



UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE  
FACOLTÀ DI INGEGNERIA

---

Corso di Laurea triennale in  
**INGEGNERIA BIOMEDICA**

**VALUTAZIONE DELL'ALTERNANZA  
DELL'ONDA T ELETTROCARDIOGRAFICA A  
SEGUITO DELLA SOMMINISTRAZIONE DI  
VERAPAMIL**

**ELECTROCARDIOGRAPHIC T-WAVE ALTERNANS  
EVALUATION AFTER VERAPAMIL ADMINISTRATION**

**Relatore:**

Prof.ssa Laura Burattini

**Correlatore:**

Dott.ssa Ilaria Marcantoni

**Rapporto finale di:**

Christian Dragonetti

Anno Accademico 2019/2020

*Al mio papà*

*Il grido del tuo silenzio, in quei giorni, riempie ancora  
i miei orecchi ma quando lascia il posto ad un po'  
di quiete, avverto il tuo profumo, nascosto  
nel tempo che rimane...*

## Abstract

Stabilire l'esistenza di un legame tra l'assunzione di un principio attivo che coinvolga il sistema cardiovascolare e la comparsa dell'alternanza dell'onda T (in inglese: T-Wave Alternans, TWA), fornisce una serie di informazioni utili che possono essere inserite nei dati di sicurezza di un farmaco (combinazione del principio attivo e dell'eccipiente). L'obiettivo è quello di valutare se il Verapamil (principio attivo) riesca a indurre una TWA tale da predisporre un individuo ad un alto rischio cardiaco. L'indagine è stata avviata approfondendo il sistema circolatorio e il cuore: il primo possiede la capacità di irrorare tutti i segmenti corporei e di ristabilire nel sangue un adeguato contenuto di ossigeno e di anidride carbonica; mentre il secondo funge da pompa aspirante e premente per trasferire flussi sanguigni verso il sistema circolatorio. Il pompaggio del sangue nelle camere del cuore (dagli atri ai ventricoli) e nel sistema circolatorio, avviene per contrazione del miocardio (componente muscolare del cuore) tramite lo sviluppo e la conduzione di impulsi elettrici nel sistema di conduzione cardiaco. Tali impulsi elettrici si propagano nei vari siti del cuore sotto forma di potenziali d'azione. L'applicazione di elettrodi in opportune posizioni sulla cute del paziente consente la registrazione di tutti i potenziali d'azione generati nel cuore e, dalla loro integrazione, è possibile ottenere un tracciato, chiamato elettrocardiogramma (ECG). L'ECG è composto da una sequenza ripetitiva di onde, dette: P, Q, R, S e T. Il Verapamil è un principio attivo che esplica la sua azione agganciandosi ai siti attivi del canale del  $Ca^{2+}$  di tipo L e del canale hERG del  $K^+$ , entrambi responsabili della ripolarizzazione ventricolare associata all'evoluzione dell'onda T nell'ECG. Il Verapamil possiede tre parametri farmacocinetici: la massima concentrazione plasmatica che si raggiunge dopo 1-2 h dalla sua assunzione, l'emivita (tempo richiesto per ridurre del 50% la concentrazione plasmatica del principio attivo) dichiarata tra le 4.5 e le 12 h e infine la biodisponibilità del 20-35% (esprime il grado e la velocità con cui un principio attivo raggiunge la circolazione sistemica). Sul sistema cardiovascolare il Verapamil causa un effetto inotropo negativo (perdita di forza contrattile del muscolo cardiaco), un rilassamento della muscolatura vasale, una riduzione del tempo di conduzione atrioventricolare e una riduzione della frequenza cardiaca del nodo seno atriale (specialmente in vitro). La TWA è un indice elettrocardiografico che riconosce individui ad alto rischio di sviluppare aritmie ventricolari ed è espressa come la variazione periodica, tra un battito cardiaco e il successivo, della morfologia (ampiezza, forma e polarità) dell'onda T secondo un pattern ABABAB. Poiché la TWA riflette il grado di eterogeneità della ripolarizzazione dei ventricoli è possibile associare ad un qualsiasi individuo, in funzione dell'ampiezza delle oscillazioni dell'onda T, una predisposizione, maggiore o minore, a sviluppare aritmie ventricolari.

Per identificare e misurare i livelli della TWA sugli ECG viene utilizzato il metodo correlativo (tecnica di processamento di ECG). Sono 1056 gli ECG elaborati dal metodo correlativo e appartenenti ai 22 soggetti che sono stati sottoposti alla somministrazione di Verapamil. Questo gruppo di ECG è stato prelevato dal database ECGDRVQ di Physionet che in totale include 5232 ECG di 22 soggetti sani che hanno partecipato a uno studio clinico di fase 1 per la sperimentazione di 4 principi attivi: la Dofetilide, la Chinidina Solfato, la Ranolazina e il Verapamil. Nello studio clinico, al mattino di 5 giornate (alternate a 7 giorni di riposo) partiva una registrazione elettrocardiografica continua e mezz'ora dopo il suo inizio i soggetti ricevevano in maniera casuale uno dei 4 principi attivi o il placebo. Dalla registrazione continua sono stati estratti 3 ECG da 10 s in 16 istanti temporali predefiniti ed è stata realizzata, grazie al prelievo di campioni di sangue, un'analisi farmacocinetica che ha rivelato, per il Verapamil, il picco di concentrazione plasmatica a 1 h dalla sua assunzione. I 1056 ECG considerati, relativamente all'assunzione di Verapamil, sono stati sottoposti ad una pre-elaborazione e all'applicazione del metodo correlativo, modificato rispetto le condizioni normali di lavoro a causa della ridotta lunghezza degli ECG (da 10 s) e alla bassa frequenza di campionamento scelta (200 Hz). Il metodo correlativo ha determinato una misura della TWA attraverso il calcolo di un fattore di correlazione che è stato mediato per ottenere un'analisi statistica. I risultati dell'analisi statistica hanno rivelato che le ampiezze della TWA, tra la seconda e l'ottava ora dalla somministrazione di Verapamil, hanno subito lievi incrementi. In media sui 22 soggetti, le ampiezze della TWA sono cresciute raggiungendo al massimo picchi di 3-3.5  $\mu\text{V}$  rispetto lo scenario in pre-somministrazione. Questa leggera crescita dei livelli della TWA a seguito della somministrazione di Verapamil potrebbe far supporre che, per i 22 soggetti presi in considerazione, ci sia una maggiore predisposizione a sviluppare aritmie ventricolari. Tuttavia per arrivare ad una conclusione del genere è necessario rafforzare il legame tra l'assunzione del Verapamil e la comparsa della TWA con ulteriori ricerche (affiancate all'opinione di un clinico), magari su popolazioni più vaste e su un numero maggiore di ECG (per il Verapamil si contano, a soggetto, solo 48 ECG da 10 s). In letteratura scientifica sono assenti studi che hanno analizzato la TWA in risposta all'assunzione di Verapamil. Ciò nonostante esiste un altro studio che ha evidenziato come i due principi attivi Metoprololo e Sotalolo, con effetti antiaritmici simili al Verapamil, a differenza di quest'ultimo, abbiano ridotto, dopo la loro somministrazione, i livelli della TWA (rispettivamente del 35% e del 38%) di 54 soggetti legati ad una storia, documentata o sospetta, di aritmie ventricolari maligne. Pertanto sarà determinante saper valorizzare l'analisi della TWA per poter gestire al meglio la somministrazione

di Verapamil e in generale di quei principi attivi che coinvolgono il sistema cardiovascolare allo scopo di prevenire la nascita di eventi cardiaci gravi come le aritmie ventricolari.

## **Introduzione**

### **1. Anatomia e Fisiologia del sistema cardiovascolare**

- 1.1 Sistema circolatorio
- 1.2 Cuore
  - 1.2.1 Anatomia del cuore
  - 1.2.2 Funzionamento elettrico del cuore
  - 1.2.3 Funzionamento meccanico del cuore

### **2. Segnale elettrocardiografico**

- 2.1 Origine
- 2.2 Morfologia e caratteristiche standard
- 2.3 Derivazioni

### **3. Verapamil**

- 3.1 Composizione e destinazione d'uso
- 3.2 Posologia ed effetti collaterali
- 3.3 Farmacodinamica: comportamento all'interno del nostro organismo
- 3.4 Somministrazioni a pazienti particolari
- 3.5 Interazioni farmacologiche

### **4. Alternanza dell'onda T**

- 4.1 Storia
- 4.2 Ruolo in ambito clinico
- 4.3 Tecniche di rilevazione
  - 4.3.1 Metodo correlativo

### **5. Alternanza dell'onda T in associazione all'assunzione di Verapamil: analisi di una popolazione reale**

- 5.1 Descrizione della popolazione in esame
- 5.2 Identificazione dell'alternanza dell'onda T sulla popolazione in esame
- 5.3 Analisi statistica
- 5.4 Risultati
- 5.5 Discussione

## **Conclusione**

## **Bibliografia**

## **Ringraziamenti**

## **Introduzione**

La sperimentazione del principio attivo di un farmaco, su volontari in buono stato di salute, consente agli scienziati di dare valutazioni sui suoi effetti collaterali e indesiderati, in relazione alla quantità di sostanza somministrata. Tutte le valutazioni, raccolte in un dossier, saranno gestite per la registrazione e l'autorizzazione alla commercializzazione del farmaco. Tra i principi attivi esistenti c'è il Verapamil, di una classe di farmaci bloccanti i canali ionici voltaggio-dipendenti del calcio. L'azione che esplica prevede un coinvolgimento del sistema cardiovascolare formato da cuore, vasi sanguigni e sangue. Infatti, all'interno dell'organismo umano, il Verapamil modifica l'attività dei canali ionici localizzati nelle cellule cardiache, venose e arteriose. Queste alterazioni possono essere rintracciate a partire da una corretta gestione di tecnologie mediche in grado di prelevare informazioni circoscritte alle porzioni di tessuto interessate.

Recentemente è stata messa a punto una tecnica non invasiva che fornisce un cruciale indicatore di rischio cardiovascolare. Indicata con il nome di elettrocardiografia e utilizzata per registrare l'attività elettrica del cuore attraverso sensori posizionati sulla cute umana, genera un tracciato, l'elettrocardiogramma, ricco di informazioni relative alla salute del cuore. L'identificazione tempestiva di eventuali patologie o anomalie a carico del sistema cardiovascolare, possibile tramite test di monitoraggio non invasivi e di routine come l'elettrocardiogramma, consente un pronto ed efficiente intervento nei confronti del paziente.

Uno dei parametri rilevabili dall'elettrocardiogramma, noto già da diversi decenni nella letteratura scientifica, è l'alternanza dell'onda T elettrocardiografica. L'onda T è un tratto specifico dell'elettrocardiogramma legato alla fase di recupero dell'eccitabilità cardiaca, quando i ventricoli hanno terminato la loro fase di attivazione e sono pronti per la successiva contrazione. L'alternanza dell'onda T elettrocardiografica è riconosciuta come un indice di rischio per la predisposizione a sviluppare eventi cardiaci gravi, come aritmie severe, in alcuni casi letali: nello specifico, un indice elevato viene associato ad un maggior rischio cardiaco. Conoscere la relazione tra questo parametro e l'assunzione di farmaci è importante per verificare il loro ruolo nella possibilità di incentivare lo sviluppo di fenomeni cardiaci gravi e per prendere di conseguenza opportuni provvedimenti.

L'obiettivo di questa tesi sarà quindi analizzare gli elettrocardiogrammi acquisiti su un gruppo di persone sane, sottoposte a uno studio clinico per la sperimentazione di alcuni principi attivi, tra cui il Verapamil ed evidenziare gli effetti prodotti da questa sostanza nel predisporre le persone ad un rischio cardiaco, eventualmente maggiore, rintracciabile dall'elettrocardiogramma. In particolare,

verrà approfondita l'alternanza dell'onda T elettrocardiografica per valutare la possibile relazione tra l'assunzione di Verapamil e la variazione di tale indice di rischio (eventualmente traducibile come suo effetto collaterale).



# 1. Anatomia e Fisiologia del sistema cardiovascolare

## 1.1 Sistema circolatorio

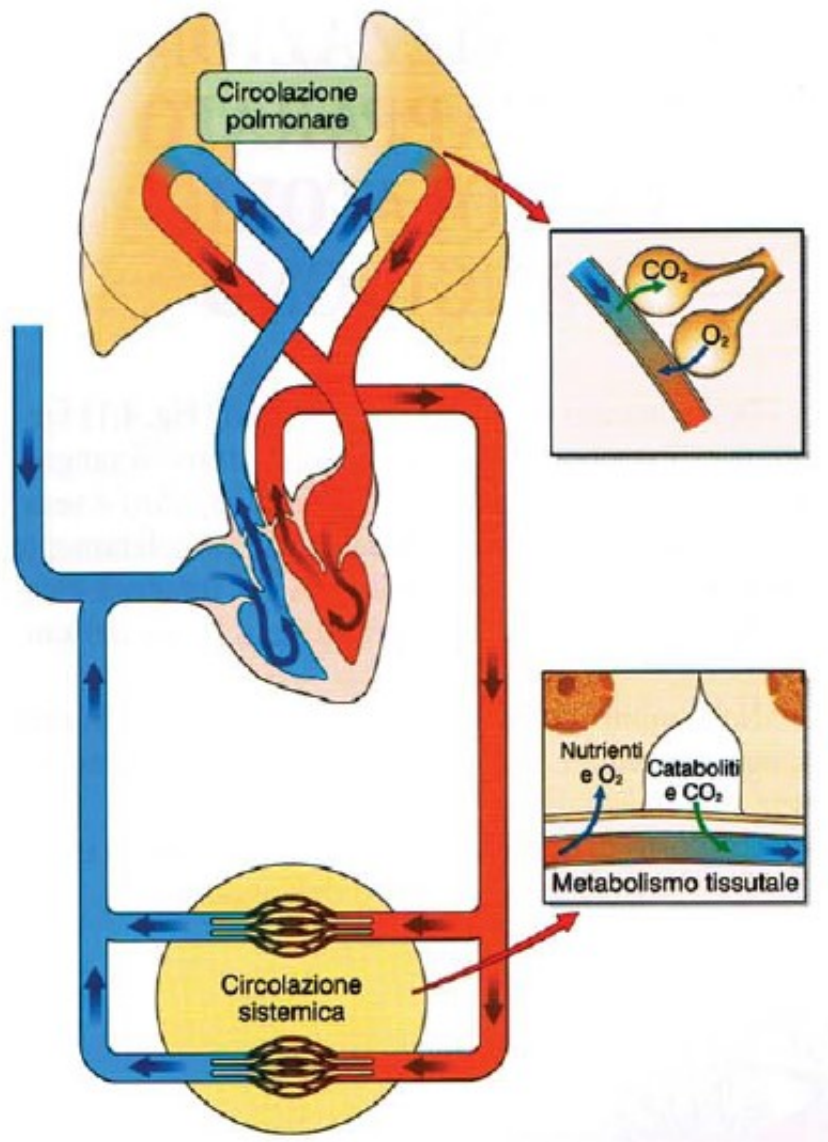
Del sistema circolatorio fanno parte il cuore e i condotti che trasportano il sangue, suddivisibili in arterie, capillari e vene. Nel loro insieme, cuore e vasi sanguigni, costituiscono un sistema chiuso, completamente rivestito all'interno da endotelio, essenziale per conservare il sangue allo stato fluido.

Il sistema circolatorio svolge numerose funzioni riassunte qui di seguito:

- Trasporto di sostanze nutritive e di ossigeno;
- Allontanamento dei prodotti del catabolismo cellulare, come l'anidride carbonica;
- Contributo al mantenimento di una temperatura corporea costante;
- Regolazione dell'omeostasi dei fluidi corporei;
- Impegno nei processi immunitari mediante il trasporto di cellule dotate di attività fagocitaria, di cellule immunocompetenti e di anticorpi.

Dal cuore, in posizione centrale, si allontanano le arterie che ramificandosi diminuiscono di spessore e di diametro fino a diventare arteriole. Dal segmento terminale delle arteriole (metarteriole) hanno origine i capillari (diametro medio 10  $\mu\text{m}$ ) che grazie alla loro permeabilità permettono il passaggio di acqua e sostanze dal sangue ai tessuti circostanti e viceversa. Questi scambi, per la maggior parte, avvengono attraverso la membrana plasmatica delle cellule endoteliali dei capillari, ma piccole molecole possono muoversi anche per diffusione, da un'area a concentrazione maggiore verso una a concentrazione minore, oppure possono usare, come fenditura di passaggio, i pori dei capillari fenestrati. Pertanto il sangue viene arricchito o privato di elementi che causano inevitabilmente delle modifiche alla sua composizione chimico-fisica. I capillari tendono a formare in tutte le parti dell'organismo delle vere e proprie reti, dalle quali, per confluenza dei capillari stessi, hanno origine le venule che, raccogliendosi in vene di piccolo, medio e infine grosso calibro ritornano al cuore. A differenza dei capillari sia vene che arterie sono impermeabili e garantiscono solo funzioni di trasporto e non di scambio di materia. <sup>[1]</sup>

Nell'uomo esiste una doppia circolazione completa (fig. 1): si distinguono, infatti, una grande circolazione (o circolazione sistemica) destinata all'irrorazione di tutti i segmenti corporei e una piccola circolazione (o circolazione polmonare) il cui compito è quello di ristabilire nel sangue un adeguato contenuto di ossigeno e di anidride carbonica. Le due circolazioni iniziano e terminano a



**Fig. 1** – Modello descrittivo degli spostamenti del sangue nella circolazione sistemica (in rosso) e nella circolazione polmonare (in blu). Nei riquadri a destra sono mostrati gli scambi metabolici e respiratori della piccola e della grande circolazione a livello degli alveoli polmonari e dei capillari. <sup>[1]</sup>

livello del cuore. La grande circolazione origina dal ventricolo sinistro mediante un unico tronco arterioso, l'aorta, che ramificandosi si distribuisce progressivamente in tutto l'organismo fino a costituire in ogni sede reti di capillari. In queste zone, il sangue cede ossigeno e sostanze nutritive ai tessuti circostanti e si carica di anidride carbonica e cataboliti, cioè da sangue arterioso, di colore rosso scarlatto, diventa venoso, di colore bluastro. Dalle reti di capillari il sangue ritorna al cuore, nell'atrio destro, attraverso la vena cava superiore e la vena cava inferiore. La piccola circolazione inizia dal ventricolo destro con il tronco polmonare che si biforca nelle due arterie polmonari e

trasporta il sangue venoso ai polmoni. Le ultime diramazioni delle arterie polmonari si risolvono in una rete di capillari addossata alla parete degli alveoli polmonari. Il sangue venoso, attraversando questa rete, cede all'aria contenuta negli alveoli anidride carbonica, assume ossigeno e riacquista la conformazione arteriosa. Il sangue arterioso raggiunge così il cuore attraverso le quattro vene polmonari che sboccano nell'atrio sinistro e una volta finito nel ventricolo sinistro sarà nuovamente pronto per scorrere nella grande circolazione. Se in quest'ultima le arterie contengono sangue arterioso e le vene sangue venoso, nella piccola circolazione avviene il contrario cioè il tronco polmonare e i suoi rami trasportano sangue venoso e le vene polmonari sangue arterioso. Le due circolazioni sono intrecciate tra loro a formare una specie di otto e nel loro punto di incrocio è situato il cuore, pompa aspirante e premente. <sup>[1]</sup>

## 1.2 Cuore

### 1.2.1 Anatomia del cuore

Il cuore, organo cavo e centrale dell'apparato circolatorio sanguigno, si trova nella cavità toracica, nello spazio compreso fra i due polmoni (mediastino) e in posizione non perfettamente mediana, essendo per due terzi spostato a sinistra. Presenta una forma a cono, appiattito in senso antero-posteriore, con la base rivolta in alto, a destra e all'indietro e l'apice in basso, a sinistra e in avanti. È avvolto da un sacco fibroso (pericardio) che lo fissa al diaframma e lo isola dagli organi circostanti. In relazione alla sua posizione, in basso giace sulla cupola diaframmatica che lo separa dai visceri addominali, in avanti è protetto dallo sterno e dalle cartilagini costali (3<sup>a</sup>-6<sup>a</sup>), posteriormente incontra le vertebre toraciche dalla 5<sup>a</sup> alla 8<sup>a</sup> (vertebre cardiache di Giacomini) e in alto si prolunga verso l'apertura superiore del torace mediante il peduncolo vascolare, costituito dai grossi vasi che originano o terminano nel cuore (aorta ascendente, tronco polmonare e vena cava superiore). La grandezza del cuore varia in funzione del sesso, dell'età e delle condizioni del soggetto cui appartiene. Nell'adulto il suo peso (corrispondente allo 0.4-0.45% del peso corporeo) è compreso fra 280 g e 340 g nel maschio e nella femmina fra 230 g e 280 g; come regola generale valori superiori a 350 g nell'uomo e 300 g nella donna sono espressioni di situazioni patologiche (ipertrofia cardiaca). <sup>[2]</sup>

