



UNIwersYTET MEDYCZNY
IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCŁAWIU

Rozprawa Doktorska

lek. Maciej Klepuszewski

*Humoralne mechanizmy w doświadczalnym modelu
tachyarytmicznego wstrząsu kardiogennego*

Promotor: prof. dr hab. Jacek Gajek

Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Wrocław 2024

Szczególne podziękowania chciałbym złożyć w tym miejscu Panu Profesorowi Jackowi Gajkowi - za cierpliwość, wytrwałość, wyrozumiałość i nieocenione rady merytoryczne.

Niniejszą pracę dedykuję Żonie Agacie i dzieciom - Antosi i Aleksandrowi.

Spis treści

Wykaz stosowanych skrótów	6
Wstęp	9
Zwierzęce modele ostrej niewydolności serca, ze szczególnym uwzględnieniem modeli opartych o szybką stymulację komórek (RVP-AHF)	10
Model niedokrwienny	10
Metody wywołujące trwałe upośledzenie przepływu krwi w tętnicach wieńcowych.....	10
Techniki umożliwiające odwracalnie niedokrwienie mięśnia sercowego.....	11
Różnice międzygatunkowe i ograniczenia.....	11
Model toksyczny	12
Model toksyczny z wykorzystaniem beta-adrenolityków	12
Model toksyczny z wykorzystaniem CCB	13
Model tachykardii stymulowanej (RVP-AHF).....	13
Aspekty techniczne	13
Szybka stymulacja komórek, a rzut serca	15
Zmienność pozostałych parametrów hemodynamicznych w trakcie RVP	17
Zapotrzebowanie mięśnia sercowego na tlen w trakcie RVP	18
Sprawność serca i zjawisko marnowania tlenu podczas RVP	19
Perfuzja wieńcowa w trakcie RVP.....	20
Aktywacja neurohumoralna i obwodowa część układu krążenia w trakcie RVP.....	21
Układ endotelin	22
Synteza i konwersja endotelin.....	23
Receptory endotelin i ich aktywność biologiczna w różnych narządach	25
Endoteliny a serce	29
Endoteliny w chorobach układu krążenia	29
Czynniki martwicy nowotworu (Tumor necrosis factors, TNFs)	30
Tło historyczne.....	31
Synteza, jej regulacja	31
Działanie TNF- α w układzie krążenia.....	32
TNF- α a mięsień sercowy – rola ochronna i udział w rozwoju przewlekłych ChSN	33
Podsumowanie	34
Cele pracy:	36
Materiały i metody	37
Opis osobnika doświadczalnego	37
Procedury przygotowawcze	37
Procedura znieczulania celem wszczepienia rozrusznika	37
Procedura wszczepienia układu stymulującego	37

Procedury związane z przeprowadzeniem sesji doświadczalnych.....	38
Znieczulenie na potrzeby sesji doświadczalnej.....	38
Protokół wyzwalania zaburzeń hemodynamicznych	38
Procedura wywołania przewlekłej niewydolności serca indukowanej długotrwałą szybką stymulacją komór (RVP-CHF).....	38
Programowanie rozrusznika.....	39
Pomiary	39
Podział wyników na grupy doświadczalne	40
Wyniki.....	42
Podstawowe parametry hemodynamiczne i saturacja krwi tętniczej tlenem	42
Ciśnienie skurczowe.....	42
Ciśnienie rozkurczowe	43
Średnie ciśnienie tętnicze.....	44
Obwodowy opór naczyniowy	45
Objętość minutowa	46
Analiza istotności statystycznej dla parametrów hemodynamicznych	47
Parametry echokardiograficzne.....	49
Wymiar końcoworozkurczowy i objętość końcoworozkurczowa lewej komory	49
Wymiar końcowoskurczowy i objętość końcowoskurczowa lewej komory	52
Objętość wyrzutowa, frakcja wyrzutowa i frakcja skracania lewej komory	54
Endotelina-1 i czynnik martwicy nowotworów alfa	57
Podstawowe analizy statystyczne	58
Analiza korelacji	60
Morfologia krwi, układ krzepnięcia, podstawowe parametry biochemiczne i gazometria krwi tętniczej.....	62
Morfologia krwi	62
Podstawowe parametry biochemiczne	65
Parametry układu krzepnięcia.....	67
Gazometria krwi tętniczej	68
Zjawisko rozkojarzenia elektromechanicznego, symulowanego częstoskurczu dwukierunkowego oraz alternansu pulsu i EKG.	72
Rozkojarzenie elektromechaniczne.....	72
Częstoskurcz dwukierunkowy i czynność mechaniczna serca podczas tego zjawiska	72
Naprężenie (alternans) pulsu i EKG.....	74
Dyskusja.....	76
Ograniczenia badania.....	91
Wnioski:.....	93
Streszczenia rozprawy doktorskiej w języku polskim i angielskim.....	94

Spis Rycin	98
Spis Tabel.....	100
Bibliografia	102

Wykaz stosowanych skrótów

Rozwinięcia w języku angielskim zapisano *kursywą*.

Skrót	Rozwinięcie
ACEI	inhibitory konwertazy angiotensyny
AHF	<i>acute heart failure</i> , ostra niewydolność serca
ANF	<i>atrial natriuretic factor</i> , przedsionkowy czynnik natriuretyczny
APTT	czas częściowej tromboplastyny po aktywacji
ARB	antagoniści receptora angiotensyny
ARC	<i>ameroid constrictor ring</i> , pierścień zaciskający z kazeiną
BB	<i>buffer base</i> , zasady buforujące
BE	<i>base excess</i> , Nadmiar zasad
BEecf	<i>base excess in extracellular fluid</i> , nadmiar zasad w płynie pozakomórkowym
CCB	<i>calcium channel blockers</i> , blokery kanałów wapniowych
cGMP	cykliczny guanozynomonofosforan
CHF	<i>chronic heart failure</i> , przewlekła niewydolność serca
ChSN	choroby sercowo-naczyniowe
CI	<i>cardiac index</i> , wskaźnik sercowy
CO	<i>cardiac output</i> , pojemność minutowa, rzut serca
DIA	<i>diastolic blood pressure</i> , rozkurczowe ciśnienie tętnicze
dP _{max} /dt	maksymalne temp narastania ciśnienia w lewej komorze
ET	<i>endotelin</i> , endotelina
FDP	<i>fibrin degradation products</i> , produkty degradacji trombiny
FS	<i>fractional shortening</i> , frakcja skracania lewej komory
HR	<i>heart rate</i> , akcja serca, tętno
IVS	<i>interventricular septum</i> , przegroda międzykomorowa

LV	<i>left ventricle</i> , lewa komora serca
LV-EF, EF	<i>left ventricular ejection fraction</i> , frakcja wyrzutowa lewej komory
LVPW	<i>left ventricular posterior wall</i> , ściana tylna lewej komory
MAP	<i>mean arterial pressure</i> średnie ciśnienie tętnicze
MVO ₂	<i>myocardial oxygen consumption</i> , zużycie tlenu przez mięsień sercowy
NO	tlenek azotu
PCPW	<i>pulmonary capillary wedge pressure</i> , ciśnienie zaklinowania w tętnicy płucnej
PR	<i>pacing rate</i> , częstotliwość stymulacji
PT	<i>prothrombin time</i> , czas protrombinowy
PT	czas protrombinowy
PVR	<i>peripheral vascular resistance</i> , obwodowy opór naczyniowy
RAAS	<i>renin-angiotensin-aldosterone system</i> , układ renina-angiotensyna-aldosteron
RFT	reaktywne formy tlenu
RV	<i>right ventricle</i> , prawa komora serca
RVP	<i>Rapid ventricular pacing</i> , szybka stymulacja komór
RVP-AHF	<i>Rapid ventricular pacing induced acute heart failure</i> ostra niewydolność serca oparta o szybką stymulację komór
RVP-CHF	<i>Rapid ventricular pacing induced chronic heart failure</i> przewlekła niewydolność serca indukowana szybką stymulację komór
SpO ₂	Saturacja krwi tlenem
STEMI	Zawał serca z uniesieniem odcinka ST
SV	<i>stroke volume</i> , objętość wyrzutowa serca
SVR	<i>systemic vascular resistance</i> , całkowity opór obwodowy
sVT	<i>Sustained ventricular tachycardia</i> , utrwalony częstoskurcz komorowy
SYS	<i>systolic blood, pressure</i> skurczowe ciśnienie tętnicze
TIC	<i>tachycardia induced cardiomyopathy</i> , kardiomiopatia tachyarytmiczna
TNF- α	<i>tumor necrosis factor alpha</i> , czynnik martwicy nowotworów alfa

TNFR1	receptor TNF- α typu pierwszego
TNFR2	receptor TNF- α typu drugiego
VF	<i>ventricular fibrillation</i> , migotanie komór
VF	<i>ventricular fibrillation</i> , migotanie komór
VT	<i>ventricular tachycardia</i> , Częstoskurcz komorowy
WKT	wolne kwasy tłuszczowe
WPB	<i>Weibel-Palede-bodies</i> , ciała Weibel-Paladego

Wstęp

Modele zwierzęce są powszechnie stosowane w badaniach nad układem krążenia. Uogólnianie wniosków z takich badań na gatunek ludzi jest łatwiejsze i bardziej adekwatne pod kątem opracowywania nowych strategii terapeutycznych, gdy obiektem badań są duże zwierzęta, w porównaniu do małych¹.

Przegląd literatury na potrzeby niniejszej pracy ujawnił, że zwierzęce modele niewydolności serca tworzone są głównie w celu badania przewlekłej niewydolności serca (CHF), a nie ostrej niewydolności serca (AHF), a wśród nich szczególne miejsce zajmuje model CHF oparty o szybką, długoterminową (rzędu przynajmniej kilkunastu dni) stymulację komór (RVP-CHF)². Do jego najważniejszych atutów należy podobieństwo mechanizmów humoralnych zaangażowanych w rozwój RVP-CHF i przewlekłej niewydolności serca występującej u ludzi. To właśnie farmakologiczna ingerencja w układy humoralne i neurohumoralne stanowi podstawę nowoczesnego leczenia przewlekłej niewydolności serca, zwłaszcza w przypadku występowania obniżonej frakcji wyrzutowej lewej komory^{3,4}. Aktywacja tych samych mechanizmów humoralnych i neurohumoralnych, w przypadku CHF prowadzi do progresji choroby i jest związana z wyższą śmiertelnością, a w przypadku AHF uznawana jest za pożądaną reakcję adaptacyjną, pozwalającą zachować minimalną perfuzję ważnych dla przeżycia narządów³. Coraz częściej pojawiają się propozycje ingerencji w układy humoralne i neurohumoralne również w przypadku AHF - zarówno blokowanie, jak i pobudzanie - nie bez znaczenia może być też wartość rokownicza zmierzonych parametrów humoralnych⁵⁻⁸.

Cytowane powyżej badania wykorzystywały doświadczalne modele zatrzymania krążenia (w tym przypadku w mechanizmie migotania komór - VF), które charakteryzuje wprawdzie największe nasilenie wywoływanych zaburzeń układu krążenia, ale wiążą się one także z wysoką śmiertelnością zwierząt doświadczalnych⁷.

Z powyższych powodów autor niniejszej pracy uznał, że istnieje potrzeba wytworzenia doświadczalnego modelu ostrej niewydolności serca/wstrząsu kardiogenego, który wprawdzie aktywuje silnie mechanizmy humoralne, lecz nie jest oparty o całkowite zatrzymanie akcji serca, i którego kontrola jest łatwiejsza niż w przypadku VF.

Zwierzęce modele ostrej niewydolności serca, ze szczególnym uwzględnieniem modeli opartych o szybką stymulację komórek (RVP-AHF)

Zwierzęcy model ostrej niewydolności serca i wstrząsu kardiogenego powinien być prosty, bezpieczny (tj. zapewniający niską śmiertelność i niską niezamierzoną chorobowość wśród badanych zwierząt), zapewniać szybki początek niestabilności hemodynamicznej od momentu zadziałania bodźca oraz posiadać najlepiej liniową zależność między jego natężeniem, a wywołanymi efektami, ponadto uzyskany efekt powinien być, przynajmniej w ograniczonych ramach, stabilny w czasie, w pełni i szybko odwracalny po ustaniu bodźca oraz powtarzalny – zarówno międzyosobniczo, jak i pomiędzy seriami doświadczeń u danego osobnika. Opisano kilka różnych zwierzęcych modeli AHF w oparciu o różne interwencje, włączając w to: wywołanie ostrego niedokrwienia mięśnia sercowego⁹, przeciążenia objętościowego/ciśnieniowego, farmakologicznej/toksycznej supresji funkcji skurczowej i przewodzenia bodźców w miokardium oraz model tachykardii stymulatorowej, któremu w niniejszym opracowaniu poświęcono szczególnie dużo uwagi.

Model niedokrwienny

Model niedokrwienny wykorzystuje upośledzenie przepływu krwi w tętnicach wieńcowych z następczym niedokrwieniem mięśnia sercowego, co najczęściej prowadzi do ostrego zawału mięśnia sercowego celem wywołania trwałych zaburzeń kurczliwości i AHF. Model ten, ze względu na szerokie rozpowszechnienie choroby niedokrwiennej serca w populacji ludzkiej, jest wykorzystywany powszechnie i opracowano bardzo wiele jego odmian i technik.

Pod względem patofizjologicznym i technicznym należy rozróżnić modele, które:
a) prowadzą do trwałego, nieodwracalnego upośledzenia przepływu wieńcowego
b) wykorzystują czasową okluzję i następującą rewaskularyzację, umożliwiając dodatkowo naśladowanie urazu niedokrwienno-reperfuzyjnego, czyli typową sekwencję zdarzeń w przypadku wystąpienia i terapii zawału serca z uniesieniem odcinka ST u człowieka¹.

Metody wywołujące trwałe upośledzenie przepływu krwi w tętnicach wieńcowych

Metody wywołujące trwałe upośledzenie przepływu krwi są technicznie prostsze i dzielone na te wykonane w technice wymagającej torakotomii (*open chest*) lub z dostępu wewnątrznaczyniowego (*closed chest*).

Techniki *open chest*, takie jak ligacja tętnicy wieńcowej (najczęściej gałęzi przedniej zstępującej lub jej odgałęzień^{10,11}) lub założenie dedykowanego pierścienia okluzyjnego (ARC)² były wykonywane głównie w przeszłości, przed szerokim rozwojem technik

endowaskularnych i wiązały się z głęboką ingerencją w fizjologię zwierzęcia związaną z rozległą operacją, znieczuleniem i następującą rekonwalescencją^{12,13}, co mogło w sposób istotny zaburzać wyniki doświadczeń. ARC to pierścienie wykonane ze stali nierdzewnej zawierające wewnętrzną warstwę skompresowanej, higroskopijnej kazeiny. Pierścienie mają dedykowane nacięcia, umożliwiające nałożenie ich na wybrane naczynie. Kazeina wyniku kontaktu z wodą stopniowo pęcznieje i zajmuje przestrzeń wewnątrz nierozszerzalnego ARC, prowadząc do powolnego zamknięcia naczynia umieszczonego uprzednio w nim. Pierwotnym zastosowaniem ARC było zamykanie pojedynczych wrodzonych pozawątrobowych przetok wrotno-systemowych u psów¹⁴.

Techniki typu *closed chest* opierają się na dowieńcowych iniekcjach egzo- i endogennych materiałów, w tym takich o właściwościach trombogennych: mikrosfer (np. wykonanych z poliwinylu)¹⁵, ciekłej rtęci¹⁶, żelatyny¹⁷, autologicznych agregatów trombocytarnych¹⁸, polimerów dentystycznych zwiększających swoją objętość w wyniku kontaktu z krwią¹⁹, metalowych spirali²⁰. Zaletą technik wewnątrznacyniowych jest możliwość bieżącego sterowania miejscem i rozległością niedokrwienia. Embolizując prawą lub lewą tętnicę wieńcową można wywoływać AHF wynikającą z izolowanej niewydolności prawo- lub lewokomorowej z całkowicie odmienną charakterystyką hemodynamiczną. Ponadto możliwe jest miareczkowanie głębokości AHF – parametry takie jak rzut serca (CO), średnie ciśnienie tętnicze (MAP), wysycenie tlenem krwi żyłnej, korelują z łączną objętością użytego materiału zatorowego²¹. Pomimo tego, trudno uzyskać międzyosobniczo powtarzalne wyniki co do lokalizacji i rozmiaru zawału²². Dotętniczą iniekcję alkoholu etylowego w wysokim stężeniu można zaliczyć do modelu kardiotoksycznego, ale również niedokrwiennego, gdyż wewnątrznacyniowo dochodzi do powstania materiału zakrzepowego z następującym zawałem mięśnia sercowego i jego rozległą martwicą^{12,23}.

Techniki umożliwiające odwracalnie niedokrwienie mięśnia sercowego

W podejściu *open chest* wokół tętnic wieńcowych umieszcza się okludery, którymi zdalnie, w sposób pneumatyczny, hydrauliczny lub mechaniczny można sterować również po zakończeniu zabiegu i rekonwalescencji zwierzęcia oraz wywoływać niedokrwienie w sposób powtarzalny i o ściśle określonym czasie trwania, niezależnie już od wpływu leków anestezyjologicznych²⁴⁻²⁷.

Różnice międzygatunkowe i ograniczenia

W modelu niedokrwienym występują istotne międzygatunkowe różnice w reakcji na niedokrwienie. U psów, ze względu na rozwinięte krążenie oboczne, trudno jest doprowadzić do istotnego niedokrwienia wybranego obszaru miokardium upośledzając

przepływ wyłącznie w jednej tętnicy. Stąd w kilku doświadczeniach konieczne było podwiązywanie większej liczby naczyń z różnych dopływów, aby skutecznie ograniczyć krążenie oboczne i wywołać istotnie niedokrwienie^{28,29}. Pod tym kątem modele świńskie i owcze, gdzie krążenie oboczne nie jest tak dobrze rozwinięte, umożliwiają bardziej precyzyjną kontrolę nad rozmiarem i lokalizacją niedokrwienia, z drugiej strony są bardziej podatne na tachyarymie niedokrwienne, a różnice anatomiczne przeżuwaczy ograniczają wykorzystanie echokardiografii do ewaluacji wyników eksperymentów². Śmiertelne arytmie komorowe występują nawet w 50% zwierząt doświadczalnych prowadząc do dużych strat wśród badanej populacji, główną wadą modelu pozostaje brak możliwości szybkiego wycofania dokonanych uszkodzeń serca w przypadku przekroczenia letalnego progu ich nasilenia³⁰.

Model toksyczny

Ostrą niewydolność serca, ze wstrząsem kardiogennym włącznie, uzyskuje się również w modelu toksycznym. O dotętnicznym podaniu etanolu wspomniano już wcześniej. Poza tym, wykorzystywane są grupy leków powszechnie używane w celach terapeutycznych w populacji ludzkiej o działaniu chrono-, ino-, dromotropowo ujemnym, lecz w dawkach toksycznych. Niemniej celem tych eksperymentów jest najczęściej badanie strategii terapeutycznych stosowanych w przypadku zatrucia w/w substancjami, a nie samo badanie zmian w układzie krążenia pod ich wpływem. Powszechne są modele na dużych i małych zwierzętach (świnie, psy, szczury) z wykorzystaniem beta-adrenolityków (w praktyce niemalże wyłącznie propranololu) i blokerów kanałów wapniowych (CCB).

Model toksyczny z wykorzystaniem beta-adrenolityków

Zatrucie propranololem skutkuje zmniejszeniem: kurczliwości lewej komory, maksymalnego tempa narastania ciśnienia w lewej komorze (dP_{max}/dt), objętości minutowej (CO), maksymalnego ciśnienia skurczowego w lewej komorze, skurczowego ciśnienia tętniczego i wykonanej zewnętrznej pracy serca (iloczyn średniego ciśnienia tętniczego - MAP i akcji serca - HR), lecz nie wpływa istotnie względem kontroli na tętniczy przepływ wieńcowy, zużycie glukozy przez miokardium i opór tętniczkowy³¹⁻³³. Dane na temat HR są różne, zazwyczaj obserwowano spadek HR, nie obserwowano jednak ciężkich bradykardii³²⁻³⁴, zaburzenia przewodzenia pozostają rzadkie, zaś śmiertelność zatrucia bez podjętego leczenia bardzo duża (do 100%).

Z większości badań wynika, że leczenie wazopresyną i aminami katecholowymi pogarszają rokowanie³⁵, zaś korzyści mogą być odniesione z leczenia insuliną lub glukagonem,

norepinefryna może wносить dodatkową poprawę rokowania, lecz tylko przy jednoczesnym stosowaniu z insuliną³⁶.

Model toksyczny z wykorzystaniem CCB

W modelach z CCB wykorzystuje się dożylnie podanie nifedypiny lub werapamilu u dużych zwierząt. Toksyczność wyraża się, podobnie jak w przypadku beta-adrenolityków, spadkiem MAP, CO, wskaźnika sercowego (CI) i HR, śmiertelność jest również wysoka^{35 37,38}. Różnice mogą dotyczyć głównie całkowitego oporu obwodowego (PVR), skąpe dane doświadczalne w przypadku zatrucia propranololem sugerują brak wpływu na PVR³³, zaś w przypadku CCB zaobserwowano w jednym z badań, zgodnie z naczyniorelaksującym profilem działania CCB, spadek PVR³⁹, a w innym, statystycznie nieistotny wzrost SVR⁴⁰.

W trakcie zatrucia werapamilem dochodzi do silnego, odruchowego wyrzutu endogennej wazopresyny (40-krotne zwiększenie stężenia), niemniej dalsze zwiększanie jej stężenia poprzez podaż egzogennej wazopresyny, powoduje niekorzystne efekty hemodynamiczne⁴¹. Spośród dostępnych opcji terapeutycznych insulina wydaje się w największym stopniu poprawiać rokowanie^{31,38,42}, podobnie jak w zatruciu beta-adrenolitykami, aminy katecholowe nie poprawiają rokowania^{38,40} lub je pogorszą⁴².

Zatrucie werapamilem prowadzi również do zmian w metabolizmie mięśnia sercowego – następuje upośledzenie utleniania wolnych kwasów tłuszczowych (WKT) i przesunięcie substratów energetycznych z WKT, w kierunku glukozy³⁷.

Opracowano również modele oparte o przeciążenie ciśnieniowe (np. drogą obturacji aorty lub wywoływania ciężkiego nadciśnienia tętniczego), przeciążenia objętościowego przez utworzenie przetok tętniczo-żylnych lub też toksyczne w oparciu leki cytostatyczne, niemniej wykorzystuje się je jedynie do badań nad przewlekłą niewydolnością serca, gdyż ich potencjał do wywoływania ostrych zaburzeń hemodynamicznych jest znikomy⁴³.

Model tachykardii stymulowanej (RVP-AHF)

W tym modelu niestabilność hemodynamiczną uzyskuje się poprzez szybką stymulację serca, w zależności od umiejscowienia elektrod stymulujących takie postępowanie imituje częstoskurcz nadkomorowy lub komorowy z możliwością kontroli HR – w tym przypadku częstotliwości stymulacji (PR).

Aspekty techniczne

W zależności od charakteru i umiejscowienia urządzeń stymulujących, układy te można podzielić na tymczasowe i permanentne.

