

Ordinatenschreiber. Preparato cuore-polmoni di cavia

Amilcare Carpi De Resmini

Il registratore di ordinate (Ordinatenschreiber, vedi Scheda 26) ha fatto parte del sistema strumentale impiegato negli studi volti a verificare l'eventuale attività simildigitalica di alcuni derivati bispidonici sintetizzati nei Laboratori di Chimica Terapeutica. La valutazione preliminare degli effetti biologici di alcuni di questi composti aveva evidenziato nelle cavie una attività bradicardizzante associata ad alterazioni del tracciato elettrocardiografico che presentavano discrete analogie con quelle caratteristiche dell'intossicazione digitalica. Era dunque doveroso valutare se queste analogie si limitassero agli effetti tossici di questi composti o se si estendessero a comprendere anche gli effetti terapeutici che i digitalici esercitano nell'insufficienza cardiaca.

A quell'epoca, in assenza di qualsiasi normativa che regolasse nel nostro Paese la sperimentazione di nuovi farmaci sull'uomo, la decisione di passare dallo studio sperimentale a quello clinico era esclusivamente affidata alla competenza e al senso di responsabilità del farmacologo e del clinico. Alla possibilità, peraltro ventilata, di saggiare in clinica gli effetti di questi composti su pazienti cardiopatici, si preferì quella di accertare se gli effetti tossici simildigitalici dei composti in esame fossero preceduti, come nel caso della digitale, da effetti terapeutici evidenziabili sperimentalmente. A questo fine poteva essere utilizzato il modello sperimentale di insufficienza cardiaca realizzabile nel preparato cuore-polmoni di cavia (Fig. 1), sviluppato da Klupp e Kieser (1961) come variante meno impegnativa sul piano tecnico ed economico del classico preparato cuore-polmoni di cane messo a punto da Knowlton e Starling (1912). Con la collaborazione dell'Istituto di Farmacologia dell'Università di Innsbruck (Carpi, Klupp, Konzett, 1962) la metodologia del preparato cuore-polmoni di cavia venne acquisita e trasferita ai Laboratori di Chimica Terapeutica ove, in una prima fase conoscitiva, venne elaborato un protocollo sperimentale atto a evidenziare gli effetti terapeutici, aritmizzanti e tossici dei digitalici (Fig. 2).

Le esperienze realizzate secondo questo protocollo portarono a escludere qualsiasi azione terapeutica simildigitalica nei derivati bispidonici; la loro azio-

ne sul cuore risultò successivamente inquadrabile in una attività antiaritmica (Cartoni, Figini, Carpi, 1968; Carpi, Cartoni, Del Basso, Giardini, 1971) che non risulta aver avuto successivi sviluppi applicativi.

Questa sperimentazione, pur avendo dato una risposta negativa alle ipotesi che ne avevano suggerito l'avvio, avevano documentato la possibilità di valutare su questo preparato lo stato funzionale cardiaco in base al classico principio di Starling (diagrammi pressione atriale/gettata cardiaca; Fig. 3), permettendo di utilizzare il preparato in ricerche di fisiopatologia cardiopolmonare che richiedono criteri di valutazione e condizioni sperimentali meno drastiche di quelle impiegate nella ricerca farmacologica.

Lo studio dei rapporti fra funzionalità cardiaca e catecolamine miocardiche (un problema di cui all'epoca si discutevano le implicazioni teoriche e applicative) ha messo in evidenza, anche attraverso i contrastanti risultati ottenuti in una prima e in una successiva più estesa e approfondita sequenza di esperimenti (Carpi, Oliverio, 1965; Orsingher, 1966), la profonda influenza sulla