Ha una costituzione prevalentemente muscolare e un colore rossastro simile a quello dei muscoli scheletrici. Inoltre presenta delle macchie giallastre dovute ad accumuli di grasso localizzate prevalentemente lungo il decorso dei vasi coronarici. Il cuore possiede al suo interno quattro cavità:

due superiori, gli atri destro e sinistro, e due inferiori, i ventricoli destro e sinistro. La cavità dell'atrio destro comunica con quella del ventricolo destro mediante un orifizio atrioventricolare munito di una valvola atrioventricolare detta valvola tricuspide. Analogamente, la cavità dell'atrio sinistro comunica con quella del ventricolo sinistro per mezzo di un orifizio atrioventricolare che presenta una valvola detta bicuspidale o mitrale. I ventricoli pompano il sangue verso circolazioni differenti: il ventricolo destro collegato all'arteria polmonare per mezzo della valvola polmonare, assicura l'efflusso di sangue verso la piccola circolazione. Invece il ventricolo sinistro collegato all'aorta attraverso la valvola aortica, spinge il sangue verso la grande circolazione. Le due cavità di destra non comunicano con quelle di sinistra perchè sono separate da una parete continua (setto), in parte di natura fibrosa e per la massima estensione di natura muscolare. La porzione superiore del setto, chiamata setto interatriale, divide fra loro i due atri, mentre la porzione inferiore, il setto interventricolare, separa i due ventricoli. La parete del cuore è formata da tre tonache sovrapposte che dall'interno all'esterno si dividono in endocardio, miocardio ed epicardio. L'endocardio è una sottile membrana che riveste tutte le cavità del cuore, formata da una lamina endoteliale disposta su un sottile strato di connettivo lasso, a sua volta poggiante sopra uno strato di connettivo elastico. L'epicardio è il foglietto viscerale del pericardio sieroso, una sottile membrana connettivale rivestita da mesotelio (epitelio pavimentoso semplice di derivazione mesodermica) che aderisce esternamente al miocardio. Il miocardio invece rappresenta la componente muscolare del cuore organizzata in due sistemi fra loro indipendenti, uno per gli atri e uno per i ventricoli, separati dall'interposizione dello scheletro fibroso del cuore. Il miocardio che forma le pareti del cuore è detto miocardio comune, per distinguerlo dal miocardio specifico del sistema di conduzione, specializzato invece nel trasporto degli impulsi contrattili. Lo spessore del miocardio è differente in rapporto alla forza contrattile che ogni cavità deve esercitare per la spinta del sangue. Ne consegue che la parete degli atri è sottile e la parete dei ventricoli più spessa (la parete del ventricolo sinistro risulta tre volte più spessa rispetto a quella del ventricolo destro). Nel miocardio, la muscolatura atriale è costituita dai fasci muscolari propri di ciascun atrio circondati dai fasci muscolari comuni ad ambedue gli atri. I fasci muscolari propri sono rappresentati fondamentalmente da fibrocellule che, con andamento anulospirale, circondano gli orifizi di sbocco delle vene in ciascun atrio. I fasci muscolari comuni sono formati da fibrocellule che, con decorso prevalentemente trasversale, si estendono da un atrio all'altro. Invece la muscolatura ventricolare è notevolmente più robusta e spessa di quella atriale ed è formata dai fasci muscolari propri di ciascun ventricolo e dai fasci muscolari comuni ad entrambi i ventricoli (fig. 2). I primi formano lo strato intermedio del miocardio,



*Fig. 2 – Schema del miocardio ventricolare. In alto a sinistra sono proposti i fasci muscolari propri con andamento conoide. In alto a destra e in basso a sinistra si distinguono rispettivamente i fasci muscolari comuni anteriori e posteriori che risalgono descrivendo dei vortici. Invece, in basso a destra è raffigurata l'organizzazione a forma di "8" dei fasci suturali. [2]*

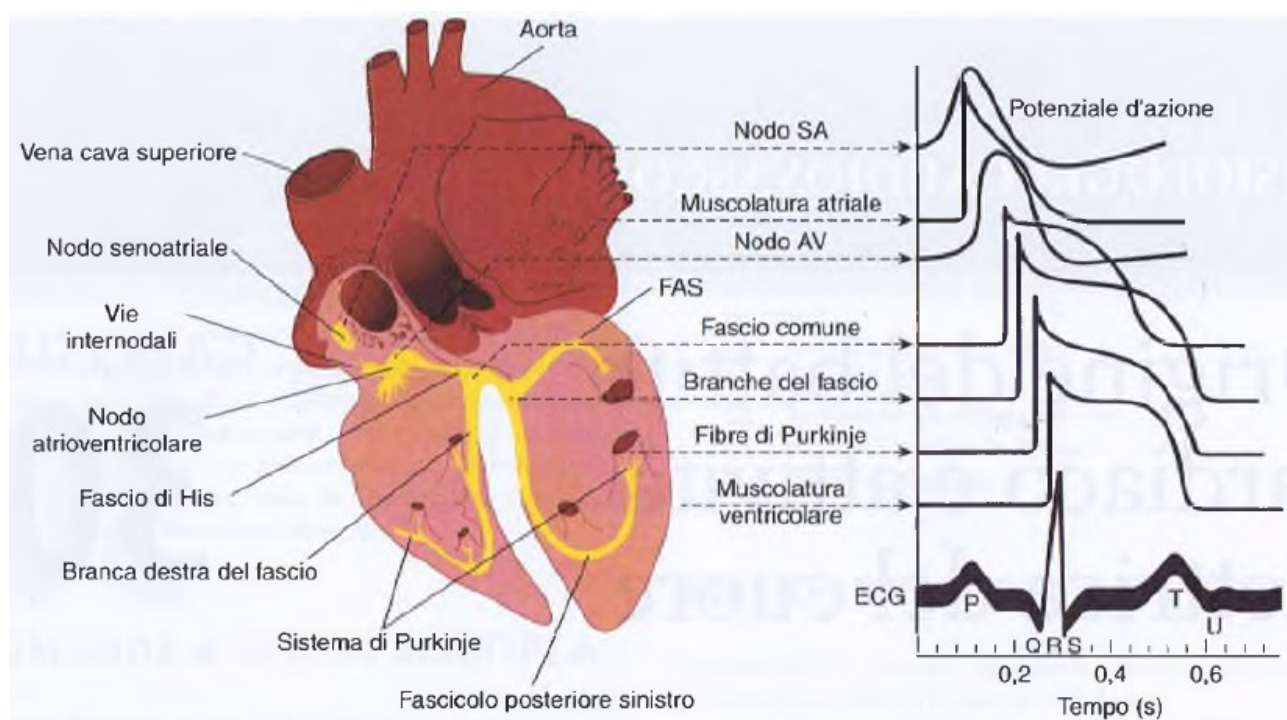
mentre i secondi lo strato superficiale e lo strato profondo. I fasci muscolari propri di ciascun ventricolo si inseriscono sugli anelli fibrosi degli orifizi atrioventricolari, si portano in basso obliquamente senza raggiungere l'apice della cavità, formano un'ansa e risalgono per terminare sullo stesso anello fibroso da cui sono stati originati. Nel complesso, i fasci muscolari propri dei ventricoli formano due sacchi conoidi, fra loro adiacenti. I fasci muscolari comuni si inseriscono sugli anelli fibrosi degli orifizi atrioventricolari, discendono con andamento obliquo e raggiunto l'apice del ventricolo, descrivono un vortice risalendo in posizione profonda rispetto alle fibre muscolari



proprie. Nella muscolatura ventricolare partecipano anche i fasci suturali che grazie al loro profilo a forma di “8”, tengono uniti i due ventricoli. La contrazione dei fasci muscolari atriali e ventricolari dà origine alla cosiddetta sistole atriale e ventricolare, spiegate nel dettaglio al paragrafo 1.2.3. [2]

### 1.2.2 Funzionamento elettrico del cuore

Il battito cardiaco ha origine in un punto specifico del sistema di conduzione cardiaco, caratterizzato da un insieme di miociti (cellule del miocardio) specializzati nello sviluppo e nella conduzione dell’impulso cardiaco in tutte le parti del miocardio. Le strutture che costituiscono il sistema di conduzione cardiaco (fig. 3) sono: il nodo senoatriale (NSA), le vie atriali internodali, il nodo atrioventricolare (NAV), il fascio di His con le sue branche (destra e sinistra) e il sistema del Purkinje. Il NSA è il normale “pacemaker” cardiaco che con la sua frequenza di scarica determina la frequenza alla quale il cuore pulsa. Gli impulsi generati nel NSA si propagano attraverso gli atri tramite le vie



**Fig. 3** – La descrizione anatomica del cuore (a sinistra) evidenzia in giallo il sistema di conduzione dell’impulso cardiaco che origina nel NSA e termina con il sistema del Purkinje. A destra, il segnale elettrocardiografico registrato extracellolarmente come integrazione dei potenziali d’azione registrati nei vari punti del sistema di conduzione cardiaco. [3]

internodali, convergendo sul NAV. Poiché la conduzione nel NAV è lenta, vi è un ritardo di circa 0.1 s (ritardo del NAV) prima che l'eccitamento si propaghi ai ventricoli. Dal NAV, il segnale scende rapidamente nel fascio di His, in branca destra e sinistra, e si estende nei due ventricoli tramite le fibre del Purkinje in 0.08-1 s (tabella 1). [3]

Gli impulsi si propagano nel cuore sotto forma di potenziali d'azione, repentini cambiamenti di potenziale a cavallo della membrana cellulare dei miociti. I miociti sono separati dal mondo extracellulare per mezzo della membrana plasmatica che, tra le sue numerose funzioni, regola il traffico di ioni tra l'interno e l'esterno della cellula. Le concentrazioni ioniche tra i due versanti sono diverse e sono riportate nella tabella 2. Gli ioni diffondono dal versante a maggiore concentrazione a quello a minore concentrazione. Nella direzione del gradiente di concentrazione si accumuleranno le cariche delle corrispondenti specie ioniche, riducendosi invece nella direzione opposta. Per questo tra i due fronti, uno intracellulare e l'altro extracellulare, si genera una differenza di potenziale e si stabilisce un gradiente elettrostatico, opposto al gradiente di concentrazione iniziale. In questa situazione, la tendenza di una specie ionica, di spostarsi secondo il gradiente di concentrazione, è bilanciata dalla tendenza della stessa di spostarsi secondo il gradiente elettrico. Considerando le concentrazioni di tutti gli ioni all'interno e all'esterno del miocita, è possibile definire il potenziale di membrana secondo l'equazione di Goldman:

$$V_m = \frac{RT}{F} \ln \frac{P_k[K^+]_e + P_{Na}[Na^+]_e + P_{Cl}[Cl^-]_i}{P_k[K^+]_i + P_{Na}[Na^+]_i + P_{Cl}[Cl^-]_e} \quad (1)$$

dove  $P_i$  rappresenta la permeabilità della membrana all' $i$ -esima specie ionica;  $R$  è la costante dei gas perfetti;  $T$  è la temperatura assoluta espressa in gradi Kelvin;  $F$  è la costante di Faraday; nelle parentesi quadre sono inserite le concentrazioni delle specie ioniche.

Il potenziale di membrana prende il nome di potenziale di riposo perché determinato nella condizione di equilibrio dei gradienti. Dal potenziale di riposo di singole fibre miocardiche che risulta essere di circa -90 mV (baenegativo all'interno e positivo all'esterno della cellula), uno stimolo elettrico produce un potenziale d'azione responsabile della contrazione muscolare (fig. 4). In una fibra del miocardio ventricolare lo stimolo elettrico di depolarizzazione porta il potenziale da -90 mV a superare il valore soglia di -65 mV (se la depolarizzazione iniziale come effetto dello stimolo elettrico non è tale da permettere al potenziale di membrana superare questa soglia, non si genera alcun potenziale d'azione). Si aprono così i canali ionici voltaggio-dipendenti (proteine transmembrana che regolano il passaggio di specifici ioni verso o fuori la cellula) del  $Na^+$  e gli ioni  $Na^+$

| Tessuto                         | Velocità di conduzione (m/s) |
|---------------------------------|------------------------------|
| NSA                             | 0.05                         |
| Vie atriali (fasci internodali) | 1                            |
| NAV                             | 0.05                         |
| Fascio di His                   | 1                            |
| Sistema del Purkinje            | 4                            |
| Muscolatura ventricolare        | 1                            |

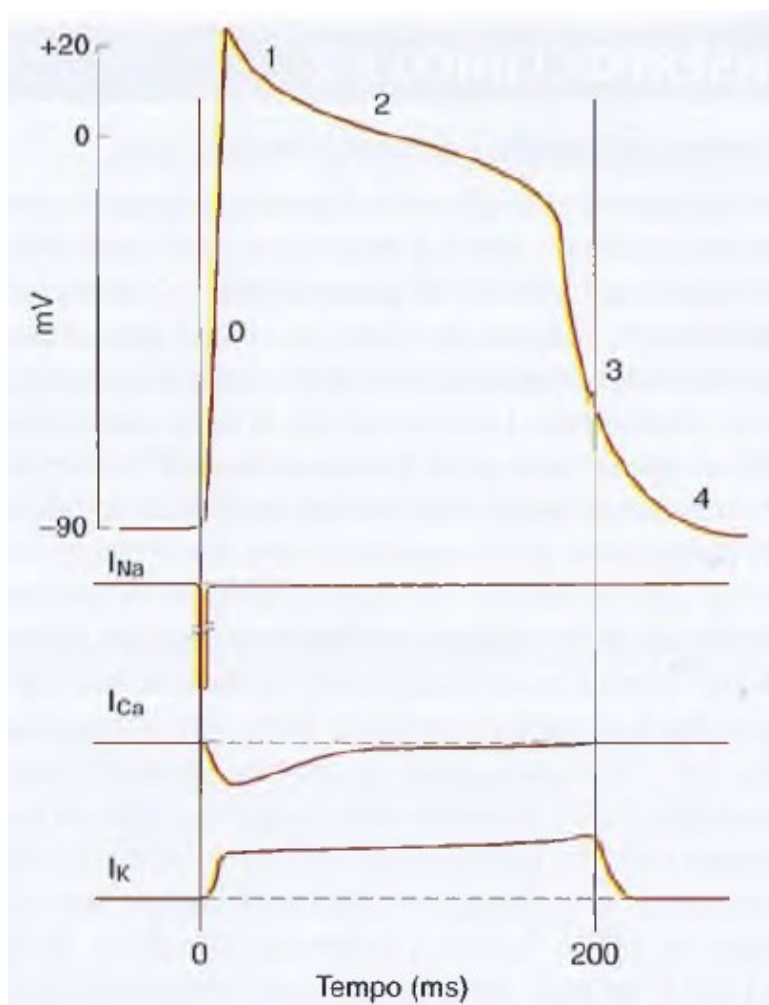
**Tabella 1** – Velocità di conduzione dell'impulso cardiaco nei tessuti cardiaci. <sup>[3]</sup>

| concentrazione   | Interno (mM)     | Esterno (mM) |
|------------------|------------------|--------------|
| Na <sup>+</sup>  | 15               | 145          |
| K <sup>+</sup>   | 150              | 4            |
| Cl <sup>-</sup>  | 5                | 120          |
| Ca <sup>2+</sup> | 10 <sup>-4</sup> | 2            |

**Tabella 2** – Concentrazioni ioniche tra il mondo intracellulare e il mondo extracellulare di un miocita, misurate in mM, dove M esprime la concentrazione molare o molarità. <sup>[3]</sup>

entrano nella cellula, depolarizzando ancora di più la membrana plasmatica fino all'inversione del suo potenziale (fase 0) che tende al potenziale di Nernst (potenziale di equilibrio di una specie ionica) del Na<sup>+</sup> di +60 mV. Il potenziale di Nernst del Na<sup>+</sup> non verrà mai raggiunto perché il canale del Na<sup>+</sup> si inattiva anticipatamente. L'iniziale ripolarizzazione rapida (fase 1) invece è dovuta all'apertura dei canali ionici voltaggio-dipendenti del Ca<sup>2+</sup> e del K<sup>+</sup>. Il Ca<sup>2+</sup> entra nell' miocita e il K<sup>+</sup> esce. Il prolungato "plateau" (fase 2) scaturisce da un eccesso di cariche positive mantenuto internamente al miocita dal canale del Ca<sup>2+</sup>. L'inattivazione di questo canale e la continua apertura del canale del K<sup>+</sup> conduce la membrana plasmatica alla sua ripolarizzazione finale (fase 3). Le cariche positive che escono superano quelle che entrano nel miocita, riducendo il potenziale di membrana. Infine la chiusura del canale del K<sup>+</sup> sancisce il ritorno al potenziale di riposo (fase 4). Questa transitoria inversione del potenziale di membrana prende il nome di potenziale d'azione e dura





**Fig. 4** – In alto, il potenziale d'azione di una fibra del miocardio ventricolare nelle sue 4 fasi: 0 depolarizzazione, 1 ripolarizzazione iniziale, 2 fase di plateau, 3 ripolarizzazione finale, 4 ritorno ai valori di riposo. In basso, il comportamento delle correnti ioniche di  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$  e  $K^+$ . Le correnti ioniche che sono introdotte all'interno del miocita si prolungano verso il basso, mentre le correnti che sono immesse al di fuori si estendono verso l'alto. <sup>[3]</sup>

all'incirca 300 ms. Durante la fase di depolarizzazione e ripolarizzazione della membrana plasmatica, non può essere innescato un nuovo potenziale d'azione. Questo periodo, nel quale la membrana plasmatica non risponde ad alcun stimolo anche se di elevata ampiezza è detto refrattario assoluto. Pochi millisecondi (ms) dopo invece si stabilisce il periodo refrattario relativo nel quale è possibile che, uno stimolo sufficientemente importante, riesca a indurre un nuovo potenziale d'azione. <sup>[3]</sup>

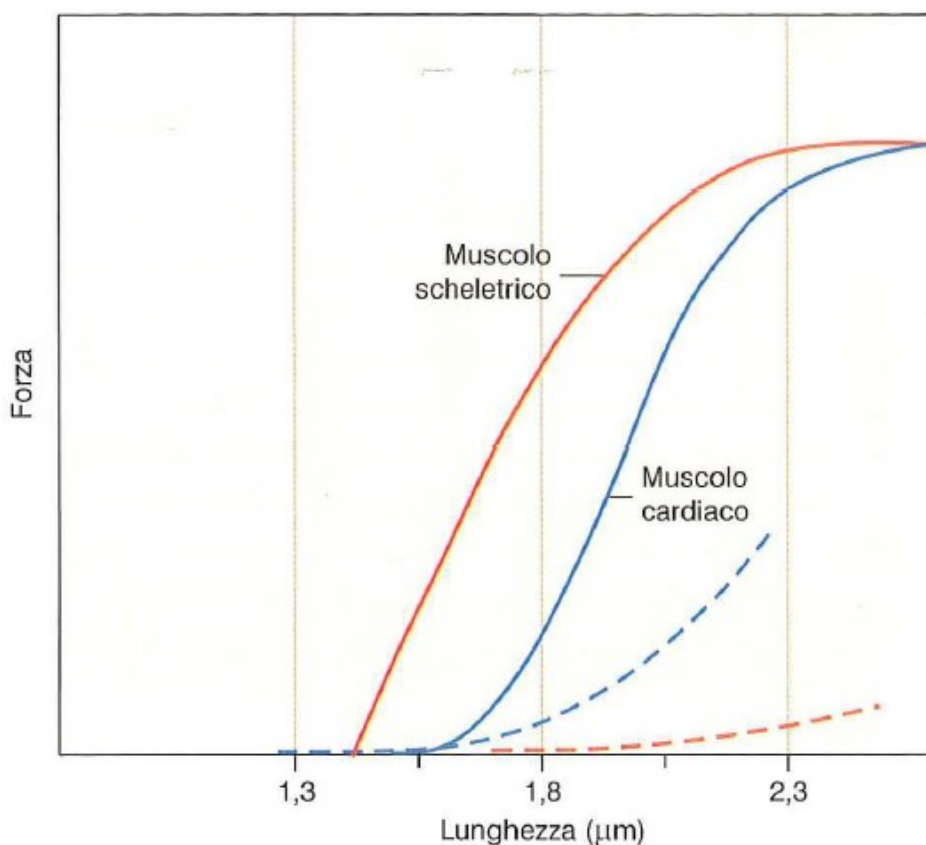
### 1.2.3 Funzionamento meccanico del cuore

Le fibre muscolari che compongono il cuore, mostrano la caratteristica striatura trasversale, tipica dei muscoli scheletrici, ma a differenza di quest'ultimi il muscolo cardiaco è involontario e si contrae ritmicamente grazie a un sistema di generazione spontanea di potenziali d'azione da parte di un gruppo di cellule che formano il cosiddetto pacemaker cardiaco (cellule del NSA). I miociti sono uniti tra loro per mezzo di dischi intercalari, dove risiedono gap junction e desmosomi. Le gap junction mettono in contatto elettrico tra loro tutti i miociti e quindi danno la possibilità al potenziale d'azione generato dalle cellule pacemaker di propagarsi all'interno del miocardio. I desmosomi invece sono zone di adesione meccanica in grado di diffondere la forza contrattile della cellula corrente a tutte le altre cellule adiacenti. [4]

Nel cuore sono presenti due tipi di fibre muscolari: le fibre atriali e le fibre ventricolari. Le fibre muscolari cardiache non sono vincolate dalle inserzioni ossee come per i muscoli scheletrici e sono disposte in modo tale che il loro accorciamento tenda a produrre una riduzione del volume delle cavità cardiache, esercitando una pressione sul sangue in esse contenuto. Il loro accorciamento non è mai isotonico (a forza costante), ma auxotonico (carico variabile). [4]

La curva tensione-lunghezza esprime la forza che un muscolo sviluppa in funzione del suo allungamento e viene utilizzata per valutare il comportamento elastico del muscolo. Tale comportamento è attribuibile a due elementi, uno attivo e uno passivo. La tensione passiva è il carico applicato al muscolo rilassato prima della contrazione, ovvero il cosiddetto precarico. La relazione forza-lunghezza passiva del muscolo cardiaco è qualitativamente simile a quella del muscolo scheletrico, ma ne differisce dal punto di vista quantitativo. La tensione attiva è la forza prodotta durante la contrazione muscolare e nel muscolo scheletrico dipende esclusivamente dalla sovrapposizione dei miofilamenti, mentre nel cuore esistono anche altri fattori capaci di influenzare la forza sviluppata. Il confronto tra le curve tensione-lunghezza attiva e passiva, sia per il muscolo scheletrico che per quello cardiaco è riportato in fig. 5. Nell'intervallo di lunghezze fisiologiche (1.8-2.3  $\mu\text{m}$ ) la relazione nel muscolo cardiaco si mostra molto più ripida, nonostante il grado di sovrapposizione tra i miofilamenti sia lo stesso in entrambi i casi. [4]

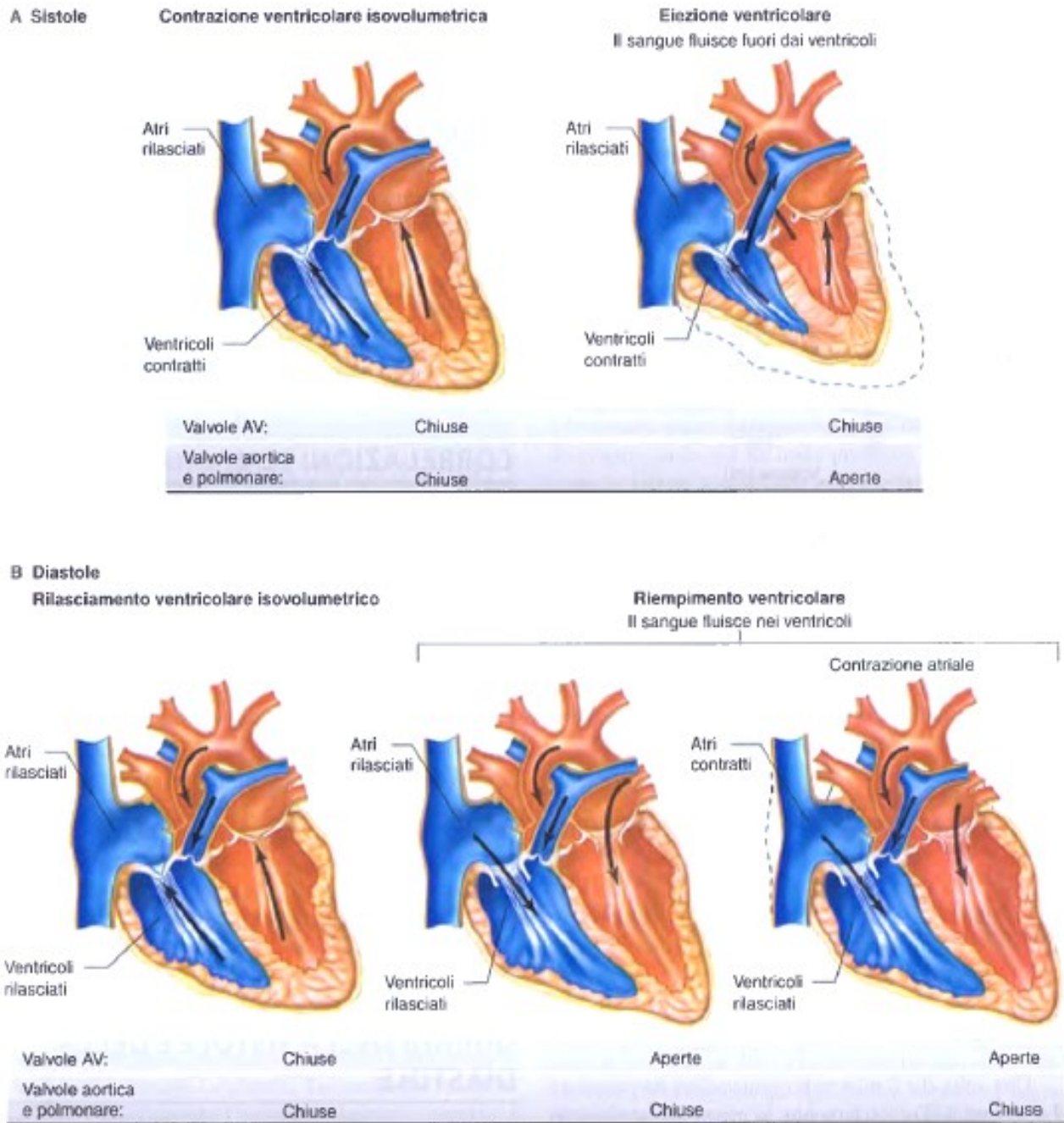
Il fenomeno di contrazione-rilassamento avviene in modo alternato tra la parte alta e la parte bassa del cuore e viene definito da due fasi che prendono il nome rispettivamente di sistole e diastole (fig. 6). Nella diastole, le valvole mitrale e tricuspidale sono aperte, mentre le valvole aortica e polmonare sono chiuse. Il sangue affluisce al cuore durante tutta la diastole riempiendo gli atri e i ventricoli. Con



**Fig. 5** – Confronto delle curve tensione-lunghezza attiva (linee continue) e passiva (linee tratteggiate) per il muscolo scheletrico (rosso) e per il muscolo cardiaco (blu). A parità di lunghezze, il muscolo cardiaco necessita di maggiore stimolo nella fase di pre-contrazione. Invece nella fase di effettiva contrazione a parità di forza sviluppata la muscolatura cardiaca subisce un maggiore allungamento.

