Sticca A, Caregaro L, Maffei-Faccioli A, Gatta A. Reversal of type 1 hepatorenal syndrome with the administration of midodrine and octreotide. *Hepatology* 1999; 29: 1690-7.
63. Duvoux C, Zanditenas D, Hézode C, Chauvat A, Monin JL, Roudot-Thoraval F, Mallat A, Dhumeaux D. Effects of noradrenalin and albumin in patients with type I hepatorenal syndrome: a pilot study. *Hepatology* 2002; 36: 374-80.