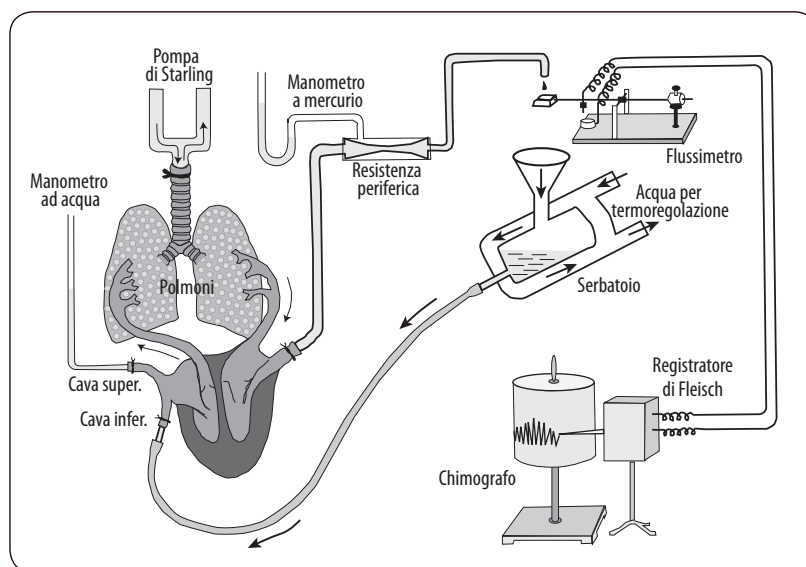


Figura 1. - Preparato cuore-polmoni di cavia nella versione iniziale.

Il sangue viene pompato dal ventricolo destro nei polmoni ove si ossigena, grazie alla ventilazione artificiale mantenuta dalla pompa di Starling, e ritorna quindi all'atrio e poi al ventricolo di sinistra che lo immette, mediante una cannula introdotta nell'aorta in un circuito extracorporeo. Questo è composto in successione: (a) da una resistenza periferica che mantiene a livelli fisiologici la pressione del sangue nell'aorta, (b) da un flussimetro a cucchiaio connesso a un registratore di ordinate (Fleisch) che misura la gettata cardiaca e (c) da un serbatoio termoregolato dal quale il sangue ritorna per gravità al cuore mediante una cannula inserita nella vena cava inferiore. Un manometro connesso con la vena cava superiore misura la pressione atriale destra.

funzionalità del preparato esercitata non solo dalla pressione parziale di O_2 ma anche da quella del CO_2 e, inoltre, dalla funzione piastrinica del sangue usato nella perfusione del preparato (Del Basso, Iacobacci, Carpi, 1973; Carpi, Del Basso, 1980). Sono emersi da questi esperimenti i rapporti fra funzione polmonare e cardiaca, legati non solo all'emodinamica polmonare e al suo ruolo nella funzione respiratoria, ma anche a fattori umorali che coinvolgono i prostanoidei e il loro metabolismo tissutale (Bedetti, Del Basso, Argiolas, Carpi, 1987).

Queste ricerche hanno imposto un progressivo affinamento della metodologia. Al fine di controllare l'ossigenazione e l'equilibrio acido/base del sangue è stato necessario evitare l'esteso contatto del sangue con l'aria ambiente che si verificava nella metodologia iniziale. Il flussimetro a cucchiaio è stato sostituito

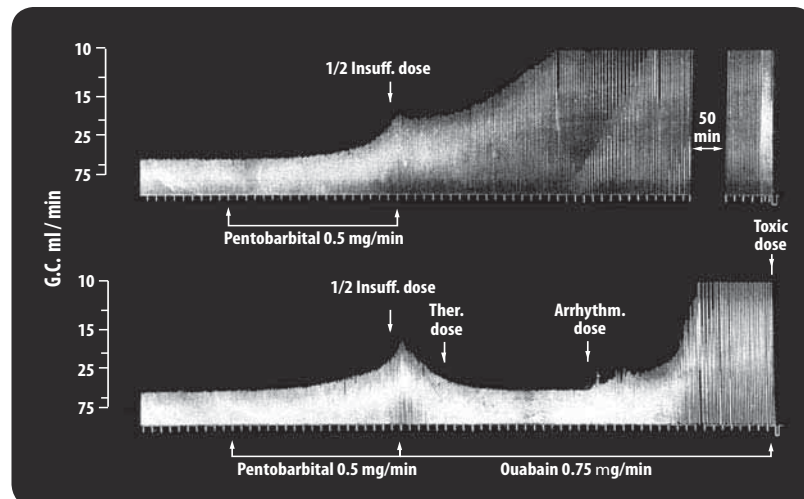


Figura 2. - Effetti terapeutici, aritmici e tossici dei glucosidi cardioattivi.

Nelle esperienze di questo tipo la pressione di afflusso del sangue al preparato (dipendente dal dislivello fra il serbatoio e il cuore) viene mantenuta a un valore costante di 8 cm. di acqua.