[4]

l'aumentare della distensione dei ventricoli la velocità con la quale essi si riempiono diminuisce. Oltre il 70% del riempimento ventricolare avviene passivamente durante la diastole. Nella sistole atriale la contrazione degli atri spinge un po' di sangue nei ventricoli e restringe gli orifizi delle vene cave e delle vene polmonari. All'inizio della sistole ventricolare, le valvole atrioventricolari si chiudono e si assiste ad un aumento della pressione intraventricolare senza accorciamento del muscolo. Definito periodo di contrazione ventricolare isovolumetrica, dura all'incirca 0.05 s e causa la sporgenza delle valvole atrioventricolari dentro gli atri che legate alle corde tendinee ne impediscono il prolasso. Inoltre, per effetto della sporgenza delle valvole aumenta la pressione atriale. Successivamente, sarà la contrazione ventricolare a garantire che la pressione nel ventricolo sinistro superi la pressione nell'aorta (80 mmHg; 10 kPa) e che la pressione nel ventricolo destro



**Fig. 6** – Riquadro A: sistole ventricolare; riquadro B: diastole ventricolare. Sia nel lato sinistro che nel lato destro del cuore, la diastole e la sistole evolvono allo stesso modo seguendo le frecce sopra indicate. [3]

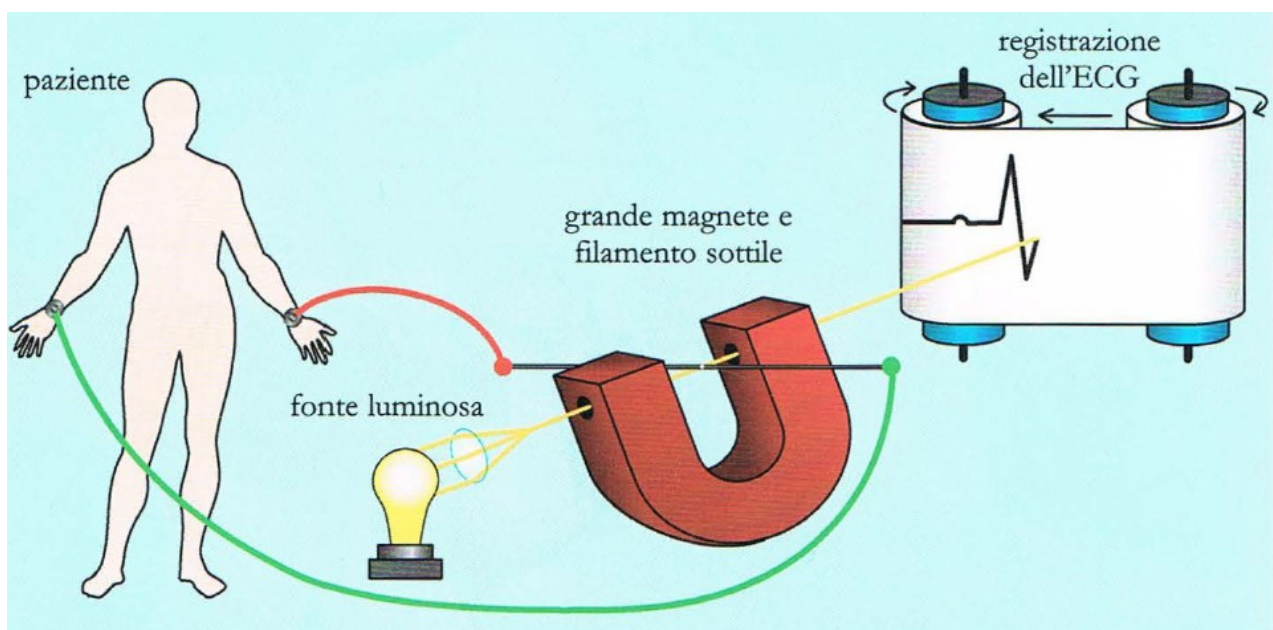
superi la pressione nell'arteria polmonare (10 mmHg). Le valvole aortica e polmonare si aprono e inizia la fase di eiezione ventricolare. L'eiezione è dapprima rapida, ma rallenta poi con il progredire della sistole. La pressione intraventricolare sale ad un massimo per poi discendere prima della fine della sistole. La pressione massima nel ventricolo sinistro e destro è rispettivamente di circa 120

mmHg e 25 mmHg. Le valvole atrioventricolari vengono tirate in basso dalla contrazione del miocardio ventricolare e la pressione atriale scende. Ciascuno dei due ventricoli eietta nella sistole da 70 a 90 ml di sangue, in condizioni di riposo. Il volume ventricolare telediastolico (a fine diastole) di sangue è di circa 130 ml. Quindi circa 50 ml di sangue restano in ciascun ventricolo alla fine della sistole (volume ventricolare telesistolico). La frazione di eiezione (quantità di sangue che è espulsa dal ventricolo sinistro rispetto al volume telediastolico) spinta fuori ad ogni sistole è pari al 65% e rappresenta un valido indice della funzione ventricolare. Una volta che il miocardio ventricolare ha raggiunto il massimo dell'accorciamento, la pressione intraventricolare, già in discesa, scende più rapidamente. Questo periodo di 0.04 s viene chiamato protodiastole e termina quando le valvole aortica e polmonare si chiudono. Dopo la chiusura delle valvole, la pressione ventricolare continua a scendere durante il periodo noto come rilasciamento ventricolare isovolumetrico, che termina quando la pressione intraventricolare scende sotto quella atriale. Poi le valvole atrioventricolari si riaprono, permettendo ai ventricoli di riempirsi nuovamente. Ha così inizio una nuova diastole. Il miocardio ha la particolarità di contrarsi e rilassarsi tanto più rapidamente quanto più è elevata la frequenza cardiaca e in effetti la durata della sistole decresce da 0.27 s alla frequenza di 65 bpm a soli 0.16 s alla frequenza di 200 bpm. L'accorciamento è dovuto principalmente ad una diminuzione della durata dell'eiezione sistolica. Tuttavia la durata della sistole è molto meno variabile di quella della diastole, e infatti quando la frequenza cardiaca aumenta, i tempi di diastole si riducono in proporzione molto maggiore. Per esempio, ad una frequenza cardiaca di 65 bpm la durata della diastole è di 0.62 s, mentre ad una frequenza di 200 bpm è solamente di 0.14 s. <sup>[4]</sup>

## 2. Segnale elettrocardiografico

### 2.1 Origine

Nel 1855, Kollicker e Mueller scoprirono che quando il cuore denervato di una rana veniva messo in contatto con il nervo motorio di una zampa, questa reagiva con contrazioni seguendo le pulsazioni del cuore. Pensarono quindi che lo stesso stimolo elettrico che spingeva la zampa a muoversi, fosse anche la causa del battito cardiaco. Dalla metà del 1880, Ludwig e Waller, usando un "elettrometro capillare" scoprirono che gli stimoli elettrici che sollecitano il cuore a battere potevano essere monitorati attraverso la pelle di una persona. L'apparecchio in questione era dotato di elettrodi (conduttori in grado di stabilire un contatto elettrico con una zona non metallica, in questo caso con la pelle) e di un tubo capillare posto in un campo elettrico per percepire una debole attività elettrica. All'interno del tubo capillare il livello del liquido variava con il ritmo del battito cardiaco della persona. Circa vent'anni dopo entrò in scena Willem Einthoven che mise in collegamento due elettrodi cutanei (opposti rispetto la posizione del cuore) alle estremità di un filamento argentato, sospeso tra i poli di un magnete. Egli osservò il filamento argentato oscillare seguendo il ritmo del battito cardiaco. Queste evidenze sperimentali lo convinsero a registrare tali risultati proiettando un sottile fascio di luce su un rotolo di carta fotosensibile, in movimento attraverso due fori praticati sui poli del magnete e intersecanti il filamento argentato (fig. 7). I movimenti ritmici del filamento furono registrati sottoforma di onde, che lui denominò in ordine alfabetico P, Q, R, S e T, distinte le



*Fig. 7 – Modello di elettrocardiografo inventato da Einthoven nel 1901. [5]*

une dalle altre e ripetute ciclicamente in sequenza. Con il passare del tempo fu perfezionato il primo strumento utilizzato da Einthoven e acquisì il nome di elettrocardiografo. [5]

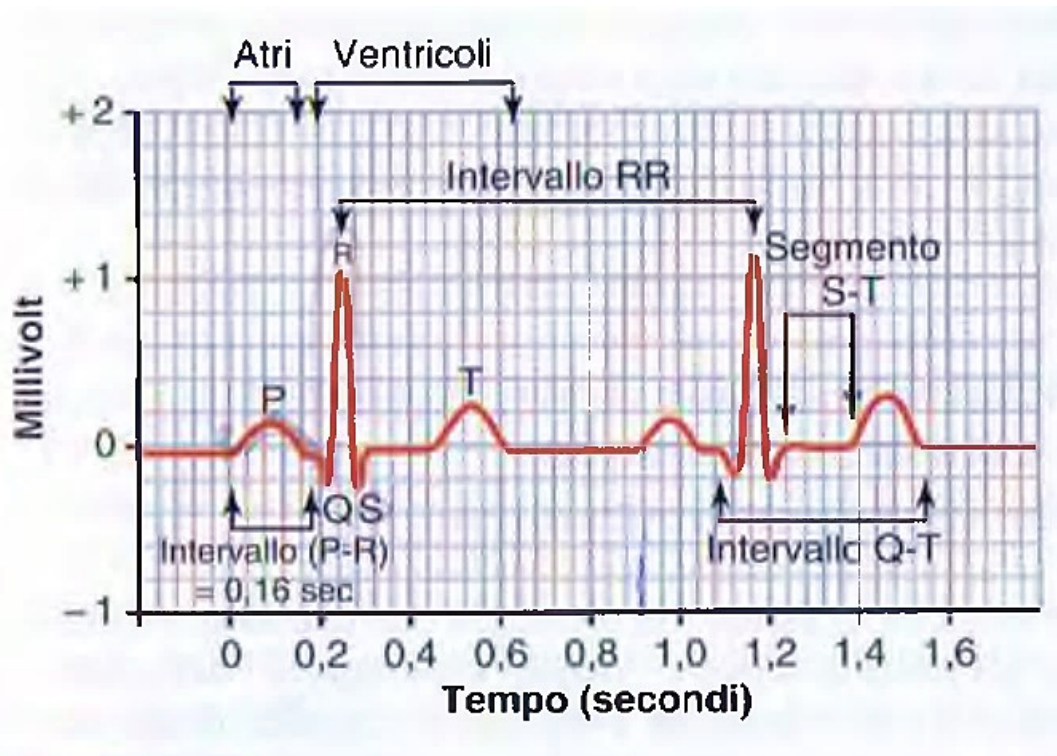
Si tratta di un macchinario in grado di registrare gli impulsi elettrici che stimolano la contrazione del miocardio su un rotolo di carta millimetrata e idoneo a fornire utili informazioni riguardanti la frequenza e il ritmo cardiaco. In particolare, quando l'impulso cardiaco è indirizzato nei vari reparti del cuore, flussi di corrente si propagano dal cuore ai tessuti che li circondano e una piccola parte diffonde fino alla superficie del corpo umano. Ponendo degli elettrodi sulla cute, in opportune posizioni, possono essere registrate le fluttuazioni di potenziale elettrico generate nei diversi siti del cuore (dal NSA fino al miocardio ventricolare) e, dalla loro integrazione, è possibile ottenere l'elettrocardiogramma (ECG).

## 2.2 Morfologia e caratteristiche standard

L'ECG normale (fig. 8) è composto da un'onda P, da un complesso QRS e da un'onda T. L'onda P è la somma delle oscillazioni di potenziale elettrico durante il fronte di depolarizzazione. Il complesso QRS è formato dalla somma dei potenziali elettrici generati durante la depolarizzazione dei ventricoli. Sia l'onda P che il complesso QRS sono definite onde di depolarizzazione. L'onda T è espressa dalla somma dei potenziali elettrici sviluppati durante la ripolarizzazione dei ventricoli. L'onda T viene anche chiamata onda di ripolarizzazione. In alcune fibre il muscolo ventricolare tende a ripolarizzarsi dopo 0.20 s dall'inizio del complesso QRS e in altre dopo 0.35 s, ma in entrambe le situazioni il processo si estende per circa 0.15 s. Anche gli atri si ripolarizzano circa 0.15-0.20 s dopo la fine dell'onda P, approssimativamente quando inizia il complesso QRS. L'onda di ripolarizzazione atriale, nota come onda T atriale, è generalmente oscurata dal complesso QRS di ampiezza notevolmente maggiore. [6]

Tutte le registrazioni elettrocardiografiche sono eseguite su linee di calibrazione di carta millimetrata. Queste linee possono già essere presenti su carta oppure possono essere tracciate nello stesso momento in cui viene registrato l'ECG. Come si vede dalla fig. 8, le linee di calibrazione sia orizzontali che trasversali sono distanziate di 1 mm. Le linee orizzontali sono disposte in modo tale che 10 mm nell'ECG rappresentino una differenza di potenziale di 1 mV. Invece le linee verticali sono linee di tempo e sono suddivise in 5 linee scure verticali per secondo (1 s = 25 mm sulla carta millimetrata), distanziate di 0.20 s. Tra una linea verticale e la successiva sono presenti 5 intervalli





*Fig. 8 – ECG normale in cui sono state menzionate l’onda P, il complesso QRS, l’onda T e gli intervalli P-R, S-T, Q-T e RR. [6]*

da 1 mm, ciascuno dei quali corrisponde a 0.04 s. Su un tracciato elettrocardiografico si riconoscono diversi tipi di intervalli: l’intervallo P-R misura il tempo che intercorre tra l’inizio dell’onda P e l’inizio del complesso QRS (ovvero tra l’inizio della contrazione degli atri e l’inizio dell’eccitazione dei ventricoli) e la sua durata in condizioni normali è di 0.16 s; l’intervallo Q-T dura di solito 0.35, estendendosi dall’inizio del complesso QRS alla fine dell’onda T (periodo di depolarizzazione e ripolarizzazione ventricolare); il segmento S-T, si prolunga dalla fine dell’onda S all’inizio dell’onda T e considera la fase in cui i ventricoli sono completamente depolarizzati; in maniera analoga il segmento P-R è proteso dalla fine dell’onda P all’inizio del complesso QRS e sottolinea il momento di completa depolarizzazione degli atri. [6]

### 2.3 Derivazioni

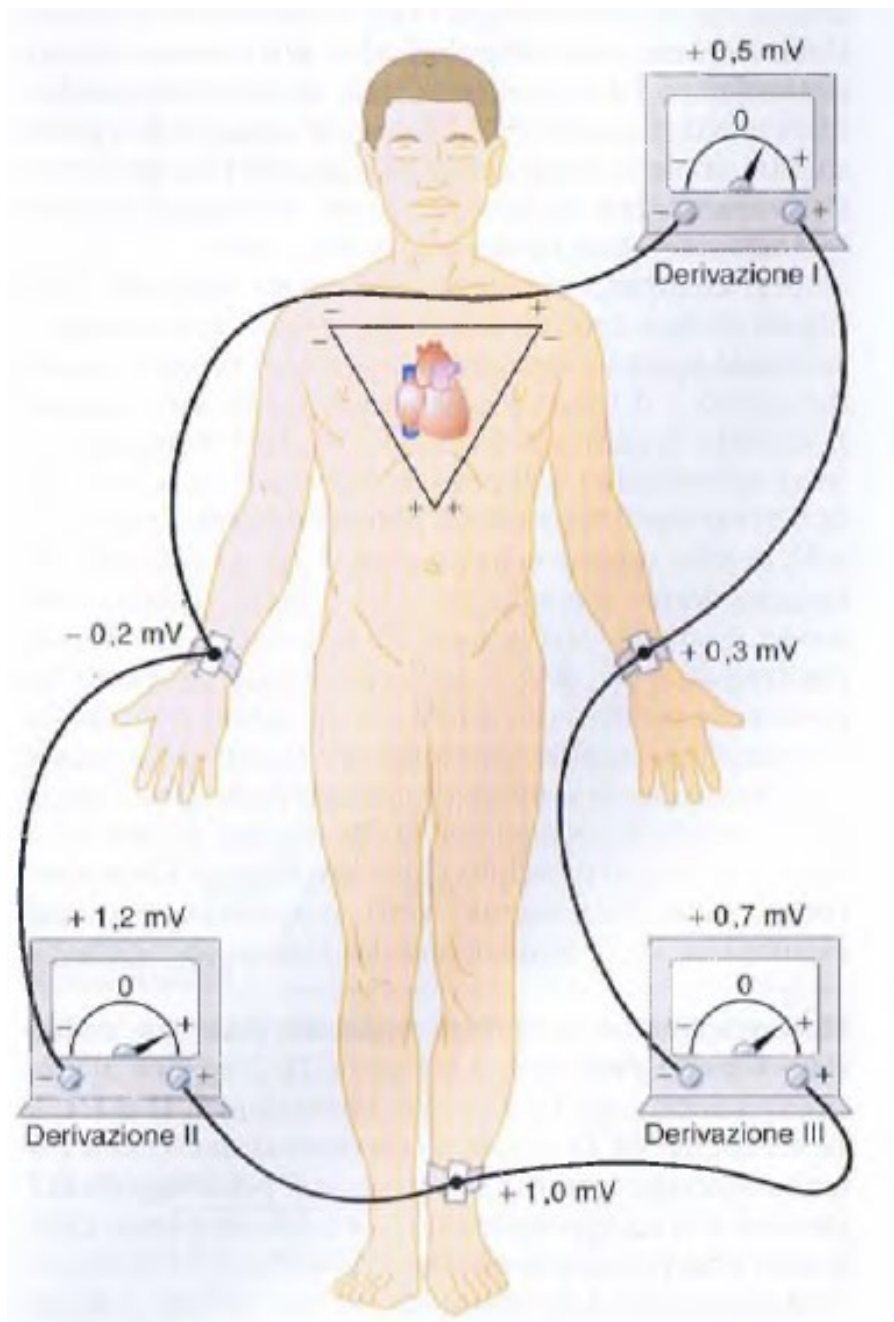
Per registrare un segnale elettrocardiografico è necessario un collegamento elettrico con la superficie del paziente tramite elettrodi. Le connessioni rispettano chiari schemi di derivazioni. Per derivazione si intende la combinazione di due fili e degli elettrodi (uno positivo e uno negativo) che



formano un circuito completo tra il corpo e l'elettrocardiografo. In totale sono previste 12 derivazioni: 3 bipolari agli arti, 6 precordiali e 3 unipolari aumentate agli arti. <sup>[6]</sup>

