

INDAGINI EMATOLOGICHE NELLA PECORA IN CIRCOLAZIONE EXTRACORPOREA

Leonardi F.^{*}, De Razza P.^{*}, Beghi C.^{**}, Bonati L.^{*}, De Cicco G.[°], Lorusso R.[°], Martelli P.^{*}, Schreuder J.J.^{°°}, Botti P.^{*}

^{*}Dipartimento di Salute Animale, Università di Parma. ^{**}Dipartimento di Scienze Chirurgiche, Università di Parma. [°]Spedali Civili di Brescia. ^{°°}Ospedale San Raffaele, Milano.

SUMMARY. Extracorporeal circulation (ECC) is usually employed during heart surgery. This study evaluates ECC effects on some hematic parameters of the sheep used for testing a ventricular assist device. 8 Sardinian ewes, 2 years old, are used. After performing left thoracotomy or sternotomy, the device was placed by previous extracorporeal circulation. At the end of the measurements, every sheep was euthanized. Our investigations included hepatic and renal metabolism, hemogram with differential leukocyte count and emogasanalysis. The samples were collected in 3 times: at the beginning of the surgery, 30 minutes after thoracotomy or sternotomy and 60 minutes after the beginning of ECC. We found important hematic changes.

INTRODUZIONE. La circolazione extracorporea (CEC) permette di ossigenare il sangue, rimuovere la CO₂ per ottenere un corretto bilanciamento dell'equilibrio acido-base e regolare la temperatura corporea⁴. Le prime indagini sulle modificazioni dei parametri ematici indotte dalla CEC sono state condotte da Gibbon et al.⁹ negli anni '50. Numerosi sono gli studi in vivo e in vitro sugli effetti della CEC nell'uomo^{1,4,5,7,10,16,18,28} e negli animali: cane^{2,6,11,12,14,19,26,27}, gatto¹³, bovino^{15,22}, suino^{20,22}, pecora^{3,17,21,24,25}, coniglio²³, ratto⁸ e cavia²³. Scopo del lavoro è segnalare le modificazioni di alcuni parametri ematici nella pecora in CEC.

MATERIALI E METODI. Sono state utilizzate 8 pecore di razza sarda, femmine, di 2 anni. I dati sono relativi a 7 soggetti poiché per uno non è stato possibile eseguire un monitoraggio completo. Tutti gli animali sono stati sottoposti ad anestesia generale. Dopo sternotomia o toracotomia sinistra tra V e VI costa è stato applicato il "device" (CorAide - Arrow, USA), previa CEC instaurata tra l'arteria carotide sinistra e l'atrio destro utilizzando una macchina per CEC tipo roller (Stöckert Instrumente GmbH, Germania) con ossigenatore a fibre endocapillari. In un soggetto la durata della CEC è stata di 5 minuti, pecora n.7, mentre nei primi 6 animali di 70 ± 8,94 minuti. I prelievi di sangue sono stati eseguiti in 3 momenti: prima dell'inizio della chirurgia (T1), 30 minuti dopo la sternotomia o toracotomia (T2) e 60 minuti dopo l'inizio della CEC (T3). Sono stati valutati: bilirubina totale, bilirubina diretta, bilirubina indiretta, transaminasi glutammico-ossalacetica e glutammico-piruvica, gamma-glutamyl transpeptidasi, glucosio, urea, creatinina, lattato deidrogenasi, creatina chinasi, fosfatasi alcalina, amilasi, lipasi, proteine totali, albumina, colesterolo, calcio, fosforo, sodio, potassio, cloro, emocromocitometrico con formula, pH, PaCO₂, PaO₂, ioni bicarbonato, anidride carbonica totale, anion gap, eccesso di basi e saturazione d'ossigeno. Al termine dell'atto chirurgico ogni soggetto è stato sottoposto ad eutanasia. Le analisi statistiche sono state eseguite con il *t* di Student e la significatività statistica è stata stabilita per p<0,05.

