

La sedimentazione degli eritrociti: lunghezza o velocità? L'etica di refertare ciò che è stato misurato

Carlo Franzini

Università degli Studi di Milano, Dipartimento di Scienze Cliniche Luigi Sacco, Milano

Più di trenta anni or sono la IFCC ha condotto una intensa campagna a favore dell'uso di corretti ed uniformi termini, unità e modalità per l'espressione dei risultati delle misurazioni in biochimica clinica: la campagna ha esitato nella pubblicazione di appropriate raccomandazioni (1, 2) spesso in collaborazione con altri enti interessati alla standardizzazione della misura e della sua espressione (IUPAC, ICSH). Tali raccomandazioni sono state recepite e divulgate da differenti gruppi ed associazioni scientifiche nazionali, in diverse nazioni. Documenti per la applicazione delle raccomandazioni, adattate alla lingua italiana, sono stati predisposti da un Commissione ad hoc della SIBioC (3). Da allora solo una piccola parte delle raccomandazioni sono state applicate nella pratica. Tuttavia, gli sforzi attuati hanno prodotto una crescente coscienza della opportunità di una correttezza formale delle espressioni, riguardante per esempio la "obbligatorietà" di associare sempre l'unità al valore numerico risultante dalle misurazioni.

In questo contesto, quando si è presa in considerazione la Velocità di EritroSedimentazione (VES), in lingua inglese Erythrocyte Sedimentation Rate (ESR), si è argomentato che la grandezza misurata è un lunghezza e non una velocità (rate). Tali argomentazioni erano basate fondamentalmente sulla considerazione che la velocità della sedimentazione è ben lungi dall'essere costante durante l'intervallo di tempo della misura (un'ora o, tempo addietro, una prima ed una seconda ora) (4, 5): di conseguenza, il tempo è uno dei fattori sperimentali che contribuiscono all'empirismo della misura condizionandone il risultato, insieme a lunghezza e diametro del tubo, diluizione del sangue, verticalità, temperatura, eccetera. Pertanto, l'intervallo di tempo fisso (da 0 a 60 minuti, per esempio) nel quale si misura la lunghezza percorsa dalla linea di demarcazione plasma/globuli è incluso nella definizione delle condizioni di misura di ciascun metodo. Si potrebbe tuttavia argomentare che la grandezza misurata potrebbe essere considerata una "velocità media", pur conservando la necessità di mantenere la definizione del tempo di misura nelle condizioni empiriche della misura stessa.

Consideriamo per esempio che uno salga sulla sua autovettura, abbandoni il casello di Milano (lunghezza = 0) ad una data ora (tempo = 0) e raggiunga il casello di Roma (lunghezza = 600 chilometri) dopo esattamente 6 ore. Si può dire che il nostro pilota ha coperto la distanza alla velocità media di 100 km/ore (27,78 m/s in unità SI) indipendentemente dalla possibilità che durante il percorso si sia fermato per una breve sosta (velocità istantanea, $dl/dt = 0$), viaggiando poi per un certo tratto alla velocità di, per esempio, 130 km/ora (36,1 m/s) per recuperare il tempo perduto. Alternativamente si può affermare che in 6 ore (21,6 ks) è stata coperta la distanza (lunghezza) di 600 km. La velocità media è il rapporto lunghezza/tempo: è irrilevante che si misuri il tempo impiegato a percorrere un lunghezza fissa, o che si misuri lo spazio (lunghezza) percorso in un tempo fisso. Alternativamente ancora, il nostro pilota potrebbe guidare fino a quando è stanco e quindi misurare lunghezza percorsa ed il tempo impiegato, e calcolare la velocità media come il loro rapporto, indipendentemente dal fatto che la velocità sia stata assolutamente costante durante l'intera lunghezza o durante l'intero intervallo di tempo.