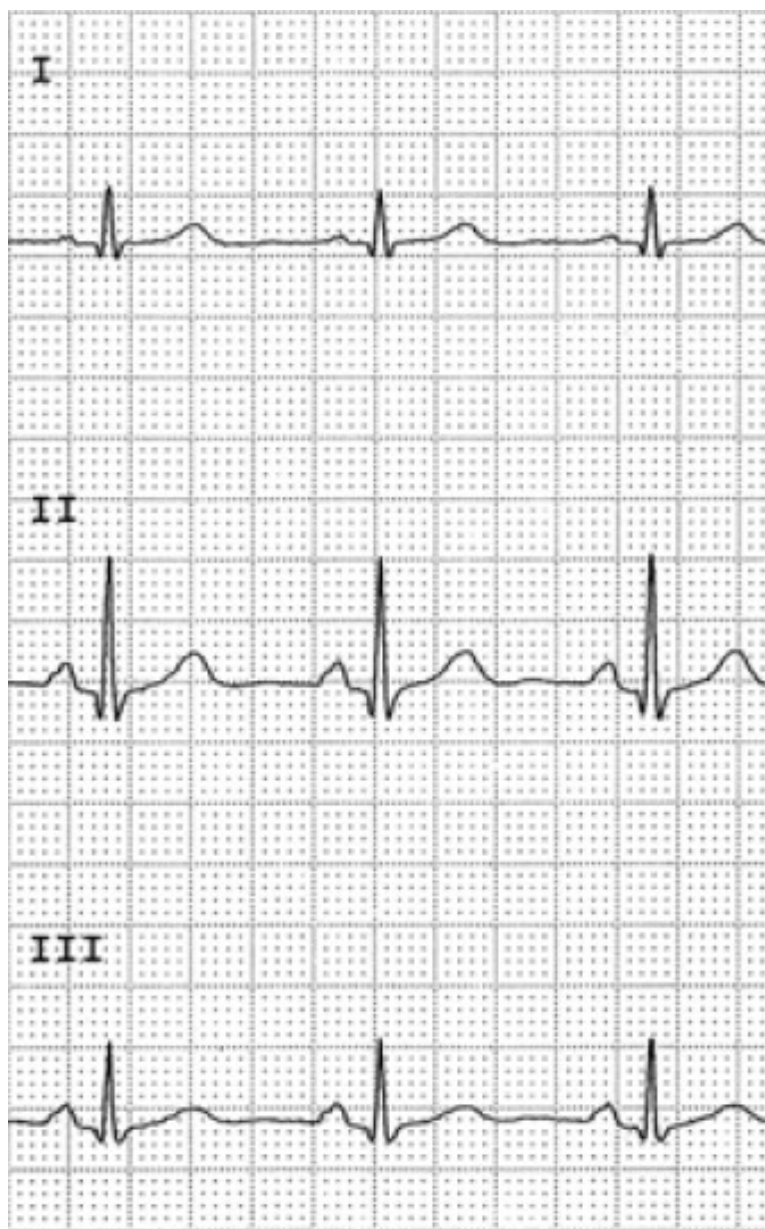
Nelle 3 derivazioni bipolari agli arti (fig. 9): la derivazione I è costituita da due elettrodi collegati al braccio destro (negativo) e al braccio sinistro (positivo); la derivazione II dai due elettrodi collegati al braccio destro (negativo) e alla gamba sinistra (positiva); la derivazione III dai due elettrodi collegati al braccio sinistro (negativo) e alla gamba sinistra (positiva). Tutti gli elettrocardiografi sono inoltre dotati dell'elettrodo gamba destra, che funge da messa a terra e non produce alcun tracciato elettrocardiografico. Le 3 derivazioni bipolari agli arti formano il triangolo di Einthoven (fig. 9), equilatero, con i tre vertici situati sulle radici degli arti (spalla sinistra, spalla destra e pube che semplificano il collegamento degli elettrodi sul braccio sinistro, braccio destro e gamba destra, essendo per la loro estensione ad arto, conduttori di corrente) e il centro occupato dal cuore. La legge di Einthoven afferma che se i potenziali elettrici registrati da due qualsiasi delle tre derivazioni bipolari agli arti sono noti in un istante, il terzo può essere matematicamente calcolato semplicemente sommando i primi due. Per esempio, assumendo che il braccio destro sia a -0.2 mV e il braccio sinistro a +0.3 mV e la gamba sinistra +1.0 mV. Osservando i voltmetri in fig. 9, la derivazione I registra un potenziale positivo di +0.5 mV, la derivazione II un potenziale di +1.2 mV e la derivazione III un potenziale di +0.7 mV. Si noti che la somma dei voltaggi nelle derivazioni I e III uguaglia il voltaggio nella derivazione II. Questo principio rimane valido in qualunque istante durante la registrazione degli ECG nelle tre derivazioni bipolari agli arti (fig. 10). <sup>[6]</sup>

Nelle derivazioni precordiali (fig. 11) invece, un elettrodo positivo, posizionato in uno dei punti convenzionali direttamente sopra il cuore, è collegato tramite il suo terminale all'elettrocardiografo, mentre l'elettrodo negativo, chiamato elettrodo indifferente è collegato tramite resistenze elettriche al braccio destro, al braccio sinistro e alla gamba sinistra. Di solito vengono registrate sei derivazioni precordiali a favore dei sei elettrodi positivi V<sub>1</sub>, V<sub>2</sub>, V<sub>3</sub>, V<sub>4</sub>, V<sub>5</sub> e V<sub>6</sub>. V<sub>1</sub> è collocata nel quarto spazio intercostale parasternale di destra, V<sub>2</sub> nel quarto spazio intercostale parasternale di sinistra, V<sub>4</sub> nel quinto spazio intercostale nell'emiclaveare di sinistra, V<sub>3</sub> nello spazio fra V<sub>2</sub> e V<sub>4</sub>, V<sub>5</sub> nel quinto spazio intercostale nell'ascellare anteriore di sinistra, V<sub>6</sub> nel quinto spazio intercostale nell'ascellare media di sinistra. Ciascuna delle sei derivazioni precordiali registra il potenziale elettrico immediatamente al di sotto dell'elettrodo posizionato sul torace. Quindi nelle derivazioni precordiali le anomalie ventricolari sono spesso rintracciabili con un'alterazione importante degli ECG. Nei tracciati elettrocardiografici delle derivazioni V<sub>1</sub>, V<sub>2</sub> e V<sub>3</sub>, i complessi QRS del cuore sono



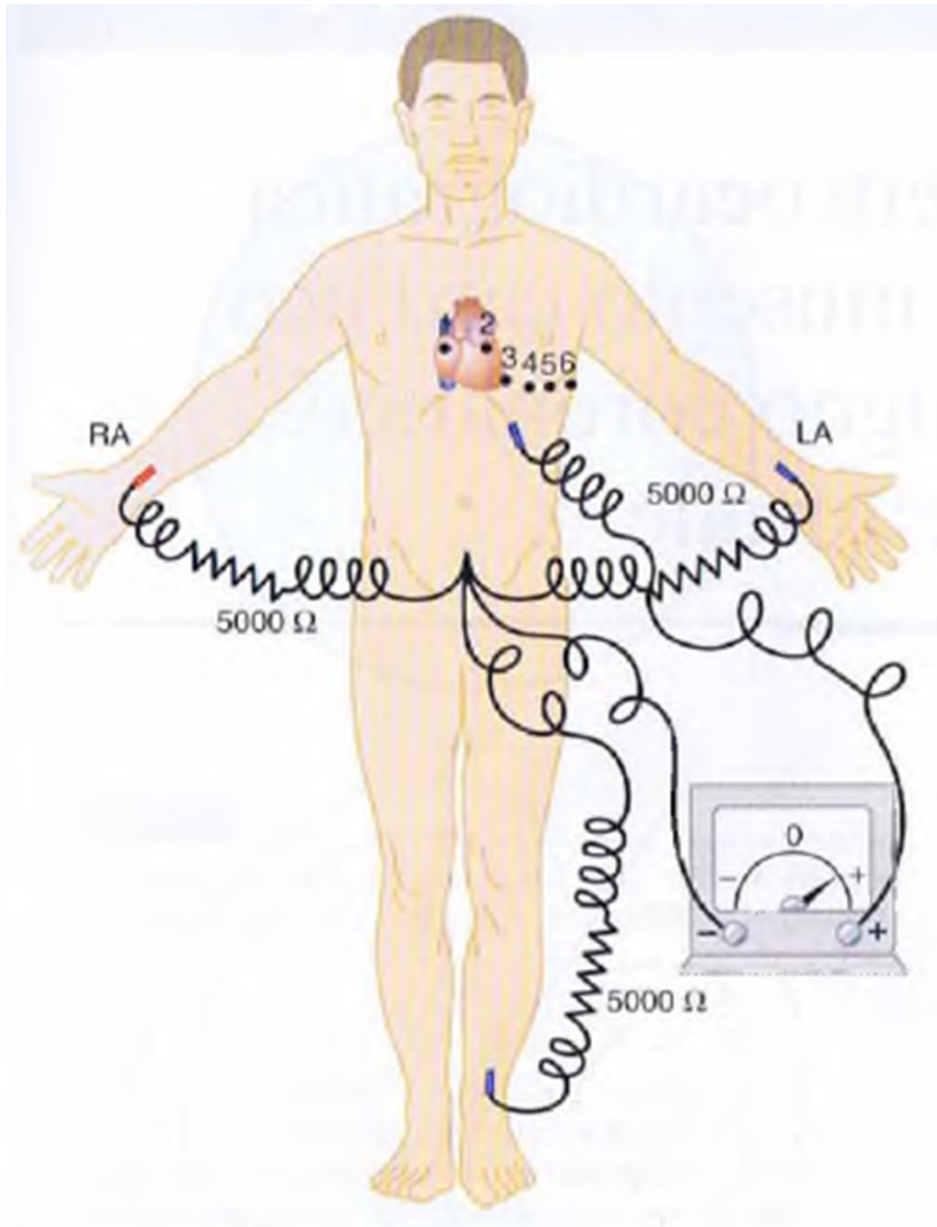
**Fig. 9** – Organizzazione degli elettrodi per le derivazioni bipolari agli arti e schema elettrico del triangolo di Einthoven. Nonostante nella realtà l'elettrocardiografo sia composto da un unico voltmetro ad alta velocità, nella figura viene rappresentato da tre voltmetri ciascuno dei quali collegato a una coppia di elettrodi. <sup>[6]</sup>

negativi poiché i loro elettrodi toracici sono più vicini alla base che all'apice del cuore e l'elettronegatività è diretta verso la base durante la depolarizzazione ventricolare. Al contrario nelle derivazioni V<sub>4</sub>, V<sub>5</sub> e V<sub>6</sub>, i complessi QRS sono positivi perché i loro elettrodi toracici sono più vicini

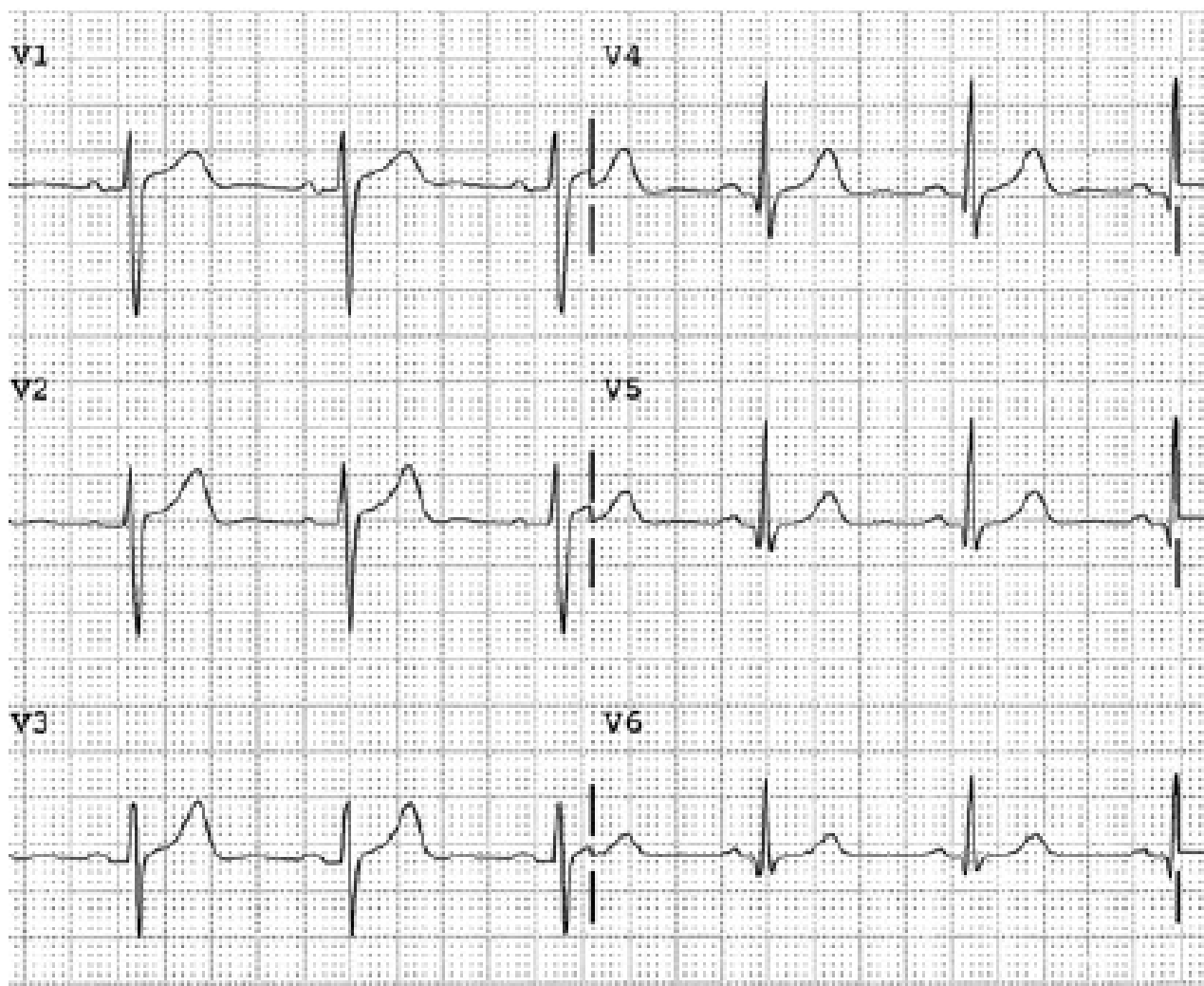


**Fig. 10** – Esempi di ECG registrati nelle tre derivazioni bipolari agli arti di un soggetto sano con un ritmo cardiaco di 65 bpm. <sup>[7]</sup>

all'apice del cuore. L'ultimo sistema è quello delle derivazioni unipolari aumentate dove l'elettrodo negativo è collegato tramite resistenze elettriche a due dei tre arti del triangolo di Einthoven (braccio destro, braccio sinistro e gamba sinistra), mentre il terzo è rappresentato dall'elettrodo positivo. Quando l'elettrodo positivo è sul braccio destro la derivazione è chiamata aVR, quando si trova sul braccio sinistro aVL e quando si trova sulla gamba sinistra aVF. La fig. 13 mostra le registrazioni elettrocardiografiche nelle derivazioni unipolari aumentate agli arti. <sup>[6]</sup>



**Fig. 11** – Organizzazione degli elettrodi per le derivazioni precordiali. <sup>[6]</sup>



**Fig. 12** – Esempi di ECG registrati nelle sei derivazioni precordiali di un soggetto sano con un ritmo cardiaco di 65 bpm. <sup>[7]</sup>



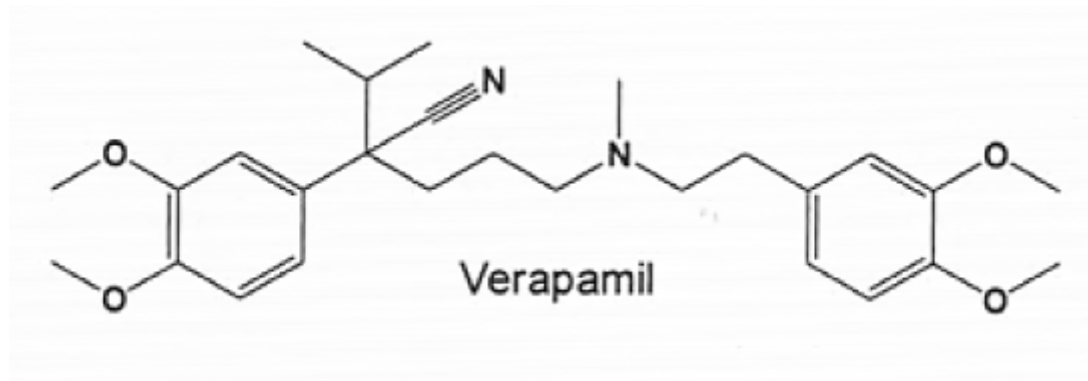
**Fig. 13** – Esempi di ECG registrati nelle tre derivazioni unipolari aumentate agli arti di un soggetto sano con un ritmo cardiaco di 65 bpm. <sup>[7]</sup>

### 3. Verapamil

#### 3.1 Composizione e destinazione d'uso

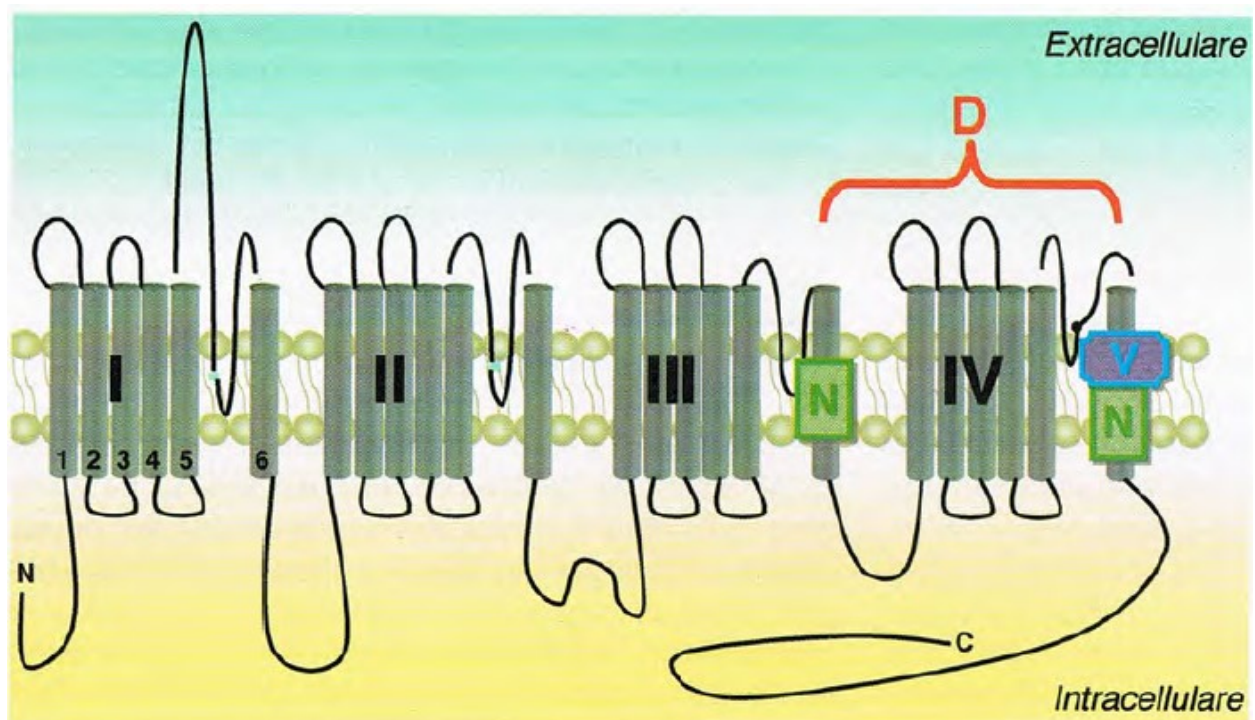
Il Verapamil (fig. 14) è un principio attivo (componente principale di un farmaco che esplica l'azione curativa e di solito combinata con un secondo elemento inattivo, l'eccipiente, che conferisce al farmaco una determinata forma e volume e ne facilita l'assunzione o l'assorbimento da parte dell'organismo) di una classe di farmaci, chiamati calcioantagonisti, o anche bloccanti dei canali del  $\text{Ca}^{2+}$  (calcium channel blockers, CCB), utilizzati per patologie cardiovascolari ad alto impatto epidemiologico (angina pectoris, ipertensione, aritmie cardiache, quali fibrillazione e flutter atriale e tachicardia sopraventricolare parossistica) e per alcune specifiche indicazioni extracardiovascolari. I CCB hanno come bersaglio i canali del  $\text{Ca}^{2+}$  di tipo L (chiamati così perché possono rimanere aperti per tempi più lunghi) agganciandosi al sito di legame formato dalla subunità  $\alpha$ -1c che definisce la parte funzionale del canale (forma il poro attraverso cui gli ioni  $\text{Ca}^{2+}$  penetrano all'interno della cellula durante il potenziale d'azione). La fig. 15 mostra la struttura della proteina  $\alpha$ -1c distesa con i tre siti amminoacidici (D, N e V) sui quali si inseriscono le diverse famiglie dei CCB. Le fenilalchilamine (V), gruppo chimico del Verapamil, prendono posizione sul segmento 6 del IV dominio. I canali del  $\text{Ca}^{2+}$  di tipo L si trovano in molti tessuti e tipi cellulari, in particolare nelle cellule muscolari cardiache di lavoro e specializzate, nelle cellule muscolari lisce vascolari dei distretti venosi e arteriosi, in quelle dell'apparato respiratorio, gastrointestinale e genitourinario, in cellule con funzione secernente quali ghiandole esocrine ed endocrine, nelle piastrine e nei leucociti. [8]

Tutte le famiglie dei CCB hanno una maggiore affinità per i canali del  $\text{Ca}^{2+}$  di tipo L nel loro stato di inattivazione (chiusura del canale che impedisce il transito degli ioni). In particolare, il Verapamil ha anche affinità per lo stato di attivazione (apertura del canale ionico) del canale del  $\text{Ca}^{2+}$  di tipo L. Una volta che si è realizzata la connessione del Verapamil con la subunità  $\alpha$ -1c ed è sopraggiunta la



**Fig. 14** – Struttura chimica del Verapamil (formula chimica =  $\text{C}_{27}\text{H}_{38}\text{N}_2\text{O}_4$ ). [8]