Nel tracciato superiore l'infusione di pentobarbital nel sangue determina una progressiva insufficienza del cuore (caduta della gettata cardiaca, G.C.) che continua ad aggravarsi anche dopo la sospensione dell'infusione messa in atto al raggiungimento della dose di semi-insufficienza (1/2 Insuff. dose) quando la gettata cardiaca si era ridotta alla metà dei valori iniziali.

Nel tracciato inferiore, una volta raggiunta in questo modo la semi-insufficienza, viene avviata una infusione di ouabaina che: (a) in un primo tempo riporta la gettata cardiaca ai valori iniziali (la dose terapeutica, Ther. dose, corrisponde alla quantità di ouabaina infusa fino al momento in cui la gettata cardiaca ritorna ai 3/4 del valore iniziale), (b) determina quindi anomalie del ritmo cardiaco evidenziate da oscillazioni della gettata cardiaca (la dose fin qui iniettata è la dose aritmica, Arrhythm. dose) e (c) porta infine a un precoce arresto cardiaco (la dose fin qui iniettata è la dose tossica, Toxic dose).

Appendice

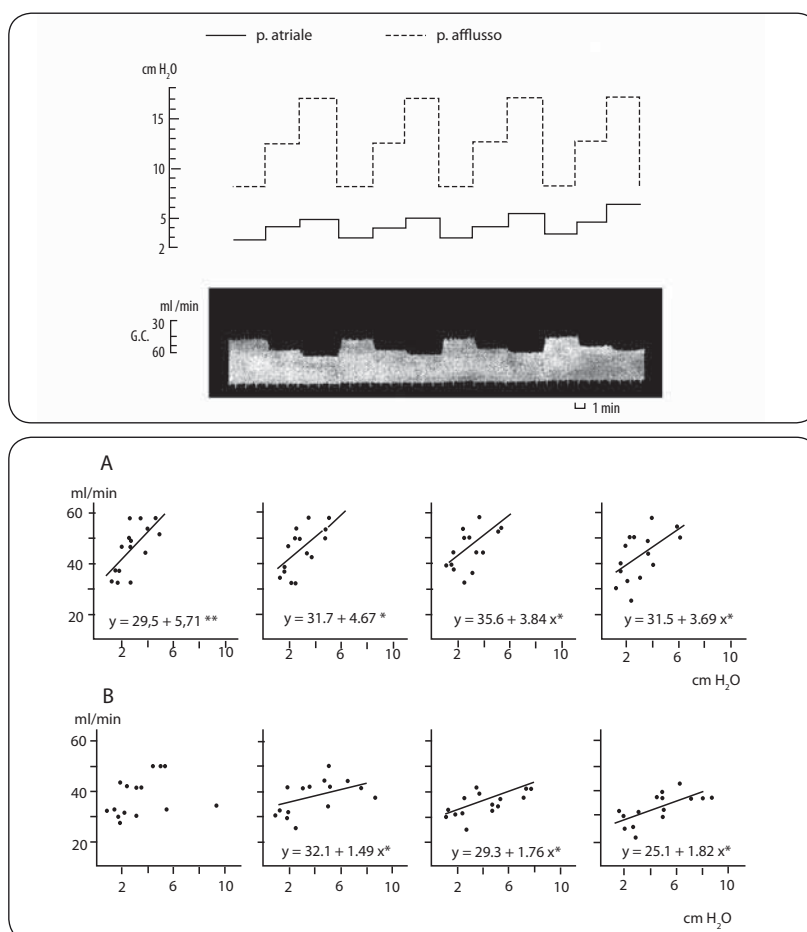


Figura 3. - Valutazione dello stato funzionale del miocardio in base alla legge di Starling.

Nel tracciato superiore la gettata cardiaca (G.C.) e la pressione atriale (linea continua) vengono misurate a tre diversi livelli di pressione di afflusso (linea tratteggiata); le misure vengono ripetute in quattro successivi stadi.

