

# Influenza della struttura di un filtro per dialisi sulla biocompatibilità

V. Riccò

Gambro S.p.A., Felino (Pr)

## Le caratteristiche del dializzatore

**I**l dializzatore è caratterizzato innanzitutto dal disegno, che dà luogo ad una particolare dimensione, peso e geometria dei flussi al suo interno. È inoltre caratterizzato dal tipo di membrana, dalla sua superficie, dagli altri materiali componenti, dai volumi di riempimento e da tanti altri aspetti più o meno rilevanti.

Tutti questi aspetti si influenzano a vicenda e presi tutti insieme conferiscono al dializzatore una determinata prestazione (Fig. 1). La prestazione, in termini di clearance e di ultrafiltrazione, rappresenta la caratteristica fondamentale di un dializzatore. Ma recentemente su un'altra qualità del dializzatore, la biocompatibilità, si sta concentrando molta attenzione. In alcuni casi sembra persino più importante della prestazione stessa. Anche la

biocompatibilità del dializzatore è influenzata da quegli stessi aspetti che influiscono sulle prestazioni (Fig. 2).

## Definizione di biocompatibilità

Cosa si intende quindi per biocompatibilità? La parola è composta da *bios*, di origine greca, che significa "vita". La seconda parte, *compati-*

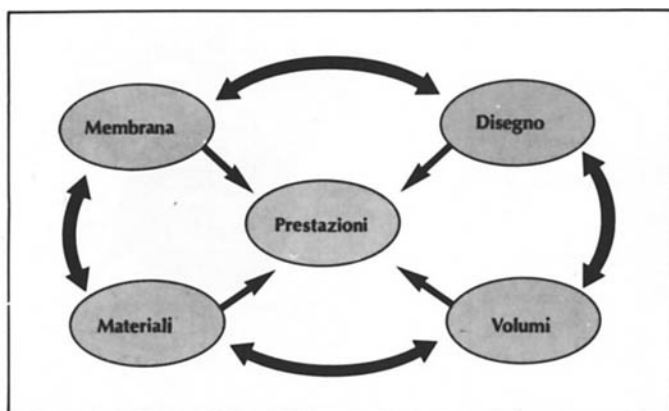


Fig. 1

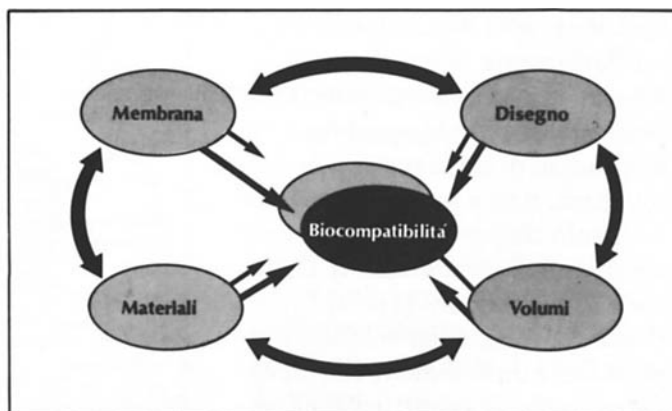


Fig. 2

*bilitis*, deriva dal latino e significa “capacità di tolleranza reciproca tra più cose o persone”. Pertanto il significato letterale della parola biocompatibilità è “capacità di tolleranza reciproca con la vita”. Il problema della biocompatibilità sorge ogni volta che un organismo vivente interagisce con una superficie o una sostanza esterna. Questa interazione determina una risposta biologica da parte dell’organismo. Pertanto, per valutare la biocompatibilità di un dispositivo medico occorrerà prendere in esame la risposta biologica dell’organismo con cui il dispositivo interagisce.

### Biocompatibilità del dializzatore

In emodialisi il sangue entra a contatto con parecchi dispositivi e materiali. Stranamente, però, il problema della biocompatibilità in emodialisi è stato per anni studiato riferendosi unicamente al materiale (polimero) di cui è costituita la membrana, tralasciando tutto il resto.

Probabilmente ciò è dovuto al fatto che la membrana costituisce circa il 90% della superficie totale con cui il sangue entra a contatto (Fig. 3). Tuttavia la membrana rappresenta soltanto un aspetto, anche se di grande importanza, ai fini della valutazione della biocompatibilità di un trattamento di emodialisi.

Klinkmann ha osservato che non è possibile separare la membrana dal dispositivo di cui fa parte e, di conseguenza, non è possibile separare il singolo dispositivo dal resto del sistema che caratterizza il trattamento di emodialisi (1).

Pertanto, in emodialisi la biocompatibilità è un fenomeno che dipende da numerosi fattori, e il dializzatore è soltanto uno di tali fattori (Fig. 4). Allo stesso modo, se con-

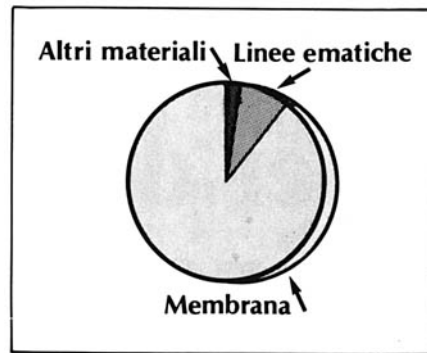


Fig. 3

centriamo la nostra attenzione sul dializzatore soltanto, osserviamo che la biocompatibilità del dializzatore dipende da numerosi fattori, e la membrana è uno di questi (Fig. 5) (2).

### Le possibili cause di incompatibilità del dializzatore

Per valutare la biocompatibilità di un dializzatore occorrerà quindi cercare di individuare e di analizzare una ad una tutte le possibili cause di incompatibilità.

In primo luogo si dovrebbero tenere presenti i materiali componenti le cui superfici entrano a diretto contatto col sangue durante il trattamento.

In particolare, possiamo identifica-

re, oltre alla *membrana*, il materiale che serve a tenere in posizione la membrana (*potting*) e l’involucro esterno del dializzatore (*housing*). Non vanno poi trascurate quelle sostanze impiegate nel processo produttivo del dializzatore o dei suoi componenti che possono essere cedute all’organismo nonostante le procedure di lavaggio intese a rimuoverle. Tra queste sostanze possiamo includere gli eventuali *additivi usati nella produzione della membrana o di altri componenti* e le eventuali particelle di materiali trattenute dal dializzatore in seguito alla produzione o all’assemblaggio.

Un’altra possibile causa di incompatibilità deriva dal *metodo di sterilizzazione* impiegato (presenza di residui dell’agente sterilizzante o di prodotti derivati).

Un’altra ancora è legata alla *geometria dei flussi* all’interno del dializzatore e, infine, al *grado di compliance* del dializzatore stesso.