RISULTATI. Data la breve durata della CEC nella pecora n. 7 è stato ritenuto opportuno analizzare separatamente i dati di questo soggetto. Profilo biochimico: fra T1 e T2 è stata riscontrata una diminuzione statisticamente significativa a carico di bilirubina totale, bilirubina indiretta, γ -GT, fosforo, proteine totali, albumine e colesterolo. Tra T1 e T3 è stato evidenziato un calo statisticamente significativo a carico di γ -GT, proteine totali e colesterolo. Tra T2 e T3 è stata evidenziata una riduzione statisticamente significativa della γ -GT. Esame emocromocitometrico: tra T1 e T2 vi è un calo statisticamente significativo a carico di globuli rossi, globuli bianchi, emoglobina, ematocrito e piastrine. Tra T1 e T3 sono risultate

aggregati^{16,28} si ha trombocitopenia nei primi minuti della CEC, ma successivamente il numero di piastrine tende a tornare alla normalità. Okamoto et al.²⁴ hanno dimostrato che, nella pecora, l'eparinizzazione è in grado di prevenire la formazione di aggregati e, quindi, di ridurre la trombocitopenia in corso di CEC. A conferma abbiamo riscontrato, in tutti i soggetti, una riduzione statisticamente significativa delle piastrine tra T1 e T2, T1 e T3, ma non tra T2 e T3. Indagini emogasanalitiche: poiché la CEC consente l'ossigenazione del sangue e la rimozione della CO₂, è plausibile, a T3, un aumento di PaO₂ e saturazione d'ossigeno, bassa nella pecora n. 7, contemporaneamente ad una riduzione di TCO₂. Durante la CEC sono state segnalate sia condizioni di alcalosi^{10,12} sia di acidosi metabolica¹. Nelle nostre pecore la CEC ha provocato una significativa riduzione di pH, HCO₃⁻, TCO₂ ed eccesso di basi. Per spiegare lo stato acidotico è ipotizzabile un'etiologia multifattoriale: insoddisfacente perfusione ematica di alcuni distretti, emodiluizione dei sistemi tampone, ipotermia e temporanea depressione della funzionalità epato-renale¹.