Forse più calzante è l'esempio della misura della attività di un enzima. Indipendente-

mente dal fatto che ci si assicuri preventivamente che la "velocità" di reazione sia costante nell'intervallo di tempo prescelto, la misura può essere effettuata "in continuo" oppure effettuando due misurazioni, al tempo 0 e, per esempio, dopo 30 minuti. Questo ultimo approccio è oggi poco seguito in chimica clinica, ma penso che molti si ricorderanno ancora come tempo addietro si misurava la attività della fosfatasi alcalina o della amilasi del siero. In ogni caso nessuno metterebbe in dubbio che si misura comunque una velocità di reazione ("reaction rate"), riferita come attività ("activity"). In effetti qualche tempo fa, ai fini di normalizzare l'imprecisione della misura, era stato proposto di registrare il tempo necessario affinché la variazione di concentrazione del substrato o del prodotto (in termini strumentali: variazione della assorbanza) raggiungesse un valore prefissato. La proposta non ebbe seguito perchè inutilmente complicata, ma l'approccio alternativo era ugualmente valido.

Comunque, nel caso della misura della VES è sembrato più opportuno ragionare in termini di lunghezza, e sembra che ciò sia accettato dai più se non da tutti. Ne consegue la necessità di considerare la nomenclatura, per quanto concerne la "denominazione" corretta della grandezza. Nonostante le stringenti raccomandazione della IFCC di usare la denominazione più aderente alla natura chimico-fisica di ciò che viene misurato, sembra che alcune vecchie consuetudini siano dure a morire. Anche senza parlare di "azotemia" o di "BUN", che dire per esempio di "creatinina/creatininio", di "acido valilmandelico/4-idrossi-3-metossi-mandelato", eccetera? In relazione all'abitudine medica ed alla sostanziale empiricità della misura non sembra un grosso guaio se il termine "velocità di eritrosedimentazione" viene mantenuto nella pratica medica, nella relativa letteratura nonché in documenti "ufficiali" anche recenti (5). Gli utilizzatori di tale termine (VES o ESR) sembrano comunque consci di eseguire e riportare misure di lunghezza. Infatti, se pure con qualche eccezione (6), i risultati delle misurazioni sono quasi sempre riportati usando l'unità di lunghezza "mm" anzichè nella unità di velocità "mm/ora, il cui equivalente SI (coerente) sarebbe "mm/s (10 millimeter/hour = 2.78 mm/s). Ancorchè non esplicitamente raccomandato (7), in genere si ammette implicitamente che l'unità impiegata indichi unequivocamente il "tipo di grandezza" oggetto della misura. In effetti esiste una corrispondenza biunivoca tra tipo di grandezza ed unità, con la principale (unica in biochimica clinica?) eccezione dei due tipi di grandezza "densità" e "concentrazione di massa" che hanno la medesima unità SI (derivata coerente) "kilogrammo al litro".

In definitiva, e per evitare qualsiasi ambiguità, la IFCC suggerisce "sedimentation reaction" ("reazione di sedimentazione") (8) come denominazione per la grandezza misurata nella espressione dei risultati e quindi nella refertazione. Naturalmente, anche in questo caso si devono seguire le regole generali e di sintassi raccomandate (7), secondo le quali si indicano, nell'ordine, sistema (sigla), denominazione (per esteso) e tipo di grandezza (abbreviazione) prima del valore numerico risultante dalla misurazione seguito dalla unità di misura (sigla). Secondo IFCC (8, 9), ed usando le abbreviazione e sigle proposte da SIBioC (3), in italiano la refertazione corretta per quello che chiamiamo VES, dovrebbe quindi essere (dove "In" sta per lunghezza):

Sg-REAZIONE DI SEDIMENTAZIONE, In. Arb. (metodo) = xx U.Arb

oppure:

Sg-REAZIONE DI SEDIMENTAZIONE, In. (metodo) = xx mm

anche se, per quanto discusso, molti preferirebbero ancora:

Sg-VELOCITÀ DI ERITROSEDIMENTAZIONE, In. (metodo) = xx mm

abbreviabile nella refertazione "professionale" in:

Sg-VES (metodo) = xx mm

Si osservi che, curiosamente, la dizione "reazione di sedimentazione" ("senkungsreaktion") era stata già suggerita agli inizi dell'utilizzo clinico di questa misura (10), inizi che risalgono in realtà a diversi anni prima (11) del periodo a cui abitualmente li si fanno risalire (12).