La nostra intenzione è quella di analizzare brevemente alcune di queste possibili cause di incompatibilità rapportandole ai dializzatori oggi presenti sul mercato, concentrando l’attenzione esclusivamente sulle incompatibilità non attribuibili alla membrana, che possiamo riassumere nel concetto di “incom-

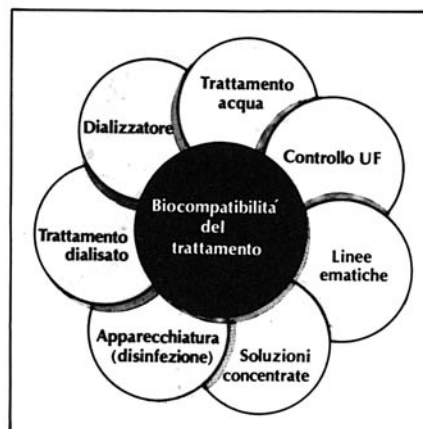


Fig. 4

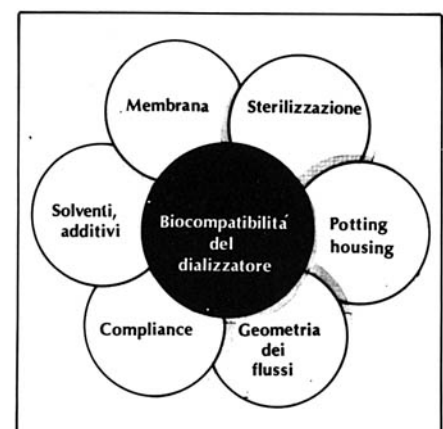


Fig. 5

patibilità legate alla struttura del dializzatore”.

### Il materiale usato per l'ancoraggio delle membrane (Potting)

Il potting è una sostanza collante presente in tutti i dializzatori oggi in commercio (Fig. 6), con la sola eccezione dei dializzatori a piastre. Tale sostanza ha il duplice scopo di assicurare la tenuta meccanica dei comparti del sangue e del liquido di dialisi oltre che di sostenere in posizione le membrane. I dializzatori a piastre, grazie alla loro particolare tecnica di assemblaggio “ad incastro”, non necessitano di tale componente (Fig. 7). Il potting è generalmente costituito da un polimero a due componenti che, dal punto di vista chimico, rientra nel gruppo del *poliuretano* (PUR). Uno dei due componenti è isocianato, l'altro è una miscela di derivati multifunzionali con gruppi idrossili. Dal punto di vista della biocompatibilità l'uso del potting (PUR) nella produzione di dializzatori può essere criticato per due ragioni: 1. l'ossido di etilene presenta una forte affinità per i poliuretani; 2. l'isocianato contenuto nel PUR può dar luogo a reazioni avverse.

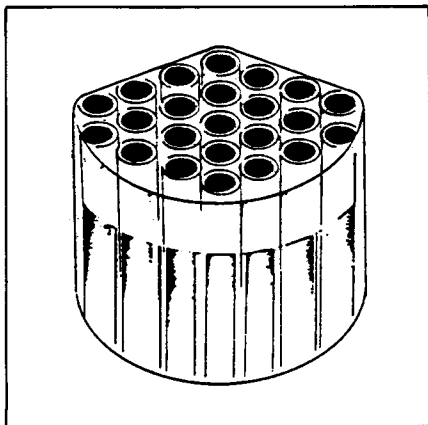


Fig. 6

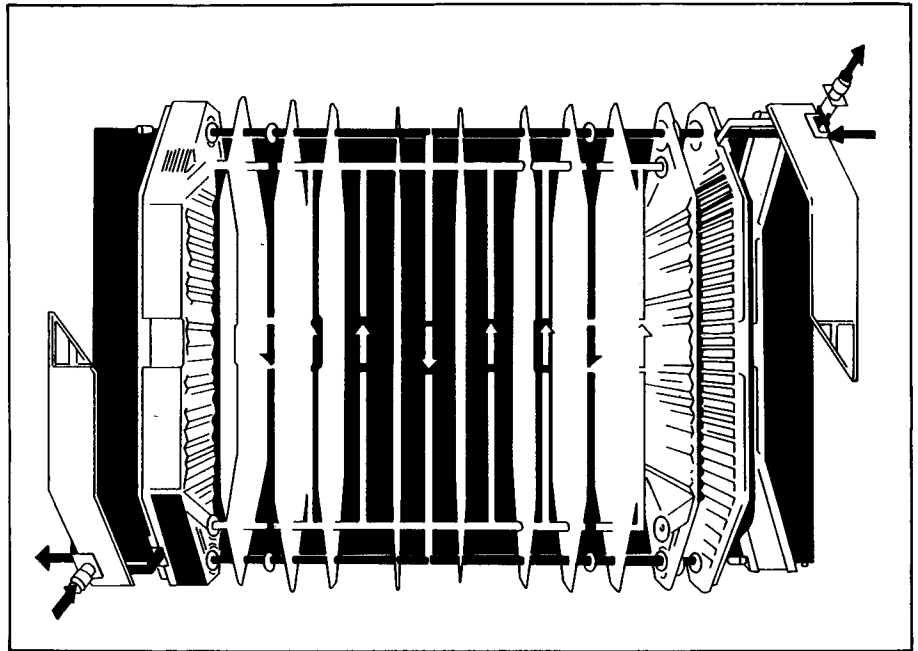


Fig. 7

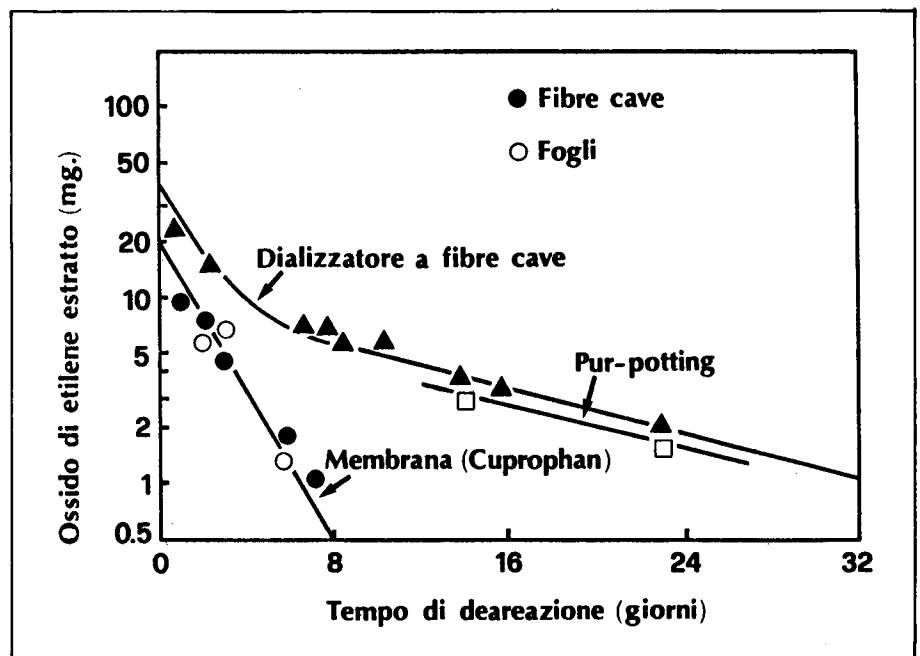


Fig. 8

*PUR e ossido di etilene.* L'ossido di etilene è uno degli agenti sterilizzanti più largamente impiegati dall'industria. La Figura 8 mette in evidenza il tempo di deareazione dell'ossido di etilene per diversi tipi di materiali sterilizzati con tale gas