BIBLIOGRAFIA

1. Baldassarre M et al. Modificazioni dell'equilibrio acido-base durante e dopo circolazione extracorporea. *Minerva Anestesiol*, 1970, 36, 4: 263-267.
2. Barnard MS et al. Hypokalaemia during extracorporeal circulation. An experimental study. *S Afr Med J*, 1966, 40, 47: 1132-1138.
3. Bonnet JM et al. Modele experimental d'emodialyse chez le mouton vigile. *Rev Med Vet*, 2000, 151, 3: 221-230.
4. Boschetti F et al. Virtual extracorporeal circulation process. *Int J Artif Organs*, 1997 Jun, 20, 6: 341-351.
5. Cambaz S et al. The effects of cardiopulmonary bypass on androgen hormones in coronary artery bypass surgery. *J Int Med Res*, 2002, 30, 1: 9-14.
6. Cox CS Jr et al. Analysis of intestinal microvascular permeability associated with cardiopulmonary bypass. *J Surg Res*, 1999, 83, 1: 19-26.
7. De Luca R et al. Variazioni delle componenti proteiche plasmatiche durante circolazione extracorporea. *Boll Soc Ital Biol Sper*, 1984, 60, 4: 739-744.
8. Fabre O et al. A recovery model of partial cardiopulmonary bypass in the rat. *Perfusion*, 2001 May, 16, 3: 215-220.
9. Gibbon JH Jr et al. The closure of interventricular septal defects on dogs during open cardiomy with the maintenance of the cardiorespiratory function by a pump oxygenator. *J Thorac Surg*, 1954, 28: 235-240.
10. Grigor KC. Metabolic alkalosis and acid urine following open-heart surgery with cardiopulmonary bypass. *Brit J Anaesth*, 1968, 40: 943-960.
11. Hara M et al. Effect of various priming solution upon red cell mass, plasma volume, and extracellular fluid volume of dogs following hemodilution technique of extracorporeal circulation. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 1967, 53, 3: 353-359.
12. Hoshi K et al. Comparison of extracapillary and endocapillary blood flow oxygenator for open heart surgery in dogs: efficiency of gas exchange and platelet conservation. *J Vet Med Sci*, 2003, 65, 3: 357-361.
13. Iijima T et al. Brain resuscitation by extracorporeal circulation after prolonged cardiac arrest in cats. *Intensive Care Med*, 1993, 19, 2: 82-88.
14. Juffe A et al. Plasma levels of glucose and insulin during deep hypothermia with varying degrees of hemodilution in dogs. *J Cardiovasc Surg*, 1977, 18: 325-328.
15. Kawai J et al. Implantation of a total artificial heart in calves under hypothermia with 10 days survival. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 1972, 64, 1: 45-60.
16. Keh D. et al. Nitric oxide diffusion across membrane lungs protects platelets during simulated extracorporeal circulation. *Eur J Clin Invest*, 1999, 29, 4: 344-350.
17. Mesana T et al. Experimental use of a semipulsatile rotary blood pump for cardiopulmonary bypass. *Artif Organs*, 1995, 19, 7: 734-738.
18. Mezzano D et al. Changes in platelet β -thromboglobulin, fibrinogen, albumin, 5-hydroxytryptamine, ATP, and ADP during and after surgery with extracorporeal circulation in man. *Am J Hematol*, 1986, 22: 133-142.
19. Miller DR et al. Prolonged total left ventricular bypass in dogs. *Arch Surg*, 1974, 108: 195-200.
20. Mohr M et al. A technique for extracorporeal circulation in the Goettingen minipig allowing recovery and long-term follow-up. *J Exp Anim Sci*, 1996-97, 38, 2: 82-92.
21. Mudrovici DE et al. Anesthesia general en ovinos sometidos a circulación extracorporea. *Vet Arg*, 1989, 6, 59: 608-610.
22. Mueller XM et al. Hemolysis and hematology profile during perfusion: inter-species comparison. *Int J Artif Organs*, 2001, 2, 24: 89-94.
23. Nyhlén K et al. Leukocyte sequestration in isolated guinea pig lungs during extracorporeal circulation: effects on microvascular function. *Blood Purif*, 2000, 18: 121-127.
24. Okamoto T et al. A new heparin-bonded dense membrane lung combined with minimal systemic heparinization prolonged extracorporeal lung assist in goats. *Artif Organs*, 1998, 22, 10: 864-872.
25. Stanley TH. Initial studies of left heart bypass as long term cardiac assist device. *Surgery*, 1969, 65: 649.
26. Sykes MK et al. Pulmonary changes after extracorporeal circulation in dogs. *Br J Anaesth*, 1966, 38, 6: 432-445.
27. Volkmer I et al. Blood trauma during extracorporeal circulation: a

statisticamente significative le riduzioni di globuli bianchi, ematocrito e piastrine. Una diminuzione statisticamente significativa dei globuli bianchi è evidenziabile tra T2 e T3. **Emogasanalisi:** non vi è alcuna differenza statisticamente significativa tra T1 e T2. Tra T1 e T3 sono statisticamente significativi gli aumenti di PaO₂, anion gap e saturazione d'ossigeno e le riduzioni di pH, HCO₃⁻, TCO₂ e BE. Tra T2 e T3 sono statisticamente significativi gli aumenti di PaO₂ e saturazione d'ossigeno nonché le riduzioni di HCO₃⁻ e TCO₂. Pecora n.7: a T1, rispetto alle altre 6 pecore, si hanno valori significativamente più bassi di glicemia, potassio, proteine totali, albumine e piastrine, più alti d'eosinofili e cellule immature. A T2 vi sono valori significativamente più bassi per glucosio, amilasi, potassio, cloro, PaCO₂ e più alti per bilirubina indiretta, γ -GT, sodio, eosinofili e pH. A T3 sono risultati significativamente inferiori i valori di glucosio, creatinina, sodio, cloro e saturazione d'ossigeno, maggiori quelli di globuli bianchi ed eosinofili.