Nel 2000 un lavoro pubblicato su questa rivista (13) dette luogo ad alcuni commenti pubblicati come "lettera" (14). Veniva tra l'altro commentata la denominazione impropria di "velocità" per la grandezza misurata dal metodo di Westergren e da quelli da esso derivati, nel confronti della "vera" misura di velocità effettuata mediante misurazioni multiple con uno strumento (sistema Test-1) basato su un principio differente. Gli autori del lavoro risposero alle annotazioni della "lettera" (15) argomentando che nonostante avessero mantenuto la denominazione consueta (VES) per la grandezza misurata essi erano ben consci di misurare e refertare una lunghezza, come risultava implicitamente dall'uso del millimetro come unità di misura. Nonostante a conoscenza delle raccomandazioni IFCC, proseguiva la risposta alla lettera, il termine VES era stato mantenuto per le varie ragioni discusse in precedenza. Veniva inoltre espressa l'opinione personale, che mi sento di condividere, che la traduzione italiana di "sedimentation reaction" ("reazione di sedimentazione") "suona male". Come Direttore della rivista sono stato marginalmente coinvolto negli aspetti semantici di questa discussione, ma devo dire che sono stato favorevolmente colpito dal fatto che in seguito vi è stato un cambiamento di opinione, che ha portato ad accogliere il suggerimento recente (15), il vecchio suggerimento (10) e la raccomandazione IFCC (8,9) di utilizzare al posto di "VES" una denominazione che oltre ad essere più appropriata fosse coerente con il fatto che il risultato della misura è espresso in unità di lunghezza (16).

Da un punto di vista strettamente terminologico spiace che invece di seguire le citate regole IFCC si sia preferito coniare un nuovo termine ("length of sedimentation reaction") (16), che, pur nella sua incongruenza con le raccomandazioni semantiche di IFCC, sembra avere fatto rapidamente proseliti (17), anche se in un recente editoriale (12) ed in ulteriori lavori (18) si preferisce stare sul lato sicuro usando ancora "Erythrocyte sedimentation rate".

Tuttavia, la questione è un poco più complessa. Da quanto riportato in letteratura (6, 13, 17) e da informazioni fornite dal produttore, uno strumento commercializzato in questi ultimi anni per la misura dalla VES (tando per interderci uso la vecchia denominazione e la sua familiare sigla) è basato su un principio intelligente e sofisticato nel quale la "migrazione" degli eritrociti in un campo gravitazionale potenziato (20 gravità) è rilevata da 1000 misure in un breve tempo. Dai dati viene costruita una curva, alcuni parametri numerici della quale sono poi convertiti in "unità Westergren" tramite l'equazione di regressione polinomiale ricavata da dati empirici. Si misura quindi in realtà una velocità (od una serie di velocità istantanee) e la si trasforma empiricamente in una lunghezza? Questo procedimento è corretto?

Per rispondere a questi interrogativi vorrei citare un esempio. Fino ad alcuni anni fa la misurazione del colesterolo-HDL includeva una fase preliminare di precipitazione, eseguita per lo più manualmente, con perdite di tempo e con i vari problemi che tutti conosciamo. I laboratoristi abituati a caricare il lavoro quotidiano "di routine" su analizzatore automatico, andare a prendere il caffè (interpretazione italiana di "walk-away automation") e tornando trovare i risultati stampati non erano felici con questo. Per andare incontro alle attese di alcuni clienti una Ditta ebbe la intelligente idea di convincerli a misurare immuno-turbidimetricamente su analizzatore automatico la apolipoproteina Apo A-I, convertendo poi i valori misurati in valori di concentrazione di colesterolo-HDL utilizzando una regressione empirica, determinata sperimentalmente su un numero di campioni di siero umano e resa disponibile dalla Ditta medesima. In questo modo alcuni laboratoristi "pigri" erano resi felici, ma SIBioC considerò non accettabile questo approccio, e discusse in un documento il concetto di misurare una grandezza refertandone un'altra (19). Successivamente, un gruppo sotto l'egida SIBioC eseguì un ampio numero di misure comparative (di Apo A-I e di colesterolo-HDL), dimostrando che la correlazione tra le due grandezze era statisticamente significativa ma che studiando differenti gruppi di patologie (come diabete e nefropatie) si ottenevano differenti regressioni (20). Questo specifico problema venne in seguito definitivamente risolto con la disponibilità di metodo