Układy tymczasowe – w tym przypadku urządzenie generujące impulsy i interfejs do programowania znajdują się poza obrębem ciała zwierzęcia, jedynym elementem, który łączy je z sercem są elektrody wprowadzane przezskórnice, z tego względu są one proste w implantacji, ale łatwo może dojść do dyslokacji elektrody, zakażenia, a zwierzę przez cały czas trwania eksperymentu musi podlegać sedacji. Zaletą jest wysoka dostępność urządzeń zdolnych do stymulacji z wysokimi PR, ostatecznie są rzadko stosowane.

Układy permanentne - najważniejsze zalety permanentnych układów stymulujących, wynikają faktu umieszczenia całości systemu pod skórą zwierzęcia, dzięki czemu układem można sterować zdalnie, początek stymulacji może nastąpić w dowolnej chwili, nawet wiele miesięcy po samym zabiegu implantacji, jego praca teoretycznie może trwać wiele lat, a pojedyncze urządzenie może zostać użyte ponownie po ekstrakcji i odpowiednim przygotowaniu⁴⁴. Główny problem w przypadku stosowania układów permanentnych, mieszczących się całkowicie w obrębie ciała zwierzęcia, polega jednak na trudności w uzyskaniu wysokich częstości stymulacji. Stymulatory dedykowane użytkownikowi weterynaryjnemu/eksperymentalnemu, w ostatnim czasie stały się niedostępne⁴⁵, a nowoczesne układy dedykowane użytkownikowi ludzkiemu mają istotnie ograniczony górny limit częstotliwości stymulacji, zazwyczaj znacznie poniżej 200/min. Z powyższych powodów, badacze opracowali szereg modyfikacji pozwalających wykorzystać jednak te urządzenia do stymulacji z bardzo wysokimi PR. *Gong* w modelu świńskim umieścił obie elektrody (przedsionkową A i komorową V) typowego dwujamowego rozrusznika w prawej komorze serca, uzyskując tym samym podwójną stymulację komór (z kanału A i z kanału V) na każdy cykl pracy rozrusznika⁴⁵. Niemniej urządzenie miało ograniczony zakres programowalności i ustawienie równych odstępów AV i VA nie było możliwe, skutkowało to stymulacją w rytm bigemini, co z resztą zostało wykorzystane w pracy jako czynnik przyspieszający rozwój RVP-CHF. *Dibner-Dunlap* przykleił powszechnie dostępne magnesy do obudowy jednokanałowych stymulatorów Medtronic przed ich implantacją, co pozwalało obejść zabezpieczenia i programować w trybie tymczasowym, który zaś dopuszczał wysokie PR⁴⁴. Opisano również skomplikowane metody modyfikacji urządzeń, wymagające między innymi otworzenia obudowy i ingerencji w elektronikę urządzenia⁴⁶. *Hala* i współautorzy wykonali łącznik w kształcie litery Y, który połączył oba kanały wyjściowe stymulatora (A i V) w jedną część wspólną, która była połączona z elektrodą umieszczoną w prawej komorze, dzięki czemu każdy cykl pracy stymulatora generował dwa impulsy docierające do prawej komory⁴⁷.

Szybka stymulacja komórek, a rzut serca

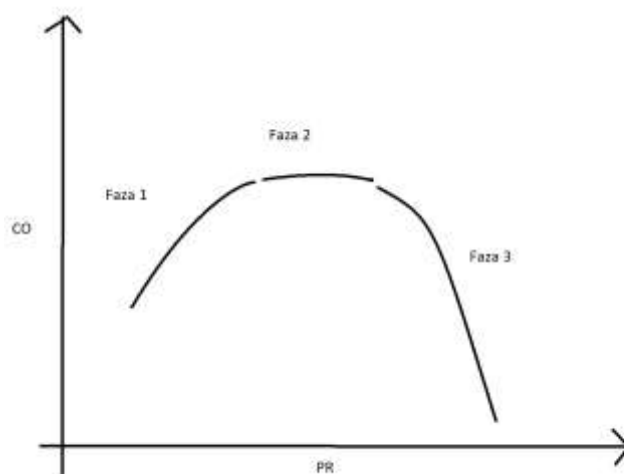
Zależność pomiędzy CO a PR jest złożona i podlega wpływowi wielu dodatkowych czynników, przegląd dostępnej literatury pozwala założyć, że istnieje ogromna zmienność zależności CO-PR, nie tylko między gatunkami czy rasami, lecz także w czasie dla jednego osobnika, ze względu na mnogość nieznanymi i nie podlegającym kontroli czynników, takich jak na przykład stan nawodnienia, pozycja ciała, współchorobowość czy stany fizjologiczne i aktualne stężenia hormonów. Brakuje źródeł ujmujących temat całościowo, z dostępnej literatury wyjawiana się następująca 3-fazowa zależność między CO, a PR mająca kształt odwróconej litery U. W *fazie 1*, CO wzrasta wraz z PR, aż osiągnie plateau, które jest *fazą drugą* – CO pozostaje w niej stałe lub zmienia się w nieznaczący sposób; w *fazie trzeciej*, CO maleje wraz ze wzrastającym PR.

Wyjaśnienie tego zjawiska wymaga przypomnienia, że CO jest iloczynem objętości wyrzutowej serca (SV) i PR. SV maleje w sposób konsekwentny wraz ze wzrostem PR, a zależność ta zaczyna się już od bardzo niskich, sub-fizjologicznych, akcji serca rzędu 35/min⁴⁸, ma charakter nieliniowy i przedstawia się następująco:

- Faza 1* – ramię wstępujące krzywej CO-PR: SV maleje tylko nieznacznie wraz ze wzrostem PR, w rezultacie CO, czyli iloczyn SV i PR wzrasta.

- Faza 2* – plateau : SV maleje w sposób proporcjonalny do PR, iloczyn SV i PR pozostaje w tej fazie stały.

- Faza 3* – ramię zstępujące: czas napełniania komór jest znacząco ograniczony, SV maleje szybko w miarę wzrostu PR, w rezultacie CO spada. Ta faza jest kluczowa z punktu widzenia wytworzenia RVP-AHF.



Rycina 1. Schematyczne przedstawienie zależności między objętością minutową serca (CO), a częstością stymulacji (PR)

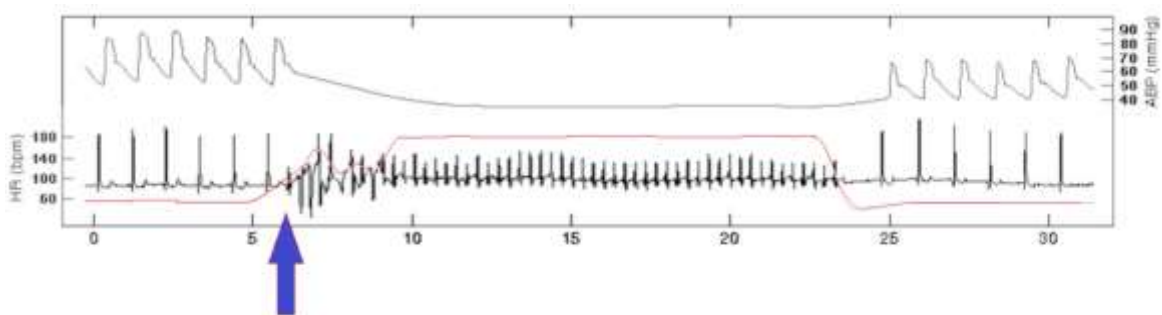
W powyżej wspomnianym doświadczeniu⁴⁸ zaobserwowano wysoką międzyosobniczą zmienność zależności CO-PR, pomimo niewielkich różnic fizjologicznych między badanymi osobnikami, różnice CO przy danej PR sięgały 170%, PR będące granicami faz 1,2 i 3 również istotnie od siebie odbiegały.

Choć powyższa trójfazowa zależność między CO, a PR jest opisywana najczęściej, nie jest jedyną, stany fizjologiczne lub choroby mogą ją znacząco modyfikować. Najprostszą formą zależności jest relacja 2-fazowa, występująca głównie u zdrowych osobników: CO pozostaje stała przy szerokim zakresie PR i zaczyna dopiero maleć po przekroczeniu progowego PR⁴⁹. U zwierząt wykonujących w trakcie badania aerobowy wysiłek fizyczny, trójfazowa, opisana powyżej, zależność między CO a PR, zostaje zachowana lub, zwłaszcza w przypadku intensywnego wysiłku, plateau *fazy 2* zaczyna zanikać i pojawia się szczytowa wartość CO, a dalszy wzrost PR powyżej tej wartości prowadzi już do spadku CO⁵⁰. Podobne zmiany zaobserwowano w sercach niewydolnych lub o farmakologicznie obniżonej kurczliwości – zanika faza plateau, w jej miejsce pojawia się szczytowa wartość CO przy krytycznej PR – każdy dalszy wzrost szybkości stymulacji prowadzi do dramatycznego załamania krzywej CO-PR. Im wyższy stopień uszkodzenia mięśnia sercowego, tym niższa wartość krytycznej PR. Innymi słowy, serca niewydolne są mniej odporne na wysokie PR⁴⁹. Istotnym elementem jest miejsce stymulacji, stymulacja przedsionkowa zwiększa wprawdzie CO o ok. 25%, lecz nie zmienia wartości krytycznej PR (powyżej której dochodzi już tylko do spadku CO)⁴⁹.

Szereg eksperymentów ukazał istotę powrotu żylnego i jego pochodnych parametrów w przedsionkach dla zmian krzywej CO-PR. Zasadniczo, im większa wartość powrotu żylnego, tym większa maksymalna osiągnięta CO i wartość krytycznej PR, powyżej której, CO maleje. Jeśli ciśnienie napełniania jest utrzymywane na adekwatnie wysokim poziomie, RVP jest zasadniczo dobrze tolerowane ze względu na stabilną wartość objętości wyrzutowej SV, a główną determinantą CO staje się wtedy PR. Stymulacja przedsionkowa w porównaniu do komorowej w tym przypadku najprawdopodobniej przesuwiała krytyczną PR w stronę wartości wyższych, ze względu na istotną rolę skurczu przedsionków w napełnianiu komór^{51,52}. Ostatecznie, przy wartościach PR przekraczających 200/min dla stymulacji komorowej, napełnianie komór zostaje ograniczone przez inne czynniki, które wzrost ciśnienia napełniania nie jest już w stanie skompensować, takie jak krótki czas trwania rozkurczu z niekompletną relaksacją miokardium i zredukowaną podatność komór⁵³⁻⁵⁵. Powyższa wyłumaczenie wydaje się zgodne z obserwacjami, że obciążenie objętościowe zdrowych psów prowadzi do istotnego wzrostu CO, ale zjawisko to już nie występuje przy RVP 250/min⁵⁶. Kolejną cechą

RVP, która jest często pomijana, jest zmienność czasowa parametrów hemodynamicznych po zaaplikowaniu RVP. Inicjacja RVP, nawet ze stosunkowo niskimi PR, prowadzi zazwyczaj do gwałtownego spadku CO z tendencją do powolnego wzrostu w miarę osiągnięcia stanu stacjonarnego⁵⁷.

Zjawisko redukcji MAP przez nagłą aktywację RVP znalazło praktyczne zastosowanie w zabiegach na układzie krążenia (implantacja zastawek serca, pozycjonowanie stentów, klipsowanie tętniaków wewnątrzczaszkowych), niższe MAP i wygładzenie fali tętna ułatwia zabieg technicznie i mają uczynić go bezpieczniejszym dla pacjenta. Sladien i współautorzy zauważyli, że minimum ciśnienia tętniczego pojawia się już po 3-4 sekundach od początku aplikacji RVP, a natychmiastowo po zakończeniu RVP obserwowano przywrócenie rytmu zatokowego i parametrów hemodynamicznych⁵⁸⁻⁶⁰.



Rycina 2. Na podstawie Slaiden i współautorzy⁵⁸, zmodyfikowano graficznie dla poprawy czytelności. Krzywa górna - ABP – arterial blood pressure) - ciśnienie tętnicze; linia czerwona - HR – heart rate: akcja serca; na dole: EKG. Strzałka wskazuje początek RVP. Uwagę zwraca natychmiastowy głęboki spadek ciśnienia tętniczego po zaaplikowaniu RVP i niezwłoczny powrót od rytmu zatokowego i normalnych wartości ABP po jego zakończeniu.

Zmienność pozostałych parametrów hemodynamicznych w trakcie RVP

Najlepszej jakości dane pochodzą z doświadczeń przeprowadzanych na psach, gdzie RVP z częstotliwościami rzędu 250/min powoduje gwałtowny obniżenie: CO (o ok. 30-40% w porównaniu do wartości wyjściowych), szczytowego ciśnienia skurczowego w lewej komorze serca i ciśnienia tętniczego, pomimo wzrostu oporu obwodowego. Wzrostowi ulegają ciśnienia napełniana lewej komory i w łożysku płucnym⁶¹⁻⁶³. Wyżej przedstawione zmiany nie dają się wyłącznie wytłumaczyć skróceniem fazy napełniania w obliczu RVP. Większość doświadczeń prowadzi do zgodnych wniosków, że w RVP o ostrym początku, również następujące parametry opisujące funkcje skurczową ulegają pogorszeniu: a) skracanie kardiomiocytów w fazie skurczu, b) osiągane szczytowe wartości ciśnienia skurczowego w LV, c) LV dP/dt_{max} – nie tylko w czasie RVP, ale również po jej ustaniu, z tendencją do powrotu do wartości wyjściowych⁶⁴⁻⁶⁶. Zmniejszenie parametru LV dP/dt_{max} najlepiej

korelowało z ciężkością i prognozą w przypadku psiego modelu ostrej niedokrwiennej niewydolności serca¹⁶, jego znaczenie w przypadku RVP-AHF jest jeszcze nieznane. Zaburzenia kurczliwości wydają się także mieć podłoże molekularne, w przypadku izolowanych kocich kardiomiocytów poddawanych RVP dochodzi do istotnych zaburzeń w zakresie wewnątrzkomórkowej gospodarki jonami Ca^{2+} ⁶⁶. Istotną rolę przypisuje się także reaktywnym formom tlenu. W sercach szczurzych poddawanych RVP pojawia się znaczący stres oksydacyjny, który nie ma podłoża niedokrwiennego. Podanie antyoksydantów prowadzi do normalizacji funkcji skurczowej i parametrów hemodynamicznych, ale tylko w fazie po RVP, lecz nie w jego trakcie^{64,67}.

Zapotrzebowanie mięśnia sercowego na tlen w trakcie RVP

Związek pomiędzy zużyciem tlenu przez mięsień sercowy (MVO_2), a PR jest złożony. Sama akcja serca jest tylko jednym z wielu czynników, które wpływają na MVO_2 , istotne znaczenie ma też obciążenie serca / praca mechaniczna jaką serce ostatecznie, przy danej PR, wykonuje, a sam status hemodynamiczny (ciśnienia napełniania, obciążenie wstępne i następcze, opór naczyniowy) jest także funkcją PR. W związku z powyższym należy rozgraniczyć wyniki dostarczone przez doświadczenia na izolowanych sercach zwierzęcych od tych, prowadzonych *in vivo*. W pierwszym przypadku status hemodynamiczny podlega kontroli zespołu badawczego, w drugim złożonym mechanizmom fizjologicznym, próbującym utrzymać homeostazę. Przynajmniej jedna prosta zależność jest pewna – wzrost PR powoduje wzrost MVO_2 . W bardzo skomplikowanym protokole doświadczalnym obejmującym izolowane psie serca udowodniono, że zużycie tlenu przypadające na jeden cykl pracy serca jest niezależne od samej PR, pod warunkiem, że czynniki determinujące inotropizm (ciśnienie i objętość końcoworozkurczowe) i obciążenie następcze pozostają stałe. W takim przypadku MVO_2 rośnie w liniowej relacji do:

- PR, gdyż przy wyższych PR, w ciągu jednostki czasu nastąpi więcej cykli pracy serca, ale zużycie tlenu na cykl pozostaje stałe,
- pola powierzchni ograniczonego pętłą ciśnienie/objętość lewej komory, które jest miarą pracy zewnętrznej wykonanej przez serce w trakcie pojedynczego cyklu⁶⁸.

Pierwsze doświadczenia *in vivo* wykonywane były na modelach *open chest* i ukazywały nieliniowe zależności MVO_2 od PR. Przy wyższych PR, zużycie tlenu per cykl również rosło, co przekładało się na wykładniczo rosnącą zależność MVO_2 od PR. Zwiększone zapotrzebowanie na tlen wynikało wg autorów ze zwiększonej kurczliwości miokardium przy wysokich PR⁶⁹.

Doświadczenia przeprowadzane *in vivo*, w modelach *closed chest* ukazały wprowadzić również niezmiennie zapotrzebowanie na tlen przypadające na cykl pracy serca, lecz powyżej optymalnych zakresów PR (około 220/min), w przypadku żywych, niepoddawanych znieczuleniu ogólnemu zwierząt, parametry hemodynamiczne ulegają załamaniu, co skutkuje niekorzystnym stosunkiem MVO_2 do pracy zewnętrznej serca^{70,71}.

Wpływ na MVO_2 ma także sam tryb stymulacji. Przy identycznych warunkach i tej samej PR, stymulacja wyłącznie komorowa pociąga za sobą wyższe MVO_2 niż stymulacja przedsionkowa. Sekwencyjna stymulacja przedsionkowo-komorowa wiązała się z podobnie wysokim MVO_2 , co stymulacja wyłącznie komorowa, ale za to charakteryzowała się znacznie lepszymi parametrami hemodynamicznymi. Sprawność serca (definiowana jako stosunek wykonanej pracy zewnętrznej do nakładu energetycznego) w przypadku stymulacji sekwencyjnej jest więc dużo wyższa^{72,73}.

Sprawność serca i zjawisko marnowania tlenu podczas RVP

Wysokie zapotrzebowanie na tlen i zredukowana praca zewnętrzna serca bezspornie prowadzą do niskiej sprawności serca (η) podczas RVP. W warunkach fizjologicznych wynosi ona od ok. 15% do 40%, przy czym wartości ok. 25% pochodzą z najnowszych badań i są najbardziej wiarygodne⁷⁴. Podczas RVP η osiąga dramatycznie niskie wartości, choć i tu literatura dostarcza zróżnicowanych wyników, od mniej niż 1% przy zaledwie $PR=240/\text{min}$ ⁷⁵ do 5% przy $PR\approx 300/\text{min}$ ⁷⁰, w obu przypadkach mowa jest o doświadczeniach prowadzonych na psach.

Istnieje kilka hipotez tłumaczących te zjawiska. Niewątpliwie asynchroniczna aktywacja komórek serca i brak czynności skurczowej przedsionków, oba będące skutkiem niefizjologicznego miejsca ekscytacji komórek serca w trakcie RVP prowadzą do ekscesywnie wysokiego zapotrzebowania na tlen^{72,75}. RVP prowadzi do nieproporcjonalnie wysokich wartości ciśnienia końcoworozkurczowego w stosunku do objętości końcoworozkurczowej, stąd hipoteza zużycia energii potrzebnej do utrzymywania rozkurczowego napięcia ścian serca. Podobne efekty wzrostu napięcia ścian serca w fazie rozkurczu obserwuje się w przypadku stymulacji katecholaminami⁷⁶.

Inna hipoteza sugeruje, że w trakcie RVP na skutek stymulacji adrenergicznej miokardium preferencyjnie jako surowca energetycznego używa wolnych kwasów tłuszczowych, które wymagają większego zużycia tlenu w stosunku do dostarczanej energii w trakcie oksydacji⁵⁷.

Perfuzja wieńcowa w trakcie RVP

Przeprowadzono szereg eksperymentów, których celem była charakteryzacja perfuzji wieńcowej w warunkach RVP, otrzymywane wyniki różniły się znacznie, podobnie jak same protokoły doświadczalne. Generalnie rzecz ujmując, w przypadku serc zdrowych, przepływ wieńcowy wzrasta wraz z PR, z by sprostać zwiększonemu zapotrzebowaniu na tlen bez istotnych zaburzeń w przepływie przez ściany serca.

Najstarsze doświadczenia były przeprowadzane na sercach izolowanych lub w konwencji *open-chest* i wykazały proporcjonalny wzrost perfuzji wieńcowej względem PR, z osiągnięciem maksimum przy bardzo wysokich PR⁷⁷. Doświadczenia przeprowadzone na znieczulonych, lecz spontanicznie oddychających psach, ukazały stałą objętość krwi przepływającej przez naczynia wieńcowe przypadającą na cykl pracy serca, a więc proporcjonalny wzrost perfuzji wieńcowej wraz z PR, nie zaobserwowano zmian w gradiencie tętniczo-żylnym (poziom ekstrakcji tlenu przy przepływie przez miokardium) w miarę wzrostu PR⁷¹. Późniejsze eksperymenty wykazały liniową zależność pomiędzy ilością tlenu dostarczaną do miokardium (rozumianą jako iloczyn przepływu wieńcowego i gradientu tętniczo-żylnego), a PR, przynajmniej aż do wartości rzędu 350/min⁷⁵. Przy czym należy podkreślić, że wzrost ilości tlenu dostarczanego do miokardium odbywa się głównie drogą wzmożonego przepływu wieńcowego, gdyż ekstrakcja tętniczo-żylna tlenu w przypadku serca nie może już znacząco wzrosnąć⁷⁵.

Wyżej wymieniony wyniki są spójne z obserwacjami na poziomie molekularnym i metabolicznym. W przypadku RVP-AHF, w przeciwieństwie do RVP-CHF, nie stwierdzono zaburzeń oksydacyjnej fosforylacji, stężenia ATP i ADP w trakcie RVP w sercu uprzednio zdrowym, są stałe, podobnie jak stężenia kwasu mlekowego⁶³, nie ma więc wystarczających dowodów, by wyjaśnić zaburzenia hemodynamiczne w trakcie RVP względnym niedokrwieniem mięśnia sercowego, przynajmniej przy założeniu zdrowych naczyń wieńcowych. Z drugiej strony bardziej współczesne doświadczenia udowodniły występowanie znaczącej desaturacji miokardium przy znacznie niższych, a nawet fizjologicznych PR. Desaturacje te były jednak wynikiem dodatkowego wzmocnienia nierównowagi w zapotrzebowaniu i podaży tlenu. Zapotrzebowanie mięśnia sercowego na tlen zwiększono przez podanie izoprenaliny, a podaży zmniejszono przez wykrwawianie zwierzęcia⁷⁸. Innym przykładem niewystarczającego przepływu wieńcowego jest eksperyment, w którym przy użyciu PR określanej jako ekstremalnie wysoka, uzyskano stan zbliżony do zatrzymania krążenie z krytycznie niskimi wartościami CO i ciśnienia tętniczego. Niestety nie podano, jak wysoką PR zastosowano⁷⁹.

Podsumowując – niewystracająca perfuzja wieńcowa w kontekście RVP ma miejsce tylko wtedy, gdy jednocześnie występuje głęboka hipotensja lub zapotrzebowanie mięśnia sercowego na tlen jest ekscesywnie zwiększone przez dodatkowe czynniki.

Aktywacja neurohumoralna i obwodowa część układu krążenia w trakcie RVP.