Nei diagrammi inferiori la correlazione fra pressione atriale (ascisse) e la gettata cardiaca (ordinate) viene definita da rette di regressione calcolate sui dati ottenuti in preparati perfusi con sangue normale (A) o con sangue "artificiale" (B). L'insufficienza cardiaca, caratterizzata dalla scarsa capacità del cuore a rispondere con un incremento della gettata all'aumentata richiesta di lavoro (aumento della pressione di afflusso e della pressione atriale), si evidenzia in questi diagrammi con una ridotta inclinazione della retta di regressione. Nei confronti delle esperienze (A) caratterizzate da una modesta e non significativa riduzione dell'inclinazione della retta negli ultimi stadi, le esperienze (B) mostrano evidenti segni di insufficienza legati a dispersione dei dati nel primo stadio delle esperienze (da coesistenza di preparati relativamente efficienti e di preparati insufficienti) e da un omogeneo quadro di insufficienza (modesta inclinazione della retta) nei successivi stadi delle esperienze.

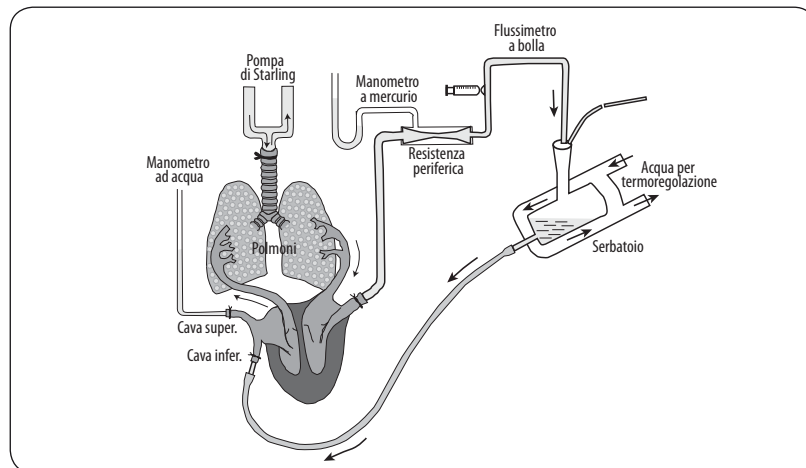


Figura 4. - Preparato con flussimetro a bolla.

L'iniezione di una bolla di azoto nel circuito extracorporeo a valle della resistenza periferica permette di misurare il tempo impiegato dal sangue a percorrere il tragitto fra sito di iniezione e serbatoio; da questo valore e dal volume del tragitto percorso si calcola la gettata cardiaca.

inizialmente con un economico sistema di flussimetria a bolla (Fig. 4) e, successivamente, con più sofisticati strumenti (rotametro, flussimetro elettromagnetico collegati a un poligrafo elettronico; Fig. 5 e 6). Sono stati monitorati alcuni aspetti della funzione polmonare e diversi parametri emodinamici ed ematochimici facendo ricorso a sistemi di registrazione poligrafica (Fig. 6). Alcuni dati sul consumo di ossigeno del preparato (Carpi, Orsingher, Escaleras, 1966) sono stati ottenuti con diversi accorgimenti (Fig. 5). Tuttavia la validità dei metodi impiegati in queste ricerche non ha potuto essere verificata con le tecniche alternative realizzabili nel preparato cuore-polmoni di cane ma risultate inapplicabili nel preparato su cavia. Sono pertanto rimasti a livello esplorativo gli studi sui rapporti fra insufficienza cardiaca e metabolismo miocardico del glucosio svolti su questa preparazione con l'impiego di radioisotopi (Carpi, Biscardi, Beaconsfield, 1963; Beaconsfield, Liuzzi, Carpi, 1963).

Su un piano applicativo, questo preparato nelle sue diverse versioni si è rivelato utile nelle ricerche sulla farmacocinetica dei glucosidi cardioattivi (Del Basso, Carpi, 1973) e, con opportuni adattamenti strumentali, nello studio sulle soluzioni cardioplegiche utilizzate in cardiocirurgia (Chiavarelli R., Toscano, Chiavarelli M. et al., 1982, 1983; Chiavarelli M., Chiavarelli R., Carpi, Marino, 1985).