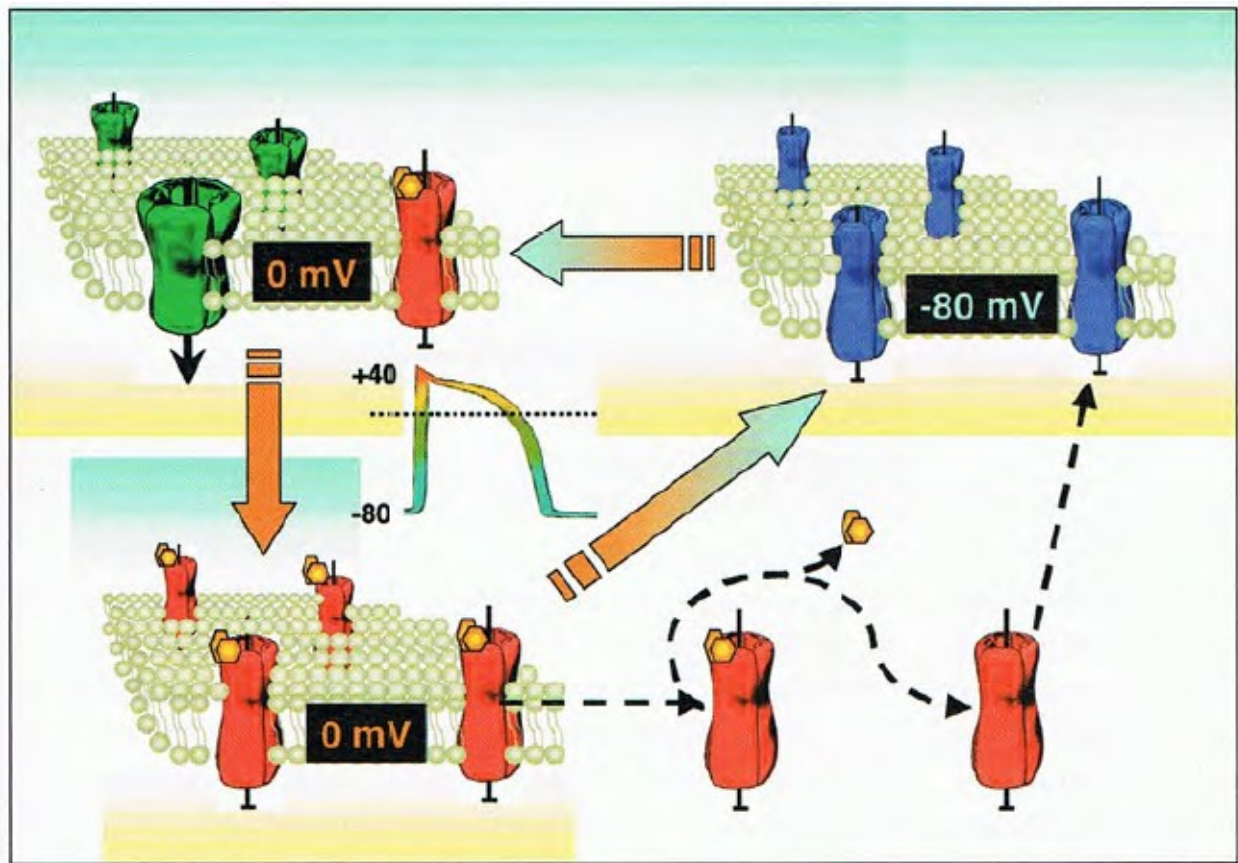




**Fig. 15** – Struttura della proteina  $\alpha$ -1c distesa del canale del  $\text{Ca}^{2+}$  di tipo L con i siti di legame per le tre grandi classi chimiche dei calcioantagonisti. Le fenilalchilamine (in blu e con la lettera V per il Verapamil) si legano al segmento 6 del IV dominio, le benzotiazepine (in rosso e con la lettera D per il Diltiazem) che si legano alla porzione tra il III e il IV dominio e le diidropiridine (in verde e con la lettera N per la Nifedipina) che si uniscono al segmento 6 dei domini III e IV. <sup>[8]</sup>

fase di inattivazione, il canale del  $\text{Ca}^{2+}$  di tipo L deve prima dissociarsi dal principio attivo per ritornare allo stato di riposo ed essere disponibile ad una nuova attivazione. Pertanto il lento recupero del canale dalla sua inattivazione induce una riduzione del numero di canali disponibili ad aprirsi dopo ogni ciclo del potenziale d'azione (fig. 16). Questo meccanismo realizza un ridotto ingresso di  $\text{Ca}^{2+}$  nella cellula, assicura un minor rilascio di  $\text{Ca}^{2+}$  dal reticolo sarcoplasmatico (regola la concentrazione degli ioni  $\text{Ca}^{2+}$  attorno le miofibrille dei miociti) e una minore attivazione del complesso actina-miosina, struttura funzionale per la contrazione muscolare. L'effetto sul sistema cardiovascolare è un rilassamento della muscolatura vasale, in particolare quella arteriosa, attraverso un'attenuazione delle resistenze periferiche (resistenza dei vasi al movimento del sangue all'interno del sistema circolatorio) e un effetto inotropo negativo a livello cardiaco (diminuzione della forza contrattile del muscolo cardiaco). Nelle cellule del NSA e del NAV la corrente di ioni  $\text{Ca}^{2+}$ , determinata dall'apertura dei canali di  $\text{Ca}^{2+}$  tipo L, è fondamentale per la salita del potenziale





**Fig. 16** – Rappresentazione dei vari stati del canale del  $\text{Ca}^{2+}$  di tipo L in funzione del potenziale di membrana. Quando il potenziale è negativo, circa  $-80 \text{ mV}$ , il canale è chiuso e in uno stato di riposo (in blu); una depolarizzazione (insorgenza di un potenziale d'azione) provoca l'attivazione del canale (in verde e avviene a circa  $-20 \text{ mV}$ ) permettendo l'ingresso all'interno della cellula degli ioni  $\text{Ca}^{2+}$ ; successivamente, superato il plateau, il canale spontaneamente si chiude (in rosso), raggiungendo un recupero verso lo stato di riposo attraverso la ripolarizzazione. Gli esagoni di colore giallo rappresentano i CCB che si legano al sito di legame dei canali del  $\text{Ca}^{2+}$  di tipo L durante la loro fase di inattivazione (ma anche di attivazione per il Verapamil) e che si dissociano prima del ritorno del canale nello stato di riposo. [8]

d'azione e per l'ultima fase della depolarizzazione diastolica. Quindi nel sistema di conduzione elettrica del cuore il Verapamil rallenta la frequenza di scarica delle cellule del NSA e la conduzione atrioventricolare, aumentandone la refrattarietà (periodo nel quale non si riesce ad innescare un nuovo potenziale d'azione). [8]

Invece i canali del  $\text{Ca}^{2+}$  di tipo L colpiti da un CCB nei neuroni e nelle cellule gliali del sistema nervoso,

impediscono un eccessivo influsso di ioni  $\text{Ca}^{2+}$  a vantaggio di azioni neuroprotettive in grado di rallentare o prevenire la morte neuronale e assicurare le fisiologiche funzioni cellulari. [9]

Oltre al canale del  $\text{Ca}^{2+}$  di tipo L, il canale hERG (gene che codifica la subunità  $\alpha$  del canale del  $\text{K}^+$ , responsabile della genesi dei pori del canale) del  $\text{K}^+$  è un altro bersaglio del Verapamil e il suo blocco impedisce la conduzione della corrente rapida  $I_{kr}$  responsabile della ripolarizzazione del potenziale d'azione ventricolare. La soppressione di questo tipo di corrente prolunga la durata del potenziale d'azione, aumenta il periodo di refrattarietà e può portare allo sviluppo della sindrome del Q-T lungo (ritardo nella ripolarizzazione delle cellule miocardiche che può indurre aritmie maligne o arresti cardiaci). Il Verapamil attraverso il blocco ulteriore dei canali del  $\text{Ca}^{2+}$  di tipo L può contrastare il possibile prolungamento dell'intervallo Q-T indotto dal blocco del canale hERG del  $\text{K}^+$  e la generazione di una post depolarizzazione precoce (meccanismo che conduce a tachicardia ventricolare). Successivamente, una volta che il potenziale d'azione ha raggiunto valori di riposo, il principio attivo si allontanerà dal sito di legame sul canale hERG del  $\text{K}^+$ . [10]

### 3.2 Posologia ed effetti collaterali

Il Verapamil viene assunto con formulazioni a lento rilascio che consentono una singola somministrazione giornaliera sia per via orale che per via endovenosa. Il dosaggio giornaliero per questo tipo di formulazioni varia tra i 120-480 mg e in accordo con il tipo di azione terapeutica desiderata. Si registra massima concentrazione del principio attivo nel sangue dopo 1-2 ore ( $T_{max}$ ) dalla sua assunzione e una biodisponibilità del Verapamil del 20-35%. La biodisponibilità indica, in percentuale, il grado e la velocità con cui la forma attiva di un farmaco raggiunge la circolazione sistemica acquisendo così la capacità di accedere ai suoi siti d'azione (il canale del  $\text{Ca}^{2+}$  di tipo L e il canale hERG del  $\text{K}^+$  per il Verapamil). L'emivita ( $T_{1/2}$ ) è un altro parametro farmacocinetico e rappresenta il tempo richiesto per ridurre del 50% la concentrazione plasmatica del principio attivo che per il Verapamil si attesta tra le 4.5 e le 12 h. [8]

I CCB in generale sono ben tollerati e le reazioni avverse in genere sono riconducibili ad un aumentato effetto farmacologico legato al dosaggio. Tutti i CCB possono dare ipotensione, a causa della repentina e apprezzabile vasodilatazione, e edema periferico, dovuto alla dilatazione arteriolare. Il Verapamil in più può causare anche un blocco AV, cardiodepressione, stipsi, nausea, vertigini, emicrania. [8]

### 3.3 Farmacodinamica: comportamento all'interno del nostro organismo

Tutti i calcioantagonisti causano vasodilatazione e diminuzione della pressione arteriosa, tuttavia, sottoclassi come le fenilalchilamine presentano effetti diversi su altri parametri emodinamici. Nonostante tutti i CCB deprimono in vitro la contrattilità miocardica, solo per il Verapamil e per il Dilitiazem tale effetto ha una rilevanza clinica. Infatti entrambi modificano il tempo di conduzione atrioventricolare e la frequenza spontanea in vitro del NSA, attenuandoli. In vivo, in genere non cambiano la frequenza cardiaca del NSA, ma se lo fanno inducono bradicardia (riduzione della frequenza cardiaca al di sotto dei 60 bpm).<sup>[8]</sup>

### 3.4 Somministrazioni a pazienti particolari

Negli anziani il Verapamil è efficace e tollerabile. La concentrazione plasmatica di Verapamil, il suo effetto antipertensivo e la sua azione bradicardizzante possono risultare maggiori, a parità di dose in un anziano rispetto ad un individuo giovane, a causa delle variazioni del suo metabolismo epatico e intestinale legate all'invecchiamento. Nonostante ciò l'effetto sulla conduzione atrioventricolare rimane invariato.<sup>[8]</sup>

I CCB sono anche utilizzati per trattare ipertensione, aritmie e preeclampsia (lo sviluppo o il peggioramento dell'ipertensione già esistente) durante la gravidanza e l'allattamento. Tutt'ora, sui pochi dati a disposizione, non è stato ancora dimostrato che possano aumentare il rischio di effetto teratogeno sul feto. Invece gli studi condotti dal LactMed e dall'American Academy of Pediatrics confermano la compatibilità dei CCB durante l'allattamento.<sup>[11]</sup>

### 3.5 Interazioni farmacologiche

I CCB sono metabolizzati da un enzima "aspecifico" come il CYP3A e interferiscono sull'assorbimento di molti altri farmaci. In generale il Verapamil rallenta la clearance (capacità del rene di smaltire il principio attivo di un farmaco) di Carbamazepina, Ciclosporina, Lovastatina, Simvastatina, Midazolam, Triazolam e Astemizolo, conservando le loro concentrazioni plasmatiche e di conseguenza i loro effetti terapeutici o tossici. Una delle interazioni più importanti è quella con la Digossina, principio attivo che aumenta la forza e la velocità di contrazione del miocardio (effetto

inotropo positivo). Il Verapamil agisce sulla Digossina diminuendo il suo volume di distribuzione all'interno dell'organismo. [8]

## 4. Alternanza dell'onda T

### 4.1 Storia

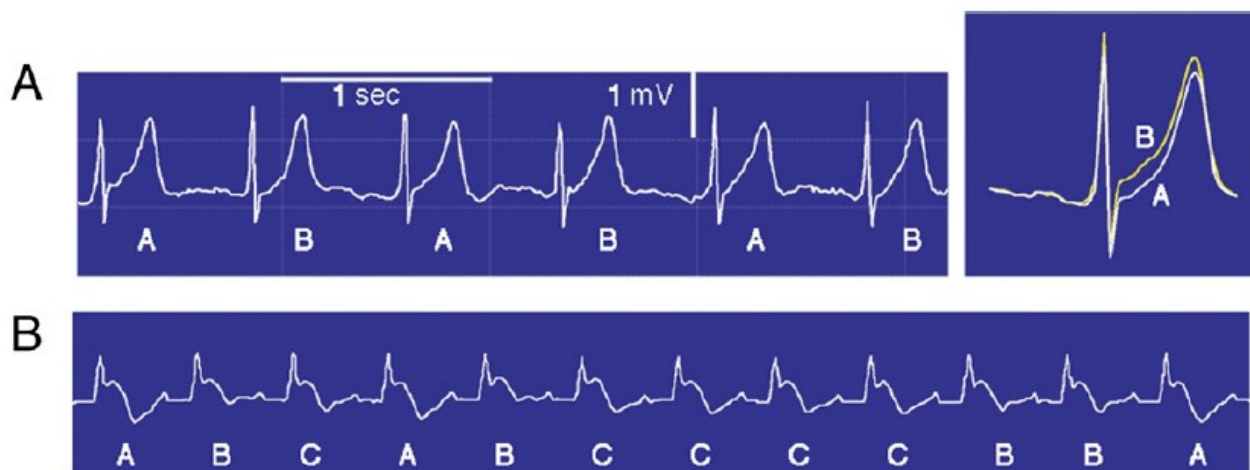
La morte cardiaca improvvisa (Sudden Cardiac Death, SDC) in virtù, prevalentemente, di aritmie come la fibrillazione ventricolare o la tachicardia ventricolare, provoca ogni anno oltre 400.000 morti, solamente negli Stati Uniti e rimane ancora oggi una delle più grandi sfide che coinvolgono il mondo intero. Negli ultimi decenni è stato raggiunto un elevato progresso nello sviluppo di procedure terapeutiche per impedire la SDC e sebbene la profilassi con il defibrillatore impiantabile (dispositivo che viene posizionato sotto la pelle dei pazienti a rischio e che, collegato al cuore mediante elettrocateri riesce autonomamente a percepire il momento in cui il ventricolo va in fibrillazione e a erogare uno shock elettrico per ripristinare il ritmo cardiaco normale) sia estremamente efficace, rimane ancora oggi difficile identificare gli individui che dovrebbero ricevere tale terapia. Per questo risulta indispensabile definire test diagnostici e indicatori di rischio che stabiliscono con anticipo l'insorgere di aritmie e il grado di pericolo per una SDC.

L'alternanza dell'onda T (in inglese: T-Wave Alternans, TWA) è un promettente indice elettrocardiografico che riconosce individui ad alto rischio di aritmie ventricolari e perciò vulnerabili alla SDC. <sup>[12]</sup>

La TWA è una variazione periodica, tra un battito cardiaco e il successivo, della morfologia (ampiezza, forma o polarità) dell'onda T in un tracciato elettrocardiografico secondo un pattern ABABAB (fig. 17). Il pattern ABABAB definisce una sorta di impronta caratteristica per distinguerlo da altri tipi di variabilità. <sup>[13]</sup>

Una visibile TWA è stata segnalata per la prima volta all'inizio del 1908 nelle osservazioni di Hering e Lewis durante una tachicardia. Successivamente la stessa è stata riportata in pazienti esposti a ischemia, sindrome del Q-T lungo e anomalie elettrolitiche che avevano preceduto l'insorgenza di aritmie e tachicardie ventricolari. Eppure la TWA è rimasta per molto tempo un aspetto raramente rilevabile con il semplice utilizzo di un ECG di superficie (lettura macroscopica del suo tracciato) e per questo considerata più una "curiosità elettrocardiografica" che un vero e proprio indicatore di rischio. <sup>[10]</sup>

In anni più recenti, grazie a nuovi metodi digitali di elaborazione del segnale elettrocardiografico è stata registrata una TWA basata su oscillazioni nell'ordine dei microvolt ( $\mu\text{V}$ ), invisibili ad occhio nudo. Su questo sfondo si ipotizzò che la TWA fosse in realtà un fenomeno assai più frequente di quanto si potesse pensare e non sempre identificabile macroscopicamente. <sup>[14]</sup>



**Fig. 17** – Riquadro A: tracciato elettrocardiografico nella derivazione precordiale  $V_4$  con il pattern ABABAB della TWA (a sinistra) e il confronto tra il complesso QRS e l'onda T nel battito di tipo A e di tipo B (a destra) durante un test su un paziente affetto da una malattia all'arteria coronaria. L'immagine a destra è ad alta risoluzione e con un buon allineamento dei complessi QRS, ma una variazione in ampiezza abbastanza significativa delle due onde T, di circa  $106 \mu\text{V}$ . Riquadro B: tracciato elettrocardiografico con una variabilità e un pattern differente al tipo ABABAB della TWA a seguito della somministrazione di ajmalina (farmaco) in un paziente affetto da sindrome di Brugada. <sup>[13]</sup>

L'individuazione della TWA, sulla scala dei microvolt ( $\mu\text{V}$ ), fu definita microvolt TWA (MTWA). <sup>[12]</sup>

#### 4.2 Ruolo in ambito clinico

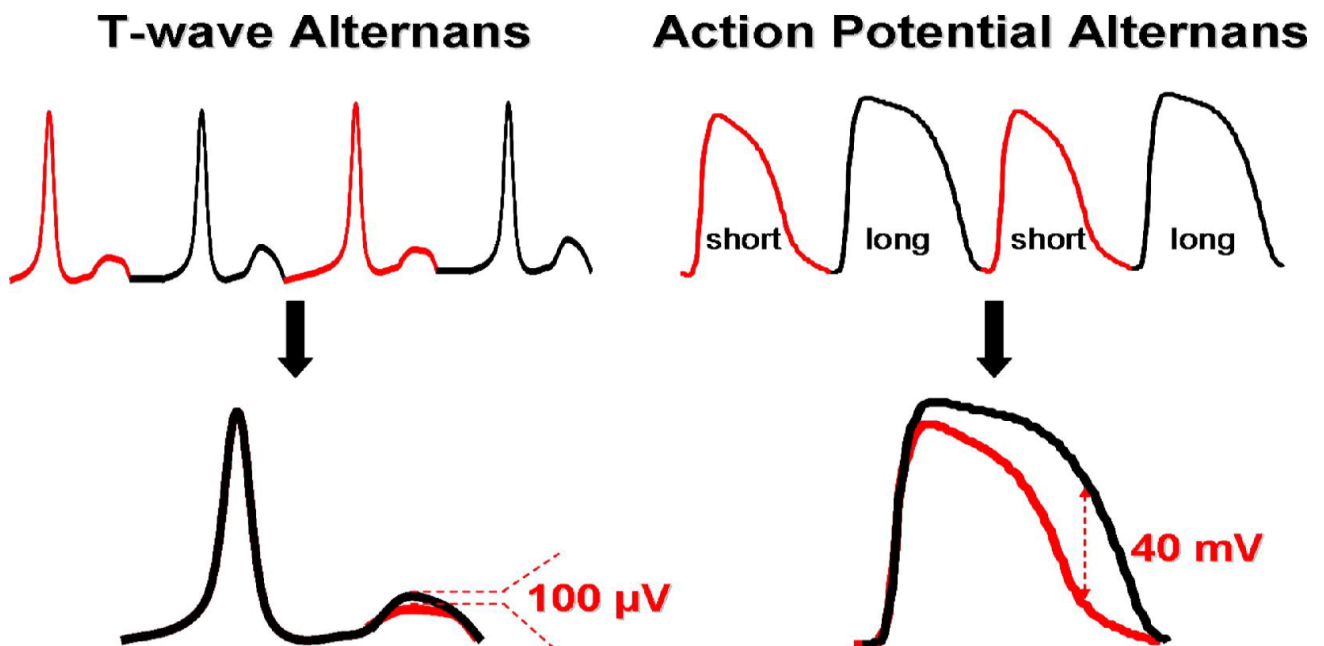
La capacità della TWA di valutare il rischio di tachicardia e fibrillazione ventricolare si basa su riferimenti elettrofisiologici, infatti questo tipo di variabilità riflette il grado di eterogeneità della ripolarizzazione dei ventricoli e di alterazione del ciclo del  $\text{Ca}^{2+}$  intracellulare. <sup>[15]</sup>

In un ciclo standard, per avviare la contrazione miocardica, il  $\text{Ca}^{2+}$  viene rilasciato dal reticolo sarcoplasmatico attraverso il recettore della rianodina di tipo 2 (RyR2), mentre il rilassamento del muscolo cardiaco avviene per ricaptazione di  $\text{Ca}^{2+}$  nel reticolo sarcoplasmatico sfruttando l'enzima  $\text{Ca}^{2+}$  ATPasi (SERCA 2, per il tessuto muscolare cardiaco). In una situazione di normalità, la quantità di  $\text{Ca}^{2+}$  rilasciata è uguale alla quantità di  $\text{Ca}^{2+}$  riassorbita dal reticolo sarcoplasmatico. Condizioni fisiologiche e azioni farmacologiche che interrompono questo equilibrio provocano lo sviluppo della

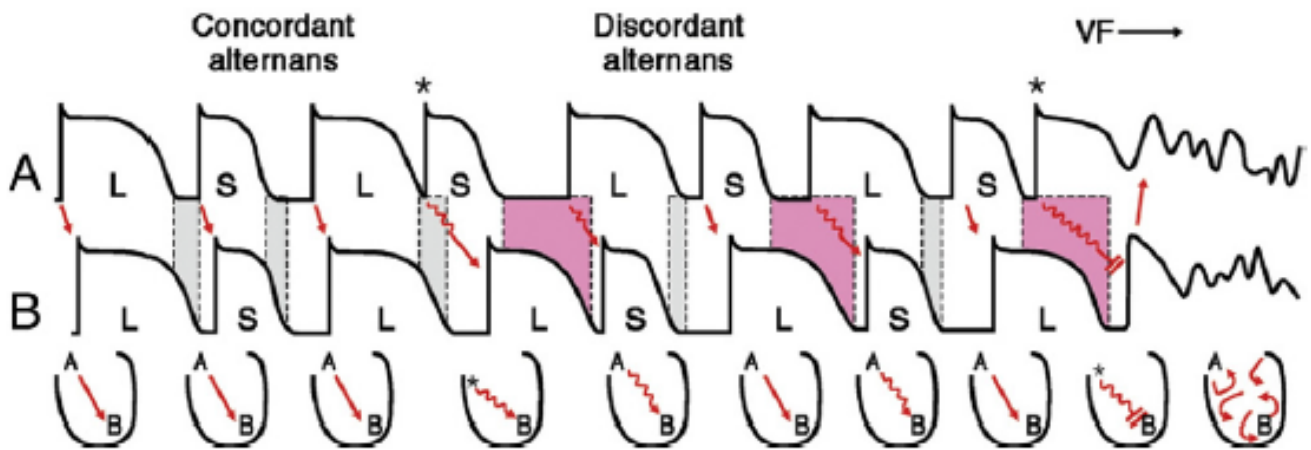
TWA. La riduzione del numero di ioni  $\text{Ca}^{2+}$  rilasciati dal reticolo sarcoplasmatico in risposta all'assunzione di Verapamil potrebbe determinare uno squilibrio del ciclo del  $\text{Ca}^{2+}$  intracellulare che a sua volta potrebbe innescare la TWA. In particolare, l'instabilità del ciclo del  $\text{Ca}^{2+}$  si traduce, esternamente, sul tracciato elettrocardiografico nella TWA e all'interno dell'organismo nell'alternanza, tra un battito cardiaco e il successivo, della durata del potenziale d'azione (in inglese: Action Potential Duration Alternans, APDA) ventricolare (fig. 18).<sup>[15]</sup>

L'APDA ventricolare può concordare spazialmente tra siti ventricolari vicini se in fase, altrimenti risulta discorde se fuori fase. La progressione da un'alternanza concorde a una discorde aumenta il rischio di sviluppare aritmie ventricolari maligne (fig. 19).<sup>[13]</sup>

L'APDA ventricolare discordante può essere innescata dalla comparsa di battiti prematuri, da gradienti funzionali e/o anatomici e da cambiamenti nella durata e nella velocità di conduzione del potenziale d'azione ventricolare, a partire proprio dall'effetto sul ciclo del  $\text{Ca}^{2+}$  intracellulare.