Uruchomienie RVP wpływa także na obwodową część układu krążenia poprzez aktywację neurohumoralną. Nagłe i gwałtowne obniżenie CO i MAP związane z zapoczątkowaniem RVP, drogą odruchową uwalnia znaczne ilości noradrenaliny, co z kolei prowadzi do szybkiego wzrostu obwodowego oporu naczyniowego (PVR). W trakcie następnych minut trwania RVP, wyżej wymienione parametry zmierzają do stanu wyjściowego, a ustanie RVP prowadzi do ich zupełnej normalizacji⁵⁷. W przeciwieństwie do tego, stężenie katecholamin wzrasta stale podczas RVP (nawet gdy jest aplikowane przez wiele godzin^{62,80}), a nawet po jego zakończeniu⁵⁷. Te rozbieżne zmiany w TPR i stężeniu katecholamin sugerują, że w RVP-AHF mechanizmy rozszerzające naczynia przewyższają nad mechanizmami wazokonstrykcyjnymi. Jest to głównie zasługa peptydów natriuretycznych.

Przedsionkowy czynnik natriuretyczny (ANF), podobnie jak katecholaminy, jest uwalniany natychmiast po rozpoczęciu RVP i jego stężenie wzrasta przez wiele godzin lub nawet dni trwania RVP⁸⁰. Z kolei mózgowy peptyd natriuretyczny (BNP) nie jest uwalniany we wczesnym RVP-AHF, ale jego suplementacja podczas RVP może łagodzić niekorzystne efekty wywołane przez RVP-AHF⁸¹. Uwolnienie ANF jest związane z szybko rosnącymi parametrami napięcia ściany lewego, ale nie prawego przedsionka, jak również z innymi interwencjami prowadzącymi do gwałtownego wzrostu parametrów obciążenia ściany przedsionka⁸²⁻⁸⁴. Dalsze obciążanie układu krążenia poprzez ekscesywne dodawanie objętości krążącej u psów, u których RVP-AHF osiągnęło już stan stacjonarny, nie było związane z dalszym wzrostem ANF, mimo dalszego wzrostu parametrów mechanicznego obciążenia przedsionka⁶¹. Wskazuje to, że uwolnienie ANF w RVP-AHF jest ograniczone pewną wartością maksymalną. Z drugiej strony, w odwróconym protokole eksperymentalnym (stosowanie RVP dopiero po przeciążeniu objętościowym) obserwowano wzrost stężenia ANF przy braku dalszego wzrostu objętości i ciśnienia przedsionkowego⁸⁵. Niemniej uwalnianie ANF zależy również od innych mechanizmów, choćby samo elektryczne stymulowanie przedsionków prowadzi do uwolnienia ANF⁸⁶.

W modelach, w których RVP jest stosowane w celu wywołania przewlekłej niewydolności serca, ANF spada po osiągnięciu wartości szczytowej między 7 a 14 dniem licząc od początku trwania RVP^{80,85}. Uwalnianie ANF w sercach przewlekle osłabionych (RVP-CHF) w odpowiedzi na przeciążenie objętościowe jest znacząco upośledzone⁸⁰.

Wyczerpanie mechanizmów uwalniania ANF w RVP-CHF jest uważane za przyczynowo związane z rozwojem objawów niewydolności serca i upośledzeniem funkcji nerek⁸⁷.

Peptydy natriuretyczne wykazują działanie plejotropowe, ich działanie opiera się o przekaznictwo przy udziale cGMP (cyklicznego guanozynomonofosforanu) i układu tlenu azotu (NO). Za pośrednictwem cGMP dochodzi m.in. do hamowania układu renina-angiotensyna-aldosteron (RAAS), uwalniania endoteliny-1, jak również utrzymania filtracji kłębuszkowej i wydalania sodu przez nerki. Przy udziale NO peptydy natriuretyczne zapewniają odpowiednią perfuzję nerkową, nie wpływając znacząco na filtrację kłębuszkową i wydalanie sodu⁸⁸. Prostaglandyna E1 również wykazała właściwości ochronne dla funkcji nerek podczas RVP-AHF, ale nie jest pewne, czy w RVP-AHF dochodzi do endogennego wzrostu jej syntezy, czy jej ochronny potencjał występuje tylko wtedy, gdy podawana jest z zewnątrz^{62,89}.

RVP-AHF pomimo aktywacji mechanizmów ochronnych, skutkuje spadkiem MAP i perfuzji nerkowej⁸⁹. Nie prowadzi to jednak we wczesnych fazach RVP-AHF (w całkowitej opozycji do CHF) do aktywacji RAAS. Doświadczenia najczęściej wykazywały brak zmian w aktywności RAAS^{62,88}, a czasami nawet spadek stężeń reniny, z jej minimum po 2 godzinach trwania RVP⁸⁰. Uważa się, że jest to głównie zasługa zdolności peptydów natriuretycznych do hamowania uwalniania reniny^{81,90}. Wprawdzie RAAS nie jest istotnie pobudzony we wczesnych fazach RVP-AHF, jednak podawanie środków blokujących jego aktywację (takich jak ACEI lub ARB) łagodzi rozwój AHF w modelu RVP i przeciążenia objętościowego. Dzieje się tak dlatego, że RVP samo w sobie znacząco zmniejsza pojemność naczyń (wazokonstrykcja) i objętość krwi nieobciążonej (*unstressed blood volume*). Hamowanie RAAS częściowo odwraca te efekty i zwiększa tolerancję układu krążenia na przyjęcie dodatkowej objętości^{56,91}.

Podobnie jak RAAS, stężenie innego czynnika zwężającego naczynia - wazopresyny - nie jest zmienione we wczesnej fazie RVP-AHF⁸⁰.

Układ endotelin

Odkrycie endotelin zostało opublikowane przez zespół badawczy w Japonii pod kierownictwem Yanagisawy w 1988 roku, po wyizolowaniu i zsekwencjonowaniu polipeptydu pochodzenia śródłonkowego o silnych właściwościach wazokonstrykcyjnych zależnych od zewnątrzkomórkowego stężenia jonów wapnia⁹². Do układu endotelin zaliczamy 21-aminkowasowe polipeptydy: endotelinę-1 (ET-1), endotelinę-2 (ET-2), endotelinę-3 (ET-3), ich receptory błonowe sprzężone z białkiem G typu A i typu B (ET_A i ET_B) oraz enzymy konwertujące endotelinę (ECE)⁹³. Sekwencja aminokwasów rodziny endotelin jest identyczna

u wszystkich ssaków i bardzo zbliżona do składnika jadu węży *Atractaspis engaddensis* – sarafotoksyny, również o silnych właściwościach wazokonstrykcyjnych^{94,95}.

Synteza i konwersja endoteliny

Synteza endoteliny 1,2 i 3 przebiega w sposób zbliżony i zostanie omówiona na podstawie najistotniejszej z punktu widzenia fizjologii/ patofizjologii układu krążenia i najdokładniej przebadanej, ET-1.

U człowieka gen endoteliny zlokalizowany jest na szóstym chromosomie⁹⁶, produktem jego transkrypcji jest mRNA o długości 2026 nukleotydów i krótkim okresie półtrwania rzędu 15 minut⁹⁷, którego translacja skutkuje powstaniem 212-aminokwasowego polipeptydu zwanego preproendoteliną. Po usunięciu krótkiej sekwencji sygnałowej przy pomocy odpowiedniej peptydazy powstaje pro-Endotelina-1 (proET-1), jej proteoliza skutkuje powstaniem „dużej endoteliny-1” (*Big ET-1*), proces ten w komórkach śródbłonna naczyń zachodzi przy pomocy futryny i konwertazy proteinowej^{98,99}.

Big ET-1 jest obecna we krwi, aczkolwiek jej działanie wazokonstrykcyjne jest o ok. 2 rzędy wielkości słabsze niż ET-1¹⁰⁰, ostateczne przekształcenie z *Big ET-1* do ET-1 zachodzi głównie przy udziale enzymów konwertujących endotelinę (ECE). Znane są 3 izoformy ECE (ECE-1, ECE-2, ECE-3), spośród których ECE-1 i ECE-2 mają cztery dodatkowe (sub-)izoformy: a, b, c oraz d, determinujące głównie ich zakotwiczenie w odpowiednich strukturach błonowych komórek, a więc i miejsce aktywności biologicznej. Z biochemicznego punktu widzenia ECE to peptydazy cynkowe⁹⁴.

ECE-1: występuje głównie w komórkach śródbłonna, lecz jego aktywność wykrywa się we wszystkich tkankach i obszarach, jako jedyny z całej rodziny ECE może występować na powierzchni zewnętrznej komórek, ma największe powinowactwo do *Big ET-1*, niemniej jest też zdolny do proteolizy innych peptydów. Profil aktywności ECE-1 od pH jest bardzo wąski, a jego maksimum obserwuje się przy pH=6,8^{94,101}.

ECE-2 jest w ok 60% podobny do ECE-1, jego cztery izoformy występują wyłącznie wewnątrzkomórkowo, optymalne pH jest znacznie bardziej kwaśne niż ECE-1 i wynosi pH=5,5, co wskazuje na jego aktywność powiązaną głównie z aparatem Golgiego^{94,102,103}.

Działanie ECE-3 ogranicza się głównie do konwertowania ET-3¹⁰⁴.

Sprzeczne jest, który etap biosyntezy dojrzałej endoteliny jest etapem limitującym i podlegającym kluczowej kontroli. *Magder i współautorzy* sugerują, że jest nim konwersja z *Big ET-1* do ET-1 przy pomocy ECE⁸, niemniej wiadomo, że proces ten może odbywać się też przy udziale innych, mniej specyficznych enzymów – chymazy i endopeptydazy

neutralnej¹⁰⁰, a u myszy pozbawionych aktywności ECE-1 i ECE-2 poziom dojrzałych endotelin jest jedynie o 1/3 niższy niż u osobników o natywnej aktywności enzymów konwertujących. *Kohan i współautorzy* w rozległej pracy pogładowej sugerują, że nie ma dowodów na kluczową rolę ECE w tym procesie, zaś wg nich, głównym etapem kontrolnym jest transkrypcja genów endotelin⁹⁴. Przemawia za tym niewielka ilość ET-1 (i jej prekursorów) zmagazynowana wewnątrz komórek i (krążąca) we krwi oraz ich krótki okres półtrwania – wspomniane powyżej 15 min dla mRNA prepro-ET-1 i 4-7min dla dojrzałej ET-1 w surowicy^{8,105}. Wzrost stężenia musi zatem poprzedzać intensywna transkrypcja, dla której zaś poznano szereg tkankowo specyficznych czynników transkrypcyjnych oraz ich złożone interakcje zapewniające syntezę i aktywację ET tylko w określonych tkankach i okolicznościach¹⁰⁶. Hipotezę o kluczowej roli ECE w ograniczaniu syntezy dojrzałych endotelin podważają badania sugerujące, że ekspresja genu ECE pobudzana jest jednocześnie z transkrypcją genu ET, ta skoordynowana regulacja zapewnia dostateczną dostępność ECE do konwersji prekursorów ET w jej biologicznie czynne formy¹⁰⁷.

Czynniki fizykochemiczne, które indukują aktywację genu ET-1 w komórkach śródbłonna to ich ekspozycja na niskie naprężenia ścinające^{108,109}, pulsacyjne rozciąganie¹¹⁰ i hipoksja. Z czego ostatnia jest jednym z najsilniejszych czynników stymulujących transkrypcję genu ET-1 i może być główną przyczyną wysokich stężeń ET-1 podczas ostrej fazy zawału mięśnia sercowego¹¹¹, w tym przypadku źródłem ET-1 są niedotlenione kardiomiocyty. Czynniki biochemiczne, które stymulują produkcję ET-1 to hiperglikemia, hipercholesterolemia, niedobór estrogenów, mikroRNA interleukiny 1- β , wazopresyna, angiotensyna II, transformujący czynnik wzrostu beta (TGF- β), płytkopochodny czynnik wzrostu (PDGF) i czynnik martwicy nowotworów (TNF α), działanie odwrotne wykazuje tlenek azotu, prostacyklina (PGI₂) i ANP; w miarę starzenia stężenie ET-1 wzrasta¹¹²⁻¹¹⁶. *Stow i współautorzy* sugerują, że konsensus naukowy wskazuje na transkrypcję jako główny element kontrolny w powstawaniu i osiągnięciu aktywności biologicznej endotelin¹¹³.

Kolejny, choć mniej istotny, mechanizm regulujący uwalnianie aktywnej biologicznie ET-1 opiera się na obecności i funkcjonowaniu ciałek Weibel-Paladego (WPB, Weibel-Palade bodies) w komórkach śródbłonna. Są to pęcherzykowate organelle cytoplazmatyczne magazynujące substancje sygnałowe i regulacyjne istotne dla procesów krzepnięcia, angiogenezy, kontroli stanu zapalnego i napięcia naczyń, w tym ET-1. Zawartość WPB może ulegać zmianom, w zależności od aktualnych potrzeb. Do znanych czynników indukujących egzocytozę WPB zawierających ET-1 należy znów: hipoksja, trombina i naprężenia ścinające i uszkodzenie ściany naczynia^{117,118}.

Receptory endoteliny i ich aktywność biologiczna w różnych narządach

Endoteliny aktywność biologiczną realizują przy pomocy swoich receptorów – typu A i B (ET_A , ET_B), których działanie w większości przypadków się antagonizuje. Powinowactwo ET-1 i ET-2 do ET_A jest zbliżone lub nieco większe w przypadku ET-1, natomiast siła wiązania ET-3 do tego receptora jest znikoma, bo o około 2 rzędy wielkości mniejsza. Wszystkie trzy endoteliny mają podobne powinowactwo do ET_B ^{119,120}. Istnienie trzeciego typu receptora – ET_C specyficznego dla ET-3 pozostaje niejasne, głównie ze względu na brak doniesień o odkryciu kodującego go DNA¹²¹. Receptory po związaniu endoteliny aktywują wewnątrzkomórkowe szlaki sygnałowe zawsze poczynając od aktywacji białek G, natomiast kolejne poziomy kaskad sygnałowych mogą się różnić w zależności od tkanki i stanów fizjologicznych i obejmować cyklazę adenylową, cyklooksygenazę, syntazy tlenu azotu, kinazy tyrozynowe, cytochrom p-450 i inne⁹⁴.

Receptory endoteliny mogą być zlokalizowane niemal w każdej komórce ciała, przy czym możliwa jest jednoczesna ekspresja obu typów (A i B) na powierzchni komórki. Pomimo odkrycia ich w wielu narządach i wykazania udziału patofizjologii różnych chorób, jak chociażby astma, choroby nowotworowe: rak jelita grubego, jajnika, prostaty, płuc i piersi, marskość wątroby czy neuropatyczne zespoły bólowe^{116,122–125}, główną rolę układu endoteliny należy utożsamiać z ich wpływem na układ krążenia (w tym płucnego) i gospodarki wodno-elektrolitowej⁹⁴.

ET_A w obrębie naczyń zlokalizowane są głównie w obrębie błony mięśniowej, ET_A nie występuje na powierzchni komórek śródbłonka (wyłączna ekspresja ET_B). Pobudzenie ET_A komórek mięśni gładkich naczyń drogą dalszych poziomów kaskad sygnałowych zwiększa wewnątrzkomórkowe stężenie jonów wapnia (Ca^{2+}) przez ich napływ z przestrzeni zewnątrzkomórkowej i uwalnianie Ca^{2+} z retikulum endoplazmatycznego, ostatecznie prowadząc do silnego skurczu mięśni gładkich naczyń i wazokonstrykcji, która jest bardzo trwała. Właśnie trwałość efektu biologicznego po pobudzeniu ET_A jest jego cechą odróżniającą od ET_B . Skurcz mięśniówki gładkiej naczyń utrzymuje się długotrwale nawet po odłączeniu liganda od ET_A i ta cecha jest kluczowa do zrozumienia dynamiki efektu biologicznego dożylniej podaży egzogennej ET-1. ET_B wprawdzie również występuje na powierzchni komórek mięśni gładkich naczyń i jego pobudzenie wywołuje w nich podobne efekty biologiczne co ET_A , jednak główną rolę ET_B sprawuje w komórkach śródbłonka, gdzie po aktywowaniu poprzez ET-1, pobudza produkcję i uwolnienie tlenu azotu (NO) i PGI_2 , czyli substancji o działaniu wybitnie wazorelaksacyjnym^{126,127}. Efekt ten jest mniej trwały. Po podaniu dożylnym egzogennej ET-1, obserwuje się początkowo głęboką hipotonię, po której następuje

trwały wzrost ciśnienia tętniczego⁹². Zjawisko to można wyjaśnić następująco: ET-1 we krwi najpierw wchodzi w interakcję z komórkami śródbłonna umiejscowionymi na wewnętrznej stronie naczynia. W tym momencie ujawniają się jej właściwości wazorelaksacyjne, które są związane z pobudzeniem receptorów ET_B na komórkach śródbłonna. Efekt naczynioskurczowy wymaga natomiast interakcji z bardziej obwodowo położonymi komórkami mięśniówki gładkiej, co następuje później. Jednak ze względu na specyfikę receptora ET_A, efekt ten utrzymuje się dłużej⁹⁴. Opisanie zmiany (ogólnoustrojowa hipotonia/nadciśnienie tętnicze) są sumą wszystkich zmian zachodzących w łożysku naczyniowym, a także wpływu ET-1 na czynność serca i gospodarkę wodno-elektrolitową. Warto jednak zauważyć, że nie we wszystkich narządach endoteliny powodują skurcz naczyń. Wpływ endoteliny na naczynia danego narządu docelowego, wraz z określeniem receptora odpowiedzialnego za dany efekt, przedstawia *Tabela 1*. Generalizując, można powiedzieć, że pobudzenie receptorów ET_A zawsze prowadzi do skurczu naczyń, zaś rozkurcz jest możliwy tylko za pośrednictwem receptorów ET_B. Natomiast pobudzenie ET_B może skutkować zarówno skurczem jak i rozkurczem komórek gładkich naczyń, decydującą rolę pełni tutaj typ białka G z jakim ET_B w danej komórce jest sprzężony. Ciekawym zjawiskiem jest to, że zarówno użycie selektywnych agonistów, jak i antagonistów ET_B prowadzi do skurczu naczyń. W przypadku blokady receptorów ET_B, skurcz jest wynikiem zahamowania wydzielania tlenu azotu oraz wyparcia ET-1 z receptorów typu B. To z kolei prowadzi do większej dostępności ET-1 dla receptorów typu A, powodując skurcz naczyń. Zastosowanie selektywnych agonistów ET_B, podobnie jak w przypadku samej ET-1, wywołuje dwufazową reakcję - początkowo hipotonię, a później hipertonię. Ten mechanizm opiera się na pierwotnym pobudzeniu komórek śródbłonna, z późniejszą aktywacją komórek mięśni gładkich. Te obserwacje są zgodne z faktem, że skurcz komórek mięśni gładkich naczyń występuje zarówno po pobudzeniu receptorów ET_A, jak i ET_B⁹⁴.

Rozmieszczenie receptorów endotelin w tkankach i ich aktywność biologiczna		
Tkanka (Efekt tkankowy)	ET _A	ET _B
naczynia		
mięśnie gładkie tętnic (skurcz)	+++	+
mięśnie gładkie żył (skurcz)		++
komórki śródbłonna (uwolnienie EDRF)		+++
mięsień sercowy		
inotropizm dodatni	++	+
chronotropizm dodatni	++	+
naczynia wieńcowe (skurcz)	+++	+
mięśnie gładkie poza układem krążenia		
drogi oddechowe, przewód pokarmowy, pęcherz, macica itp. (skurcz)	++	+
nerka		
tętniczka doprowadzająca i odprowadzająca (skurcz)	+++	++
kanalik nerkowy (wydzielanie sodu i diureza)		+++
komórki mezangium (skurcz i proliferacja)	+	+++
ośrodkowy układ nerwowy		
śródmózgowie (kontrola ciśnienia tętniczego)	+	++
astrocyty (proliferaacja)	+	+++
układ wewnątrzwydzielniczy		
Kora nadnerczy (uwolnienie aldosteronu)	+	+++
płat przedni przysadki mózgowej (uwolnienie ACTH i prolaktyny)	+	++
jajniki (pobudzenie wydzielania hormonów żeńskich)	++	+

Tabela 1. Efekt działania ET-1 funkcje narządu docelowego wraz z receptorem, za pomocą którego efekt ten jest osiągnięty, na podstawie artykułu Dhauna i współautorów¹²⁷.

Właściwości naczynioskurczowe endotelin nie są ograniczone jedynie do łożyska tętniczego i kapilar. Substancje te działają również silnie naczynioskurczowo w naczyniach żylnych, a efekt ten jest głównie realizowany poprzez receptory ET_B. W układzie żylnym dominacja ET-1 nad pozostałymi izoformami endotelin nie jest już obecna, głównie ze względu na równe powinowactwo ET_B do ET-1, ET-2 i ET-3¹²⁸.

W badaniu, które bezpośrednio porównywało wpływ endotelin na kurczliwość dużych naczyń żylnych i tętniczych u psów i ludzi, zaobserwowano, że duże żyły są znacznie (5-10-krotnie) bardziej wrażliwe na działanie ET-1 niż porównywalne tętnice. Wrażliwość ta odnosi się do stężenia ET-1, które jest wymagane do osiągnięcia, na przykład, maksymalnej lub połowicznej siły skurczu. Należy jednak podkreślić, że bezwzględna siła skurczu tętnic była zawsze większa niż siła skurczu porównywalnej żyły. Jest to jednak wynikiem grubszej warstwy mięśniowej, a nie większej wrażliwości pojedynczej komórki mięśni gładkich na ET-1¹²⁹.

Innym istotnym aspektem wpływu endotelin na naczynia jest ich przepuszczalność. Pomimo ponad 30-letniej wiedzy na temat zjawiska wzrostu hematokrytu po podaniu ET-1, które jest wykładnikiem utraty osocza, nasza wiedza na temat regulacji przepuszczalności naczyń jest nadal niepełna. Szczególnie niezrozumiałe są kwestie związane ze zmianą przepuszczalności w zależności od narządu i stanów chorobowych¹³⁰.

Uogólniając - wybiórcze działanie agonistyczne wobec receptorów ET_A zwiększa przepuszczalność naczyń, a ich blokada zapobiega przesączeniu płynów przez ściany naczyń. Z kolei receptory ET_B działają odwrotnie - ich pobudzenie zmniejsza przepuszczalność naczyń, a blokada zwiększa. Ten efekt wydaje się mieć charakter progowy - to znaczy, że tylko wysokie stężenia ET-1 po pobudzeniu receptorów ET_B redukują przepuszczalność naczyń. Na ogół, w regulacji przepuszczalności naczyń, rola receptorów ET_B wydaje się być większa niż receptorów ET_A¹³¹⁻¹³³.

Kolejną unikalną cechą w układzie endotelin jest usuwanie/unieczynnianie biologicznie aktywnych peptydów przy pomocy ich receptorów. Zjawisko to opiera się na nierozdzielalnym charakterze połączenia endoteliny z jej receptorem, tym samym, po jednorazowym utworzeniu kompleksu ligand-receptor, cząsteczka endoteliny jest skutecznie i długotrwale eliminowana z puli molekuł zdolnych do wywarcia efektu biologicznego, innymi słowy, związać z receptorem może się tylko jeden raz po czym ulega eliminacji. Największe znaczenie przypisuje się w tym kontekście ET_B, zwłaszcza w naczyniach płuc, wątroby i nerek^{105,134,135}. Przy dożylnym podaniu egzogennej ET-1 w stężeniach wywołujących skurcz naczyń nie obserwuje się wzrostu stężenia ET-1 w surowicy, co tłumaczy się wychwytem egzogennej ET-1 przez receptory eliminujące⁹⁴. Odwrotnie, po podaniu antagonisty ET_B, czyli zablokowaniu możliwości eliminacji ET-1 przez te receptory, zmierzono zwiększone stężenie wolnej ET-1 we krwi, w przypadku antagonizmu wobec receptorów ET_A zjawisko to wydaje się być znacznie słabiej wyrażone i może mieć znaczenie dopiero przy przewlekłej blokadzie ET_A^{136,137}.