In margine a queste note si può aggiungere una ormai datata indiscrezione sul fermo principio di Daniel Bovet di opporsi all'acquisto di qualsiasi bene prodotto in Germania: un principio maturato nel ricordo, ben vivo negli anni

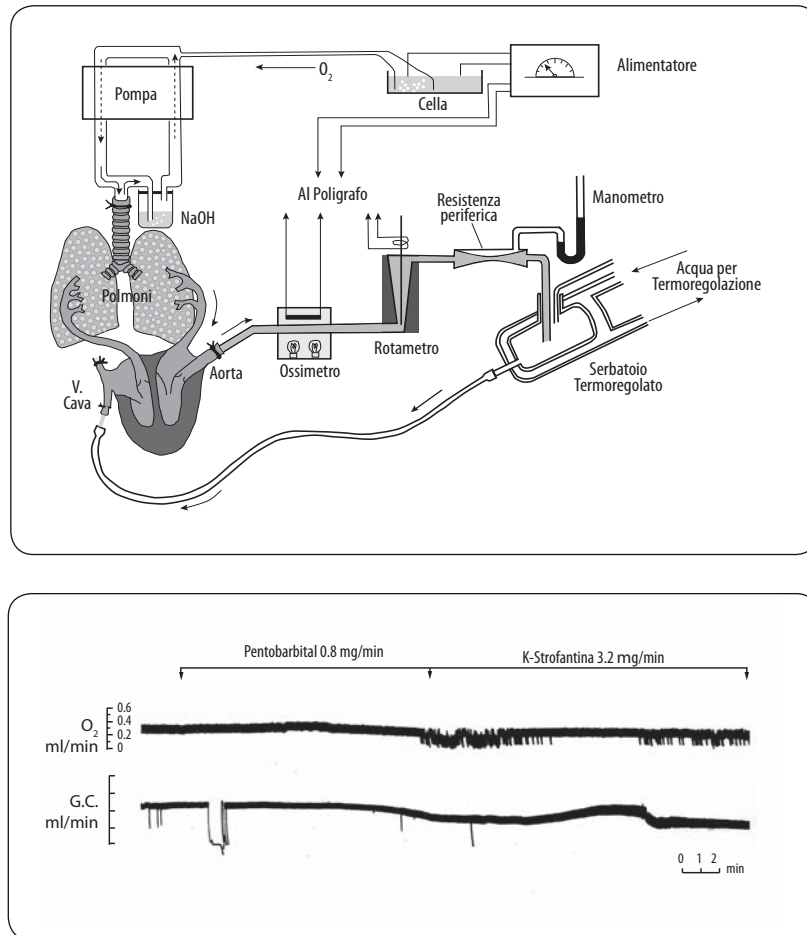


Figura 5. - Misura del consumo di ossigeno nel preparato cuore-polmoni. Insieme alla gettata cardiaca, qui registrata con un rotametro, il consumo di ossigeno del preparato viene misurato collegando l'entrata e l'uscita della pompa per la respirazione artificiale a un circuito chiuso nel quale l'anidride carbonica emessa dal preparato viene assorbita su NaOH, mentre l'ossigeno consumato viene ripristinato dalla cella elettrolitica che lo produce in quantità proporzionale a quella consumata. Dalla quantità di corrente utilizzata dalla cella si calcola il volume di ossigeno consumato dal preparato. L'ossimetro permette di verificare che non si abbiano variazioni dell'ossigenazione del sangue che vizierebbero le misure. Nel tracciato inferiore, registrato su poligrafo elettronico nel corso di una esperienza condotta secondo il protocollo della Fig. 2 il consumo di ossigeno (O_2) si riduce per poi risalire, seguendo la caduta e poi la ripresa del lavoro cardiaco evidenziate dalle variazioni della gettata cardiaca (G.C.)

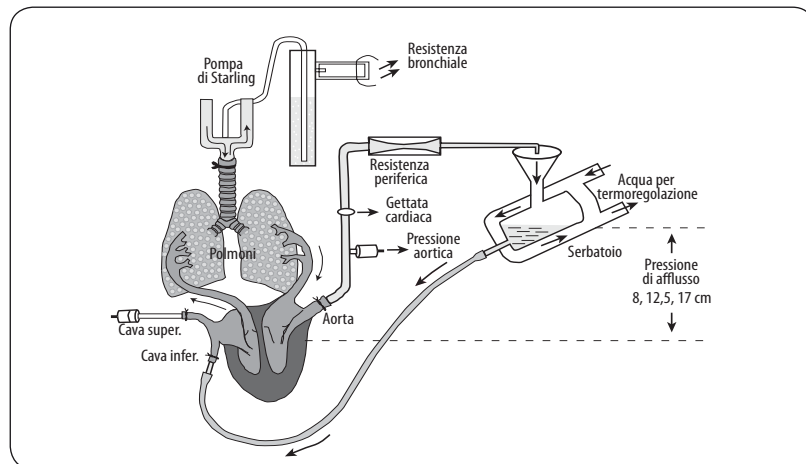


Figura 6a. - Versione conclusiva del preparato cuore-polmoni di cavia.