**Fig. 18** – A sinistra, la TWA riconoscibile su un tracciato elettrocardiografico e a destra, l'APDA ventricolare che segue un pattern S-L-S-L. L'ampiezza della TWA, in microvolt ( $\mu\text{V}$ ), è di 3 ordini di grandezza più bassa rispetto l'ampiezza dell'APDA ventricolare espressa, invece, in millivolt (mV). L = lunga durata del potenziale d'azione; S = breve durata del potenziale d'azione.<sup>[15]</sup>



*Fig. 19 – L'APDA registrata in 2 siti ventricolari differenti (A e B). Quando nei 2 siti le alternanze sono in fase (L-L e S-S) si genera una bassa dispersione della ripolarizzazione (regioni colorate in grigio). La comparsa di un battito prematuro porta fuori fase l'alternanza in cambio di un'alta dispersione della ripolarizzazione (regioni colorate in rosso). La progressione da un'alternanza concorde a una discorde produce una fibrillazione ventricolare (VF nella figura). \* = battiti prematuri; L = lunga durata del potenziale d'azione; S = breve durata del potenziale d'azione. <sup>[13]</sup>*

L'ampiezza della TWA cresce all'aumentare dei battiti cardiaci, dei battiti ventricolari prematuri e con occlusioni e riperfusioni nell'arteria coronaria, stimolazioni adrenergiche e stress mentale. Diminuisce invece attraverso il blocco dei recettori beta-adrenergici, la denervazione simpatica cardiaca, la stimolazione del nervo vago e del midollo spinale. Anche cambiamenti nel substrato miocardico e l'azione di particolari neurotrasmettitori autonomi possono condurre la TWA ad alti livelli, durante uno stabile ritmo cardiaco. <sup>[13]</sup>

### 4.3 Tecniche di rilevazione

Per analizzare le oscillazioni dell'onda T in un ECG è necessario utilizzare processi di elaborazione del segnale ad hoc. Tra le tante metodologie di elaborazione del segnale, ci si soffermerà particolarmente sul metodo correlativo.

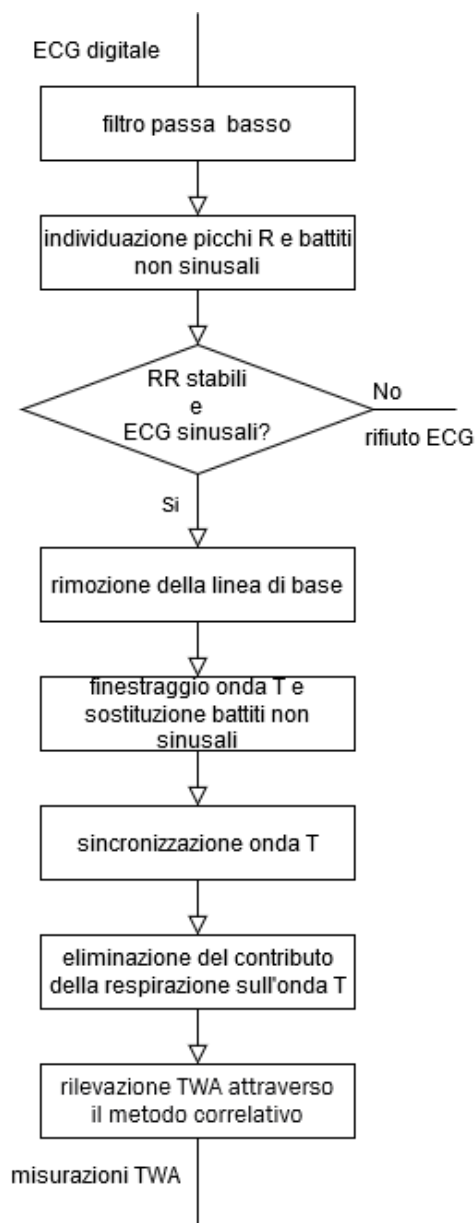
#### 4.3.1 Metodo correlativo

Il metodo correlativo è stato progettato per analizzare ECG contenenti 128 battiti consecutivi da registrazioni acquisite con una frequenza di campionamento di 1000 Hz. <sup>[16]</sup>



Con opportune modifiche il metodo correlativo può anche essere usato per identificare la TWA in registrazioni elettrocardiografiche di lunghezza inferiore e più bassa frequenza di campionamento. Gli ECG devono essere sottoposti a una pre-elaborazione prima di essere analizzati per rilevare la TWA (fig. 20).<sup>[16]</sup>

Inizialmente l'ECG è filtrato con un filtro passa-basso (con frequenza di taglio a 60 Hz) per ridurre il rumore di fondo e viene sottoposto all'identificazione dei picchi R. La determinazione della stabilità degli intervalli RR è legata al controllo della loro deviazione standard. Nel caso in cui l'ECG abbia una



**Fig. 20** – Diagramma di una serie di processi di pre-elaborazione sugli ECG seguiti dall'applicazione del metodo correlativo per la definizione della TWA.<sup>[16]</sup>

deviazione standard  $RR > 10\%$  non viene considerato per i passaggi successivi. Invece il controllo su ogni battito consecutivo viene effettuato al fine di verificare che si tratti di un battito sinusale (coefficiente di correlazione incrociata tra battito e modello  $> 0.8$ , dove modello sta per il complesso QRS mediano tra tutti i 128 complessi QRS disponibili). Anche in questo caso se ci sono più di 10 battiti non sinusali, l'ECG in questione viene rifiutato. Diversamente, ECG con una variabilità  $RR \leq 10\%$  e una quantità di battiti non sinusali inferiore a 10, vengono accettati per l'analisi. Questi sono quindi sottoposti a successiva rimozione della linea di base, usando un'interpolazione spline del terzo ordine di punti di riferimento nel tratto PR. Un'operazione di finestraggio opportuna consente di selezionare il segmento di ripolarizzazione (oltre all'onda T se necessario la finestra può anche includere il complesso QRS). Ai fini del rilevamento della TWA non è necessaria una precisa identificazione delle estremità dell'onda T. Il finestraggio dell'onda T segue formule dipendenti dalla frequenza cardiaca: per  $RR < 0.6$ ,  $0.6-1.1$ ,  $> 1.1$  s, l'inizio della finestra dell'onda T ( $W_{on}$ ) si trova rispettivamente a 60, 100 e 150 ms dopo il picco R. Anche la durata della finestra dell'onda T ( $W_L$ ) è regolata sulla base della frequenza cardiaca con la formula empirica  $W_L = 0.4\sqrt{RR_{medio}}$ . I battiti invece non sinusali vedono il loro segmento di ripolarizzazione rimpiazzato dalla media dei segmenti di ripolarizzazione dei due battiti sinusali precedenti. La sincronizzazione delle onde T è realizzata tramite una tecnica di correlazione incrociata. Un'onda T di riferimento viene calcolata come mediana dei 128 complessi consecutivi, utilizzando la posizione iniziale delle finestre dell'onda T. La sincronizzazione dell'onda T viene eseguita mantenendo la lunghezza della finestra costante, ma lasciando variare la sua posizione da  $W_{on} - 30$  ms a  $W_{on} + 30$  ms con incrementi di 1 ms. Per ogni posizione della finestra dell'onda T, viene calcolato il coefficiente di correlazione incrociata tra l'onda T e il suo riferimento. Infine, viene scelta la posizione della finestra dell'onda T con il più alto valore di coefficiente di correlazione. L'ultimo ostacolo nella fase di pre-elaborazione è rappresentato dall'eliminazione delle variazioni di ampiezza dell'onda T dovute alla respirazione. Operazione che richiede un filtro passa banda (con frequenze di taglio di 0.14 e 0.35 cicli/battito) che elimina le frequenze proprie della respirazione. <sup>[16]</sup>

Dopo aver pre-processato gli ECG registrati, si calcola un'onda T mediana ( $T_{mdn}$ ) dalle 128 onde T consecutive. Per ogni onda  $T_j$  viene calcolato un indice di correlazione di alternanza come segue:

$$ACI_j = \frac{\sum_{i=1}^{N_S} T_j(i)T_{mdn}(i)}{\sum_{i=1}^{N_S} T_{mdn}^2(i)} \quad j = 1:128 \quad (2)$$

dove  $N_s$  è il numero di campioni in ogni finestra dell'onda T.  $ACI_j$  è una quantità adimensionale definita come il valore massimo della funzione di correlazione incrociata tra  $T_{mdn}$  e  $T_j$ , fratto il valore massimo della funzione di auto-correlazione di  $T_{mdn}$ . Un  $ACI_j > 1$  indica che  $T_j$  è più grande rispetto a  $T_{mdn}$ , mentre un  $ACI_j < 1$  denota  $T_j$  più piccolo rispetto a  $T_{mdn}$ . Un  $ACI_j < 0$  individua un'opposta polarità tra  $T_j$  e  $T_{mdn}$ . In presenza di una TWA,  $ACI_j$  come funzione di  $j$  ( $j=1, 2, 3, \dots, 128$ ) si viene a trovare nell'intorno del valore 1 per TWA monofasico (onda T non cambia polarità) oppure nell'intorno del valore 0 per TWA bifasico (onda T cambia polarità ad ogni altro battito). Le variazioni dell'onda T vengono rilevate quando ci sono almeno sette battiti alternanti. Dal momento che un valore di  $ACI_j$  viene calcolato per ogni onda T, è possibile determinare la durata temporale di un episodio della TWA come il numero di battiti alternanti ( $N_{CM}$ ). Utilizzando  $T_{mdn}$  (in  $\mu V$ ) e  $ACI_j$ , l'ampiezza della TWA è stimata come segue:

dall'equazione 2, assumendo  $ACI_j > 1$

$$ACI_j - 1 = \frac{\sum_{i=1}^{N_s} T_j(i) T_{mdn}(i)}{\sum_{i=1}^{N_s} T_{mdn}^2(i)} - \frac{\sum_{i=1}^{N_s} T_{mdn}^2(i)}{\sum_{i=1}^{N_s} T_{mdn}^2(i)} = \frac{\sum_{i=1}^{N_s} T_{mdn}(i) T_j(i) - T_{mdn}(i)}{\sum_{i=1}^{N_s} T_{mdn}^2(i)} \quad j = 1:128 \quad (3)$$

Poiché non è possibile sapere a priori quale parte dell'onda T varia, si assume che tutti i campioni della stessa onda T stiano variando della stessa quantità. Pertanto,  $T_j(i) - T_{mdn}(i) = A_{CM}(j)/2$ , dove  $A_{CM}(j)$  è una costante dipendente dal battito  $j$  ma non dal campione  $i$ . L'equazione 3 diventa:

$$ACI_j - 1 = \frac{A_{CM}(j) \sum_{i=1}^{N_s} T_{mdn}(i)}{2 \sum_{i=1}^{N_s} T_{mdn}^2(i)} \quad j = 1:128 \quad (4)$$

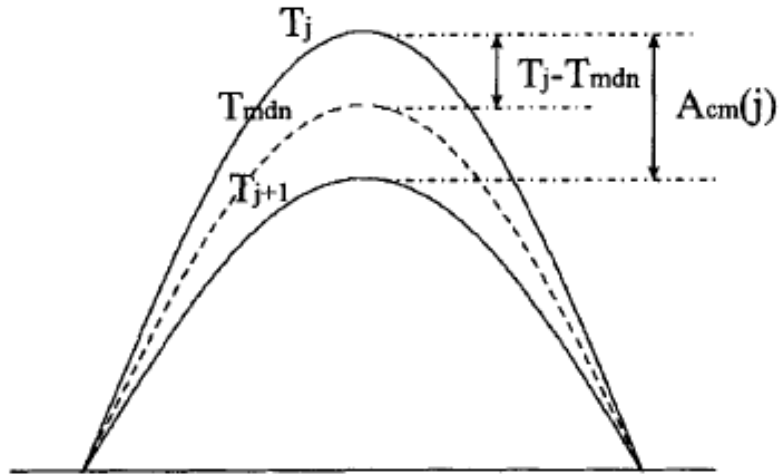
Il 2 nel rapporto  $A_{CM}(j)/2$  significa che il valore delle variazioni deve essere misurato tra due onde consecutive (fig. 21) e non tra l'onda T e l'onda  $T_{mdn}$ , infatti  $A_{CM}(j) = T_j(i) - T_{j+1}(i)$ . Dall'equazione 4 ottengo:

$$A_{CM}(j) = 2 ACI_j - 1 \frac{\sum_{i=1}^{N_s} T_{mdn}^2(i)}{\sum_{i=1}^{N_s} T_{mdn}(i)} \quad j = 1:128 \quad (5)$$

Notando che  $ACI_j$  può assumere qualsiasi valore e l'onda T può avere ampiezze positive o negative, l'equazione 5 diventa:

$$A_{CM}(j) = 2 |ACI_j - 1| \frac{\sum_{i=1}^{N_s} T_{mdn}^2(i)}{\sum_{i=1}^{N_s} |T_{mdn}(i)|} \quad j = 1:128 \quad (6)$$

Trovando così la formula finale per misurare l'ampiezza della TWA.  $A_{CM}(j)$  rappresenta un valore maggiore o uguale a zero. Valori di  $A_{CM}(j)$  maggiori di zero vengono mediati per ottenere un valore



**Fig. 21** – L'ampiezza della TWA ( $A_{CM}(j)$ ) viene misurata tra due onde T consecutive ( $T_j$  e  $T_{j+1}$ ) e non tra l'onda T corrente e il riferimento costituito dalla mediana ( $T_{mdn}$ ) delle 128 onde T consecutive. <sup>[16]</sup>

globale di ampiezza della TWA ( $A_{CM}$ ) nell'ECG.  $A_{CM}(j)$  pari a zero, coincidono con quei battiti che non coinvolgono un'oscillazione dell'onda T. <sup>[16]</sup>

## 5. Alternanza dell'onda T in associazione all'assunzione di Verapamil: analisi di una popolazione reale

### 5.1 Descrizione della popolazione in esame

La popolazione presa in esame è formata dai soggetti inclusi nel database ECGDRVQ di Physionet.

[17]

Il database ECGDRVQ è composto dai tracciati elettrocardiografici di 22 soggetti sani. Le 22 persone (11 maschi e 11 femmine) avevano un'età media di  $26.9 \pm 5.5$  anni e un indice di massa corporea media di  $23.1 \pm 2.6$  kg/m<sup>2</sup> (altre caratteristiche sono mostrate nella tabella 3). Questi hanno partecipato a uno studio clinico randomizzato, in doppio cieco e a 5 periodi di cross-over di fase 1 (nel quale i ricercatori sperimentano per la prima volta un farmaco o un trattamento in un piccolo gruppo di persone, con l'obiettivo di valutarne la sicurezza e gli eventuali effetti collaterali)

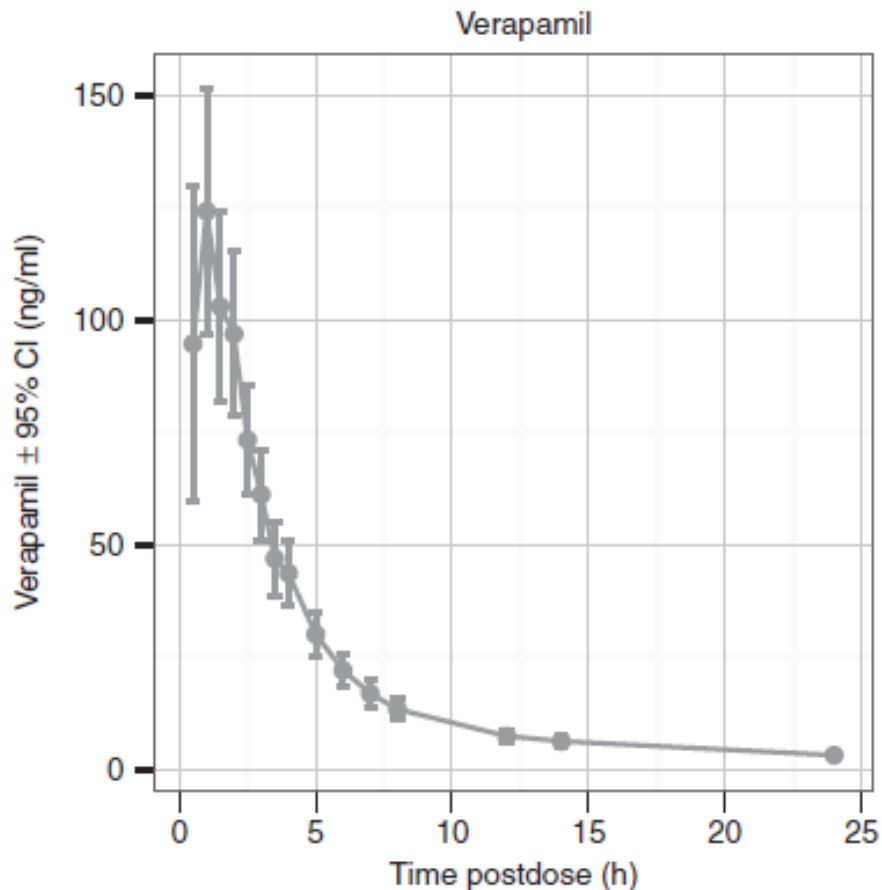
#### 22 soggetti

|                                               |                  |
|-----------------------------------------------|------------------|
| <b>DEMOGRAFIA</b>                             |                  |
| Età (anni)                                    | $26.9 \pm 5.5$   |
| Donne                                         | 11 (50%)         |
| Indice di massa corporea (kg/m <sup>2</sup> ) | $23.1 \pm 2.6$   |
| <b>PARAMETRI VITALI</b>                       |                  |
| Pressione arteriosa sistolica (mmHg)          | $107.1 \pm 8.5$  |
| Pressione arteriosa diastolica (mmHg)         | $59.7 \pm 7.2$   |
| Frequenza cardiaca (Hz)                       | $56.8 \pm 6.4$   |
| <b>ECG</b>                                    |                  |
| Intervallo P-R (ms)                           | $162.1 \pm 21.6$ |
| Complesso QRS (ms)                            | $97.4 \pm 6.7$   |
| J-T <sub>peak</sub> C (ms)                    | $225.6 \pm 19.8$ |
| T <sub>peak</sub> -T <sub>end</sub> (ms)      | $73.1 \pm 6.4$   |
| Q-Tc (ms)                                     | $395.9 \pm 17.1$ |

**Tabella 3** – Caratteristiche demografiche e vitali dei 22 soggetti, abbinata alla descrizione degli intervalli dei tracciati elettrocardiografici presenti nel database ECGDRVQ. I dati riportati sono composti da una media  $\pm$  deviazione standard. [18]