(3). Il tempo di deareazione per le sole membrane in Cuprophane, sia a fogli che a fibre cave, è assai breve e non si ha più ossido di etilene residuo dopo 8-10 giorni dalla data di sterilizzazione. Diversamente, il tempo di deareazione per il dializ-

zatore a fibre cave nel suo insieme è assai lungo, ed anche dopo 60 giorni dalla data di sterilizzazione è osservabile ossido di etilene residuo pari a circa 1 milligrammo per dializzatore. il grafico mostra chiaramente che la curva di deareazione del potting (PUR) è del tutto simile a quella del dializzatore a fibre cave nel suo insieme. È quindi dimostrato che il PUR assorbe e trattiene grandi quantità di ossido di etilene. Questi residui possono essere eliminati solo parzialmente con le normali procedure di lavaggio prima dell'uso del dializzatore e vengono gradualmente ceduti al sangue del paziente durante il trattamento. La Figura 9 evidenzia che anche dopo diversi lavaggi del dializzatore con soluzione salina, qualora si lasci ristagnare il liquido per qualche minuto all'interno, si avrà un notevole incremento della concentrazione dell'ossido di etilene nel liquido stesso, denotando una cessione graduale e continua di ossido di etilene da parte del PUR (4).

*PUR e isocianato.* Come già detto, l'isocianato è uno dei due componenti del PUR. L'isocianato è una sostanza ben nota essendo in grado di indurre asma in persone predisposte che per motivi di lavoro sono ad essa esposti.

Uno studio recente ha messo in evidenza che il 25% della popolazione dialitica complessiva mostra segni di sensibilizzazione nei confronti dell'isocianato (5).

### L'involucro esterno del dializzatore (Housing)

Nei dializzatori a fibre cave il sangue entra in contatto anche con l'involucro esterno del filtro (housing). Infatti alle due estremità del dializzatore il sangue fluisce entro

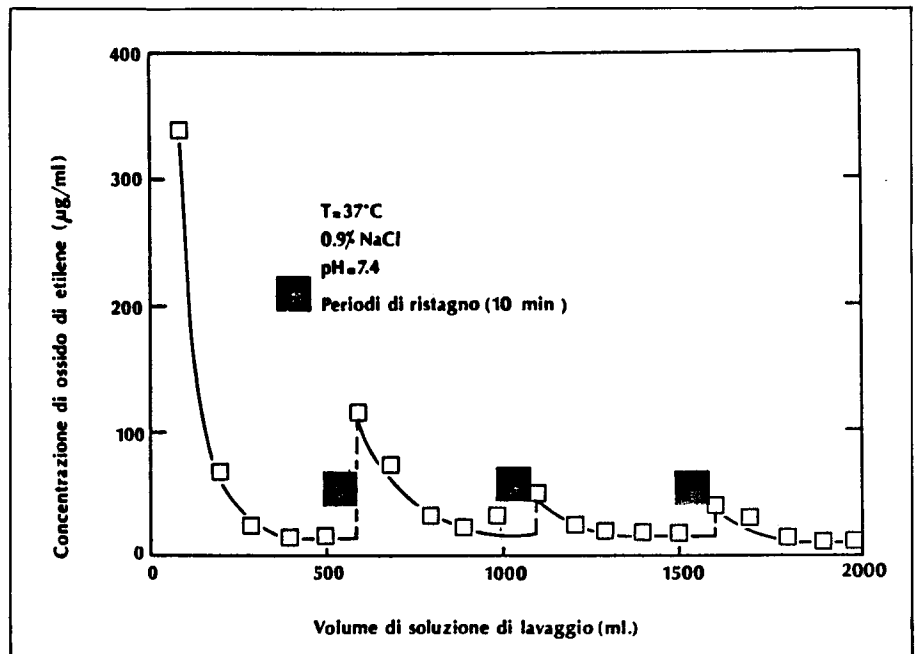
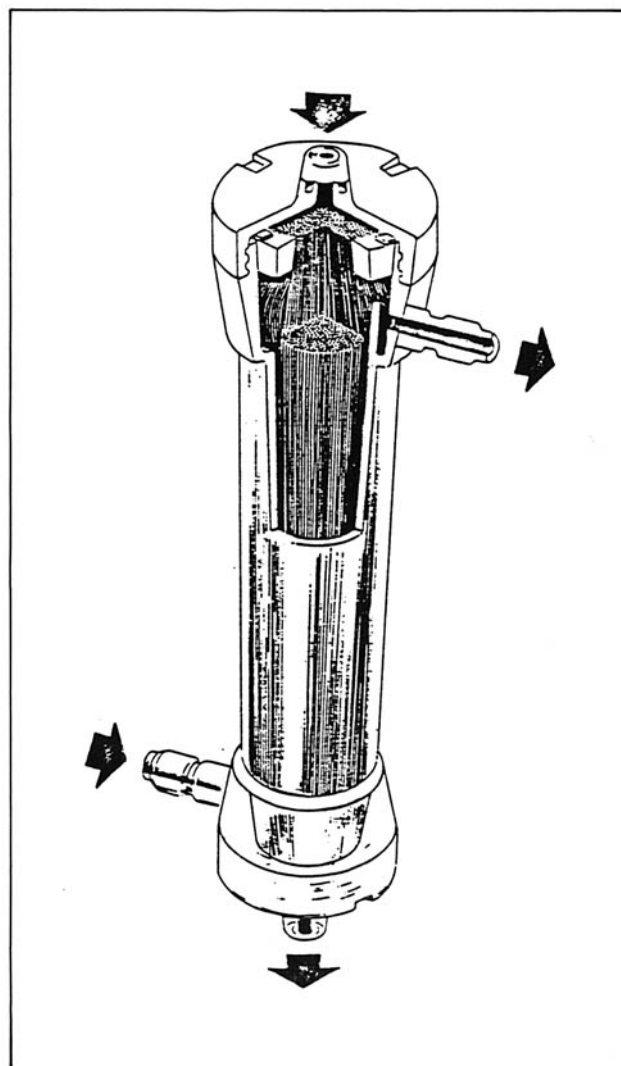


Fig. 9 ▲



◀ Fig. 10

due camere delimitate da un lato dal poliuretano e dall'altro dall'housing (Fig. 10). Nei dializzatori a piastre invece il sangue fluisce direttamente nelle membrane attraversando dei microdistributori ematici, senza mai entrare in contatto con l'housing (Fig. 11). L'housing è costituito da materiali rigidi, amorfi e, generalmente, trasparenti. Di solito si tratta di polimeri sintetici quali polistirene, polisulfone, policarbonato o altri. Spesso contengono sostanze stabilizzanti e, sebbene appaiano rigidi e compatti, possono mostrare una certa permeabilità ai gas e in particolare all'ossido di etilene (6).