La gettata cardiaca viene registrata con flussimetro elettromagnetico e i diversi parametri emodinamici, con elettromanometri (qui non rappresentato quello della pressione arteriosa polmonare). La resistenza bronchiale viene monitorata con una versione moderna del metodo di Konzett e Rössler che misura le variazioni della resistenza bronchiale in base alla quantità di aria in eccesso che la pompa da respirazione, operante a pressione costante, non riesce a immettere nei polmoni. L'insieme dei dati viene elaborato e visualizzato in forma analogica dal poligrafo elettronico (vedi Fig. 6b).

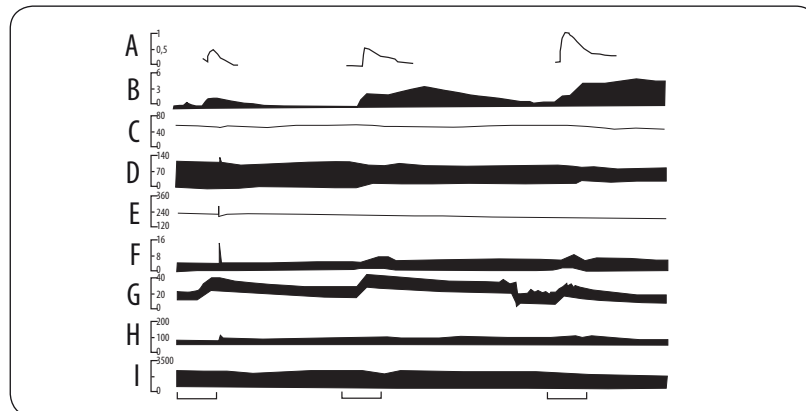


Figura 6b. - Tracciato poligrafico registrato con la versione conclusiva del preparato cuore-polmoni.

Dall'alto al basso: A = contrazione di un preparato isolato di aorta di coniglio tenuto in continuo contatto (superfuso) con il sangue defluente dal preparato; B = resistenza bronchiale; C = gettata cardiaca media; D = gettata cardiaca istantanea; E = frequenza cardiaca; F = pressione atriale destra; G = pressione arteriosa polmonare; H = pressione aortica; I = prima derivata della pressione aortica. Le contrazioni del preparato isolato di aorta di coniglio (A) segnano la comparsa nel sangue di un principio attivo (trombossano) liberato dal preparato cuore-polmoni e responsabile delle risposte bronchiali (B) e vascolari polmonari (G) conseguenti a tre successive immissioni nel sangue di un precursore del trombossano (Da Bedetti et al., 1987).

cinquanta, della seconda guerra mondiale, delle sofferenze imposte dalla nazione tedesca governata dal nazismo ai popoli liberi, ma anche a persone cui Bovet era strettamente legato e di molte atrocità di cui i Bovet erano stati testimoni oculari durante gli anni della occupazione di Parigi.

Di fronte al fatto che l'unico registratore di ordinate disponibile sul mercato fosse quello della ditta tedesca Braun, l'estensore di queste note, incaricato di avviare la linea di ricerca in questione, trattò l'acquisto attraverso la ditta Terzano di Milano alla quale raccomandò di sopprimere qualsiasi elemento che documentasse l'origine tedesca dell'apparecchio. Il problema fu molto semplicisticamente risolto con l'applicazione di una targhetta rossa con la scritta "Terzano" sulla parte del registratore ove era impresso il marchio della Braun (la scritta rimasta pienamente visibile "Ordinatenschreiber nach Prof. Fleisch", poteva cavillosamente riferirsi alla nazionalità svizzero-tedesca del prof. Fleisch). E' più che probabile che questo ingenuo sotterfugio non sia sfuggito a Bovet che tuttavia, in questo caso, accettò di stare al gioco forse anche convinto della precarietà e della scarsa affidabilità dei mezzi di fortuna con i quali, nelle esperienze preliminari, era stato possibile ottenere un approssimativo tracciato della gittata cardiaca in assenza del classico Ordinatenschreiber.