Inne efekty endotelin w układzie naczyniowym regulacja proliferacji komórek i stanu zapalnego, przy czym ET_A przypisuje się rolę wzmagającą te procesy, zaś ET_B rolę odwrotną^{127,138}. Ostatecznie, ET-1 przypisuje się istotną rolę w neoangiogenezie nowotworowej¹³⁹.

Warto dodać, że w warunkach fizjologicznych ET-1 w obrębie naczyń produkowana jest wyłącznie przez komórki śródbłonna, komórki mięśniowe naczyń wytwarzają ET-1 dopiero po stymulacji cytokinami prozapalnymi w stanach chorobowych^{94,140}.

Endoteliny a serce

Kardiomiocyty bezsprzecznie są komórkami docelowymi endotelin, lecz niepewnym pozostaje czy również je produkują. Prowadzono badania na zarodkach i dorosłych osobnikach różnych ssaków, z czego, konkludując, wynika, że kardiomiocyty wytwarzają ET-1 i potrzebne do jej powstania ECE w embrionalnej fazie rozwoju, lecz w wieku dorosłym produkcja ta zanika lub spada do minimalnego poziomu. Endoteliny oddziałujące w warunkach fizjologicznych na serce pochodzą głównie z komórek śródbłonna naczyń, a same kardiomiocyty mogą wydzielać substancje, które stymulują naczyniową syntezę endotelin, taką funkcję najprawdopodobniej pełni angiotensyna II^{94,141–144}.

Czynnikiem, przynajmniej *in vitro*, który stymuluje kardiomiocyty zarodkowe szczurów do produkcji ET-1 jest ich mechaniczne rozciąganie, sugeruje się, że mechanizm ten może mieć wpływ w adaptacji serca do zwiększonego obciążenia wstępnego¹⁴⁵.

Sam wpływ endotelin na serce pozostaje bardzo złożonym zjawiskiem. Wyniki doświadczeń różniły się diametralnie w zależności od badanego gatunku, stadium rozwojowego, aktualnego stanu fizjologicznego i stężeń innych hormonów oddziałujących na układ krążenia, i tak wykazano wpływ inotropowy dodatni, neutralny i ujemny ET-1. Zaobserwowano też wpływ dwufazowy z inotropizmem dodatnim przy kardiomiocytach eksponowanych na niskie stężenia amin katecholowych i inotropizm ujemny w przypadku wysokich stężeń amin katecholowych.

Endoteliny w chorobach układu krążenia

W CHF poziom ET1 jest zwiększony, jego stężenie koreluje z ciężkością zastoju w CHF¹⁴⁶ i ma znaczenie prognostyczne u chorych z rozpoznaną chorobą sercowo-naczyniową (ChSN) – zwiększone stężenia ET1 odpowiadają gorszemu rokowaniu^{147–149}.

Niejasne pozostaje czy zwiększone stężenie ET1 przyczynia się do rozwoju CHF czy wręcz przeciwnie, jest czynnikiem ochronnym, a może jest jedynie parametrem ubocznym, który rośnie w miarę postępu CHF bez istotnego wpływu na szlaki patofizjologiczne¹⁵⁰, u osób bez uprzednio zdiagnozowanych ChSN, wyższe stężenia ET1 korelowały z niższym ryzykiem

sercowo-naczyniowym i wyższą LVEF¹⁵⁰. Ze względu na silne właściwości wazokonstrykcyjne w tętniczym łożysku płucnym, powstała hipoteza, że wywołany wyższymi stężeniami ET1 wzrost oporu naczyniowego w krążeniu małym chroni lewą komorę przed wysokim obciążeniem wstępnym¹⁵⁰. Doświadczenia na zwierzętach wykazały ochronny wpływ ET1 bezpośrednio na poziomie molekularnym kardiomiocytów. Już 35% zmniejszenie stężenia ET1 metodami inżynierii genetycznej doprowadzało u myszy do wzrostu objętości osocza, rozwoju nadciśnienia tętniczego, ścieńczenia ścian serca i rozwoju kardiomiopatii rozstrzeniowej. Zaobserwowane zmiany łączy się w sposób przyczynowy z wyższymi stężeniami reaktywnych form tlenu (RFT) i wyższą aktywnością metaloproteinazy-9 (Mnp9) zdolnej do rozkładania kolagenu w kardiomiocytach myszy o obniżonych stężeniach ET1. Po podaniu amyloridu, normalizowała się objętość osocza i ciśnienie tętnicze, bez większych zmian w czynności kardiomiocytów, zaś użycie dysmutazy ponadtlenkowej poprawiało czynność kardiomiocytów, bez wpływu na objętość osocza i ciśnienie tętnicze. Powyższe fakty sugerują niezależny od siebie wzajemnie wpływ ET1 na serce i układ naczyniowy.

Reasumując, ET1 pełni kluczową rolę w zachowaniu funkcji skurczowej, prawidłowych stężeń Mnp9 i RFT oraz kolagenu w kardiomiocytach, który zapobiega nadmiernemu rozciąganiu kardiomiocytów w cyklu pracy serca¹⁵¹.

Czynniki martwicy nowotworu (Tumor necrosis factors, TNFs)

TNFs to zbiorcza nazwa dla superrodziny składającej się z 19 przedstawicieli (ligandów) i odpowiadającym im 29 receptorom błonowym. Właściwości ich wszystkich są prozapalne, udokumentowano ich rolę w mediacji stanu zapalnego, przerzutowaniu, angiogenezie, apoptozie, ale też proliferacji i morfogenezie. Ponadto zbadano lub przypuszcza się ich udział w patogenezie wielu chorób, przede wszystkim nowotworowych, autoimmunologicznych, sercowo-naczyniowych, płuc i metabolicznych¹⁵².

Ze względu na obszerność tematu superrodziny TNF, w tym rozdziale szerzej omówiona zostanie budowa, funkcja i rola dwóch pierwszych odkrytych cytokin z tej rodziny – homotrimerów o podobieństwie molekularnym i powinowactwie do tych samych receptorów - TNF alpha i beta (TNF- α i TNF- β)¹⁵³. Z czego szczególną uwagę poświęcono pierwszemu, jako że dotyczy go największa liczba cytowań, opracowano i wdrożono szereg leków ingerujących w sposób działania TNF- α oraz jest intensywnie badany pod kątem udziału w patogenezie chorób sercowo-naczyniowych, w tym niewydolności serca, głównie jednak CHF¹⁵². Stąd też oznaczano stężenia TNF- α w przebiegu niżej opisanych sesji doświadczalnych.

Tło historyczne

Pierwsze zmianki o (najprawdopodobniej) TNF datuje się na koniec XIX wieku, kiedy zaobserwowano, że u niektórych pacjentów z rakiem, u których doszło do ciężkiego bakteryjnego zakażenia, rozmiar guza złośliwego ulega zmniejszeniu¹⁵⁴. Nazwy czynnik martwiczny nowotworu po raz pierwszy użyto w 1962 roku w opisie badania, w którym surowica myszy, którym wstrzyknięto polisacharyd *Serratia marcescens*, wykazywała istotną aktywność przeciw mięsakowi 37 *in vivo*¹⁵⁵. Aktywność tę nazwano właśnie TNF. W roku 1975 przypisano tę aktywność właśnie cząsteczkom TNF¹⁵⁶, a w latach 80-tych XX wieku dokonano odkryć genów kodujących te białka i odkryto ich strukturę aminokwasową, najpierw TNF- β (nazwaną limfotoksyną), potem TNF- α , wykazując, że ponad 50% ich sekwencji aminokwasowej jest identyczna¹⁵⁷⁻¹⁵⁹.

Synteza, jej regulacja

Głównym źródłem TNF- α są aktywowane monocyty/makrofagi, niemniej w pewnych okolicznościach jego źródłem mogą też stać się limfocyty-T, neutrofile, komórki tuczne i śródbłónka oraz wiele innych^{160,161}.

Każdy potencjalnie szkodliwy bodziec zewnętrzny może stymulować syntezę TNF- α , wliczając w to czynniki fizyczne (promieniowanie ultrafioletowe, rentgenowskie, ciepło podobnie jak zwiększone ciśnienia napełniania i przeciążenie objętościowe w układzie krążenia), chemiczne, immunologiczne, biologiczne – wirusy, endotoksyny i inne składniki bakteryjnych ścian komórkowych, pasożyty i inne cytokiny¹⁶⁰⁻¹⁶³.

Kardiomiocyty są zdolne do produkcji TNF- α , aczkolwiek proces ten nie zachodzi w warunkach zdrowia. Serca osób ze schyłkową CHF produkują znaczne ilości TNF- α , choć udział w tym mogą też mieć naciekające miokardium komórki układu odpornościowego, to wykazano, że również izolowane serca kotów, kardiomiocyty hodowane *in vitro* i preparaty beleczek mięśniowych ludzkich serc produkują TNF- α ¹⁶⁴⁻¹⁶⁶.

Zidentyfikowano szereg bodźców stymulujących syntezę, generalnie każdy bodziec działający potencjalnie szkodliwie na serce, może wyzwać sekrecję TNF- α - endotoksyny, niedokrwienie mięśnia sercowego, stymulacja wysokimi stężeniami amin katecholowych jak również mechaniczne rozciąganie i przeciążenie objętościowe izolowanych serc kocih, w obliczu ustania bodźca, produkcja TNF- α również ustaje, co *in vivo* zaobserwowano w sposób pośredni także u ludzi¹⁶⁷⁻¹⁶⁹.

Działanie TNF- α w układzie krążenia

TNF- α ma działanie plejotropowe w bardzo wielu układach i narządach oraz może wywołać szereg różnych, czasem przeciwstawnych, reakcji. Omówienie wszystkich efektów biologicznych tej cytokiny przekracza ramy tej pracy. Jej bezpośrednie działanie w układzie krążenia opiera się o wywoływanie efektów biologicznych w komórkach śródbłonka i mięśni gładkich naczyń, kardiomiocytach oraz w sposób pośredni przez wpływ na układ immunologiczny, gospodarkę węglowodanową i czynniki humoralne.

W ostrej fazie reakcji na bodziec uszkodzający TNF- α ma funkcję ochronną i adaptacyjną, zaś jego działanie w kontekście przewlekłym pełni ważną rolę w patogenezie wielu chorób układu krążenia, w tym nadciśnienia tętniczego, miażdżycy, przewlekłej niewydolności serca i chorobie wieńcowej¹⁷⁰.

TNF- α a komórki śródbłonka naczyń: TNF- α działając w sposób izolowany uznawany jest silny aktywator komórek śródbłonka i chroniący je przed apoptozą, niemniej w przypadku dodatkowej obecności czynników toksycznych lub szkodliwych wykazano również jego działanie promujące apoptozę komórek śródbłonka^{170,171}. TNF- α wywiera następujące efekty biologiczne na komórkach endotelium:

- zwiększa przepuszczalność naczyń, co umożliwia przenikanie komórek układu immunologicznego, makromolekuł i płynu do tkanek objętych procesem zapalnym. Niemniej zwiększona przepuszczalność naczyń spowodowana działaniem TNF- α leży też u podłoża powstawania blaszek miażdżycowych. Na poziomie molekularnym przy pośrednictwie aktywacji TNFR1 dochodzi do degradacji cytoszkieletu i glikokaliksu komórek śródbłonka, zmiany funkcji białek adhezyjnych, co w efekcie prowadzi do powstawania luk między komórkami śródbłonka (*intracellular gaps*)^{170,172}.
- zmniejsza ich wrażliwość na główny mediator wazodylatacyjny, czyli tlenek azotu (NO), nasilając tym samym wazokonstrykcję. Również tutaj efekt wywierany jest przez pośrednictwo TNFR1, a TNFR2 nie odgrywa w tym aspekcie żadnej istotnej roli. Efekt biologiczny osiągnąć jest zarówno przez zmniejszenie syntezy i dostępności NO, jak i jego przypieszony rozkład^{170,173,174}.
- aktywuje syntezę reaktywnych form tlenu przy udziale oksydazy NADPH, indukując jej produkcję jak i zwiększając samą jej aktywność. Reaktywne formy tlenu mają również udział w zwiększaniu przepuszczalności naczyń, o czym wspomniano wyżej^{170,173}.
- stymuluje oddziaływanie komórek śródbłonka z komórkami układu immunologicznego. TNF- α przy udziale TNRF1, ale także TNFR2 stymuluje ekspresję białek adhezyjnych

na powierzchni komórek śródbłonka. Dochodzi o do wzmożonej interakcji komórek śródbłonka i leukocytów, co również pełni istotną rolę w patogenezie miażdżycy^{170,175,176}.

Odpowiedź śródbłonka na krótkotrwałą stymulację TNF- α , nawet wysokimi stężeniami, pełni funkcję ochronną przed czynnikiem uszkodzającym przyległe tkanki, lecz długotrwała stymulacja, nawet niskimi stężeniami TNF- α , prowadzi do szkodliwych efektów w ścianie naczynia, przede wszystkim rozwoju miażdżycy w naczyniach dużych i średnich. Zaobserwowano rozwój mechanizmów ochronnych, które osłabiają efekt działania TNF- α w komórkach śródbłonka, decydującym kryterium ich odporności jest rodzaj naprężeń ścinających, na które narażony jest śródbłonek. Komórki endotelium, które eksponowane na laminarne siły ścinające poprzez inhibicje szlaku sygnalizacyjnego NF- κ B, zwiększają syntezę tlenu azotu, a ograniczają syntezę białek adhezyjnych pod wpływem stymulacji TNF- α . W miejscach, gdzie wstępują turbulentne naprężenia ścinające, nie dochodzi do inhibicji NF- κ B, śródbłonek pozostaje wrażliwy na TNF- α , rozwija się intensywnie miażdżycy^{170,176-178}.

TNF- α a komórki mięśniówki gładkiej naczyń: TNF- α aktywuje migrację i proliferację komórek mięśni gładkich w ścianach naczyń, pod jego wpływem dochodzi do wzrostu aktywności reaktywnych form tlenu, skurczu naczyń i ekspresji genów innych substancji prozapalnych. Podsumowując – pod wpływem TNF- α komórki mięśni gładkich naczyń zmieniają fenotyp na proaterogeny. W fazie ostrej pośredniczy jednak także w pożądanym funkcjach ochronnych. Pod jego wpływem komórki mięśni gładkich warstwy wewnętrznej naczyń ulegają wzmożonej apoptozie – chroni to przed nadmierną proliferacją mięśniówki w odpowiedzi na bodziec uszkodzający naczynie.

TNF- α a kardiomiocyty – profil działania zależny od czasu i stężeń oraz udział w rozwoju CHF zostanie omówiony w następującym podrozdziale.

TNF- α a mięsień sercowy – rola ochronna i udział w rozwoju przewlekłych ChSN

Krótkotrwałe działanie TNF- α w układzie krążenia uznawane jest za reakcję adaptacyjną/ochronną, zaś długotrwała ekspozycja za szkodliwą i aktywującą wiele niekorzystnych mechanizmów w układzie krążenia, głównie zaś w samym sercu.

Rola ochronna omawianej cytokiny jest ograniczona w czasie i sile działania, pozostaje sporna, ze względu na rozbieżne wyniki badań, realizowana jest przy udziale TNFR2 i opiera się głównie na przeciwdziałaniu patogennym reakcjom wyzwalanym przez pobudzenie TNFR1. Ponadto polega na ochronie kardiomiocytów przed apoptozą, zwiększa ich odporność na stres oksydacyjny, poprawia gospodarkę jonami wapnia, niezbędnymi do realizacji skurczu na poziomie molekularnym, uczestniczy w różnicowaniu komórek macierzystych i wspiera

reakcje immunologiczne korzystne w CHF przy udziale mieloidalnych komórek supresorowych¹⁷⁹⁻¹⁸⁴. Wpływ TNF- α na kurczliwość mięśnia sercowego w ostrych reakcjach jest niepewny. Wzrost kurczliwości udało się udowodnić tylko w niektórych badaniach, nawet jeśli występował, to pojawiał się szybko po symulacji TNF- α (w przeciągu minut) i wkrótce zanikał¹⁶⁴. Znaczne osłabienie kurczliwości było obserwowane zawsze po stymulacji miokardium TNF- α , a wyniki badań różniły się głównie momentem jego wystąpienia. Podstawową rolę w redukcji kurczliwości pełni osłabienie wrażliwości miokardium na stymulację beta-adrenergiczną, obniżenie sarkoplazmatycznych stężeń wolnych jonów wapnia i wrażliwości miofilamentów na nie^{164,170}.

TNF- α nie tylko koreluje nasileniem objawów CHF w skali NYHA, lecz wykazuje przyczynowy związek z rozwojem niewydolności serca o typowym dla populacji ludzkiej fenotypie morfologicznym i humoralnym. W modelach zwierzęcych nadekspresja TNF- α prowadzi do rozwoju CHF, a blokada jego działania opóźnia/łagodzi jej rozwój^{164,185}. Poznano szereg mechanizmów na poziomie komórkowym i molekularnym przyczyniających się do rozwoju CHF przy udziale TNF- α : reakcje neurohumoralne, a przede wszystkim osłabienie wrażliwości serca na stymulację receptorów beta, apoptoza i nekroptoza kardiomiocytów, ale także ich hipertrofia indukowana poprzez powstawanie RFT, upośledzenie funkcji mitochondriów, zahamowanie syntezy białek kurczliwych (miozyny i aktyny) i odpowiedzialnych za gospodarkę jonami wapnia, przebudowa (remodeling) serca poprzez aktywację metaloproteinaz, produkcję białek macierzy pozakomórkowej, aktywację genów odpowiedzialnych za włóknienie i konsekwentnie zaburzenia funkcji rozkurczowej^{164,170,179,185}.

TNF- α w wysokim stężeniu prowadzi do ciężkiej hipotonii w mechanizmie zależnym od powstawania RFT i aktywacji kaspaz¹⁸⁶, lecz przewlekłe utrzymywanie się dużo niższych stężeń ma udokumentowany związek z rozwojem nadciśnienia tętniczego. Ponadto TNF- α jest zaangażowany patofizjologię rozwoju miażdżycy i choroby niedokrwiennej serca^{170,179}.

Podsumowanie

Szybka stymulacja serca zwierzęcia doświadczalnego to metoda znana i ulepszana od dekad. Pomimo szeregu zalet i ugruntowanej pozycji w zakresie wykorzystania jej do badań nad RVP-CHF, jej stosowanie w ostatnich latach zostało znacząco utrudnione ze względu na ograniczoną dostępność urządzeń zdolnych do RVP bez konieczności ich modyfikacji. Stosowanie układów zmodyfikowanych może wpływać na charakterystykę wywoływanych zmian, jak choćby stymulowanie we wzorcu bigemini lub częstoskurczu dwuogniskowego^{45,187}.

W analizowanej literaturze w sposób dowolny ustalano granice pomiędzy stymulacją ostrą i przewlekłą, zakładano *a priori*, że RVP z góry założoną częstotliwością doprowadza do wstrząsu kardiogenego lub też tylko CHF, bez weryfikacji parametrów hemodynamicznych i echokardiograficznych rzeczywiście wywoływanych w trakcie doświadczenia. Bardzo niejasna pozostaje wciąż zależność pomiędzy PR, a głębokością wywoływanych zmian, zwłaszcza w kontekście RVP-AHF. Zauważono ogromną zmienność podatności zwierząt na RVP o podobnej PR - podobne PR u różnych, lecz fizjonomicznie podobnych osobników, wywoływały skrajnie różne zmiany hemodynamiczne⁴⁸. Różnice międzygatunkowe wydają się być jeszcze silniej wyrażone. Wciąż niewiele wiadomo na temat tolerancji częstoskurczów w sercach przewlekle osłabionych, pomimo zwiększonej częstości występowania groźnych arytmii komorowych właśnie w kontekście CHF⁴.

Charakterystyka mechanizmów humoralnych zachodzących w trakcie różnych faz rozwoju niewydolności serca ma przynajmniej dwa uzasadnienia: a) ingerencja w układy humoralne może stać się celem strategii terapeutycznych, b) ich stężenia w osoczu korelują z głębokością wywołanych zaburzeń w układzie krążenia, stąd pomiary mechanizmów humoralnych dopełniają w sposób komplementarny dane hemodynamiczne i echokardiograficzne.

Cele pracy:

- 1) Utworzenie modelu ostrej niewydolności serca/wstrząsu kardiogenego opartego o szybką stymulację komór serca (RVP), imitującą utrwalony częstoskurcz komorowy (sVT) u świni rasy polskiej białej zwisłouchej z wykorzystaniem układu do stymulacji specjalnie zmodyfikowanego tak, aby możliwe było stopniowe osiągnięcie bardzo wysokich częstości stymulacji (PR), w obliczu trudnej dostępności, a praktycznie braku dedykowanych układów stymulacji, zdolnych do pracy z bardzo wysokimi PR.
- 2) Zastosowanie utworzonego modelu do symulacji częstoskurczu komorowego przebiegającego ze wstrząsem kardiogenym w dwóch kontekstach klinicznych:
 - a) sercu uprzednio zdrowym,
 - b) w trakcie rozwoju przewlekłej niewydolności serca (CHF) rozwijanej w oparciu o długotrwałą RVP, czyli RVP-CHF.
- 3) Identyfikacja zachodzących reakcji humoralnych na przykładzie endoteliny-1 (ET-1) i czynnika martwicy nowotworów alfa (TNF- α) w trakcie wyżej opisanych doświadczeń i zestawienie ich z podstawowymi parametrami hemodynamicznymi, echokardiograficznymi, biochemicznymi oraz gospodarki kwasowo-zasadowej, zebranymi w ich trakcie.

Materiały i metody

Opis osobnika doświadczalnego

Badanie przeprowadzono na dorosłej świni rasy polskiej białej zwisłouchej (ośmiomiesięczna samica, ważąca 72 kg). Zwierzę otrzymywało opiekę zgodną z przewodnikiem dotyczącym sprawowania opieki i wykorzystywania zwierząt laboratoryjnych, wydanym przez National Institutes of Health (publikacja NIH nr 85-23, zrewidowana w 1985 r. ang. *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals*). Wszystkie eksperymenty przeprowadzono za zgodą Komitetu Bioetycznego Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu i wytycznymi dotyczącymi eksperymentów na zwierzętach.

Procedury przygotowawcze

Procedura znieczulania celem wszczępienia rozrusznika

Wszystkie procedury i pomiary były przeprowadzane podczas znieczulenia, zgodnie z wyżej wymienionymi dokumentami, przy ograniczeniu dostępu do pokarmu przez 12 godzin i do wody przez 4 godziny przed zabiegiem. Zwierzę znieczulano według zmodyfikowanego protokołu opisanego przez *Goldmanna i wsp.*¹⁸⁸. W skrócie, premedykacja azaperonem (5 ml, Stressnil, Janssen-Cilag, Neuss, Niemcy) w dawce 2 mg/kg, podanie domięśniowe. Po następnych 15 minutach podawano dożylnie: 10 mg/kg ketaminy (5 ml, Ketamin 10%, Sanofi-Ceva, Düsseldorf, Niemcy) i 8 mg/kg pentobarbitalu (Morbital, Biowet, Puławy, Polska). Znieczulenie było utrzymywane poprzez dożylną infuzję pentobarbitalu w dawce 9-12 mg/kg/h (Narcoren, Merial, Hallbergmoos, Niemcy). Zwierzę zostało intubowane (rurka intubacyjna o rozmiarze 8,5 Charriere) i ogolone na potrzeby operacji wszczępienia rozrusznika. Monitorowanie w trakcie implantacji rozrusznika opierało się na nieinwazyjnych pomiarach ciśnienia tętniczego krwi co 2 min (na tętnicy udowej prawej), tętna i pulsoksymetrii na języku.