DISCUSSIONE. Profilo biochimico: le nostre osservazioni sulle transaminasi sono in linea con ciò che è stato visto nell'uomo⁷, ad eccezione del calo della γ -GT che, però, non sembra essere indicativo di alcun problema²⁹. Nella pecora in CEC non sono state segnalate modificazioni degli elettroliti²⁴. Juffé et al.¹⁴ hanno riscontrato, nel cane, un'ipocalcemia conseguente all'emodiluzione e non correlata al tipo di soluzione utilizzata per il "priming"¹¹. Anche noi abbiamo notato un calo della calcemia, anche se non statisticamente significativo. Sempre nel cane, Barnard et al.² hanno rilevato un'ipocalcemia correlabile all'emodiluzione e ad un aumento delle perdite attraverso l'emuntorio renale. Nella nostra indagine la potassiemia è aumentata, anche se non significativamente. Questo potrebbe essere correlato allo sviluppo di una condizione di acidosi. Statisticamente significativo è il calo del fosforo tra T1 e T2 che potrebbe essere correlato agli agenti anestetici²⁹. Anche nella pecora n.7, infatti, si ha un analogo comportamento del fosforo nonostante sia stata mantenuta in CEC soltanto 5 minuti. Le osservazioni sulle proteine plasmatiche sono contrastanti. Nell'uomo, De Luca et al.⁷ hanno riscontrato un abbassamento del tasso proteico mentre Mezzano et al.¹⁸ affermano che la CEC non condiziona le IP. Nel cane è stata documentata l'ipoproteinemia durante la CEC^{6,26}. L'ipoproteinemia è provocata dall'emodiluzione⁶, dalla denaturazione delle proteine causata dall'ossigenatore^{2,26} e da un aumento della permeabilità capillare⁶. Nella pecora sono stati riscontrati analoghi fenomeni, ma solo dopo lunghi periodi di perfusione^{24,25}. Nelle nostre esperienze la CEC ha avuto una durata media breve ed abbiamo evidenziato una riduzione statisticamente significativa delle proteine totali e delle albumine a T2 attribuibile alle perdite ematiche e all'eparinizzazione⁷. Anche nella pecora n. 7 si è avuto un'analogo diminuzione delle proteine. Questo ci ha portato ad ipotizzare che la CEC, nella pecora, non condizioni il tasso proteico. **Esame emocromocitometrico:** le modificazioni a carico degli elementi corpuscolati del sangue durante la CEC sono ben documentati nell'uomo^{16,18,26} e negli animali^{19,22,23,24,27}. In questo studio emazie, emoglobina ed ematocrito calano significativamente tra T1 e T2 in tutti i soggetti. Questo può essere legato alle perdite ematiche anche in relazione all'eparinizzazione²⁴. Una leucopenia transitoria, caratterizzata da neutropenia e lieve linfocitosi, si manifesta dopo 10 minuti circa dall'inizio della CEC²⁸. Mueller et al.²² attribuiscono la leucopenia transitoria all'emodiluzione. Nylhen et al.²³ hanno dimostrato nella cavia che i leucociti vengono sequestrati a livello di capillari polmonari. Nel cane il sequestro può arrivare fino al 54%²³ e nel coniglio fino al 74%²³. La causa del sequestro è principalmente il contatto del sangue con le superfici di tubi, raccordi e contenitori, ma anche la velocità di flusso e la ventilazione artificiale²³. Anche nel nostro studio abbiamo evidenziato una diminuzione statisticamente significativa dei globuli bianchi: del 37% tra T1 e T2 e dell'84% tra T2 e T3. La leucopenia riscontrata a T2 può essere attribuita alle abbondanti perdite ematiche mentre il calo a T3 è probabilmente riconducibile e spiegabile con i meccanismi sopracitati. La riduzione dei leucociti del 21% tra T2 e T3 nella pecora n. 7, considerando il fattore di emodiluzione⁵, è prevalentemente attribuibile all'emodiluzione. Nel cane^{19,27} e nell'uomo^{16,18}, a causa dell'emodiluzione e formazione di

comparison between two bubble and two membrane oxygenators in a standardized dog model. *Thorac Cardiovasc Surgeon*, 1981, 29: 323-327. **28.** Watel A et al. Modification hématologiques induites par la circulation extracorporelle. *Ann Fr Anesth Reanim*, 1985, 4: 360-366. **29.** Willard MD et al. *Small animal clinical diagnosis by laboratory methods*. 2nd ed., Philadelphia 1994, W.B. Saunders Company.