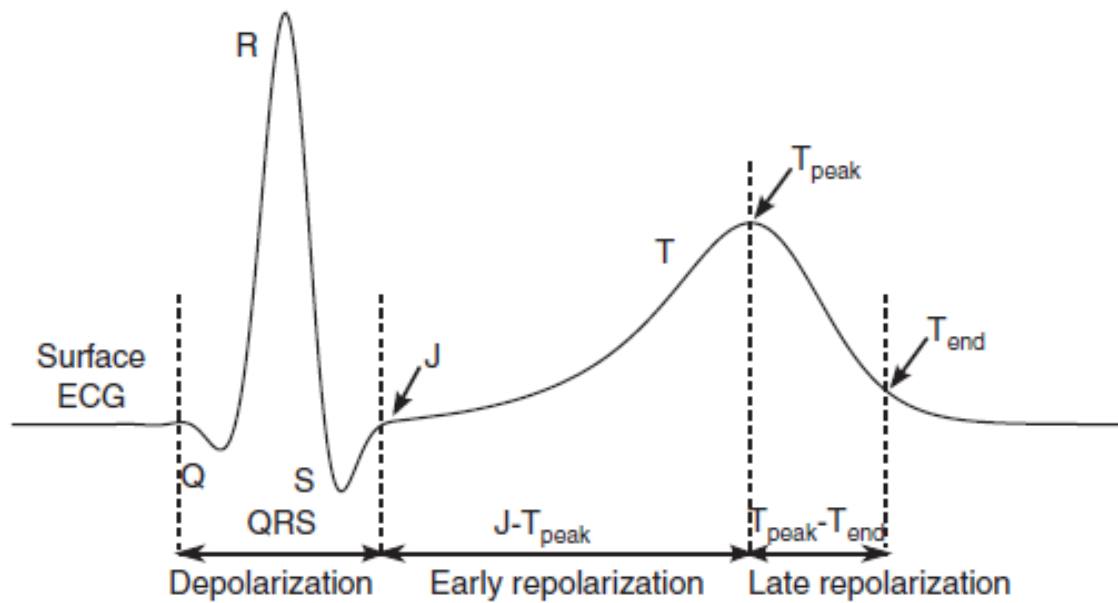
all'interno della struttura Spaulding Clinical, del West Bend, nel Wisconsin (Stato USA). Tutti hanno completato lo studio clinico tranne un soggetto che si è ritirato prima dell'ultimo trattamento e in generale non sono emersi imprevisti particolari. Lo studio clinico è stato approvato dal US Food and Drug Administration Research Involving Human Subjects Committee e dal comitato di revisione istituzionale locale. I principi attivi che sono stati coinvolti nella sperimentazione riguardano la Dofetilide (500 µg, Tikosyn, Pfizer, New York, NY), la Chinidina Solfato (400 mg, Watson Pharma, Corona, CA), la Ranolazina (1.500 mg, Ranexa, Gilead, Foster City, CA) e il Verapamil (120 mg, Heritage Pharmaceuticals, Edison, NJ). I criteri per selezionare i candidati dello studio clinico erano associati allo stato di buona salute dell'individuo e all'assenza di una pregressa malattia cardiaca, di una sincope o della sindrome del Q-T lungo. Erano inoltre esclusi dalla selezione coloro che presentavano più di 10 battiti ectopici durante la registrazione elettrocardiografica continua di 3 h. Al mattino di ognuno dei 5 periodi di cross-over, i 22 soggetti ricevevano, una volta sola, a digiuno e in maniera casuale, uno dei 4 principi attivi o il placebo. Tra un periodo e il successivo, si alternavano 7 giorni di "wash-out" (intervallo temporale nel quale non viene somministrato alcun principio attivo per eliminare dall'organismo tutti gli effetti residui dell'ultima dose assunta). Quindi, ogni soggetto riceveva una somministrazione nei giorni 1, 9, 17, 25 e 33 e prima di questa partiva sempre una registrazione elettrocardiografica continua a 12 derivazioni utilizzando la configurazione di Mason-Likar. Le registrazioni continue elettrocardiografiche sono state eseguite ad una frequenza di campionamento di 500 Hz e con una risoluzione in ampiezza di 2.5 µV. Poi dalla registrazione continua sono stati estratti 3 ECG da 10 s in 16 istanti temporali predefiniti con una frequenza cardiaca stabile e una qualità massima del segnale tramite l'utilizzo del software Antares. In totale, sono stati raccolti 5232 ECG che hanno subito un ricampionamento a 1000 Hz. I 16 istanti temporali sono costituiti da un punto pre-dose (-0.5 h) e da 15 punti post-dose (0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 5, 6, 7, 8, 12, 14, 24 h) durante i quali i soggetti erano tenuti a riposarsi in posizione supina per 10 minuti. In corrispondenza di questi 16 punti veniva estratto, a persona, un campione di sangue per effettuare un'analisi farmacocinetica. La concentrazione plasmatica del Verapamil è stata calcolata con una cromatografia liquida e una spettroscopia di massa tandem del Frontage Laboratories (Exton, Philadelphia, PA). I risultati dell'analisi farmacocinetica per il Verapamil sono mostrati in fig. 22. Il Verapamil ha raggiunto il picco a 1.0 h dalla sua somministrazione con una concentrazione plasmatica di  $130.3 \pm 75.8$  ng/ml e un'emivita di  $10.4 \pm 3.2$  h. <sup>[18]</sup>

Dai dati raccolti su 34 studi approfonditi dell'intervallo Q-T è stato segnalato che il blocco del canale hERG del K<sup>+</sup> prolunga sia la ripolarizzazione precoce (J-T<sub>peakC</sub>) che la ripolarizzazione tardiva



**Fig. 22** – Comportamento della concentrazione plasmatica di Verapamil in funzione del periodo di tempo post-dose. La concentrazione presenta oltre la media stimata sui 22 pazienti anche l'intervallo di confidenza (IC): range stimato di valori in cui è probabile che si trovino tutti i risultati dello studio. La probabilità che l'intervallo contenga il risultato atteso è del 95%. <sup>[18]</sup>

( $T_{peak-T_{end}}$ ), mentre il blocco del canale del  $Ca^{2+}$  di tipo L riduce preferibilmente la ripolarizzazione precoce ( $J-T_{peakC}$ ). Poiché il Verapamil ha la capacità di bloccare entrambi i canali è stato dimostrato dagli studi sull'intervallo Q-T che, quando il blocco del canale del  $Ca^{2+}$  di tipo L è più forte del blocco del canale hERG del  $K^+$ , non si manifesta un prolungamento effettivo né di  $J-T_{peakC}$ , né di  $T_{peak-T_{end}}$  (fig. 23). Ad esempio, nel database ECGDRVQ, il blocco multicanale (canale del  $Ca^{2+}$  e del  $K^+$ ) del Verapamil non ha causato un cambiamento significativo del Q-Tc globale, ma un prolungamento dell'intervallo PR, un leggero allungamento del complesso QRS e un aumento della frequenza cardiaca di 9.4 bpm. <sup>[18]</sup>

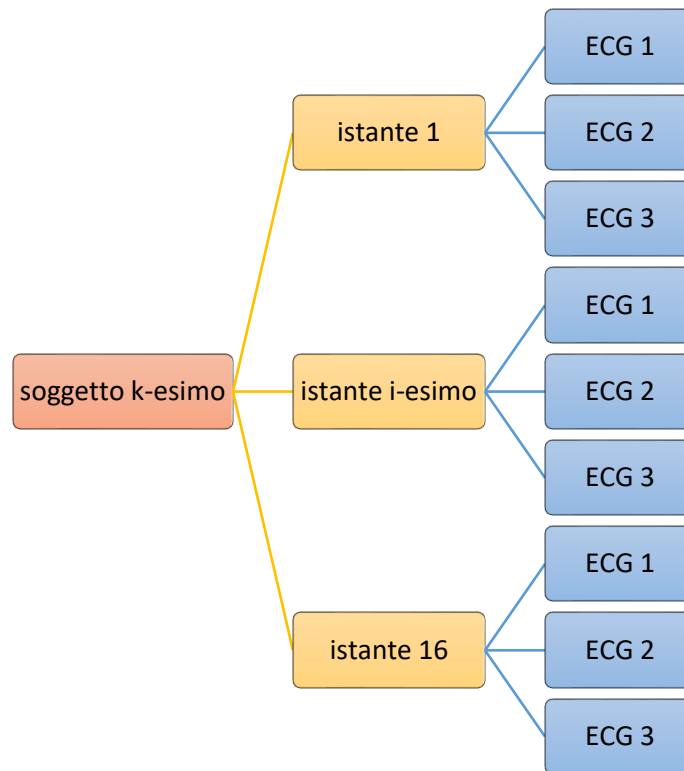


**Fig. 23** – Tratto di ECG legato alla fase di depolarizzazione e ripolarizzazione ventricolare. La ripolarizzazione è suddivisa in ripolarizzazione precoce dalla fine del complesso QRS al picco dell'onda T ( $J-T_{peak}$ ) e in ripolarizzazione tardiva dal picco alla fine dell'onda T ( $T_{peak}-T_{end}$ ). <sup>[18]</sup>

## 5.2 Identificazione dell'alternanza dell'onda T sulla popolazione in esame

Dopo aver prelevato dal database ECGDRVQ di Physionet <sup>[17]</sup> gli ECG da 10 s di quei 22 soggetti a cui è stato somministrato il Verapamil, è stata creata una struttura gerarchica di cartelle. Quest'ultima è stata realizzata con 22 cartelle esterne in cui sono contenute, a testa, 16 sottocartelle a loro volta provviste di altre 3 sottocartelle (fig. 24). Nelle ultime 3 sottocartelle, rispettando i criteri della gerarchia, sono stati inseriti i 3 ECG da 10 s associati ai soggetti che hanno assunto Verapamil. Per rilevare la TWA e misurarne l'ampiezza è stato applicato, agli ECG contenuti nell'ultimo livello di sottocartelle della struttura gerarchica, il metodo correlativo che tuttavia deve essere adattato alla nuova lunghezza degli ECG considerati. Infatti, gli ECG da 10 s estrapolati dal database sono molto più corti rispetto alla lunghezza degli ECG che è possibile esaminare in maniera standard con il metodo correlativo (composti da 128 battiti consecutivi). Sul software Matlab (ambiente di programmazione per l'analisi numerica e la simulazione di sistemi dinamici) per ogni ECG sono state eseguite una serie di istruzioni a partire dalla divisione del segnale per il suo guadagno, la sottrazione dalla sua media e il ricampionamento da 1000 Hz a 200 Hz. Successivamente, un filtro butterworth del 6° ordine bidirezionale è stato impiegato come passa-basso con frequenza di taglio a 40 Hz.





**Fig. 24** – Organizzazione gerarchica di cartelle per l'identificazione della TWA. Le 22 cartelle esterne sono state nominate con i 22 soggetti dello studio (ad es. soggetto 1, soggetto 2, etc.) e all'interno di queste sono state collocate 16 sottocartelle in merito ai 16 istanti temporali. Infine è stato realizzato un ultimo livello composto da 3 sottocartelle (contenute in ognuna delle 16 sottocartelle) in cui sono stati inseriti i 3 ECG da 10 s relativi ai soggetti che hanno assunto Verapamil durante lo studio clinico.

Allora gli ECG sono stati sottoposti alla ricerca della corretta posizione dei picchi R, attraverso l'algoritmo di Pan-Tompkins e l'aggiustamento del massimo. L'operazione di finestraggio ha selezionato l'onset e l'offset dell'onda T come punti fiduciali della parte dell'ECG relativa alla ripolarizzazione ventricolare. Il pre-processamento è stato ottenuto realizzando un filtro passa-basso con frequenza di taglio a 35 Hz per ridurre il rumore di fondo e una interpolazione spline del 3° ordine dei punti fiduciali nell'intervallo PR (80 ms prima del picco R) per la rimozione della linea di base degli ECG. Il segmento di ripolarizzazione di ciascun battito è stato valutato in relazione all'appartenenza di un battito ectopico o alla presenza di artefatti; se il segmento di ripolarizzazione apparteneva ad un battito ectopico oppure era affetto da rumore o artefatti, questo veniva sostituito con il mediano dei segmenti di ripolarizzazione dello stesso tracciato. Il numero massimo

di battiti non sinusali rimpiazzabili è 2 e se per un ECG fosse stato necessario un numero maggiore di sostituzioni, questo sarebbe stato rifiutato, riportando -1 come valore di ampiezza della TWA. Si arriva allo stesso risultato se la deviazione standard della media degli intervalli RR è  $> 10\%$ . Altrimenti, gli ECG con una deviazione standard  $\leq 10\%$  e una quantità di battiti non sinusali  $\leq 2$  hanno proseguito il loro processamento. La sincronizzazione delle onde T è stata realizzata con la tecnica della correlazione incrociata, variando l'onset dell'onda T da -30 ms fino a +30 ms; essendo la frequenza di ricampionamento pari a 200 Hz gli incrementi adottati sono stati pari a 5 ms, fino a quando il coefficiente di correlazione tra l'onda T e l'onda T mediana abbia assunto il valore più alto. Subito dopo il metodo correlativo è stato applicato secondo quanto descritto nel paragrafo 4.3.1.

A differenza del metodo correlativo standard, in questa sua rivisitazione, la TWA è stata definita da almeno 5 battiti alternanti. In sostanza è stato generato, per ciascuna delle 12 derivazioni dei 1056 ECG totali analizzati, un valore negativo e pari a -1 se l'ECG è stato scartato, nullo se non c'è stata una TWA e al contrario positivo se la stessa è stata registrata.

### 5.3 Analisi statistica

Tra i 12 valori, ottenuti per ciascuna derivazione, è stato considerato il valore massimo. Tra i 3 massimi considerati (per ciascun istante) è stata calcolata la media. La media rappresenta, per ognuno dei 22 soggetti, una stima della TWA nei 16 istanti temporali. Inoltre, su questi risultati, è stata realizzata una ulteriore media, ad ogni istante temporale, dei valori della TWA sui 22 soggetti. Tutti i calcoli sono stati effettuati trascurando le finestre rigettate.

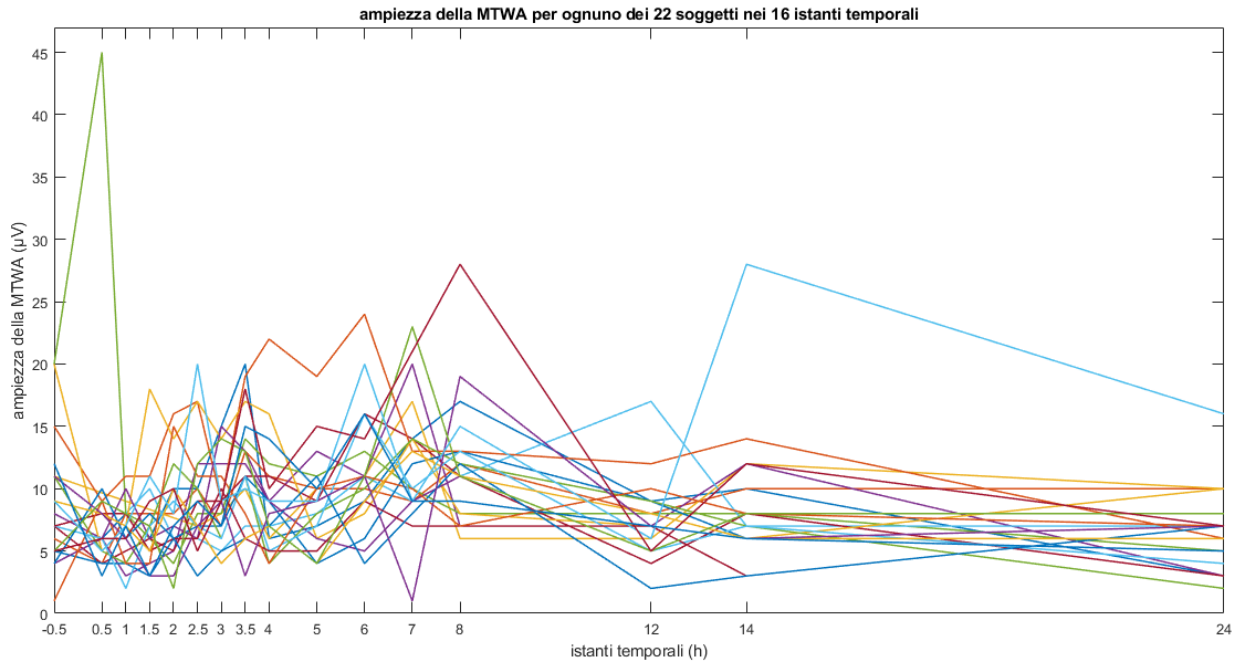
### 5.4 Risultati

I valori di ampiezza della TWA riferiti ad ogni soggetto e per ogni istante temporale sono riportati nelle prime 22 righe della tabella 4. Da questi dati è stato possibile elaborare un grafico che mostra, per ogni soggetto, le oscillazioni di ampiezza della TWA nei 16 istanti temporali (fig. 25). Nell'ultima riga della tabella 4 sono inseriti, per ogni istante temporale, i valori di ampiezza della TWA come media sui 22 soggetti. Queste ultime informazioni sono state utilizzate per definire la tendenza generale delle oscillazioni di ampiezza della TWA. Il grafico elaborato in fig. 26 esplicita questo trend. In fig. 27 sono stati riprodotti, per ogni soggetto, i massimi e i minimi di ampiezza della TWA tra i 16 istanti temporali nel tentativo di osservare quando e in che misura ciascun soggetto ha raggiunto il

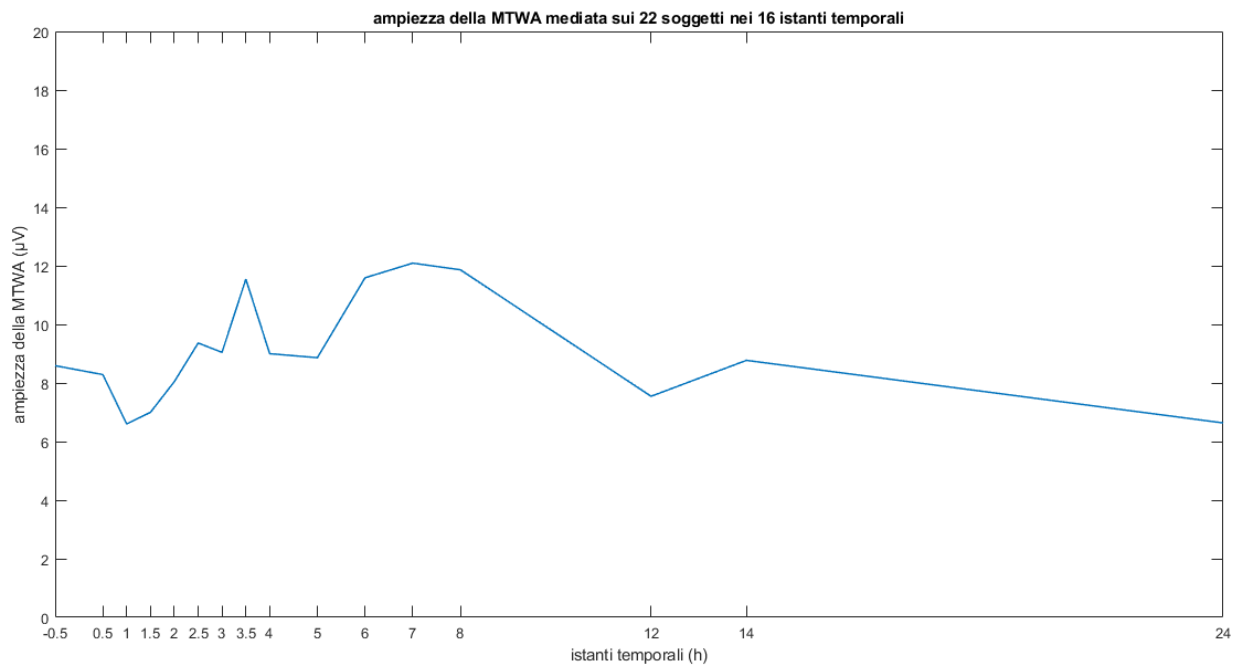
|                  |     | ISTANTI TEMPORALI (h) |     |     |     |     |     |      |     |     |      |      |      |     |     |     |    |
|------------------|-----|-----------------------|-----|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|------|------|------|-----|-----|-----|----|
|                  |     | -0.5                  | 0.5 | 1   | 1.5 | 2   | 2.5 | 3    | 3.5 | 4   | 5    | 6    | 7    | 8   | 12  | 14  | 24 |
| SOGGETTO n. (µV) | 1   | 5                     | 6   | 8   | 6   | 10  | 10  | 15   | 20  | 6   | 7    | 9    | 14   | 17  | 9   | 10  | 3  |
|                  | 2   | 6                     | 4   | 8   | 8   | 8   | 10  | 7    | 13  | 11  | 10   | 10   | 9    | 12  | 8   | 10  | 10 |
|                  | 3   | 11                    | -   | -   | -   | -   | 7   | 8    | 10  | 6   | 10   | 11   | 17   | 6   | 6   | 12  | 10 |
|                  | 4   | 8                     | 6   | 3   | 4   | 5   | 12  | 12   | 12  | 9   | 13   | 11   | 20   | 7   | 7   | 12  | 3  |
|                  | 5   | 20                    | 45  | 8   | 6   | 4   | 8   | 8    | 14  | 12  | 11   | 13   | 10   | 8   | 8   | 8   | 5  |
|                  | 6   | 7                     | 8   | 8   | 10  | 6   | 6   | 5    | 7   | 7   | 8    | 11   | 9    | 11  | 17  | 7   | 7  |
|                  | 7   | 7                     | 4   | -   | 6   | 5   | 9   | 9    | 11  | 11  | 9    | 16   | 14   | 11  | 4   | 8   | 3  |
|                  | 8   | 5                     | 4   | 4   | 3   | 6   | 7   | 7    | 11  | 9   | 4    | 6    | 12   | 13  | 9   | 6   | 6  |
|                  | 9   | 15                    | 9   | 11  | 11  | 16  | 17  | 9    | 19  | 22  | 19   | 24   | 13   | 13  | 12  | 14  | 6  |
|                  | 10  | 20                    | 5   | 7   | 18  | 14  | 17  | 14   | 17  | 16  | 6    | 8    | 14   | 8   | 7   | 6   | 10 |
|                  | 11  | 4                     | 6   | 10  | 6   | 7   | 6   | 15   | 13  | 9   | 6    | 5    | 9    | 11  | 8   | 6   | 7  |
|                  | 12  | 11                    | 5   | 4   | 7   | 12  | 10  | 6    | 11  | 4   | 8    | 10   | 14   | 12  | 9   | 7   | 2  |
|                  | 13  | 7                     | 6   | 2   | 7   | 9   | 7   | 6    | 11  | 5   | 7    | 16   | 10   | 13  | 5   | 7   | 4  |
|                  | 14  | 7                     | 8   | 8   | 5   | 6   | 6   | 10   | 6   | 5   | 5    | 9    | 7    | 7   | 7   | 3   | 7  |
|                  | 15  | 4                     | 10  | 6   | 8   | 6   | 3   | 5    | 6   | 7   | 11   | 4    | 8    | 12  | 2   | 3   | 7  |
|                  | 16  | 1                     | 9   | 4   | 4   | 15  | 11  | 11   | 8   | 4   | 10   | 11   | 10   | 7   | 10  | 8   | 7  |
|                  | 17  | 9                     | 8   | 7   | 5   | 10  | 7   | 4    | 6   | 7   | 4    | 9    | 13   | 11  | 8   | 6   | 6  |
|                  | 18  | 11                    | 8   | 6   | 3   | 3   | 7   | 9    | 3   | 8   | 9    | 11   | 1    | 19  | 7   | 6   | 7  |
|                  | 19  | 5                     | 9   | 8   | 7   | 2   | 12  | 14   | 13  | 7   | 4    | 11   | 23   | 11  | 5   | 8   | 8  |
|                  | 20  | 9                     | 5   | 7   | 11  | 8   | 20  | 9    | 10  | 9   | 9    | 20   | 9    | 15  | 6   | 28  | 16 |
|                  | 21  | 5                     | 6   | 6   | 9   | 10  | 5   | 9    | 18  | 10  | 15   | 14   | 21   | 28  | 5   | 12  | 7  |
|                  | 22  | 12                    | 3   | 7   | 3   | 7   | 9   | 7    | 15  | 14  | 10   | 16   | 9    | 9   | 7   | 6   | 5  |
| TOT              | 8.6 | 8.3                   | 6.6 | 7.0 | 8.0 | 9.4 | 9.0 | 11.5 | 9.0 | 8.9 | 11.6 | 12.1 | 11.9 | 7.5 | 9.0 | 6.7 |    |

**Tabella 4** – Una matrice 23x16 di valori di ampiezza della TWA come media sui 3 ECG da 10 s. Ogni colonna rispecchia un istante temporale diverso, mentre le righe sono così composte: le prime 22 si riferiscono ai singoli soggetti e l'ultima ("TOT") alla media dei valori di ampiezza della TWA sui 22 soggetti. Le celle che presentano al posto del valore numerico il simbolo "-", si riferiscono all'istante temporale di un soggetto per cui sono stati rifiutati tutti e 3 gli ECG da 10 s in quanto non conformi ai criteri di rilevazione della TWA. I valori massimi di ampiezza della TWA registrati tra i 16 istanti temporali sono stati evidenziati in rosso.