Procedura wszczępienia układu stymulującego

Użyto dwóch dwubiegunowych elektrod śrubowych, które zostały wprowadzone przez żyłę szyjną wewnętrzną do prawej komory serca, a następnie zakotwiczone w mięśniu sercowym- możliwie blisko koniuszka i możliwie blisko siebie. Elektrody zostały połączone z rozrusznikiem (Verity Adx XL DR 5156, St. Jude Medical) umieszczonym w kieszeni podskórnej. W celu profilaktyki zakażeń, świnię podawano antybiotyk domięśniowo przez 10 następujących dni.

Procedury związane z przeprowadzeniem sesji doświadczalnych

Łącznie przeprowadzono 10 sesji doświadczalnych oznaczonych jako S1-S10. S1 miała miejsce 2 tygodnie po zabiegu implantacji rozrusznika, rana pooperacyjna była zagojona, kontrola parametrów pracy rozrusznika nie wykazała nieprawidłowości. Każda kolejna sesja była prowadzona w odstępie 2 tygodni od poprzedniej.

Znieczulenie na potrzeby sesji doświadczalnej

Na potrzeby sesji doświadczalnych następowała dożylna premedykacja ketaminą i ksylazyną, a następnie intubacja dotchawicza za pomocą rurki o rozmiarze 8,5 Charriere i dalsze podtrzymanie narkozy wziewnie za pomocą izofluranu.

Protokół wyzwalania zaburzeń hemodynamicznych

Każde sesja doświadczalna „S” składała się z kilku etapów. Pierwszy z nich był zawsze najdłuższy, trwał 20 minut i polegał na uzyskaniu stanu stacjonarnego po znieczuleniu, podłączeniu aparatury pomiarowej i ułożeniu zwierzęcia na stole eksperymentalnym. Następnie rozpoczynano RVP ze wzrastającymi częstotliwościami, każda częstotliwość była aplikowana przez 10 min, po czym następowało jej zwiększenie do następnej wartości lub wyłączenie stymulatora, jeśli uprzednio osiągnięto już maksymalną zaplanowaną PR.

Zastosowaną częstotliwość stymulacji komór w danej fazie i sesji przedstawia *tabela 2*, wartości podano w 1/min.

	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10
Faza 0	spontaniczna akcja serca						ciągła stymulacja 160/min			
Faza 1	150	150	150	150	160	160	180	180	180	180
Faza 2	180	180	180	160	180	180	200	200	200	200
Faza 3	200	200	200	180	200	200	220	220	220	220
Faza 4	-	-	220	200	210	210	240	240	240	240
Faza 5	-	-	220	220	220	220	250	250	250	250
Faza 6	-	-	-	-	240	240	260	260	260	260
Faza 7	-	-	-	-	-	-	260	260	260	260

Tabela 2. Protokół doświadczalny; podział na sesje doświadczalne i fazy oraz odpowiadająca im PR.

Procedura wywołania przewlekłej niewydolności serca indukowanej długotrwałą szybką stymulacją komór (RVP-CHF)

Po zakończeniu S6 i stabilizacji układu krążenia w rytmie zatokowym z wyłączonym rozrusznikiem zaprogramowano go w trybie DOO 80/min, AV-delay= 375 ms, co efektywnie skutkowało RVP z częstotliwością 160/min. Stymulacja ta była utrzymywana w sposób ciągły,

jedyne na czas przeprowadzania sesji S7-S10, zmieniano program zgodnie z *tabelą 2*. Poniżej przedstawiono, jaki był łączny czas stymulacji RVP 160/min w momencie rozpoczęcia danej sesji doświadczalnej.

Sesja doświadczalna	Łączny czas trwania RVP 160/min w momencie rozpoczęcia sesji
S7	2 tygodnie
S8	4 tygodnie
S9	5 tygodni
S10	6 tygodni

Tabela 3. Łączny czas RVP w momencie rozpoczęcia danej sesji.

Programowanie rozrusznika

Wyżej przedstawione częstotliwości stymulacji komorowej uzyskiwano rozrusznikiem przeznaczonym zgodnie z zamiarem producenta do pracy w trybie dwujamowym. W opisywanym doświadczeniu oba kanały stymulacji (przedsionkowy A i komorowy V) były zakotwiczone w prawej komorze serca (*right ventricle*, RV), tym samym na każdy cykl pracy rozrusznika przypadały dwa pobudzenia RV, po jednym z każdego kanału. Celem stymulacji RV z daną częstotliwością f , rozrusznik programowano w trybie DOO z częstotliwością $\frac{1}{2} f$. Parametr AV-delay (opóźnienie przedsionkowo-komorowe, czas jaki upływa między stymulacją kanałem A, a stymulacją kanałem V) dobierano tak, aby wynosił on zawsze dokładnie połowę czasu trwania cyklu pracy rozrusznika, tym samym odstęp AV był równy odstępowi VA. Przykładowo: chcąc stymulować RV z częstotliwością 120/min należało programować z następującymi parametrami: DOO 60/min, AV-delay=500ms. Wówczas cykl pracy rozrusznika wynosił 1000ms, w trakcie każdego cyklu dochodziło podwójnej stymulacji RV (po jednej każdym kanałem), a pobudzenia miały miejsce w równych odstępach, po 500ms.

Pomiary

Monitorowanie zwierzęcia w czasie trwania każdej fazy doświadczenia obejmowało: EKG (2 kanały), pulsoksymetrię, kapnografię, pomiar ciśnienia tętniczego metodą oscylometryczną na prawej tętnicy udowej oraz metodą inwazyjną w lewej tętnicy udowej. Gazometrię krwi tętniczej pobierano z systemu do inwazyjnego pomiaru ciśnienia tętniczego tuż przed rozpoczęciem etapu 1 oraz po zakończeniu ostatniego etapu stymulacji. W trakcie

każdej sesji doświadczalnej pobierano 4-krotnie krew żylną zwierzęcia, każdorazowo przez nowe nakłucie żyły obwodowej:

I – pod koniec uzyskania stanu stacjonarnego, tuż przed rozpoczęciem etapu 1,

II – w trakcie etapu 1,

III – w trakcie etapu 2,

IV – po zakończeniu ostatniego etapu stymulacji.

W każdej pobranej próbce krwi oznaczano każdorazowo stężenie ET-1, TNF- α , glukozy, podstawowych jonów, fibrynogenu, czas częściowej tromboplastyny po aktywacji (APTT) i czas protrombinowy, w próbkach I i IV oznaczano morfologię krwi. Stężenia ET-1 i TNF- α były oznaczane przy pomocy testów immunoenzymatycznych według instrukcji producenta: R&D Systems, Wiesbaden, Niemcy (odpowiednio: Endothelin-1 Quantikine ELISA Kit DET100, Porcine TNFalpha Quantikine ELISA Kit PTA100).

Echokardiografię przezklatkową prowadzono przy użyciu systemu ultrasonograficznego Hitachi Aloka 4000 z głowicą sektorową 3,5 MHz. Zwierzę pozycjonowano w pozycji leżącej na lewym boku, obraz uzyskiwano w pozycji prawej przymostkowej, najpierw pozycję głowicy optymalizowano przy użyciu obrazu dwuwymiarowego, pomiarów dokonywano w trybie jednowymiarowym (M-mode). Zmierzono parametry wielkości ścian i jam serca w fazie końcowoskurczowej i końcoworozkurczowej (RVDd, IVSd, LVIDd, LVPWd, IVSs, LVIDs, LVPWs), wartości te służyły do obliczenia objętości końcowoskurczowej, końcoworozkurczowej, objętości wyrzutowej oraz frakcji wyrzutowej lewej komory przy użyciu wzoru Teichholza.

Podział wyników na grupy doświadczalne

Na potrzeby analizy statystycznej i prezentacji danych, zastosowano następujący podział danych na kategorię:

0 – (etap zerowy) oznacza pomiar dokonany przed tuż rozpoczęciem stymulacji, czyli RVP jeszcze nie włączone, zwierzę znieczulone i zaintubowane, ułożone na stole, monitorowane parametry osiągnęły stan stacjonarny,

E – (etap eksperymentalny, interwencja eksperymentalna) oznacza uśrednienie parametrów ze wszystkich pomiarów dokonanych podczas RVP, tj. od fazy 1. do fazy z maksymalną PR.

Z – (etap końcowy) oznacza pomiar dokonany tuż po zakończeniu RVP, rozrusznik wyłączony, spontaniczna akcja serca.

Ponadto dokonano podziału na dwie grupy **A** i **B**. Gdzie **A** to sesje doświadczalne od 1 do 6, a **B** to sesje od 7 do 10. Czynnikiem różnicującym obie grupy jest przewlekła, ciągła

stymulacja serca utrzymywana przez czas do 6 tygodni z umiarkowaną częstotliwością 160/min, którą rozpoczęto zaraz po zakończeniu doświadczenia nr. 6.

Podział na etapy i grupy przedstawia *tabela 4.*:

		Grupa A					Grupa B				
		S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10
ETAP 0	Faza 0	spontaniczna akcja serca					ciągła stymulacja 160/min				
	Faza 1	150	150	150	150	160	160	180	180	180	180
	Faza 2	180	180	180	160	180	180	200	200	200	200
ETAP E	Faza 3	200	200	200	180	200	200	220	220	220	220
	Faza 4	-	-	220	200	210	210	240	240	240	240
	Faza 5	-	-	220	220	220	220	250	250	250	250
	Faza 6	-	-	-	-	240	240	260	260	260	260
ETAP Z	Faza ostatnia	spontaniczna akcja serca					spontaniczna akcja serca				

Tabela 4. Protokół doświadczalny z zaznaczonym podziałem na grupy, fazy i etapy.

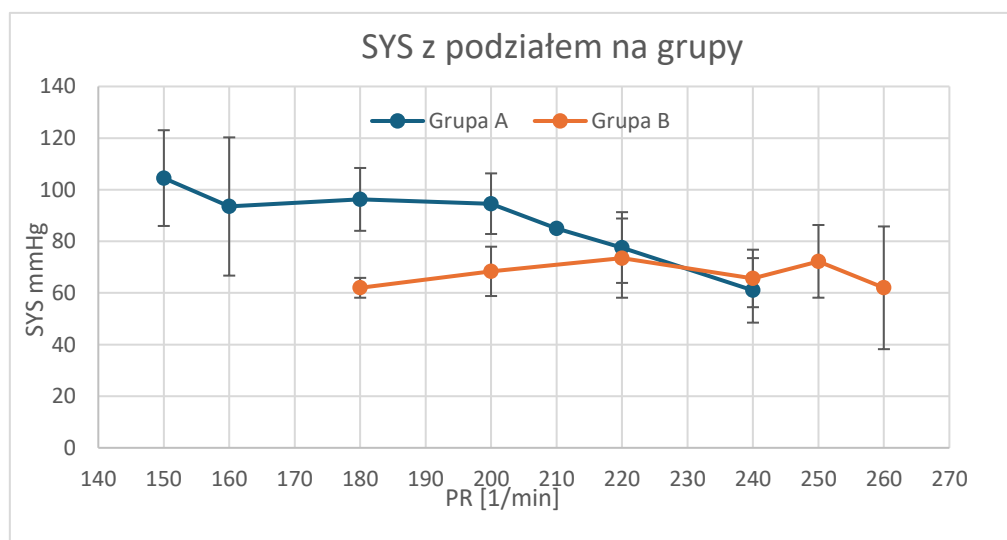
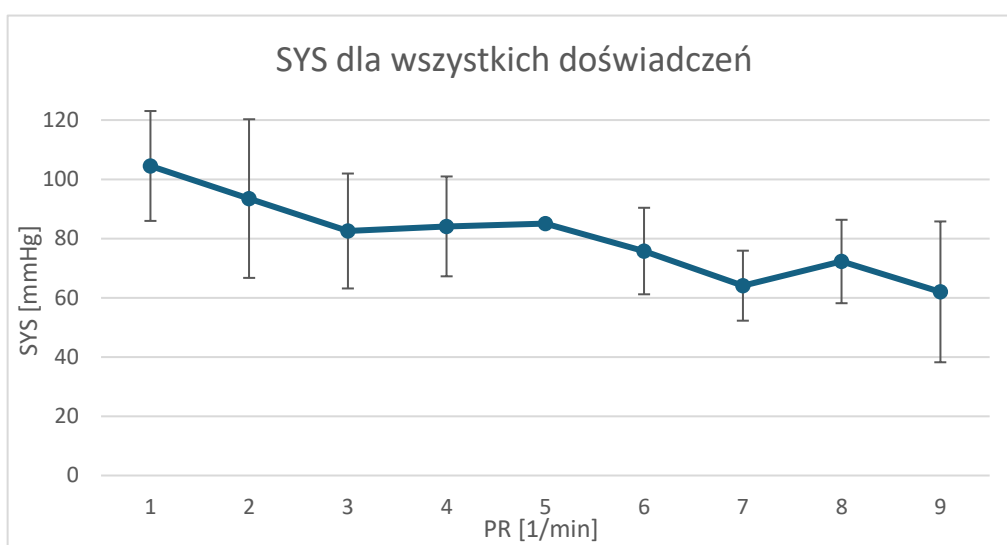
Do oceny istotności wpływu dwu kontrolowanych czynników: *grupy (A i B)* oraz *etapu doświadczenia (0, E i Z)* na analizowane parametry hemodynamiczne, biochemiczne, echokardiograficzne, morfologii krwi, elektrolitów, równowagi kwasowo zasadowej i czynniki humoralne zastosowano dwuczynnikową analizę wariancji (*two-factor analysis of variance*). Oprócz porównania średnich wartości analizowanych parametrów, oceniano także istotność ich wzajemnego oddziaływania, czyli interakcji *grupa × etap*.

Wyniki

Podstawowe parametry hemodynamiczne i saturacja krwi tętniczej tlenem

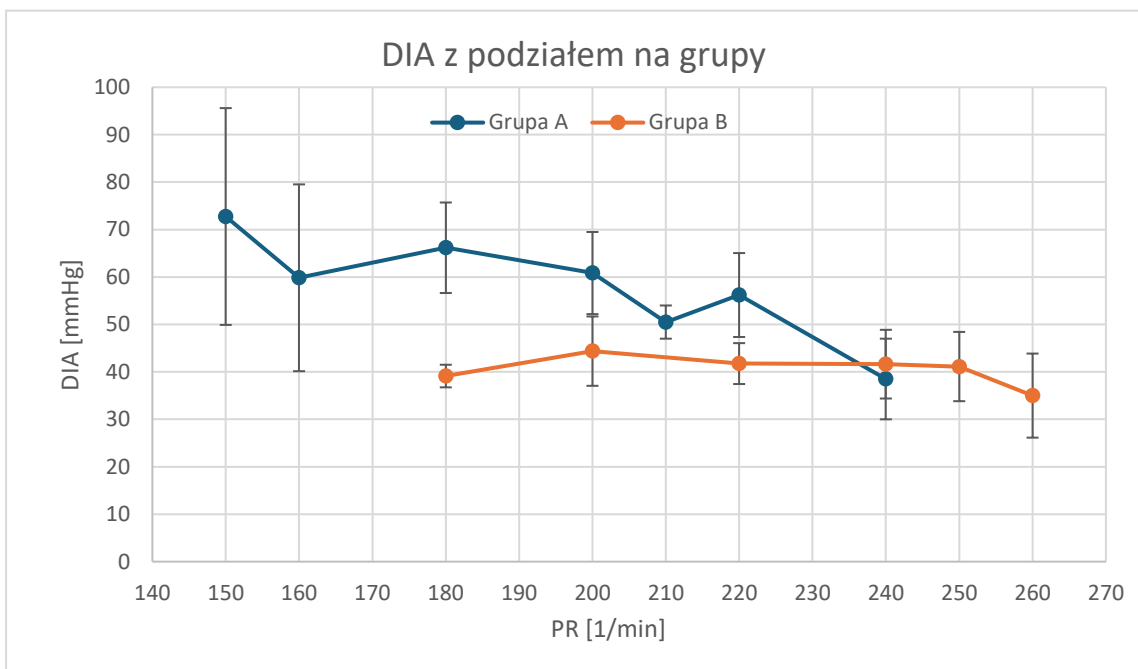
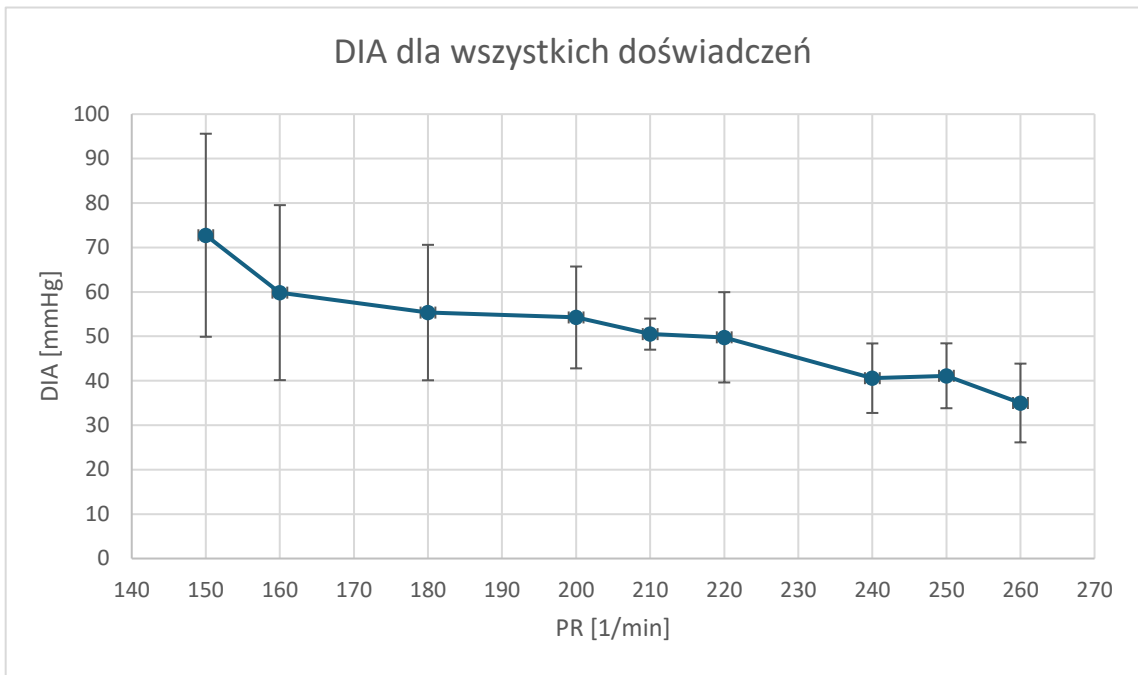
Podstawowe parametry hemodynamiczne, czyli ciśnienie tętnicze krwi, rzut serca, całkowity opór obwodowy zostaną przedstawione w następujący sposób: najpierw przy pomocy wykresów - jak zmieniały się w zależności od PR) – dla wszystkich punktów pomiarowych oraz z podziałem na grupy. W następnym podrozdziale przedstawiona zostanie tabelarycznie ich analiza statystyczna.

Ciśnienie skurczowe



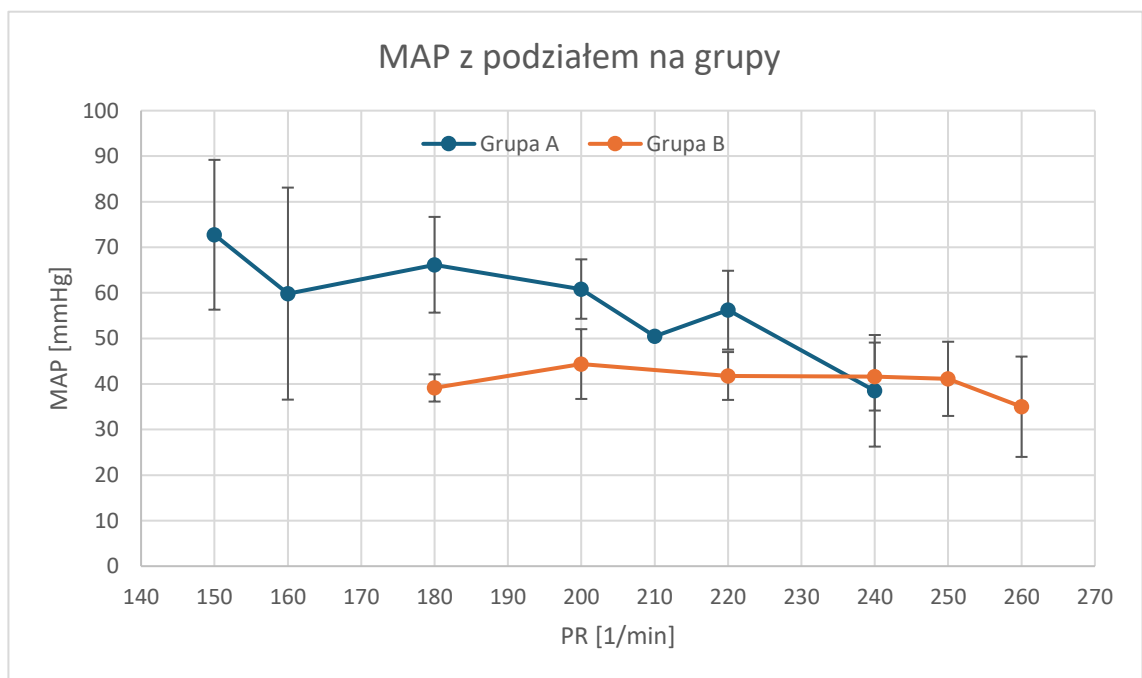
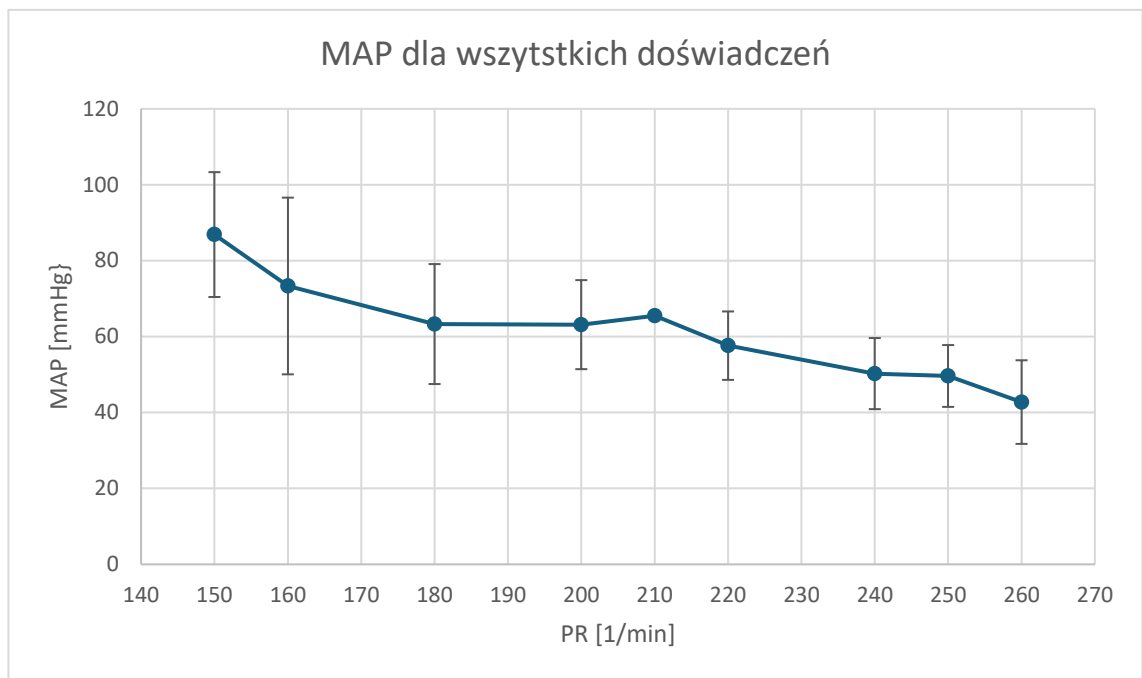
Rycina 3. Zależność pomiędzy częstością stymulacji (PR), a skurczowym ciśnieniem tętniczym (SYS) – dla wszystkich sesji doświadczalnych i z podziałem na grupy, średnia \pm odchylenie standardowe.