### Sostanze impiegate nella produzione delle membrane

Oggi le membrane per la dialisi vengono prodotte in due configurazioni: a fogli e a fibre cave. Il processo produttivo che determina la produzione di membrane a fogli è però diverso da quello relativi-

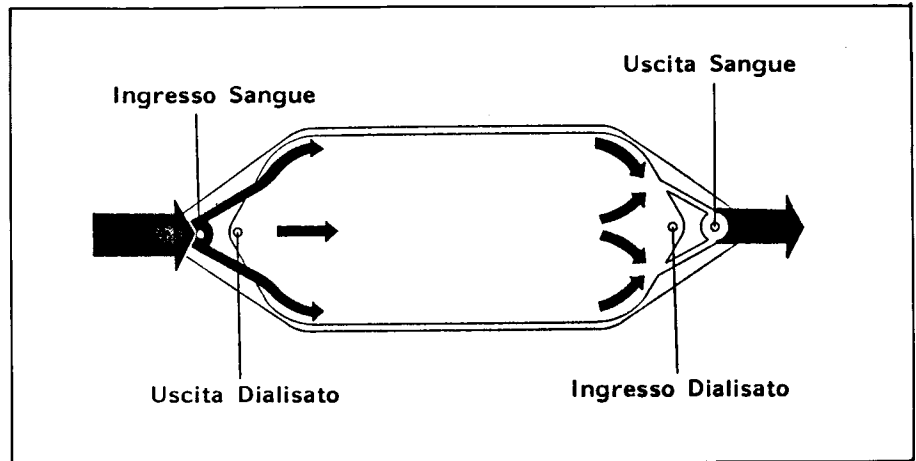


Fig. 11

vo alle membrane a fibre cave. Queste differenze possono avere un notevole impatto sulla biocompatibilità del dializzatore. Le fasi tipiche della produzione di una membrana sono le seguenti:

- formazione di una soluzione polimerica
- filatura (spinning)
- coagulazione
- estrazione di solvente
- stabilizzazione (glicerolizza-

zione)  
 — essiccazione.  
 Contrariamente a quanto avviene per la produzione di membrane a fogli, lo spinning delle membrane a fibre cave è caratterizzato dalla coestrusione della fibra capillare con all'interno un liquido, l'*isopropile miristato*, atto a mantenere costante la sezione circolare della fibra stessa (Fig. 12). Tale sostanza deve però essere in seguito rimossa:

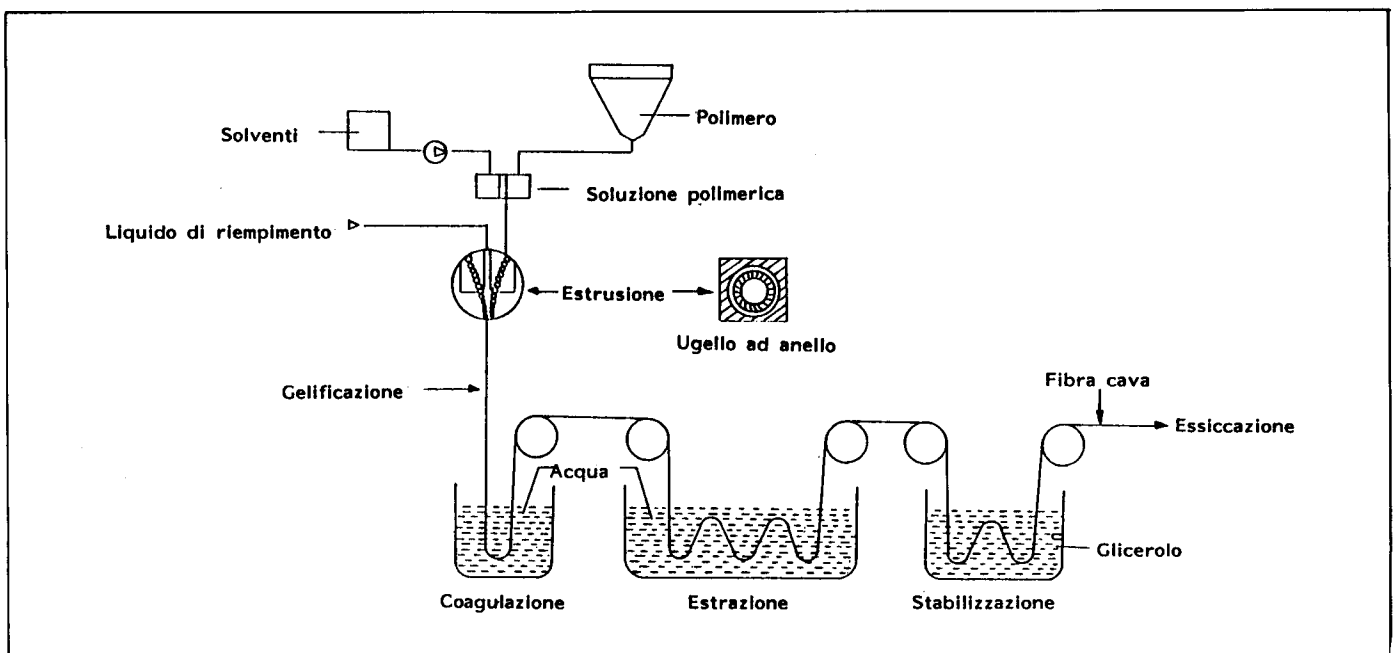


Fig. 12

Per rimuovere il miristato, generalmente vengono impiegati solventi organici tossici, quali ad esempio il *metanolo*. Tracce di solventi organici e di miristato possono essere somministrati al paziente anche quando il dializzatore sia stato lavato secondo le procedure raccomandate dal produttore (7). A tutt'oggi non si conoscono con certezza le possibili conseguenze per il paziente derivanti dall'impiego delle sostanze suddette nella produzione di membrane a fibre cave.

### Il materiale reattivo al limulus test (LAL-RM)

Il Limulus Amebocyte Lysate (LAL) test è un saggio in grado di evidenziare e quantificare la contaminazione da batteri gram negativi in materiali diversi. Recentemente è stata scoperta una sostanza presente negli estratti di dializzatori con membrane cellulose, in grado di fare reagire positivamente il LAL test, allo stesso modo di un'endotossina. Tale sostanza, battezzata con la sigla LAL-RM (LAL-Reactive Material), si trova presente in concentrazioni assai di-

verse in diversi tipi di dializzatori. Ad esempio, la concentrazione di LAL-RM nei dializzatori a fibre cave è risultata essere 6-100 volte superiore a quella dei dializzatori a piastre (8). Allo stesso modo, la concentrazione di LAL-RM nel plasma dei pazienti trattati con dializzatori a fibre cave è assai più elevata di quella dei pazienti trattati con dializzatori a piastre (Tab. I). Gli effetti di una elevata concentrazione di LAL-RM nel plasma dei pazienti non sono del tutto noti. Tuttavia si suppone che il LAL-RM possa giocare un ruolo importante nella valutazione della biocompatibilità di un dializzatore.

### Il metodo di sterilizzazione

Tutta l'attrezzatura per la dialisi che entra a diretto contatto col sangue del paziente deve essere sterile. Sterilizzazione significa eliminazione totale della vita. Esistono diversi metodi di sterilizzazione e la scelta dipende interamente dal tipo di materiale da sterilizzare e dalla sua capacità di sopportare il tipo di trattamento richiesto.

Dal punto di vista della biocompa-

tibilità un agente sterilizzante ideale dovrebbe possedere i seguenti requisiti essenziali:

- 1) non deve danneggiare i materiali esposti
- 2) non deve lasciare residui nei materiali esposti.