Bibliografia

- Beaconsfield P., Liuzzi A., Carpi A. Effetti dei glucosidi cardiaci sulle due principali vie del metabolismo del glucosio nel preparato cuore polmoni scompensato. Arch. Ital. Sci. Farmacol., 13, 147-148, 1963.
- Bedetti C., Del Basso P., Argiolas L., Carpi A. Arachidonic acid metabolites and pulmonary function in heart lung preparation of guinea pig: modulation by CO₂. Archs. Int. Pharmacodyn. Thér., 285, 98-116, 1987.
- Carpi A., Biscardi A.M., Beaconsfield P. Il preparato cuore polmoni nello studio del metabolismo miocardico. Arch. Ital. Sci. Farmacol., 13, 163-164, 1963.
- Carpi A., Cartoni C., Del Basso P., Giardini V. Antiarrhythmische Wirkung von Bispidonderivaten. Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmak., 269, 450, 1971.
- Carpi A., Del Basso P. Interaction between the cardiac and the pulmonary function in the heart lung preparation: rheological aspects. Vestnik Akademii Medicinskich Nauk USSR, 1, 12-15, 1980.
- Carpi A., Klupp H., Konzett H. Über die Bradykinin-Wirkung am Herz-Lungen-Präparat des Meerschweinchens. Naunyn Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmak., 243, 356-357, 1962.
- Carpi A., Oliverio A. Effects of reserpine on the heart lung preparation of guinea pig. Archs Int. Pharmacodyn. Thér., 157, 470-486, 1965.
- Carpi A., Orsingher O.A., Escaleras R. Il consumo di ossigeno nel preparato cuore polmoni di cavia. Boll. Soc. Ital. Biol. Sper., 42 (20bis), n.82, 1966.
- Cartoni C., Figini A., Carpi A. Attività antiaritmica di alcuni 1-5-difenil bispidin derivati, Ann. Ist. Super. Sanità, 4, 333-335, 1968.

- Chiavarelli M., Chiavarelli R., Carpi A., Marino B. Interaction between pharmacologic cardioplegia and hypothermia for intraoperative myocardial protection, *Ann. Thor. Surg.*, 39, 218-222, 1985.
- Chiavarelli R., Toscano M., Chiavarelli M. et al. Il preparato cuore polmoni di cavia come modello di studio della protezione miocardica. *Arch. Chir. Torac. Cardiovasc.*, 4 (suppl. 1), 107-114, 1982.
- Chiavarelli R., Toscano M., Chiavarelli M. et al. La protezione farmacologica del miocardio ischemico, confronto fra due soluzioni cardioplegiche. *Il Policlinico, sez. chirurgica*, 90, 8-16, 1983.
- Del Basso P., Carpi A. Attività farmacologica dei glucosidi cardiaci in presenza e in assenza di proteine plasmatiche. Congresso della Società italiana di Farmacologia, Roma, 4-6 ottobre 1973, Riassunti delle comunicazioni pag. 9.
- Del Basso P., Iacobacci O., Carpi A. Action of salicylate on failing heart-lung preparation of guinea pig perfused with red blood cells suspended in Tyrode-dextrane. *Archs Int. Pharmacodyn. Théor.*, 316, 137-153, 1978.
- Klupp H., Kieser W. Eine einfache Methode zum quantitativen Vergleich positiv inotroper Wirkungen von Herzglykosiden am Herz-Lungen-Präparat des Meerschweinchens. In: Festschrift Walther Graubner, C.H. Boehringer Sohn, Ingelheim, 1961, pag. 95-107.
- Knowlton F.P., Starling E.H. The influence of variations in temperature and blood pressure on the performance of the isolated mammalian heart. *J. Physiol. (London)*, 44, 206-219, 1912.
- Orsingher O.A. Catecolaminas cardiacas y la regulacion intrinseca de la actividad mecanica del corazon. Efecto de la reserpina sobre el preparado corazon - pulmon de cobajo. Tesi para optar por el titulo de doctor en biochimica. Universidad Nacional de Cordoba, Instituto de Ciencias Quimicas, 1966.