Ciśnienie rozkurczowe



Rycina 4. Zależność pomiędzy częstotliwością stymulacji (PR), a DIA (ciśnieniem rozkurczowym) – dla wszystkich sesji doświadczalnych i z podziałem na grupy. Średnia \pm odchylenie standardowe.

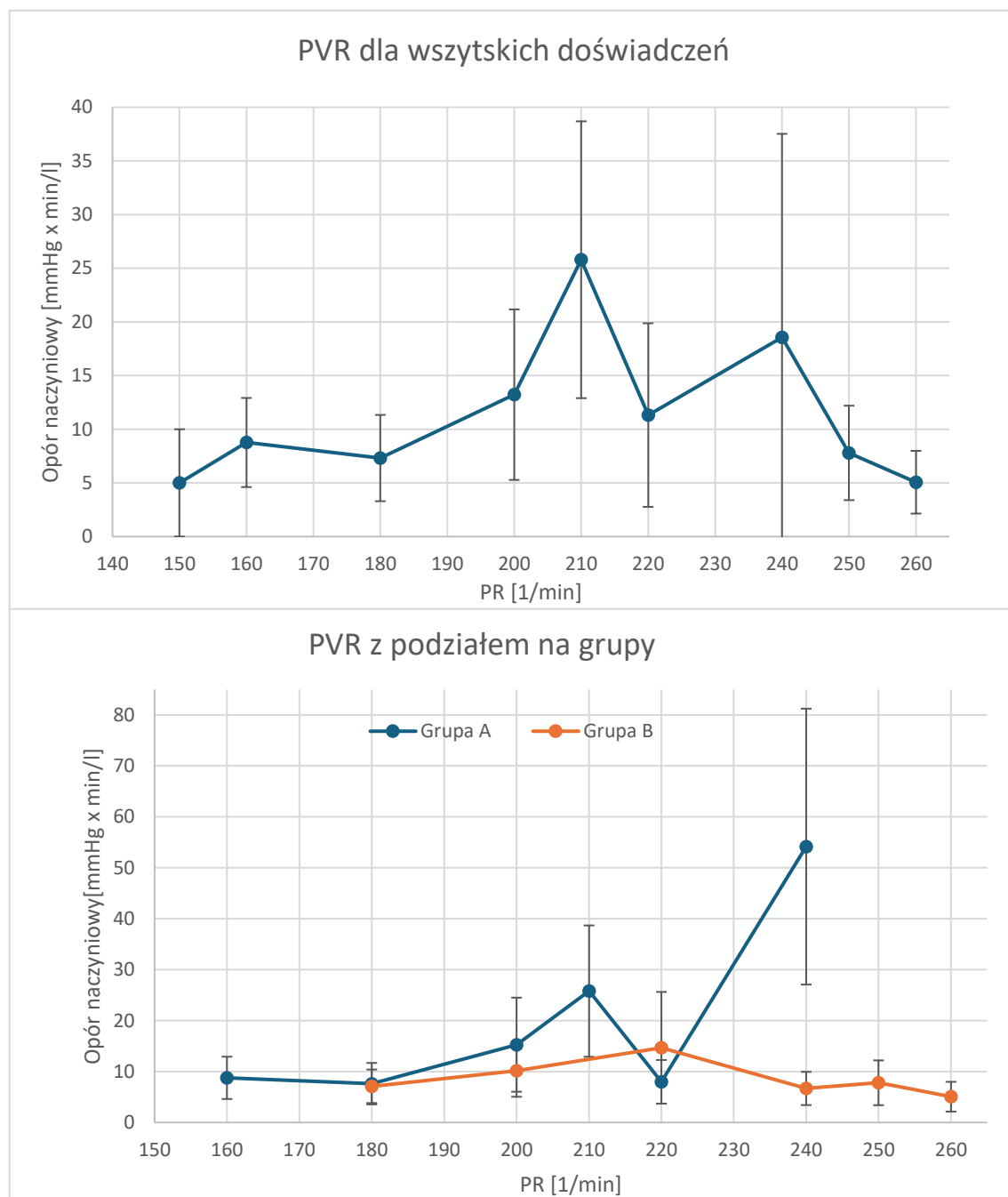
Średnie ciśnienie tętnicze



Rycina 5. Zależność pomiędzy częstotliwością stymulacji (PR), a MAP (ciśnieniem tętniczym średnim) – dla wszystkich sesji doświadczalnych i z podziałem na grupy. Średnia \pm odchylenie standardowe.

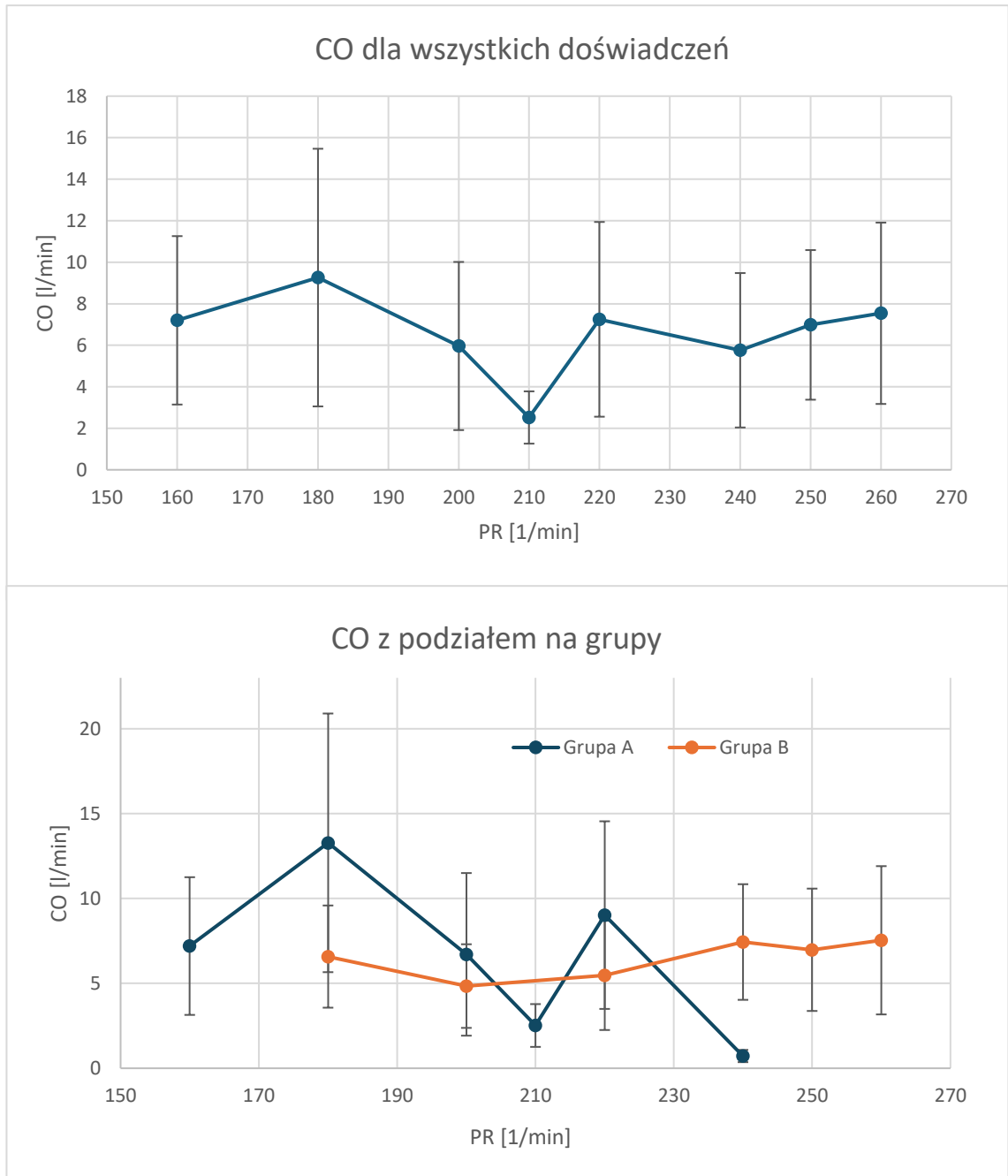
Obwodowy opór naczyniowy

Obwodowy opór naczyniowy (PVR) estymowano na jako iloraz MAP i CO.



Rycina 6. Zależność pomiędzy częstotliwością stymulacji (PR), a PVR (naczyniowym oporem obwodowym) – dla wszystkich sesji doświadczalnych i z podziałem na grupy. Średnia \pm odchylenie standardowe.

Objętość minutowa



Rycina 7. Zależność pomiędzy częstotliwością stymulacji (PR), a CO (objętością minutową serca) dla wszystkich sesji doświadczalnych i z podziałem na grupy. Średnia \pm odchylenie standardowe.

Analiza istotności statystycznej dla parametrów hemodynamicznych

Parametr	Etap	Grupa A	Grupa B	A vs. B
SYS [mm Hg]	O	128 ± 15	74 ± 5	p < 0,001
	E	93 ± 15	67 ± 13	p = 0,025
		p < 0,001	p = 0,497	×
DIA [mm Hg]	O	87 ± 16	55 ± 7	p = 0,005
	E	63 ± 13	41 ± 7	p = 0,014
		p = 0,003	p = 0,120	×
MAP [mm Hg]	O	105 ± 14	63 ± 7	p < 0,001
	E	73 ± 11	49 ± 7	p = 0,005
		p < 0,001	p = 0,149	×
SpO ₂ [%] Pulsoksymetrycznie	O	95,4 ± 6,7	100,0 ± 0,0	p = 0,251
	E	85,6 ± 8,6	100,0 ± 0,0	p = 0,013
		p = 0,189	p = 1,000	×
CO [l/min]	O	8,4 ± 2,47	7,21 ± 2,72	p = 0,614
	E	8,14 ± 6,07	6,48 ± 2,16	p = 0,331
		p = 0,934	p = 0,667	×
PVR [[mmHg x min/l]	O	0,014 ± 0,005	0,010 ± 0,005	p = 0,396
	E	0,015 ± 0,014	0,009 ± 0,006	p = 0,166
		p = 0,936	p = 0,823	×

Tabela 5. Podstawowe statystyki opisowe (średnia ± SD) parametrów hemodynamicznych na kolejnych etapach doświadczeń w grupach A i B oraz wyniki nieparametrycznych testów istotności. CO obliczono na podstawie iloczynu SV i PR (lub HR w przypadku etapu O). SYS – ciśnienie skurczowe, DIA – ciśnienie rozkurczowe, MAP – średnie ciśnienie tętnicze, SpO₂ - saturacja krwi, CO – objętość minutowa, PVR- naczyniowy opór obwodowy.

W powyższej analizie stosowano porównanie: wartość parametru przed RVP (czyli na etapie zerowym) vs. uśredniona wartość parametru ze wszystkich faz z RVP, przy czym w każdej kolejnej fazie PR rosła zgodnie z protokołem.

W grupie A (seria doświadczeń na sercu natywnym pod kątem RVP, brak przewlekłej stymulacji) włączenie RVP powodowało istotne obniżenie ciśnienia tętniczego: skurczowego (128±15mmHg vs. 93±15mmHg, p<0,001), rozkurczowego (87±16mmHg vs. 63±13mmHg, p=0,003) i średniego (105 ± 14mmHg vs. 73 ± 11 mmHg, p<0,001), podczas gdy w grupie B (RVP nałożone na przewlekłą, ciągłą stymulację z PR=160/min) nie obserwowano istotnych zmian ciśnienia tętniczego wskutek wzrostu PR ponad poziom przewlekłej stymulacji. Niemniej ciśnienie tętnicze (zarówno SYS, DIA, jak i MAP) w grupie B było istotnie niższe niż w grupie A jeszcze przed RVP, jak i w trakcie jego trwania.

Nie zaobserwowano obniżenia saturacji krwi (mierzonej metodą pulsoksymetryczną) pomiędzy etapem zerowym i podczas RVP (etap E), niemniej w grupie B podczas RVP zmierzono wyższe SpO₂ niż w grupie A (100±0% vs. 85,6 ± 8,6%, p=0,013).

Wartości obwodowego oporu naczyniowego i objętości minutowej nie wykazały istotnych zmian zarówno pomiędzy etapami 0 i E, jak i pomiędzy grupami A i B na żadnym etapie doświadczenia.

Kolejna analiza dotyczy zmian ciśnienia tętniczego pomiędzy etapem 0 (brak stymulacji lub stymulacja przewlekła), a etapem, w którym osiągnięto najwyższą PR - PR_{max}.

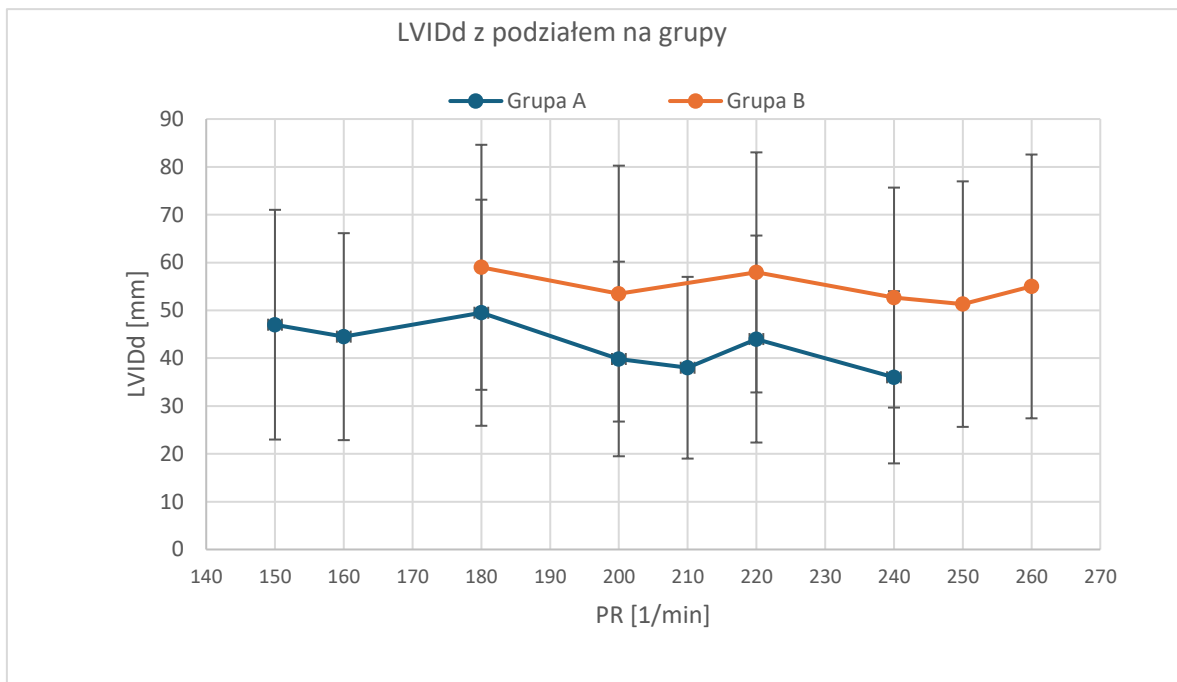
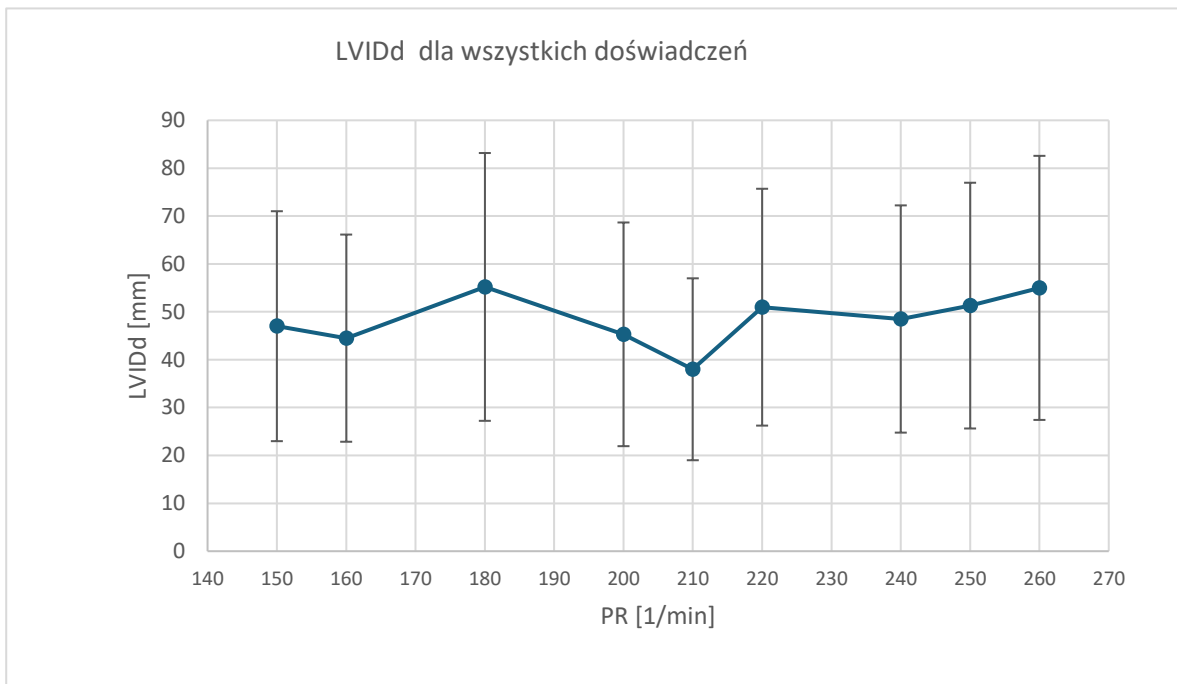
Parametr	Etap	Grupa A	Grupa B	A vs. B
SYS [mm Hg]	0	128 ± 15	74 ± 5	<0.001
	PR _{max}	80 ± 21	62 ± 27	0.254
		<0.001	0.441	×
DIA [mm Hg]	0	87 ± 16	55 ± 7	0.005
	PR _{max}	56 ± 15	35 ± 10	0.047
		0.001	0.020	×
MAP [mm Hg]	0	105 ± 14	63 ± 7	<0.001
	PR _{max}	65 ± 14	43 ± 13	0.043
		<0.001	0.035	×

Tabela 6. Zmiany ciśnienia tętniczego w obu grupach pomiędzy etapem zerowym a fazą z maksymalną wartością PR - PR_{max}. SYS- ciśnienie skurczowe, DIA – ciśnienie rozkurczowe,

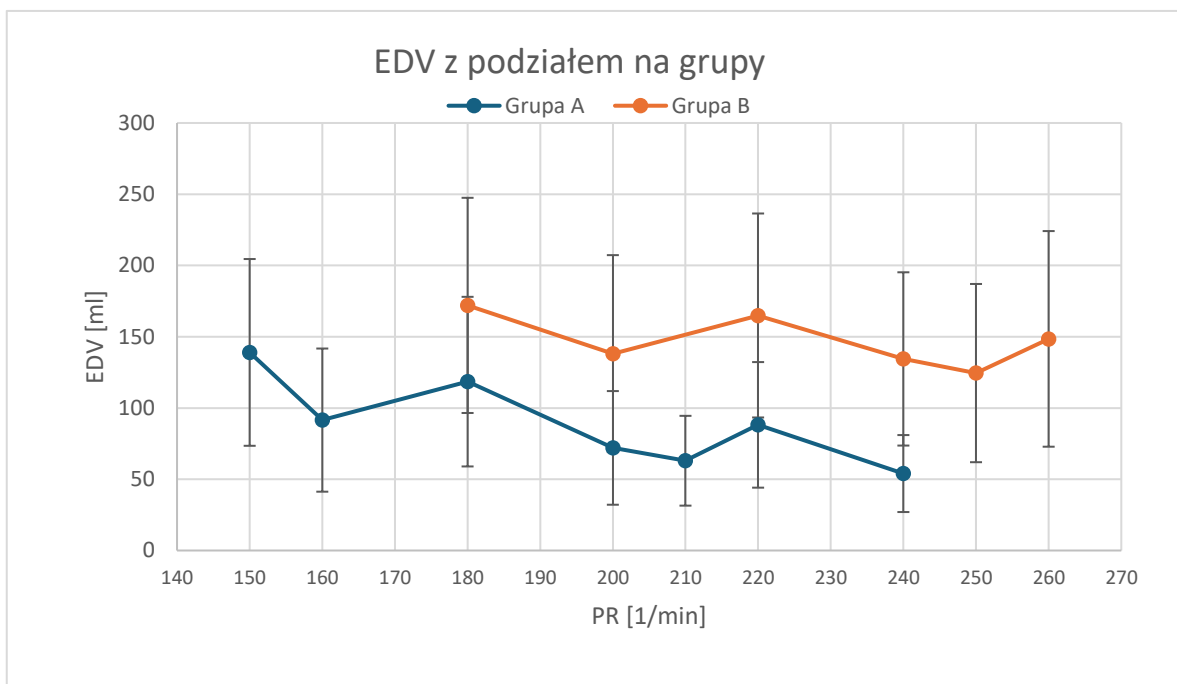
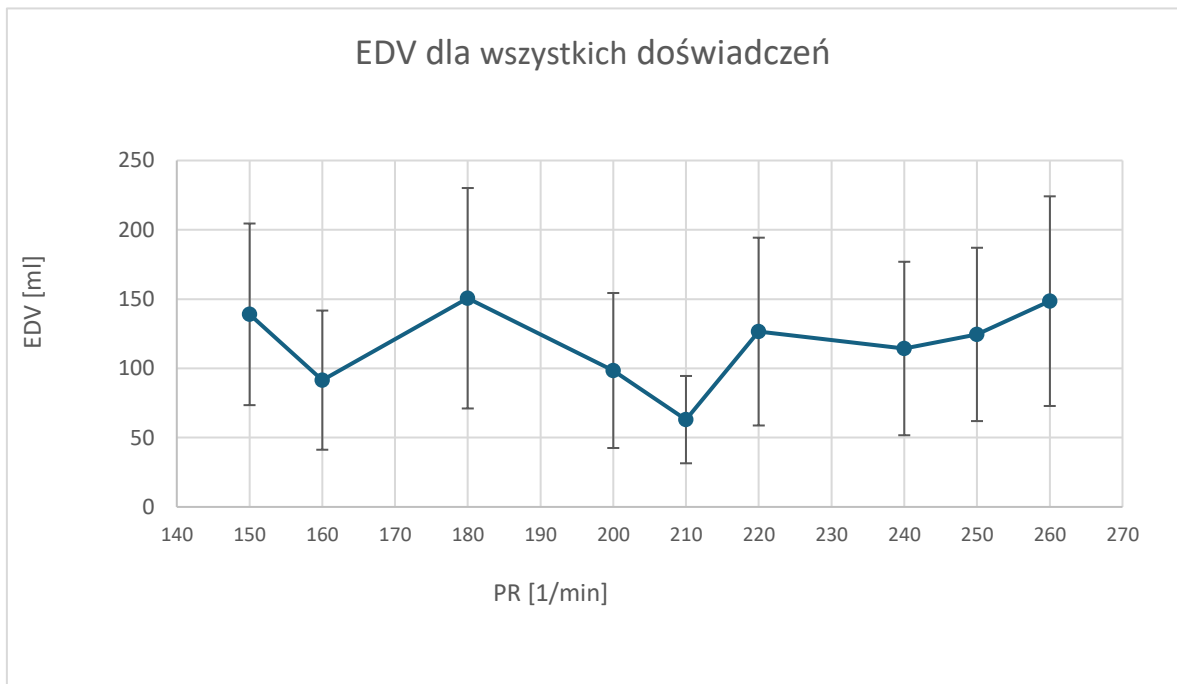
Powyższa analiza wykazała, że RVP z maksymalną PR w grupie B prowadzi do obniżenia ciśnienia rozkurczowego i średniego względem etapu zerowego. W grupie A na etapie z PR_{max} wszystkie parametry ciśnienia tętniczego (SYS, DIA i MAP) były niższe niż na etapie 0. Przy PR_{max} ciśnienie rozkurczowe i średnie, lecz nie skurczowe, w grupie B było niższe niż w grupie A.