A tutt'oggi i metodi impiegati per la sterilizzazione dei dializzatori sono tre. Vediamo brevemente le caratteristiche di ciascuno.

**Ossido di etilene.** L'ossido di etilene di cui abbiamo già parlato in precedenza è un gas battericida largamente impiegato nella sterilizzazione dei dializzatori.

La sua diffusione è dovuta soprattutto al fatto che tale gas è del tutto inerte nei confronti dei materiali esposti non provocandone alterazioni. Abbiamo però osservato in precedenza che l'utilizzo di materiali non idonei alla sterilizzazione con ossido di etilene, quali il poliuretano dei dializzatori a fibre cave, determina la presenza di consistenti residui di agente sterilizzante per un tempo prolungato.

**Raggi gamma.** Le radiazioni gamma vengono impiegate come metodo di sterilizzazione alternativa all'ossido di etilene.

Tali radiazioni ad alta energia uccidono i batteri ma possono creare sostanze chimiche reattive in grado di modificare strutture importanti, come il DNA. Inoltre possono influenzare la struttura stessa della membrana e, di conseguenza, le prestazioni (Tab. II) (9,10).

**Vapore.** La sterilizzazione a vapore è un metodo relativamente poco diffuso in quanto, pur essendo pulito e quindi allettante, è tuttavia ancora piuttosto difficile da realizzare per un produttore ed è pertanto più costoso dei metodi tradizionali. Inoltre non si conoscono an-

TAB. I

Tipo di dializzatore	Concentrazione di LAL - RM nel plasma dei pazienti (pg/ml)	
	Prima della dialisi	Incremento dopo 15 minuti dall'inizio della dialisi
Piastre	452 ± 85	56 ± 83
Fibre cave	1656 ± 154	799 ± 119

TAB. II

Raggi gamma Intensità [Mrad]	0	2.3	4.7	7.0
Raggio dei pori [A]	30	23	18	16
Porosità della superficie [%]	32	30	32	31
Tortuosità	1.8	1.9	1.9	2.0

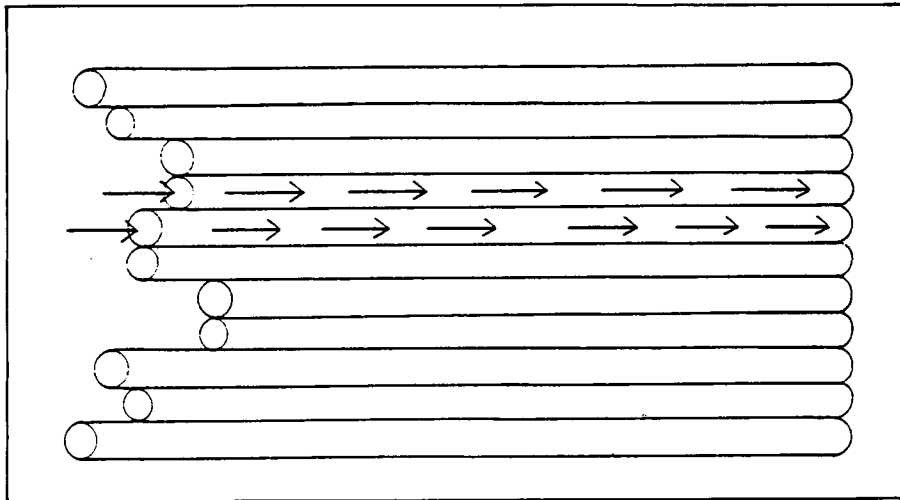


Fig. 13

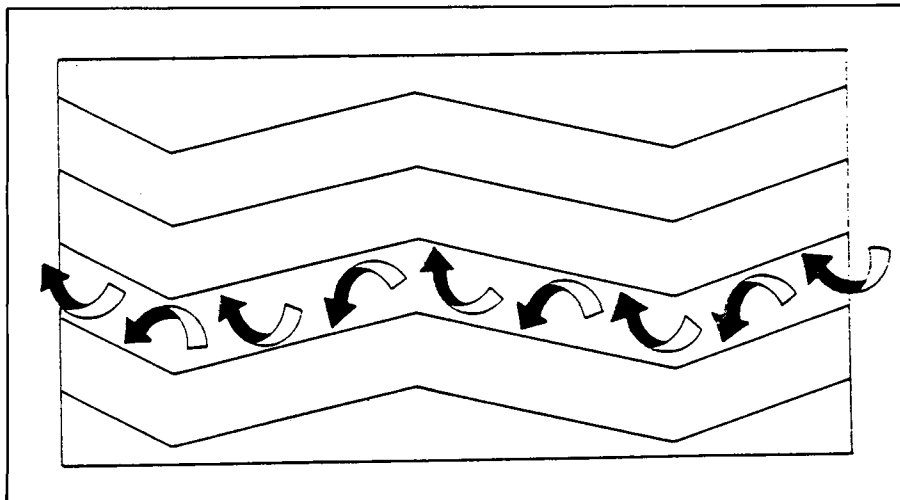


Fig. 14

cora bene le conseguenze che la sterilizzazione a vapore determina sui materiali esposti.

### La geometria dei flussi

Quando il sangue entra a contatto con una superficie estranea ha una naturale tendenza a coagulare. I coaguli sono costituiti da molecole di fibrina non solubili in acqua in grado di intrappolare cellule ematiche. Per prevenire la formazione di coa-

guli in dialisi viene somministrata l'eparina, ma è forse possibile, cercando di agire sulla fluidodinamica, prevenire meccanicamente la formazione di coaguli.

Fino a poco tempo fa si riteneva che il dializzatore a fibre cave necessitasse di maggiori quantità di eparina a causa della geometria del flusso ematico cosiddetta "laminare" dei dializzatori a fibre cave in contrapposizione alla geometria a microcanali originata dal disegno delle piastre di supporto dei dializzatori a piastre (Figg. 13 e 14).

Tuttavia non esistono studi che dimostrino tale assunto e, sulla base della pratica clinica, non sembrano emergere differenze di rilievo tra i vari tipi di dializzatori anche se per realizzare la dialisi senza eparina viene generalmente preferito il dispositivo a piastre (11, 12). È tuttavia confermato che la geometria del flusso sangue esercita un'influenza sulla biocompatibilità. Recentemente è stato messo in evidenza che la geometria del flusso sangue esercita un'influenza sul grado di *shear*.

Lo *shear* è un fenomeno che si verifica sempre quando il sangue fluisce. Può essere definito come lo scioglimento di diversi strati di sangue l'uno sull'altro ad una diversa velocità.