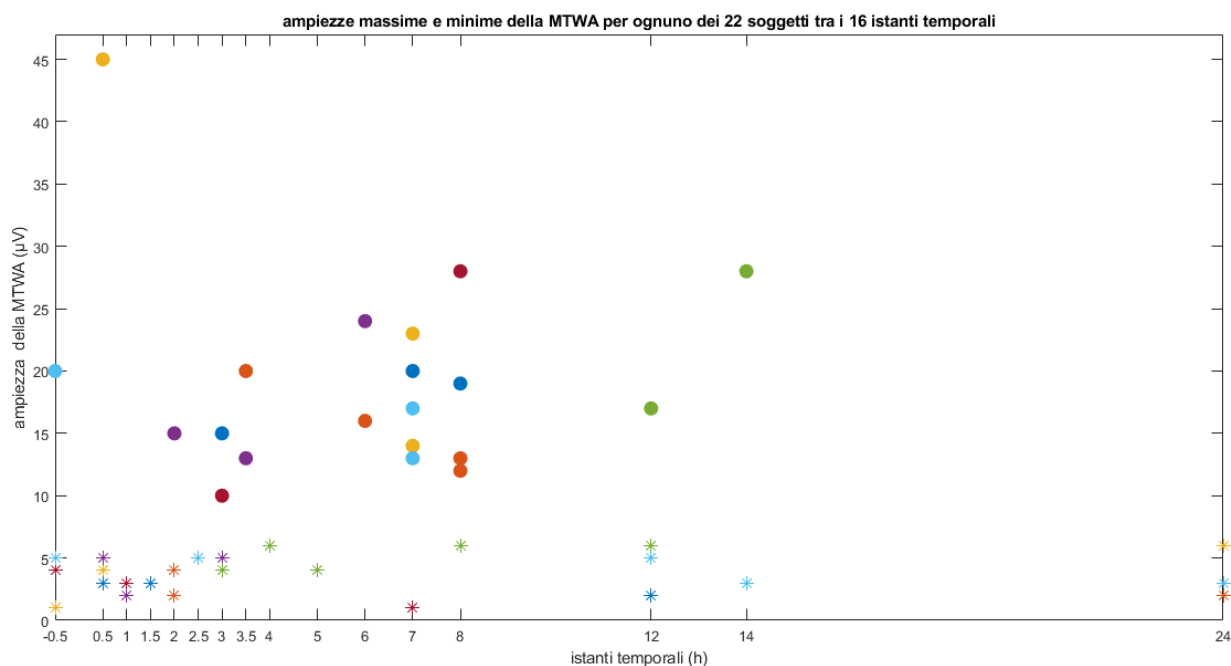
livello più basso e il livello più alto della TWA. Nella fig. 28, invece, dal punto di vista di ogni istante temporale è stato riportato il massimo e il minimo di ampiezza della TWA tra i 22 soggetti.



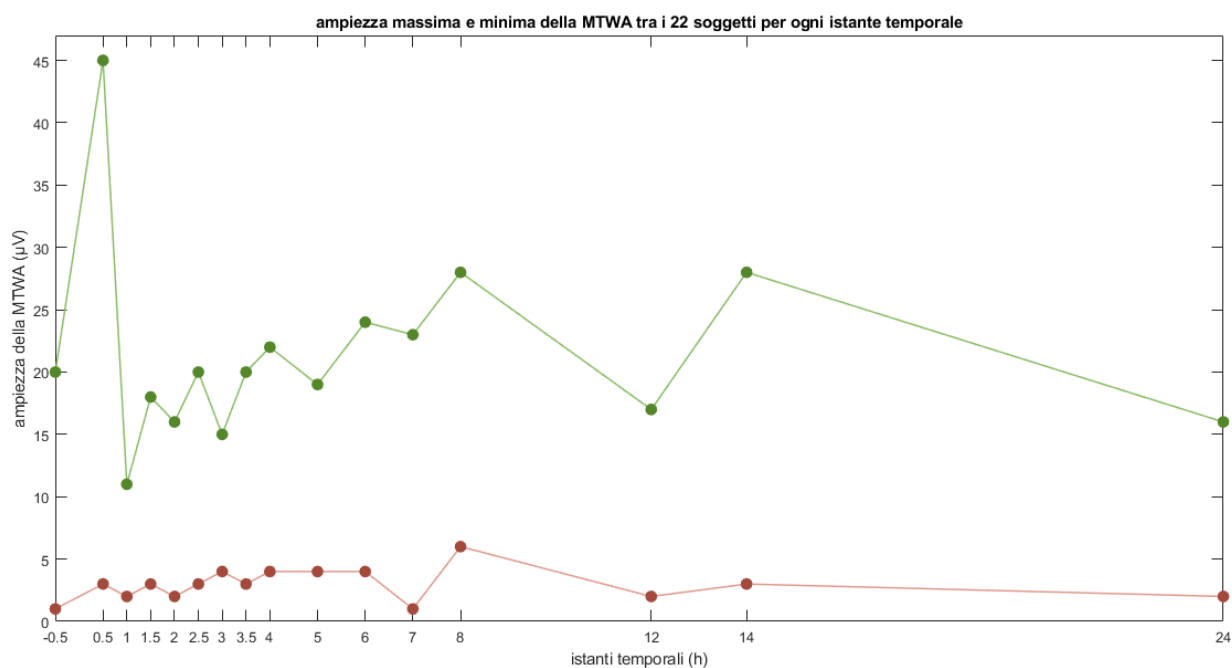
**Fig. 25** – Riportando sull’asse delle ascisse i 16 istanti temporali e in ordinata l’ampiezza della TWA, il grafico mostra, per i 22 soggetti, le fluttuazioni di ampiezza della TWA nei 16 istanti temporali come media sui 3 ECG da 10 s.



**Fig. 26** – Riportando sull’asse delle ascisse i 16 istanti temporali e in ordinata l’ampiezza della TWA, il grafico mostra il trend delle oscillazioni di ampiezza della TWA per ciascun istante temporale come media sui 22 soggetti.



**Fig. 27** – Riportando sull’asse delle ascisse i 16 istanti temporali e in ordinata l’ampiezza della TWA, il grafico presenta, per ogni soggetto, tutti i massimi (simbolo: o) e i minimi (simbolo: \*) di ampiezza della TWA tra i 16 istanti temporali come media sui 3 ECG da 10 s.



**Fig. 28** – Riportando sull’asse delle ascisse i 16 istanti temporali e in ordinata l’ampiezza della TWA, il grafico fornisce, per ciascun istante temporale, il massimo (verde) e il minimo (rosso) di ampiezza della TWA tra i 22 soggetti come media sui 3 ECG da 10 s.

## 5.5 Discussione

L'identificazione della TWA è stata curata dal metodo correlativo che, migliorato negli anni, ha assunto una forma tale da consentire il rilevamento di episodi stazionari e transitori della TWA. Altre metodologie presenti in letteratura scientifica possono introdurre dei limiti, compromettendo di conseguenza l'efficienza nel definire la TWA. Ad esempio il metodo spettrale non permette di riconoscere episodi transitori della TWA. Tra le sue peculiarità, il metodo correlativo gode di una buona flessibilità nell'adattarsi a diversi criteri per il processamento degli ECG. La sua normale struttura prevede la capacità di elaborare ECG contenenti 128 battiti consecutivi, acquisiti con una frequenza di campionamento di 1000 Hz, ma con opportune modifiche è possibile elaborare ECG più corti e con frequenza di campionamento più bassa. Nello studio oggetto della tesi, il metodo correlativo è stato applicato ad un gruppo di ECG estratti da un database di persone sane. Questa classe di persone ha assicurato che non si presentassero sui tracciati elettrocardiografici effetti estranei alla somministrazione di Verapamil. Poiché tra una somministrazione e la successiva si alternavano 7 giorni di pausa, la registrazione elettrocardiografica continua è stata sempre intrapresa su persone libere da ogni effetto residuo del principio attivo assunto la volta precedente, proteggendo gli ECG da eventuali alterazioni. A suo svantaggio, il database soffre di una scarsa disponibilità di ECG, infatti si contano globalmente solo 1056 ECG per i 22 soggetti che hanno assunto Verapamil. In corrispondenza dei 16 istanti temporali nei quali sono stati estratti i 3 ECG da 10 s, un prelievo di sangue ha contribuito alla realizzazione di un'analisi farmacocinetica da poter confrontare con i risultati ottenuti dal metodo correlativo. Prima di applicare il metodo correlativo, è stata effettuata una pre-elaborazione su ogni ECG associato all'assunzione di Verapamil in modo tale da stabilire se lo stesso potesse proseguire con il suo processamento, ma soprattutto per selezionare e sincronizzare le onde T e per ridurre il rumore. In uscita, il metodo correlativo ha generato una misura della TWA attraverso il calcolo di un fattore di correlazione. Questo fattore è stato mediato per realizzare un'analisi statistica e per definire un eventuale legame tra l'assunzione di Verapamil e la comparsa di una importante TWA, in funzione della durata di vita del principio attivo all'interno dell'organismo umano.

I risultati sono stati presentati sotto forma di tabelle e grafici. I grafici in fig. 25 e 26 sono coerenti con l'esito delle analisi farmacocinetiche sui 22 soggetti in fig. 22. A partire dal massimo di concentrazione plasmatica di Verapamil a 1.0 h dalla sua somministrazione, le ampiezze della TWA in fig. 25 hanno subito maggiori variazioni, segnalando picchi positivi fino a 24-28  $\mu\text{V}$ . Solo per il

soggetto n. 5, mezz'ora dopo la somministrazione di Verapamil è stato segnalato un livello della TWA decisamente maggiore, attestato sui 45  $\mu\text{V}$ . Nell'analisi farmacocinetica, poiché la concentrazione plasmatica di Verapamil è diminuita al trascorrere del tempo, anche le ampiezze della TWA sono scese durante le 24 h in un range basso di valori, da un minimo di 2  $\mu\text{V}$  ad un massimo di 10  $\mu\text{V}$ . Dalla fig. 26 è possibile dedurre, analizzando la mezz'ora precedente alla somministrazione di Verapamil, che la TWA è sempre presente, ma di bassa intensità (in media 8.6  $\mu\text{V}$ ) nei soggetti sani che non sono stati sottoposti ad alcuna azione farmacologica. Invece, durante il periodo nel quale il Verapamil esercita un effetto maggiore sull'organismo, all'incirca tra la seconda e l'ottava ora dalla sua somministrazione, le ampiezze della TWA hanno subito piccoli incrementi. Dallo studio condotto in tesi, contrariamente agli effetti terapeutici del Verapamil su alcuni tipi di aritmie (come la fibrillazione atriale, il flutter atriale e la tachicardia sopraventricolare parossistica), questo principio attivo ha causato una leggera crescita dei livelli della TWA che potrebbe essere correlata ad una maggiore predisposizione a sviluppare aritmie ventricolari. Purtroppo, il numero esiguo di soggetti presi in esame è troppo basso per poter trarre delle conclusioni chiare e univoche. È necessario, allora, rafforzare questo studio con altrettante approfondite ricerche, magari su popolazioni più vaste e determinare, con l'assistenza di un clinico, quanto debba aumentare l'ampiezza della TWA, a seguito della somministrazione di Verapamil, per poter innescare un'aritmia ventricolare.

La fig. 27 agevola il riconoscimento, per ogni soggetto, delle posizioni dei massimi e dei minimi di ampiezza della TWA all'interno dei 16 istanti temporali, al fine di fissare 2 intervalli: il primo intervallo, dalla seconda all'ottava ora, raccoglie la maggior parte dei massimi e il secondo intervallo, dalla mezz'ora precedente alla quarta ora, raccoglie la maggior quantità di minimi. L'ultimo grafico in fig. 28 riporta, per ogni istante temporale, il massimo e il minimo valore di ampiezza della TWA misurato tra i 22 soggetti. L'evoluzione di tale grafico stabilisce un range (dalla curva rossa a quella verde) entro il quale è possibile trovare, nei 16 istanti temporali, tutti i valori di ampiezza della TWA calcolati nell'analisi statistica (paragrafo 5.3).

L'indagine intrapresa sulla TWA può diventare un valido aiuto in ambito clinico per individuare su una determinata popolazione (sottoposta a terapia farmacologica nel caso affrontato in tesi) i soggetti che sono più a rischio di sviluppare aritmie ventricolari. Ad esempio il metodo correlativo potrebbe essere sfruttato ambulatorialmente tramite una raccolta preliminare di ECG per stimare l'ampiezza della TWA e inserire i risultati ottenuti, all'interno della cartella clinica elettronica

(Electronic Health Record, EHR) del soggetto che ha ricevuto tale test clinico non invasivo. Eventualmente se il soggetto interessato raggiungesse alti valori di ampiezza della TWA, sarebbe esposto a un alto rischio di SDC, pertanto può essere richiesto l'impianto di un defibrillatore, che automaticamente rilevi l'insorgenza di aritmie ed eroghi in loro corrispondenza un segnale elettrico per il ripristino della normale conduzione elettrica del cuore.

In letteratura scientifica non sono stati segnalati fino ad ora studi che hanno affrontato il rapporto tra l'assunzione di Verapamil e la comparsa della TWA. Tuttavia esiste un altro studio, simile nell'approccio allo studio clinico descritto in tesi, nel quale sono stati analizzati gli effetti di Metoprololo e Sotalolo (due principi attivi che appartengono alla classe dei farmaci beta-bloccanti cardioselettivi in grado di trattare anche aritmie cardiache bloccando i recettori  $\beta$  degli ormoni adrenalina e noradrenalina) sulla TWA. In totale, 54 soggetti, che avevano avuto una storia, documentata o sospetta, di aritmie ventricolari maligne, sono stati sottoposti a una infusione endovenosa, randomizzata e in doppio-cieco, di Metoprololo e Sotalolo. Una misura della TWA è stata realizzata, prima e dopo la somministrazione dei due principi attivi, applicando il metodo spettrale e dimostrando come la stessa risponda all'ambiente farmacologico. In particolare, i beta-bloccanti, Metoprololo e Sotalolo, hanno ridotto l'ampiezza complessiva della TWA rispetto lo scenario in pre-somministrazione, rispettivamente del 35% e del 38%. <sup>[19]</sup>



## **Conclusione**

Alla luce dei risultati emersi dallo studio affrontato in tesi, il principio attivo Verapamil sembrerebbe aumentare i livelli della TWA sui 22 soggetti sani tra la seconda e l'ottava ora dalla sua somministrazione. Tuttavia esiste un altro studio in letteratura scientifica che esamina due principi attivi, il Metoprololo e il Sotalolo che, somministrati per trattare anche aritmie cardiache come col Verapamil, hanno ridotto l'ampiezza complessiva della TWA su 54 soggetti selezionati per l'indagine. Per questo motivo, sarà fondamentale sfruttare l'analisi della TWA per poter gestire meglio la somministrazione di quei principi attivi che coinvolgono il sistema cardiovascolare e ancora di più, in questo caso, per poter accumulare, attraverso nuove ricerche, dati di sicurezza del Verapamil. La rilevazione della TWA potrebbe essere inserita all'interno di programmi di farmacovigilanza affinché si riducano gli errori durante la terapia farmacologica e venga favorita una corretta prevenzione da eventi dannosi o addirittura mortali per l'organismo umano. La valutazione della possibilità che si verifichino episodi della TWA vuole inserirsi all'interno del percorso di monitoraggio dei dati di sicurezza di un farmaco del quale è necessario garantire un rapporto beneficio rischio favorevole.

## Bibliografia

- [1] Anastasi G., Capitani S., Carnazza M. L., Cinti S., De Caro R., Donato F. R., Ferrario V. F., Fonzi L., Franzi T. A., Gaudio E., Geremia R., Giordano Lanza G., Grossi E. C., Gulisano M., Manzoli A. F., Mazzotti G., Michetti F., Miscia S., Mitolo V., Montella A., Orlandini G., Paparelli A., Renda T., Ribatti D., Ruggeri A., Sirigu P., Soscia A., Tredici G., Vitale M., Zaccheo D., Zauli G., Zecchi S. Trattato di Anatomia Umana, Volume 1. Edi-ermes. 2006. Quarta edizione.
- [2] Ambrosi G., Cantino D., Castano P., Correr S., D'este L., Donato F. R., Familiari G., Fornai F., Gulisano M., Iannello A., Magaudda L., Marcello F. M., Martelli M. A., Pacini P., Rende M., Rossi P., Sforza C., Tacchetti C., Toni R., Zummo G. Anatomia dell'uomo. Edi-ermes. 2006. Seconda edizione.
- [3] Barret K. E., Barman S. M., Boitano S., Brooks H. L. Fisiologia medica di Ganong. Piccin. 2011. Tredicesima edizione.
- [4] Conti F. Fisiologia medica, Volume 2. Edi-ermes. 2005.
- [5] Dubin D. Interpretazione dell'ecg. Monduzzi. 2018. Sesta edizione.
- [6] Guyton C. A., Hall E. J. Fisiologia medica. Elsevier. 2006. Undicesima edizione.
- [7] Wang K. ECG Self-Study Book. Jaypee. 2014. Prima edizione.
- [8] Rossi F., Cuomo V., Riccardi C. Farmacologia, principi di base e applicazioni terapeutiche. Minerva Medica. 2005. Prima edizione.
- [9] Clementi F., Fumagalli G. Farmacologia generale e molecolare. Utet. 2012. Quarta edizione.
- [10] Zhang S., Zhou Z., Gong Q., Makielski C. J., January T. C. Mechanism of Block and Identification of the Verapamil Binding Domain to HERG Potassium Channels. *Circ Res.* (1999); 84: 989-998.
- [11] Alabdulrazzaq F., Koren G. Fetal safety of calcium channel blockers. *Can Fam Physician* (2012); 58(7): 746-747.
- [12] Pedretti R., Braga S., Laporta A., Vaninetti R., Picozzi A., Cattadori G., Marangoni D. L'alternanza dell'onda T: un nuovo metodo per individuare i pazienti a rischio di tachiaritmie ventricolari maligne. *Italian Heart Journal Supplement* (2002); 3(2): 170-177.
- [13] Verrier L. R., Klingenhoben T., Malik M., El-Sherif N., Exner V. D., Hohnloser H. S., Ikeda T., Martinez P. J., Narayan M. S., Nieminen T., Rosenbaum S. D. Microvolt T-Wave Alternans: Physiological Basis, Methods of Measurement and Clinical Utility-Consensus Guideline by International Society for Holter and Noninvasive Electrocardiology. *J Am Coll Cardiol* (2011); 58: 1309-1324.

- [14] Smith M. J., Cohen J. R. Simple finite-element model accounts for wide range of cardiac dysrhythmias. *Proc. Natl. Acad. Sci.* (1984); 81: 233-237.
- [15] Cutler J. M., Rosenbaum S. D. Explaining the clinical manifestations of T wave alternans in patients at risk for sudden cardiac death. *Heart Rhythm* (2009); 6(3): S22-S28.
- [16] Burattini L., Zareba W., Moss J. A. Correlation Method for Detection of Transient T-Wave Alternans in Digital Holter ECG Recordings. *A.N.E* (1999); 4(4): 416-424.
- [17] Goldberger A. L., Amaral L. A., Glass L., Hausdorff J. M., Ivanov P. C., Mark R. G., Mietus J.E., Moody G. B., Peng C. K., Stanley H. E. PhysioBank, PhysioToolkit, and PhysioNet: Components of a new research resource for complex physiologic signals. *Circulation* (2000);101(23): E215-E220.
- [18] Johannesen L., Vicente J., Mason J. W., Sanabria C., Waite-Labott K., Hong M., Guo P., Lin J., Sørensen J. S., Galeotti L., Florian J., Ugander M., Stockbridge N., Strauss D. G. Differentiating Drug-Induced Multichannel Block on the Electrocardiogram: Randomized Study of Dofetilide, Quinidine, Ranolazine, and Verapamil. *Clinical Pharmacology & Therapeutics* (2014); 96(5): 549-558.
- [19] Klingenhöben T., Grönefeld G., Li Yi-Gang, Hohnloser H. S. Effect of metoprolol and d,l-sotalol on microvolt-level T-wave alternans: Results of a prospective, double-blind, randomized study. *Journal of the American College of Cardiology* (2001); 38:2013-2019.

## **Ringraziamenti**

Con il cuore pieno di commozione per la perdita del mio dolce papà, deceduto il 07/01/2021, dedico a lui tutto il mio elaborato. La mia gratitudine va nei suoi confronti per avermi insegnato a credere in me stesso, ad andare avanti con coraggio e determinazione e per avermi appoggiato anche nei momenti più difficili. La dedizione e la passione che lo contraddistinguevano sia in famiglia che nel lavoro rappresentano dei valori che mi accompagneranno sempre. In questa triennale avventura, in particolare, ringrazio la Prof.ssa Laura Burattini che è riuscita, grazie alle sue professionali competenze, a coinvolgermi con entusiasmo nell'affrontare lo studio elaborato in tesi e ad assegnarmi come fantastica guida, la Dott.ssa Ilaria Marcantoni, alla quale devo riconoscere gli innumerevoli consigli e contributi per la realizzazione di un progetto che è andato ben oltre le mie aspettative. La loro accoglienza e il loro spirito di condivisione, hanno ulteriormente contribuito allo sviluppo di un ambiente creativo e ricco di stimoli. Questo meraviglioso lavoro lo dedico anche a mia mamma e ai miei 2 fratelli, Andrea e Martina, che hanno supportato costantemente le mie scelte partecipando, con spunti di riflessione e di confronto, a realizzare i miei sogni. Riservo un omaggio speciale alla mia cara Nonna che non ha mai rinunciato a fronteggiare a testa alta stress e dolore. Durante questo viaggio, la mia valigia è stata arricchita anche di nuove conoscenze: Riccardo, Libera, Antonio, Elena, Alessandra, Fulvio, Michela e Sara. Un gruppo di amici e futuri colleghi, con i quali è stato possibile maturare uno scambio reciproco di esperienze di vita, di risate e di perplessità future. Custodirò per sempre, nel mio bagaglio, il ricordo di questa splendida squadra dotata di un forte senso di fraternità e umorismo. Un grazie anche a me stesso per aver affrontato questo percorso di studi con tenacia, senso del dovere e tanto impegno, desideroso di crescere: ma è solo una tappa. Mi aspetta una nuova sfida da affrontare, tenendo vivi dentro di me i grandi esempi che ho avuto al mio fianco.