Parametry echokardiograficzne

Wymiar końcoworozkurczowy i objętość końcoworozkurczowa lewej komory



Rycina 8. Zależność między PR, a wymiarem końcoworozkurczowym lewej komory. Średnia \pm odchylenie standardowe. LVIDd – wymiar końcoworozkurczowy lewej komory, PR – częstotliwość stymulacji.

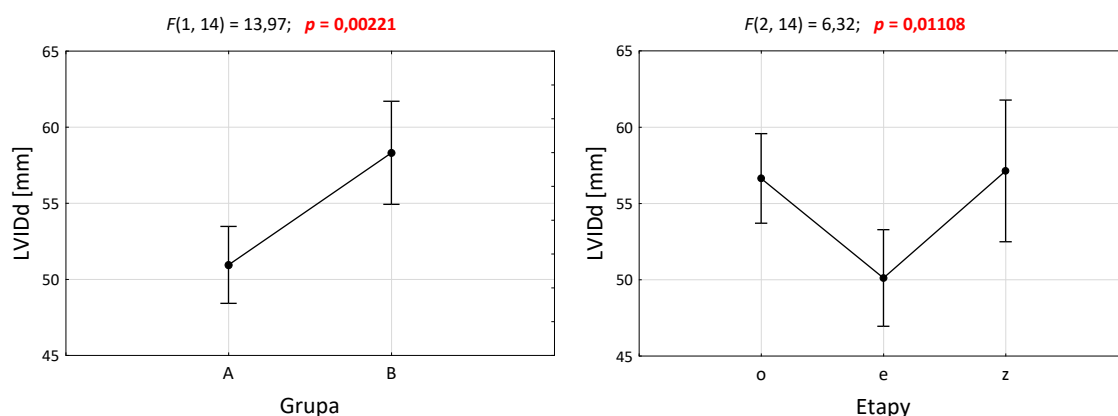


Rycina 9. Zależność między PR, a objętością końcoworozkurczową lewej komory. Średnia \pm odchylenie standardowe. EDV – objętość końcoworozkurczowa lewej komory, PR – częstotliwość stymulacji.

Parametr	Etap	Grupa A	Grupa B	A vs. B
LVIDd [mm]	0	54,5 ± 3,9	57,1 ± 1,5	$p = 0,440$
	E	43,4 ± 6,9	55,2 ± 3,7	$p < 0,001$
	Z	54,3 ± 3,4	60,0 ± 0,0	$p = 0,228$
		$p = 0,002$	$p = 0,400$	×
EDV [ml]	0	144 ± 23	160 ± 10	$p = 0,417$
	E	89 ± 34	149 ± 23	$p < 0,001$
	Z	143 ± 19	180 ± 0	$p = 0,176$
		$p = 0,003$	$p = 0,374$	×

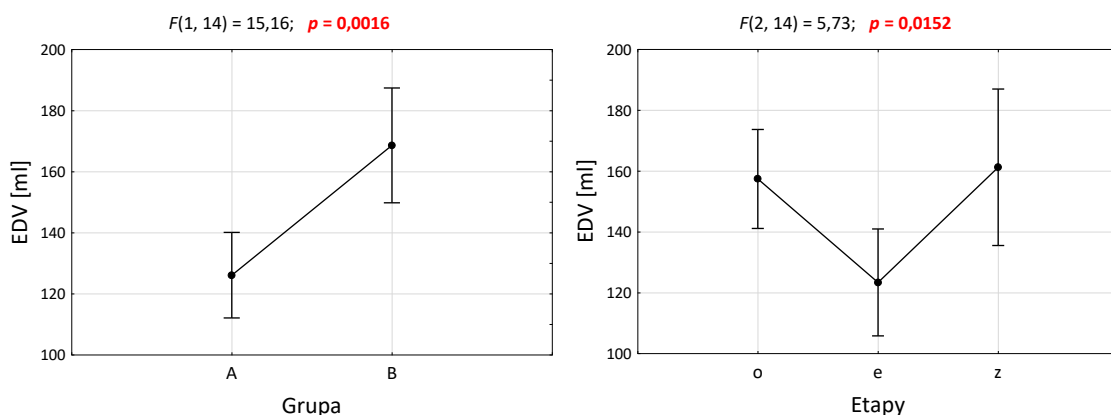
Tabela 7. Średnia i odchylenie standardowe wymiarów i objętości końcoworozkurczowych na kolejnych etapach doświadczeń w grupach A i B oraz wyniki parametrycznych testów istotności.

W przebiegu doświadczenia, realizowanie protokołu RVP (etap E), prowadzi do zmniejszenia LVIDd i EDV względem etapu zerowego i ostatniego w grupie A, parametry te nie zmieniają się istotnie przez wszystkie etapy w grupie B. W trakcie trwania RVP (etap E) w grupie B obserwowano wyższy LVIDd i wyższą EDV niż w grupie A, mimo, że na etapach 0 i Z te wartości nie różniły się istotnie pomiędzy grupami.



Rycina 10. Wartości brzegowe LVIDd w grupach A i B oraz na etapach 0, E i Z oraz wyniki testów. LVIDd – wymiar końcoworozkurczowy lewej komory. Interakcja grupa x etap nie występowała.

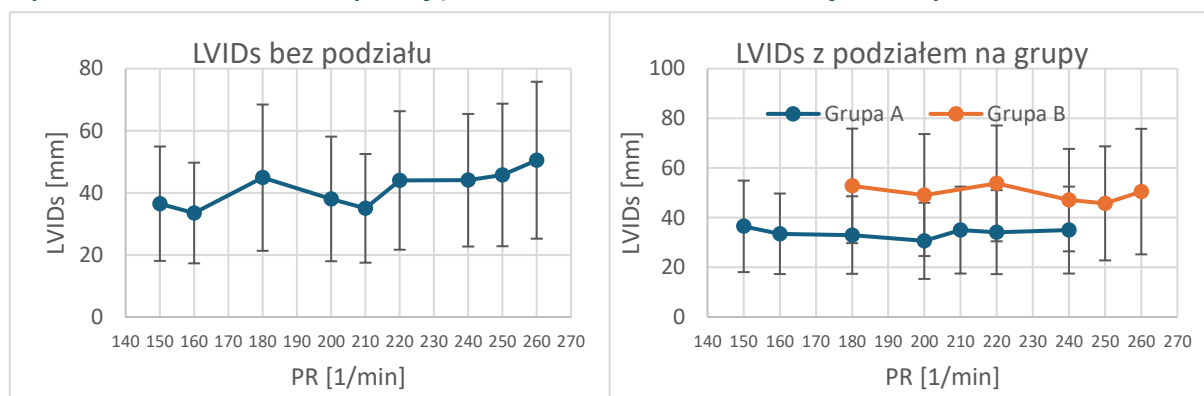
Średni wymiar LVIDd (średnia ze wszystkich pomiarów – z etapów 0, E i Z) w grupie A był istotnie mniejszy w porównaniu z grupą B (rycina 10, strona lewa). W trakcie RVP (czyli na etapie E) obserwowano istotnie niższe LVIDd (uśrednione dla obu grup) niż przed rozpoczęciem RVP i po nim (rycina 10, prawa strona).



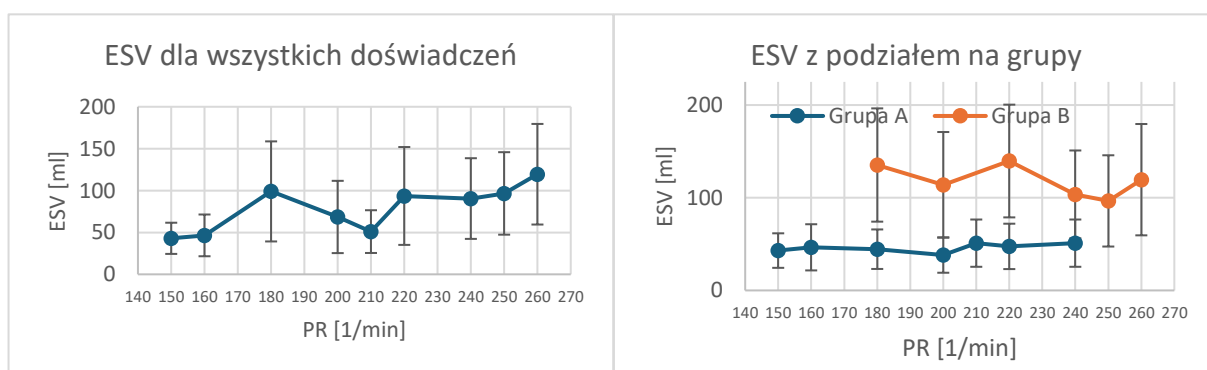
Rycina 11. Wartości brzegowe EVD w grupach A i B oraz na etapach 0, E i Z oraz wyniki testów. EDV – objętość końcowoskurczowa lewej komory.

Podobne zależności zaobserwowano w przypadku EDV, średnia EDV ze wszystkich pomiarów była w grupie A istotnie mniejsza, a w trakcie RVP EDV była istotnie niższa niż przed (etap 0) i po (etap Z)

Wymiar końcowoskurczowy i objętość końcowoskurczowa lewej komory



Rycina 12. Zależność między PR, a wymiarem końcowoskurczowym lewej komory, Średnia ± odchylenie standardowe. LVIDs wymiar końcowoskurczowy lewej komory.

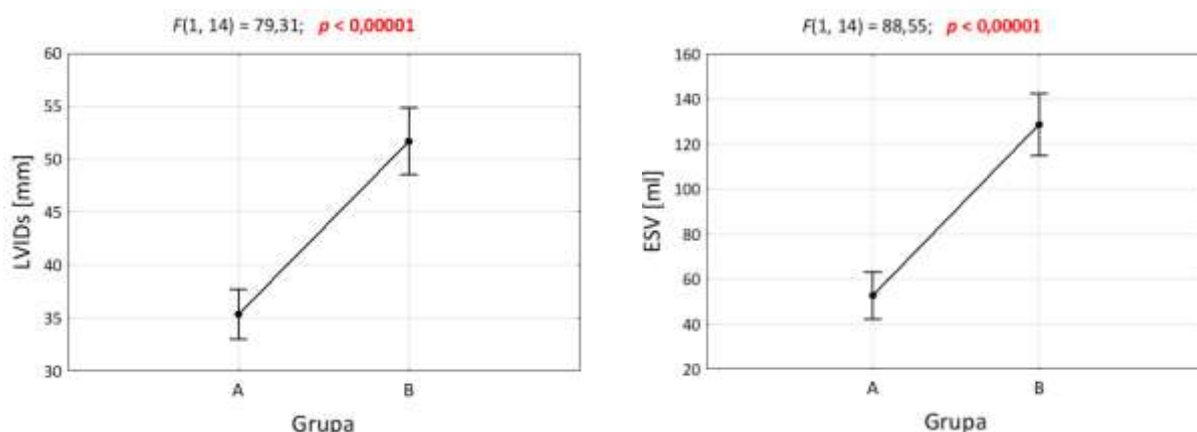


Rycina 13. Zależność między PR, a objętością końcowoskurczową lewej komory. Średnia ± odchylenie standardowe. ESV – objętość końcowoskurczowa.

Parametr	Etap	Grupa A	Grupa B	A vs. B
LVIDs [mm]	0	36,8 ± 1,0	49,3 ± 1,1	$p < 0,001$
	E	33,6 ± 3,4	50,1 ± 4,0	$p < 0,001$
	Z	35,8 ± 5,7	52,0 ± 0,0	$p = 0,085$
		$p = 0,265$	$p = 0,849$	×
ESV [ml]	0	56,8 ± 4,3	115,1 ± 7,0	$p < 0,001$
	E	44,9 ± 9,3	119,8 ± 21,8	$p < 0,001$
	Z	56,5 ± 19,5	130,0 ± 0,0	$p = 0,044$
		$p = 0,092$	$p = 0,848$	×

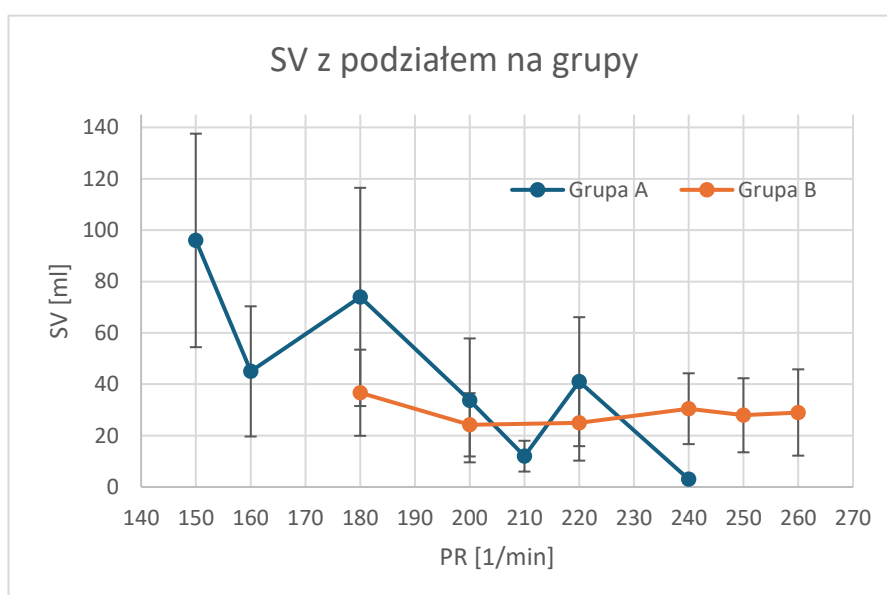
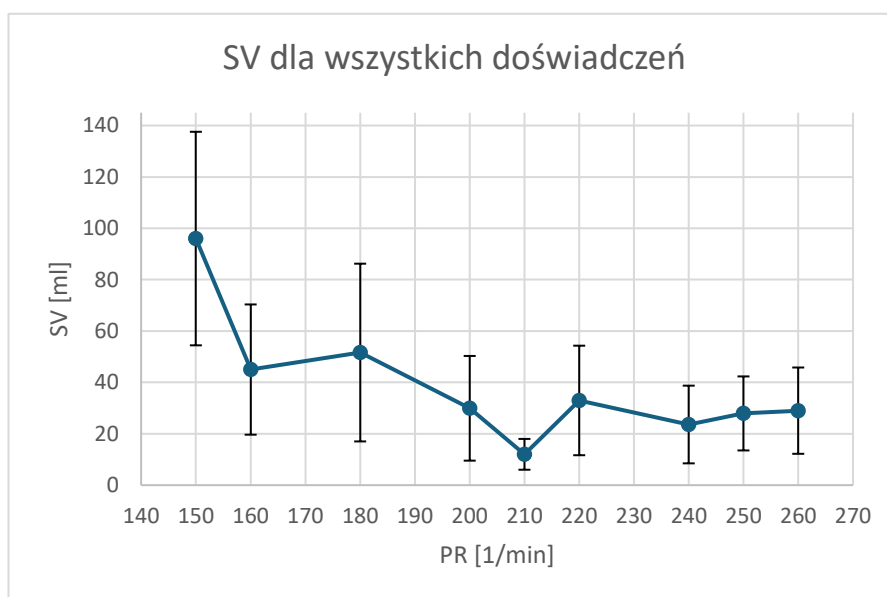
Tabela 8. Średnia i odchylenie standardowe wymiarów i objętości końcowoskurczowych na kolejnych etapach doświadczeń w grupach A i B oraz wyniki parametrycznych testów istotności. LVIDs -wymiar końcowoskurczowy lewej komory, ESV – objętość końcowoskurczowa.

W żadnej z grup nie odnotowano istotnych zmian LVIDs lub ESV w trakcie trwania kolejnych etapów, lecz porównując na każdym etapie z osobna, ESV w grupie B była zawsze większa niż w grupie A, a LVIDs był większy w grupie B na każdym etapie z wyjątkiem etapu Z. Również porównanie parametrów końcowoskurczowych bez podziału na etapy (średnie ze wszystkich etapów wszystkich doświadczeń) ukazało niższe wartości końcowoskurczowe w grupie A względem grupy B (rycina 14).

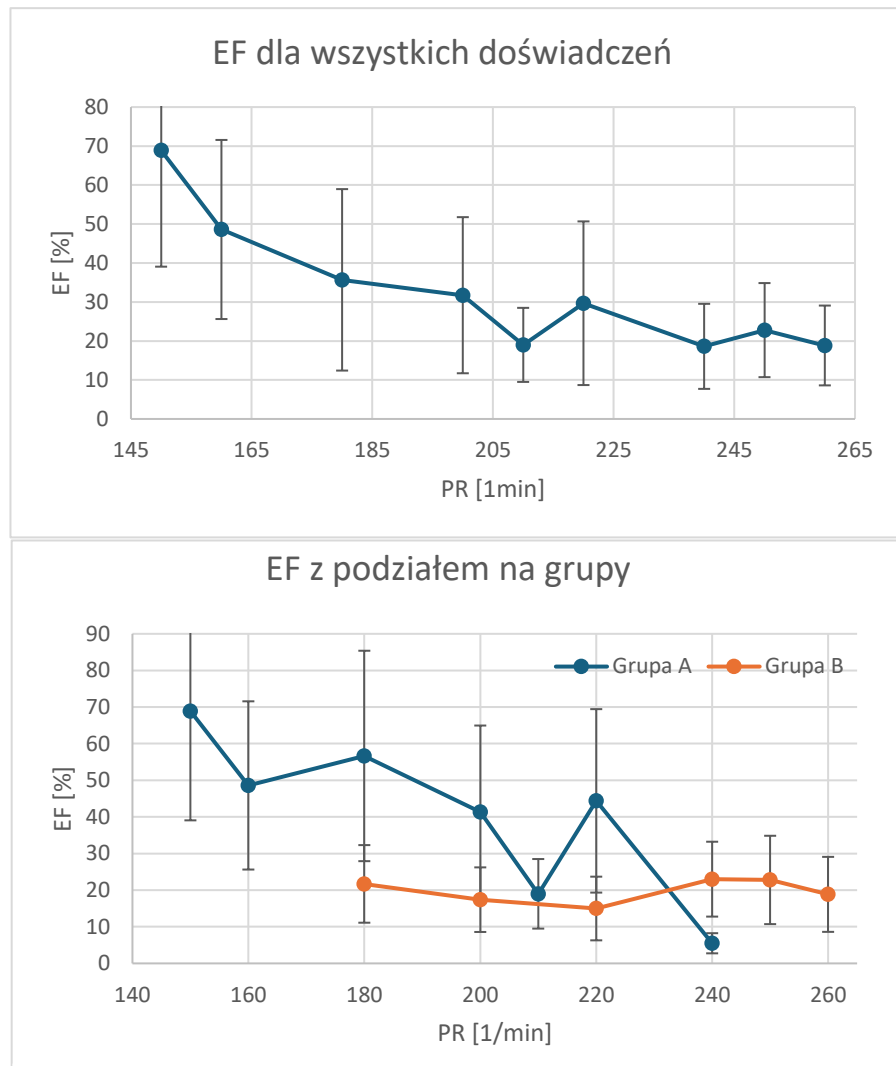


Rycina 14. Wartości brzegowe LVIDs i ESV w grupach A i B oraz wyniki testów. LVIDs – wymiar końcowoskurczowy, ESV – objętość końcowoskurczowa.

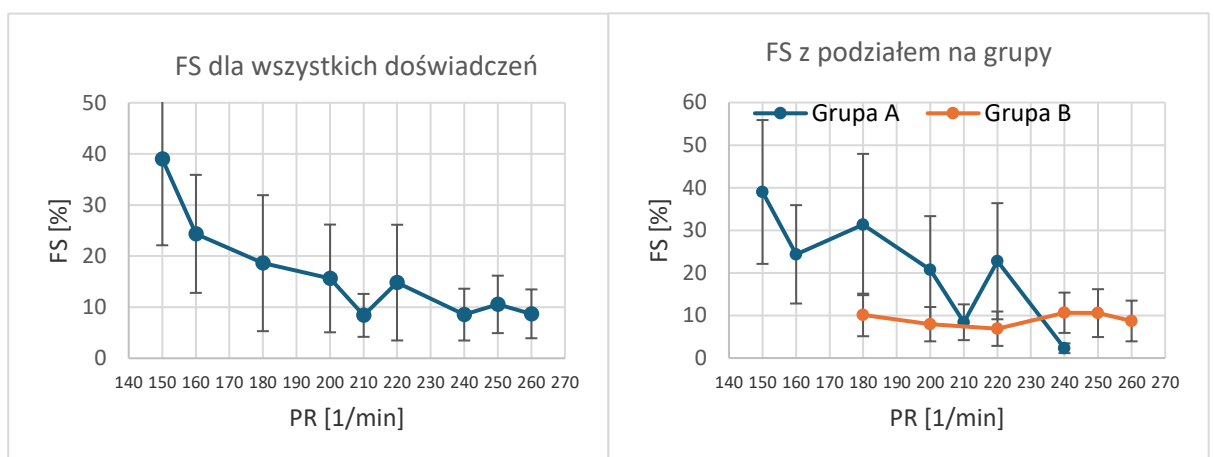
Objętość wyrzutowa, frakcja wyrzutowa i frakcja skracania lewej komory



Rycina 15. Zależność między PR, a objętością wyrzutową lewej komory z podziałem na grupy. Średnia \pm odchylenie standardowe. SV – objętość wyrzutowa.