Tra gli effetti dello *shear* possiamo citare:

- lissi o danno delle cellule intrappolate tra due strati adiacenti
- rilascio di metaboliti dalle cellule danneggiate

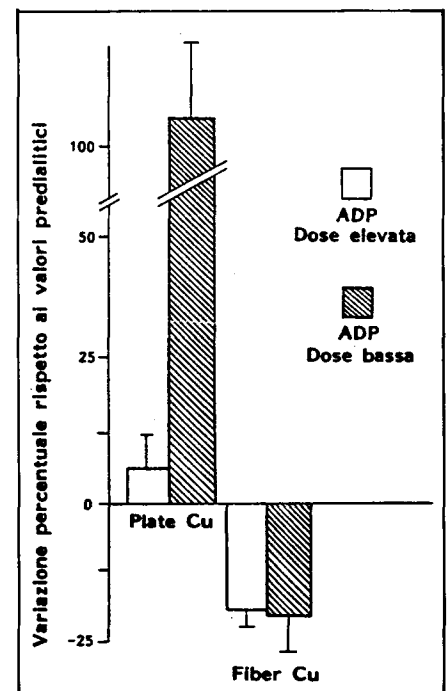


Fig. 15

— aumento della tendenza all'aggregazione cellulare.

Bonomini e Klinkmann hanno mostrato che il grado di shear è diverso nei dializzatori a fibre cave rispetto ai dializzatore a piastre. Impiegando la stessa membrana (Cuprophane) in dispositivi con un diverso disegno geometrico, si nota una differenza significativa nell'aggregazione delle piastrine, che favorisce nettamente il dispositivo a piastre rispetto a quello a fibre cave (Fig. 15) (13).

### La compliance

Si usa distinguere tra dializzatori dotati di compliance e dializzatori rigidi.

Si può definire dotato di compliance un dializzatore i cui comparti sangue e dialisato variano la loro dimensione e la loro forma in seguito all'applicazione di una pressione sulla membrana. Nei dializzatori rigidi, invece, i comparti sangue e dialisato restano invariati nella dimensione e nella forma, pur variando la pressione sulla membrana. Tipici dializzatori dotati di compliance sono i dializzatori a piastre, mentre i dializzatori a fibre cave sono tipicamente rigidi.

Questa caratteristica del dializzatore ha un effetto indiretto sulla biocompatibilità. Infatti è possibile dimostrare che i dializzatori dotati di compliance contribuiscono a limitare il fenomeno della backfiltration, ovvero della retrofiltrazione di liquido di dialisi spesso contaminato nel sangue del paziente. Tale fenomeno è particolarmente favorito dal verificarsi di alcune circostanze, quali: utilizzo di membrane ad alta permeabilità, basse TMP, oscillazioni della pompa sangue, cadute di pressione nei due comparti del dializzatore, flusso in controcorrente e, infine, utilizzo di

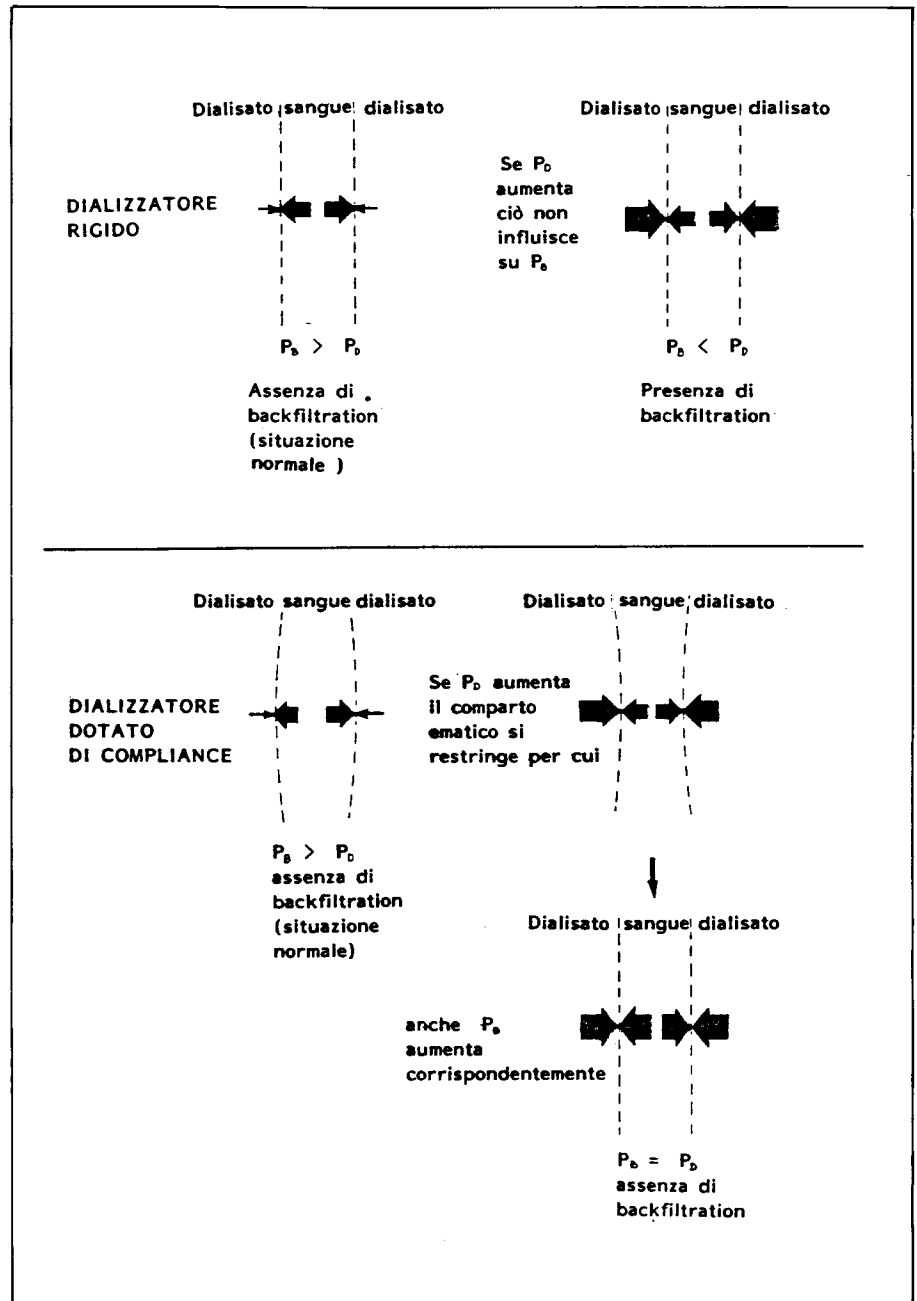


Fig. 16

dializzatori rigidi, non dotati di compliance (14).

Nei dializzatori dotati di compliance il rischio di backfiltration è ridotto al minimo grazie ad un meccanismo di autoregolazione delle pressioni al suo interno. Infatti, non appena la pressione positiva del dialisato tende a superare quella del sangue che agisce in direzione

contraria, i foglietti delle membrane tendono a collabire provocando una restrizione del comparto ematico. Poiché la pompa sangue continua a girare sempre alla stessa velocità, si avrà un aumento della pressione del comparto ematico in grado di controbilanciare la pressione del dialisato, evitando così la backfiltration (Fig. 16).



**TAB. III -**

Tipo di dializzatore	Frequenza reazioni da ipersensibilità
Piastre	0,2 ogni 100.0000 trattamenti (1 caso ogni 3200 pazienti/anno)
Fibre cave	4,3 ogni 100.000 trattamenti (1 caso ogni 150 pazienti/anno)

### Un'indagine della FDA sulle reazioni da ipersensibilità in dialisi

Un'indagine della FDA svolta negli Stati Uniti (15) ha evidenziato come la frequenza di gravi reazioni da ipersensibilità sia 20 volte più elevata utilizzando dializzatori a fibre cave rispetto ai dializzatori a piastre (Tab. III).