"diretti", completamente automatizzabili, per la misura di colesterolo-LDL, ma la lezione venne compresa.

Tornando ora alla VES, sembrerebbe che mentre con alcuni dispositivi sperimentali si misura una lunghezza e come tale la si riporta in millimetri (anche se la proprietà misurata continua ad essere denominata VES, per consuetudine), con altri si misura una velocità e la si trasforma empiricamente in una lunghezza, refertandola come tale.

Considerando in ogni caso l'empirismo della misura, la questione potrebbe essere considerata irrilevante, ma è possibile che non lo sia del tutto. Si potrebbe verificare che quando le misure di velocità sono forzatamente trasformate in valori di lunghezza si introducano alcune distorsioni. La regressione è una tecnica statistica di approssimazione in media: considera in effetti la relazione media tra due differenti variabili ma non considera quanto è ampia la dispersione attorno a tale media. Si può verificare che le due grandezze misurate con approccio sperimentale profondamente differente, per quanto influenzate similmente da differenti proprietà dei campioni (viscosità, concentrazione del fibrinogeno e di altre proteine, proprietà reologiche degli eritrociti) varino indipendentemente l'una dall'altra nei differenti campioni di sangue, nelle differenti condizioni patologiche e nelle differenti fasi evolutive della malattia. Ciò può condurre ad una accettabile corrispondenza media dei risultati ma, contemporaneamente, ad una differenza eccessivamente elevata in un numero limitato ma significativo di campioni (13). Sulla stessa base si potrebbe trovare una spiegazione per le differenze riportate tra i valori di riferimento per i due metodi (5, 16).

In ogni caso, prescindendo anche dalle considerazioni pratiche sopra riportate, appare opportuno salvaguardare sempre il principio etico di refertare ciò che è stato misurato. Questo principio non dovrebbe essere dimenticato, ed è valido indipendente da quanto è buono l'accordo tra i risultati della misurazione di due grandezze differenti, rilevato empiricamente da dati sperimentali e dalla loro regressione/correlazione. Nel caso specifico, sembrerebbe auspicabile che il produttore del sistema Test-1, con la collaborazione degli utilizzatori, definisca chiaramente la proprietà misurata, ne scelga la appropriata unità di misura, e, evitando successive trasformazioni, ne definisca gli appropriati valori di riferimento e le variazioni attese in patologia.

Ad ondate successive, ciascuno di noi appartenente alla comunità dei Biochimici Clinici è assalito da dubbi circa la opportunità di mantenere in vita un esame ultracentenario e basato su misure così empiriche. Poi si sentono le opinioni dei Colleghi clinici, si consulta la letteratura, e si giunge a concludere sulla opportunità di mantenerlo in vita (11, 12). Alla luce di questa conclusione è più che condivisibile l'opinione che anche a tale misura debbano essere applicati i progressi tecnologici atti a migliorarne la affidabilità e la praticabilità nel contesto organizzativo di un laboratorio moderno (12). Sottolineo l'opportunità di mantenere esplicita, anche nel contesto del più avanzato progresso tecnologico, l'identità della misura e la correttezza della sua espressione.

BIBLIOGRAFIA

1. IUPAC and IFCC. Approved recommendation (1979). Quantities and units in clinical chemistry. Clin Chim Acta 1979; 96:157F-183F.
2. IUPAC and IFCC. Approved recommendation (1979). List of quantities in clinical chemistry. Clin Chim Acta 1979; 96:185F-204F.
3. De Angelis G, Franzini C, Masi I. Norme, raccomandazioni e proposte per esprimere le grandezze e le unità in chimica clinica. Giorn It Chim Clin 1976; 1:173-209.