Questi risultati testimoniano senza ombra di dubbio la superiorità della struttura a piastre rispetto a quella a fibre cave in materia di biocompatibilità. Ma quali sono i motivi di questa differenza?

Probabilmente la membrana non ha influito sui risultati dello studio poiché negli USA il Cuprophane rappresentava la quasi totalità delle membrane utilizzate in dialisi.

Il potting presente nei dializzatori a fibre cave ed assente nei dializzatori a piastre ha avuto senz'altro un ruolo centrale. Infatti, è ormai ampiamente dimostrato che esiste una stretta correlazione tra presenza di livelli elevati di anticorpi anti-ossido di etilene e gravi reazioni di ipersensibilità, specie nei casi in cui anche i livelli di IgE totali sono elevati (Fig. 17) (16). Più recentemente è stata trovata una correlazione tra reazioni da ipersensibilità e livelli di anticorpi anti-isocianato (Fig. 18) (5). È stato inoltre ipotizzato un possibile ruolo del LAL-RM che, coniugandosi con l'ossido di etilene, stimolerebbe la reazione immunitaria dell'organismo, favorendo il manifestarsi di reazioni da ipersensibilità (8).

Inoltre non è da escludere un possibile ruolo dell'isopropile miristato e dei solventi organici impiegati nella produzione di membrane a fibre cave, anche se non esistono dati certi al riguardo.

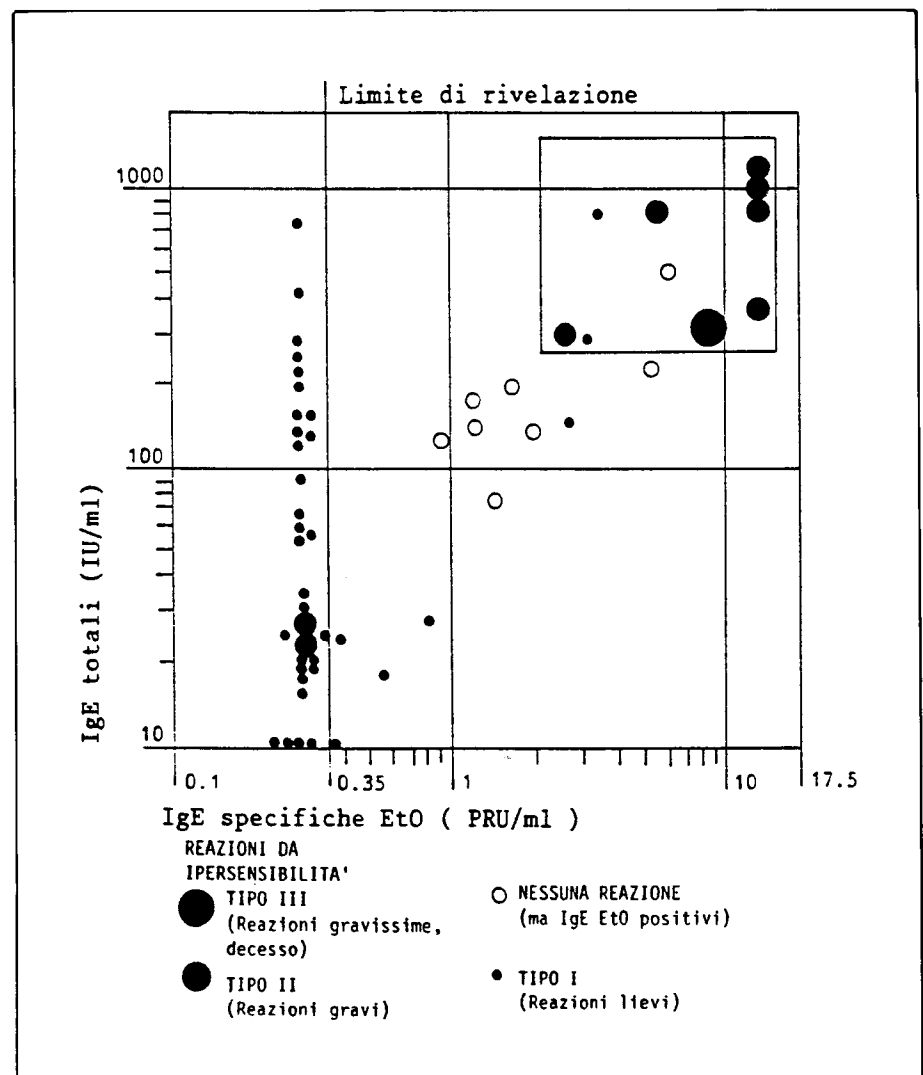
Un'ulteriore possibile spiegazione può essere fatta risalire alla mag-

giore backfiltration di dialisato contaminato determinata dall'impiego di dializzatori a fibre cave.

È comunque assai probabile che la maggiore frequenza di reazioni da ipersensibilità riscontrata con dializzatori a fibre cave sia da attribuire ad una pluralità di cause.

### La biocompatibilità complessiva di un dializzatore

L'accento posto sulla membrana nella valutazione della biocompatibilità in dialisi ha spinto le aziende produttrici a sviluppare nuovi tipi



**Fig. 17**

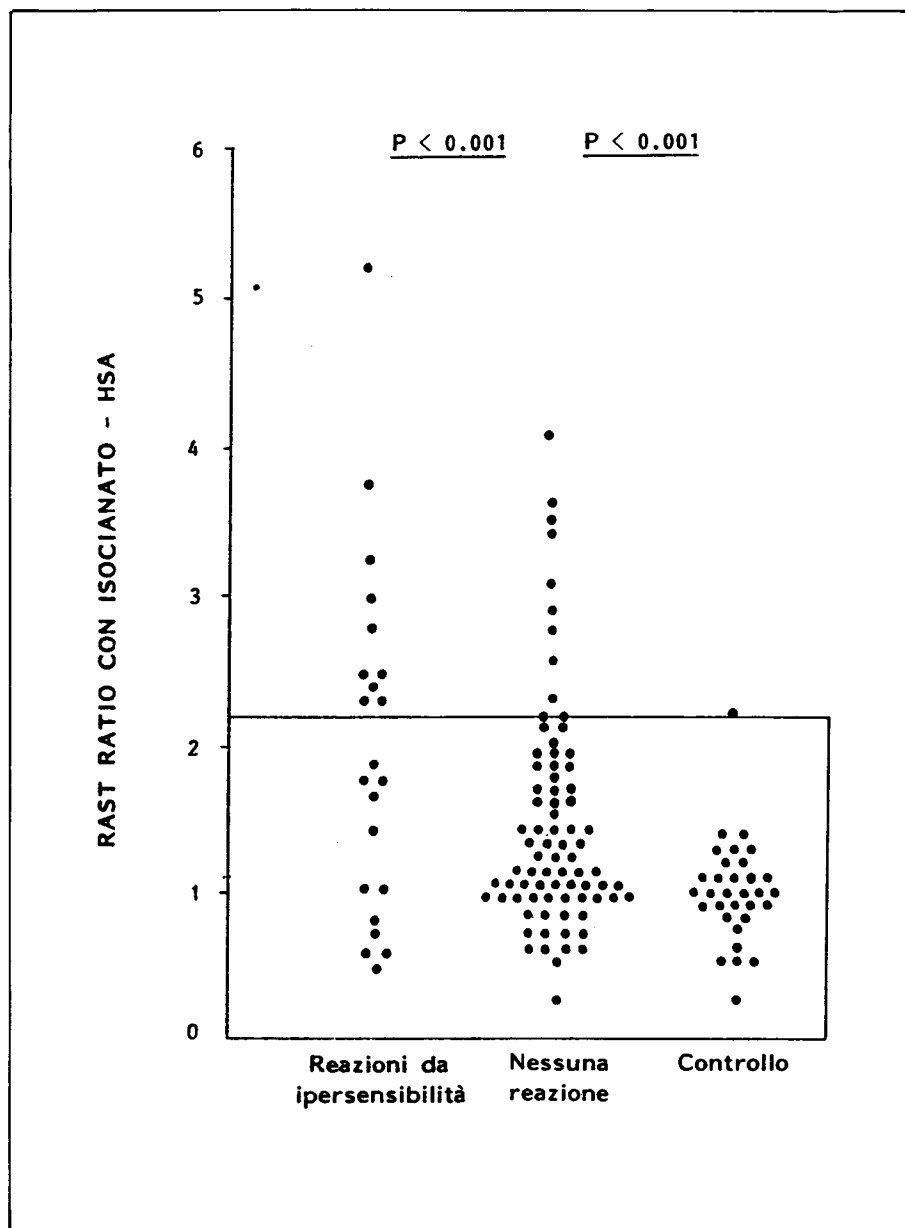


Fig. 18

di membrane alla ricerca di materiali più biocompatibili di quelli tradizionali. Nell'ambito delle membrane a fogli sono stati sviluppati polimeri sintetici quali *AN-69* e *Gambrane*, mentre tra le membrane a fibre cave possiamo distinguere tra quelle di cellulosa modificata quali *hemophan* e *acetato* di cellulosa e quelle sintetiche quali *poliamide*, *AN-69*, *polisulfone*, *PMMA*, *E-VAL* e altre.

D'altro canto, spesso sono stati

trascurati tutti gli altri aspetti che possono influire sulla biocompatibilità complessiva del dializzatore. In particolare, mentre la tecnologia produttiva dei dializzatori a piastre è arrivata ad un livello tale da rendere minime le possibili cause di incompatibilità, la tecnologia produttiva dei dializzatori a fibre cave deve ancora superare numerosi ostacoli per poter eliminare quei fattori di rischio potenziale che, come abbiamo visto, si traducono sul

piano clinico in una maggiore frequenza di reazioni da incompatibilità. Per potere valutare la biocompatibilità complessiva di un dializzatore negli ultimi tempi si stanno cercando di mettere a punto dei metodi di misurazione che prendano in considerazione tutti i parametri che influenzano la biocompatibilità, ed eventualmente gli effetti che l'uso di un determinato tipo di dializzatore può causare sulla qualità della vita del paziente.

## Bibliografia

1. Klinkmann H. Bioincompatibility in artificial organs, round table discussion, XI Congress of the European Society of Artificial Organs, Alpbach, Tyrol, Austria, Sept. 1984.
2. Ledebro I. Biocompatibility in dialysis. Relazione presentata alla XVI conferenza annuale EDTNA, Berlin, Oct. 1987.
3. Henne W, et al. Residual ethylene oxide in hollow fiber dialyzers, *Artif Organs* 1984; 8 (3): 306-9.
4. Ansorge W, et al. Ethylene oxide in dialyzer rinsing fluid: effect of rinsing technique, dialyzer storage time and potting compound. *Artif Organs* 1987; 11 (2): 118-22.
5. Chanard J, et al. IgE antibodies to isocyanates in hemodialyzed patients, *ASAIO Trans* 1987; 551-3.
6. Pusineri CP, Paris JM. Hemodialysis materials. *Contr Nephrol* 1988; 62: 1-12.
7. FDA (Dept. of health, education and welfare). Investigation of the risks and hazards associated with hemodialysis devices, Chapter XI 1980; 294-337.
8. Pearson FC. The possible role of *Limulus Amebocyte Lysate-Reactive Material* in hemodialysis. *Blood Purification* 1987; 5: 115-22.
9. Takesawa S, et al. Varying sterilizations, and the effects on the structure and permeability of dialysis membranes, *EDTA Abstracts* 1986.
10. Takesawa S, et al. Degradation by gamma irradiation of regenerated cellulose membranes for clinical dialysis, *Trans Am Soc Artif Inter Organs*, Vol XXXIII, 1987; 584-7.
11. Casati S, et al. Hemodialysis without anticoagulants in patients with high bleeding risk. *Int Journal of Artif Organs* 1982; 5: 233-6.
12. Schwab SJ, et al. Hemodialysis without anticoagulation. *American Journal of Medicine* 1987; 83: 405.
13. Klinkmann H, et al. Biocompatibility: a systems approach. *Contr nephrol* 1989; 70: 213-26.
14. Schmidt M, et al. Backfiltration in hemodialyzers with highly permeable membranes, *Blood Purification* 1984; 2: 108-14.
15. Villaroel F, Ciarkowsky AA. A survey on hypersensitivity reactions in hemodialysis. *Artif Organs* 1985; 9 (3): 231-8.
16. Lemke HD. Mediation of hypersensitivity reactions during hemodialysis by IgE antibodies against ethylene oxide. *Artif Organs* 1987; 11 (2): 104-10.



Cedola d'ordine per  
Giornale Italiano di Nefrologia

4 numeri anno

1991

Mettere in corso **regolare** abbonamento  
(£ 100.000/anno) or (\$ 100.00)

Allego assegno

Desidero fattura

Please add \$ 25.00 for postage outside  
EUROPE

Cognome \_\_\_\_\_

Nome \_\_\_\_\_

Via \_\_\_\_\_

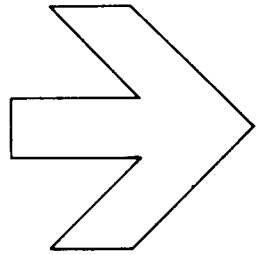
n° \_\_\_\_\_

cap \_\_\_\_\_

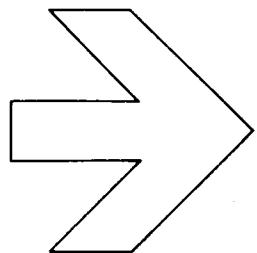
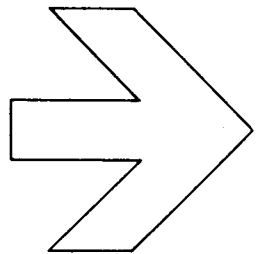
Città \_\_\_\_\_

da fatturare a:  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Il prepagamento è indispensabile per dare corso all'abbonamento



Per  
**NUOVE**  
Sottoscrizioni  
e rinnovi



Tagliare e mettere in una  
busta e spedire a

**Wichtig Editore**

Via Friuli, 72  
20135 MILANO  
ITALY