*Nota. Nel corso di questa discussione si è usato frequentemente il vocabolo "empirico" e derivati. Ai fini di evitare ambiguità, mi preme specificare che il termine non è dispregiativo, nè intende riferirsi ad alcunchè considerato di inferiore dignità. I dati "empirici" e quelli "scientifici" sono (o "devono" essere) entrambi generati in condizioni sperimentali ugualmente idonee ad ottenere risultati compatibili con lo scopo per il quale sono stati prodotti. Tuttavia, i dati scientifici sono meno dipendenti dalle condizioni sperimentali, hanno valore universale e le conclusioni a cui portano sono descrivibili da "leggi" scientifiche. I dati empirici, di pari dignità sperimentale, sono più strettamente legati alle condizioni sperimentali e sono da esse dipendenti: non sono universali e non sono descrivibili da una legge.

4. Brambilla I, Cantoni L. The estimation of the maximum red cell sedimentation rate from a single reading at the 90th minute. In *Standardization in hematology* (G Astaldi, C Sirtori, G Vanzetti Eds.). Franco Angeli Editore, Milano 1970: 277-83.
5. NCCLS. Reference and selected procedure for the erythrocyte sedimentation rate (ESR) test; approved standard-fourth edition. *NCCLS 2000*; 20(27):1-13.
6. Horsti J. EDTA samples for the measurement of erythrocyte sedimentation rate using Sedimatic 100 analyzer. *Clin Chem Lab Med* 2001; 39:1001-3.
7. IUPAC/IFCC. Properties and units in the clinical laboratory science. I. Syntax and semantic rules (Recommendation 1995). Prepared for publication by H Olesen. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1995; 33:627-36.
8. IUPAC and IFCC. A proposal for an IUPAC/IFCC recommendation. Quantities and unites in clinical laboratory sciences. Stage 1, Draft 1. 1990.
9. <http://dior.imt.liu.se/cnpu>. Accesso: 18 marzo 2003.
10. Westergren A. Die senkungsreaction. *Erg Inn Med Kinderh* 1924; 26:577-9.
11. Franzini C, Mozzi R. VES anni 2000. Biomedica Source Books. Biomedica srl, Milano, 2003.
12. Plebani M. Erythrocyte sedimentation rate: innovative techniques for an obsolete test? (Editorial). *Clin Chem Lab Med* 2003; 41:115-6.
13. Fiorucci G, Camogliano L, Massacane R. Confronto di due sistemi automatici per la misura della velocità di eritrosedimentazione: Ves-Matic e Test 1. *Biochimica Clinica* 2000; 24:175-9.
14. Plebani M, Piva E. Misura automatizzata della VES: metodi a confronto (lettera). *Biochim Clin* 2000; 24:446-8.
15. Fiorucci G, Camogliano L, Massacane R. Gli Autori rispondono (lettera). *Biochim Clin* 2000; 24:448-50.
16. Piva E, Sanzari MC, Servidio G, Plebani M. Length of sedimentation reaction in undiluted blood (erythrocyte sedimentation rate): variation with sex and age and reference limits. *Clin Chem Lab Med* 2001;39:451-4.
17. Romero A, Munoz M, Ramirez G. Length of sedimentation reaction in blood: a comparison of the Test 1 ESR system with the ICSH reference method and the Sedisystem 15. *Clin Chem Lab Med* 2003; 41:232-7.
18. Plebani M, Piva E. Erythrocyte sedimentation rate; use of fresh blood for quality control. *Am J Clin Pathol* 2002; 117:621-6.
19. Catapano AL, Graziani MS, Franzini C. Precisazione tecnica. *Biochim Clin* 1993; 17:77-8.
20. Catapano A, Frascatore S, Franzini C, Galletta G, Graziani MS, Maggi FM et al. La misura della apolipoproteina A-I del siero può sostituire quella del colesterolo HDL? *Biochim Clin* 1993; 17:791-9.