Rycina 16. Zależność między PR, a frakcją wyrzutową lewej komory dla wszystkich doświadczeń. Średnia \pm odchylenie standardowe. EF – frakcja wyrzutowa.

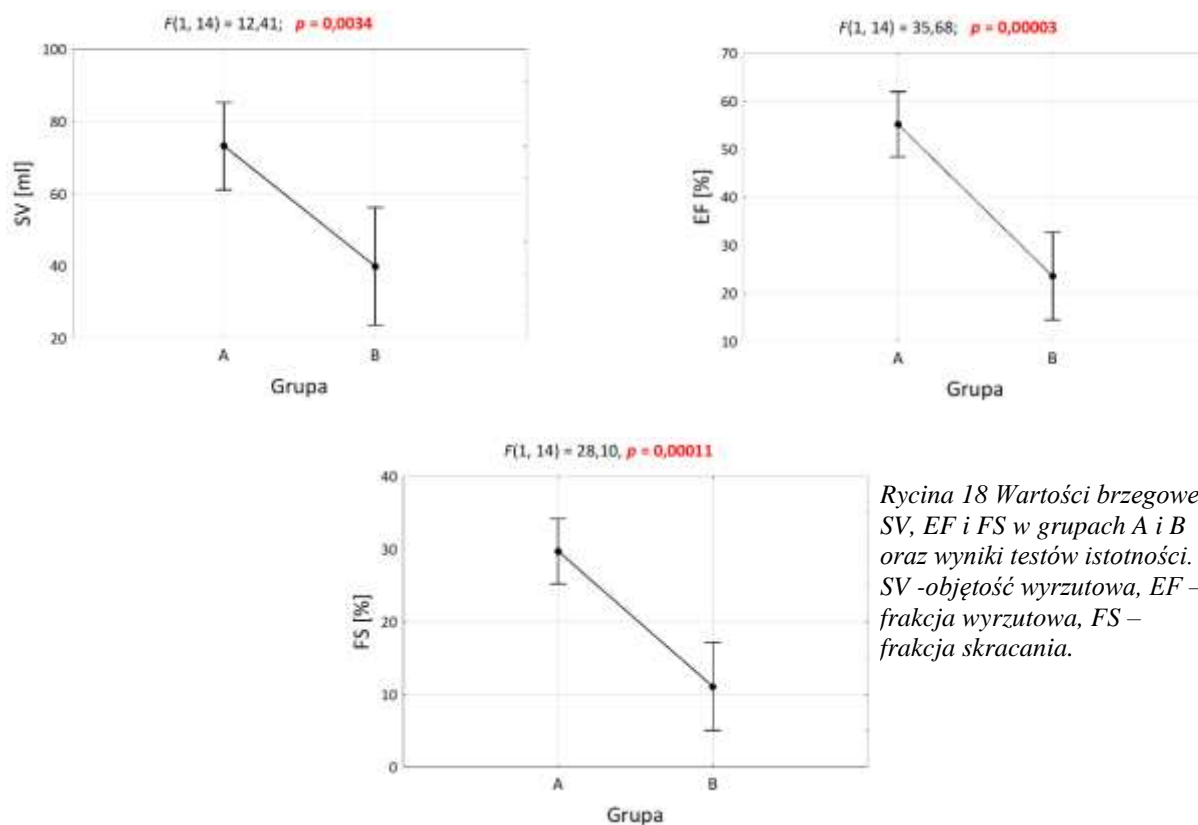


Rycina 17. Zależność między PR, a frakcją skracania lewej komory – dla wszystkich doświadczeń i z podziałem na grupy. Średnia \pm odchylenie standardowe. FS – frakcja skracania.

Parametr	Etap	Grupa A	Grupa B	A vs. B
SV [ml]	0	86,5 ± 19,7	45,0 ± 17,0	$p = 0,066$
	E	44,1 ± 34,9	29,2 ± 9,3	$p = 0,124$
	Z	86,0 ± 14,3	50,0 ± 0,0	$p = 0,110$
		$p = 0,021$	$p = 0,044$	×
EF [%]	0	59,9 ± 4,6	27,9 ± 8,9	$p = 0,003$
	E	43,2 ± 21,1	19,8 ± 6,1	$p < 0,001$
	Z	60,8 ± 10,9	27,7 ± 0,0	$p = 0,073$
		$p = 0,132$	$p = 0,173$	×
FS [%]	0	32,3 ± 3,4	13,3 ± 4,6	$p = 0,004$
	E	22,4 ± 12,9	9,2 ± 3,0	$p = 0,001$
	Z	33,4 ± 8,5	13,2 ± 0,0	$p = 0,123$
		$p = 0,146$	$p = 0,147$	×

Tabela 9. Średnia i odchylenie standardowe objętości skurczowej, frakcji wyrzutowej i frakcji skracania na kolejnych etapach doświadczeń w grupach A i B oraz wyniki parametrycznych testów istotności. SV -objętość wyrzutowa. EF – frakcja wyrzutowa. FS – frakcja skracania.

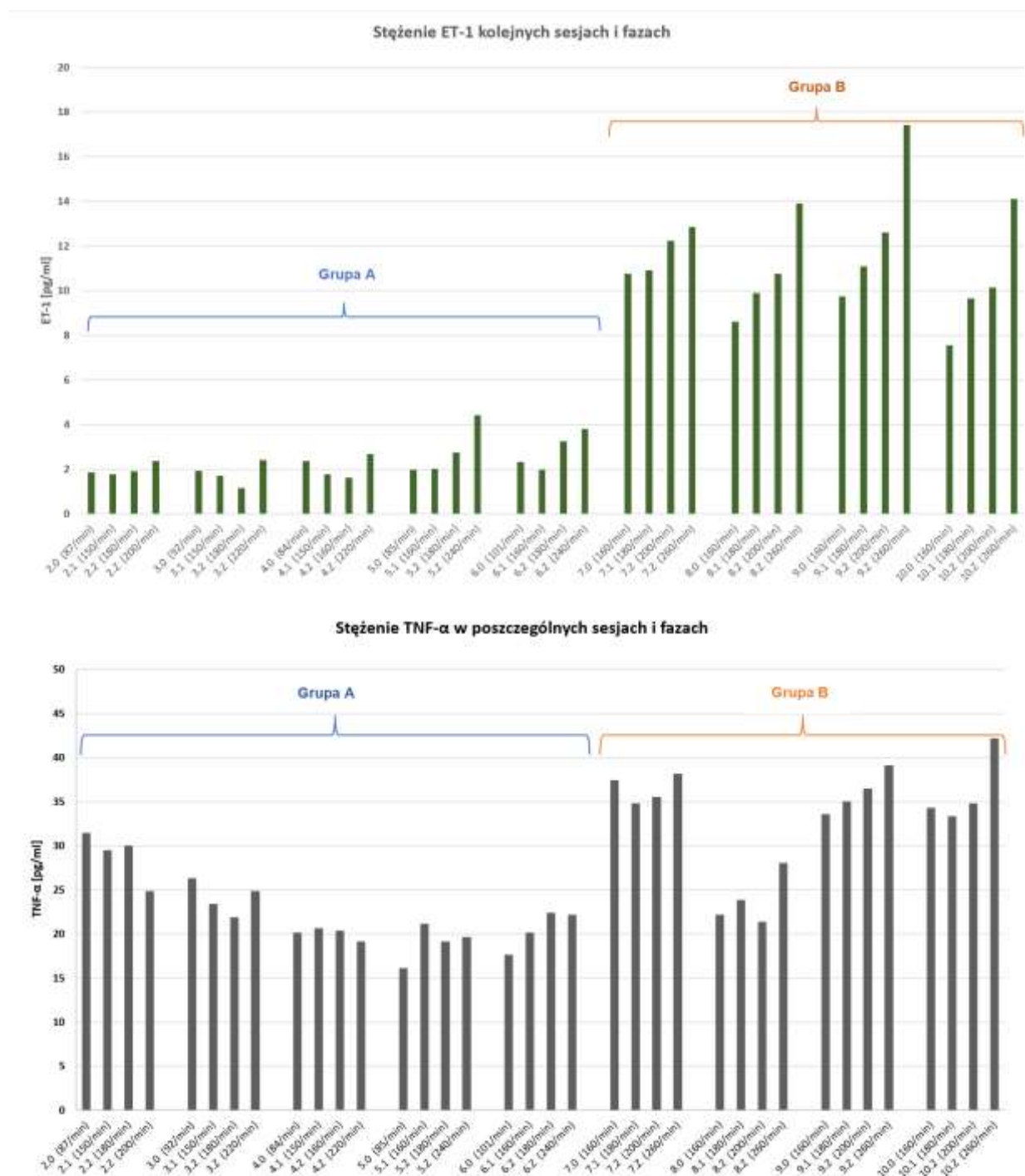
Zarówno w grupie A jak i B w trakcie RVP (etap E) zaobserwowano niższe objętości wyrzutowe niż przed i po RVP (etapy 0 i Z). W żadnej z grup nie zaobserwowano natomiast istotnych statystycznie zmian EF i FS w trakcie realizacji kolejnych etapów. Objętości wyrzutowe w grupie A i B nie różniły się na żadnym z etapów, ale za to EF i FS na etapach Z i E były w grupie B zawsze istotnie niższe niż w grupie A. Porównując natomiast średnie wartości wszystkich pomiarów SV, EF i FS (pomijając podział na etapy), w grupie B każdy z wyżej wymienionych parametrów był niższy niż w grupie A.



Rycina 18 Wartości brzegowe SV, EF i FS w grupach A i B oraz wyniki testów istotności. SV -objętość wyrzutowa, EF – frakcja wyrzutowa, FS – frakcja skracania.

Endotelina-1 i czynnik martwicy nowotworów alfa

Poniżej przedstawiono wyniki pomiarów w postaci histogramów. W podpunktach dalszych przedstawiono wyniki analiz statystycznych.

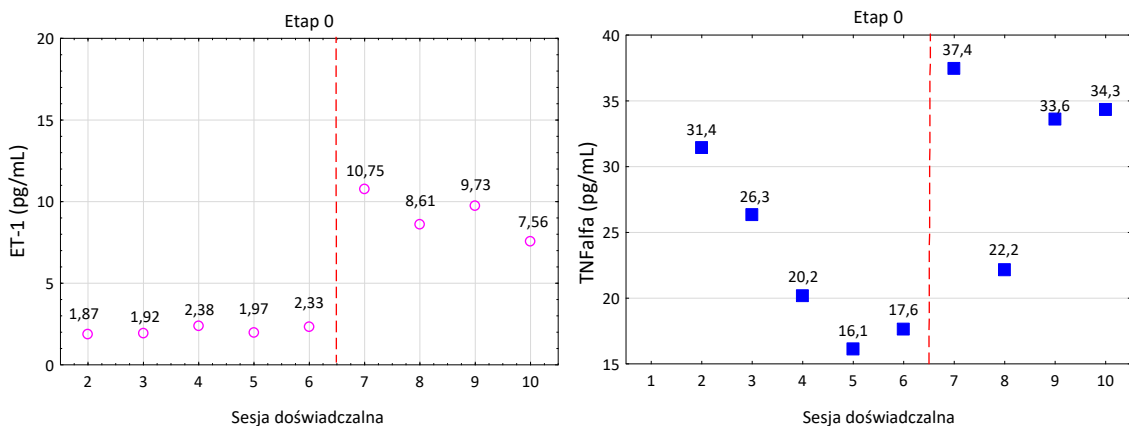


Rycina 19. Stężenia endoteliny-1 i czynnika martwicy nowotworów alfa w zależności od sesji doświadczalnej i fazy doświadczenia. Liczba przez kropką oznacza numer sesji, a po kropce numer fazy, gdzie "Z" oznacza fazę ostatnią (po zakończeniu RVP). W nawiasach podano HR/PR odpowiadającą danej fazie, fazie Z przyporządkowano maksymalny PR z danej sesji.

Podstawowe analizy statystyczne

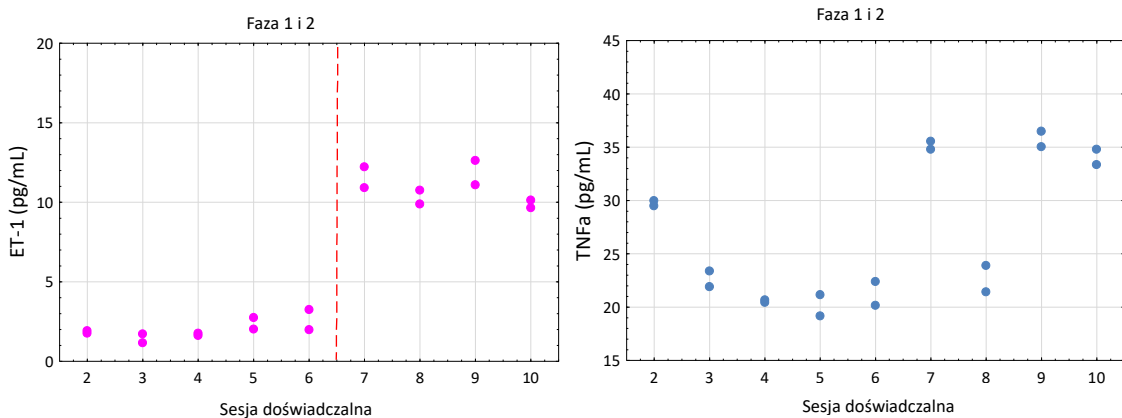
Parametr	Etap	Grupa A	Grupa B	A vs. B
Endotelina 1 [pg/ml]	0	2,09 ± 0,24	9,16 ± 1,38	<i>p</i> < 0,001
	E	1,99 ± 0,59	10,91 ± 1,06	<i>p</i> < 0,001
	Z	3,14 ± 0,92	14,56 ± 1,98	<i>p</i> < 0,001
		<i>p</i> = 0,012	<i>p</i> < 0,001	×
TNF-α [pg/ml]	0	22,3 ± 6,4	31,9 ± 6,7	<i>p</i> = 0,066
	E	22,9 ± 3,8	31,9 ± 5,8	<i>p</i> = 0,001
	Z	22,1 ± 2,7	36,9 ± 6,1	<i>p</i> = 0,002
		<i>p</i> = 0,947	<i>p</i> = 0,397	×

Tabela 10. Podstawowe statystyki opisowe (średnia ± SD) ET-1 i TNF-α na kolejnych etapach doświadczeń w grupach A i B oraz wyniki parametrycznych testów istotności. ET-1- endotelina-1, TNF-α – czynnik martwicy nowotworów alfa.



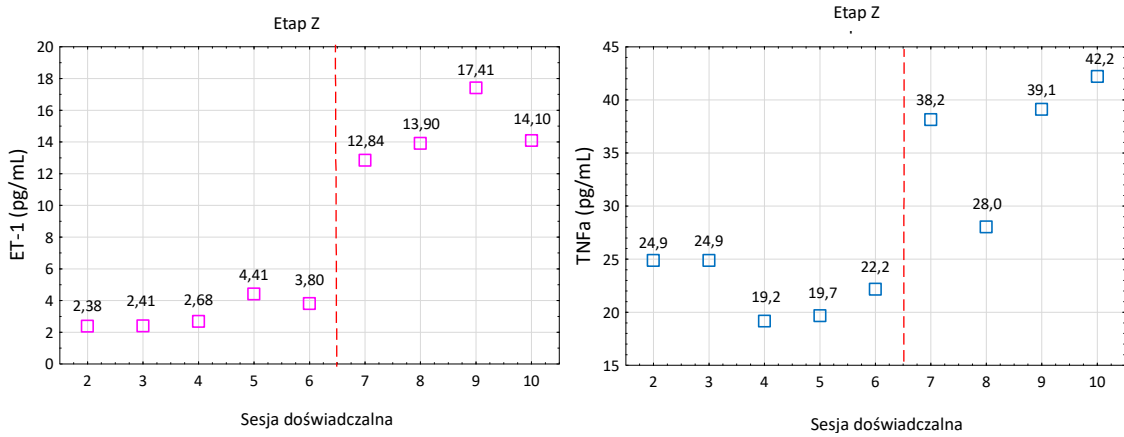
Rycina 20. Stężenia ET-1 i TNF-α w fazie 0 kolejnych sesji doświadczalnych. ET-1- endotelina-1, TNF-α – czynnik martwicy nowotworów alfa.

Już przed rozpoczęciem RVP, czyli na etapie 0, stężenia ET-1 w grupie B były wyższe niż w grupie A, zmierzone różnice stężeń TNF-α ($31,9 \pm 6,7$ w grupie B vs. $22,3 \pm 6,4$, $p=0,066$) nie osiągnęły istotności statystycznej.

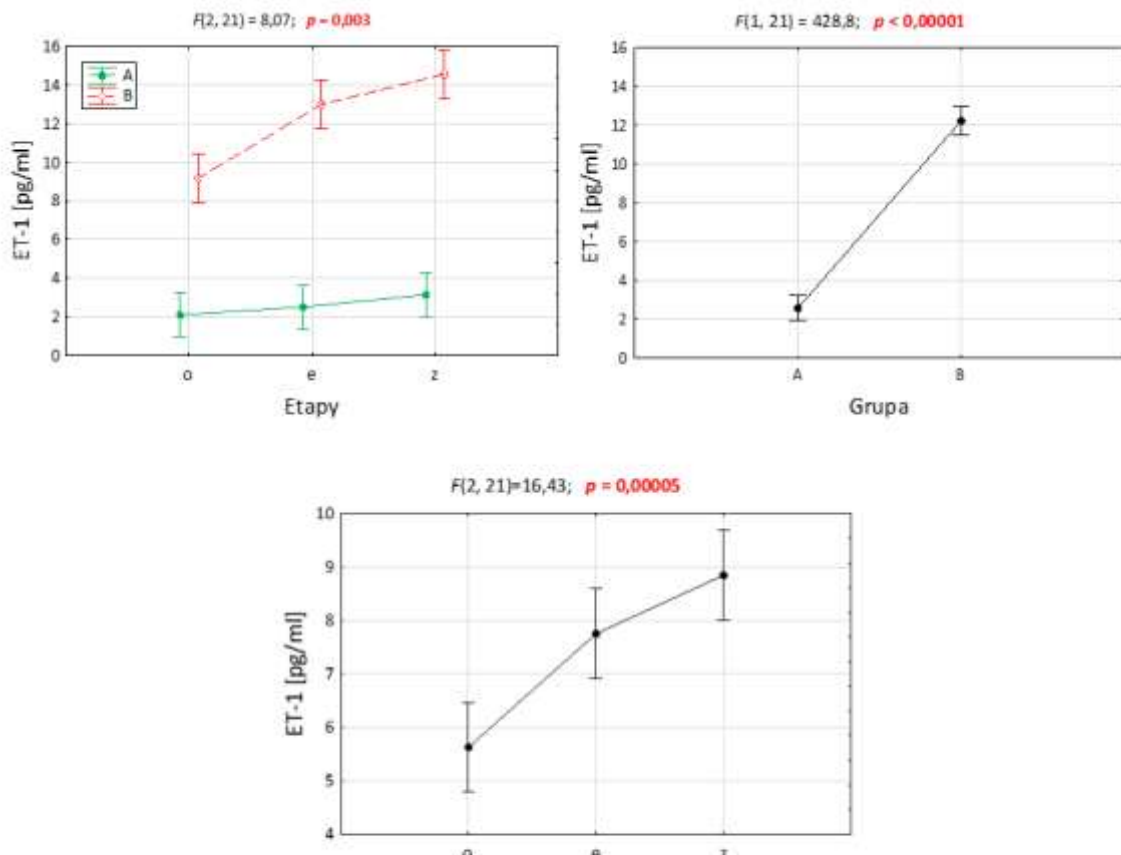


Rycina 21. Stężenia ET-1 i TNF-α w fazie 1 i 2 kolejnych sesji doświadczalnych.

W trakcie trwania RVP (etap E) stężenia zarówno ET-1 jak i TNF- α w grupie B były wyższe niż w grupie A. Rozrzut wartości ET-1 wokół średniej grupy pozostaje względnie niski (SD 0,59 i 1,06), wartości TNF- α są mniej rozrzucone niż w fazie 0 (SD 3,8 i 5,8).



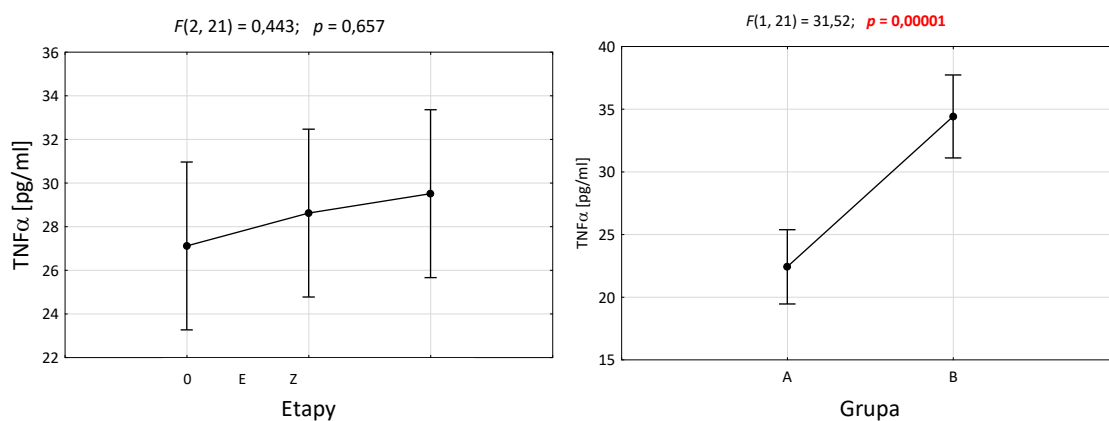
Rycina 22. Stężenia ET-1 i TNF- α na etapie Z (po zaprzestaniu RVP) dla poszczególnych sesji doświadczalnych. ET-1- endotelina-1, TNF- α – czynnik martwicy nowotworów alfa.



Rycina 23 Wartości brzegowe stężenia ET-1 w grupach (A i B) i na etapach (0, E i Z) doświadczeń oraz interakcja grupa \times etap i wyniki testów. ET-1- endotelina-1,

Po zakończeniu RVP (etap Z) w grupie B odnotowano wyższe stężenia zarówno ET-1 jak i TNF- α niż w grupie A (rycina 23, 24, tabela 10). Najwyższe stężenie ET-1 lub TNF- α w danej sesji mierzono prawie zawsze na etapie Z (czyli po wyłączeniu RVP), reguła ta nie ma zastosowania wyłącznie dla TNF- α w grupie A. Stężenia ET-1 wzrasta w czasie trwania sesji doświadczalnych (0 \rightarrow E \rightarrow Z) zarówno w grupie A jak i B. Dla TNF- α nie zaobserwowano istotnych zmian w trakcie sesji doświadczalnych w żadnej z grup.

Średnie stężenie ET-1 w grupie B było istotnie wyższe niż w grupie A ($p < 0,001$), w trakcie trwania kolejnych etapów sesji doświadczalnych obserwowano wzrastające stężenia ET-1 ($p < 0,001$), a w grupie B realizowanie kolejnych etapów prowadziło do silniejszego wzrostu ET-1 niż w grupie A ($p = 0,003$), (rycina 23.)

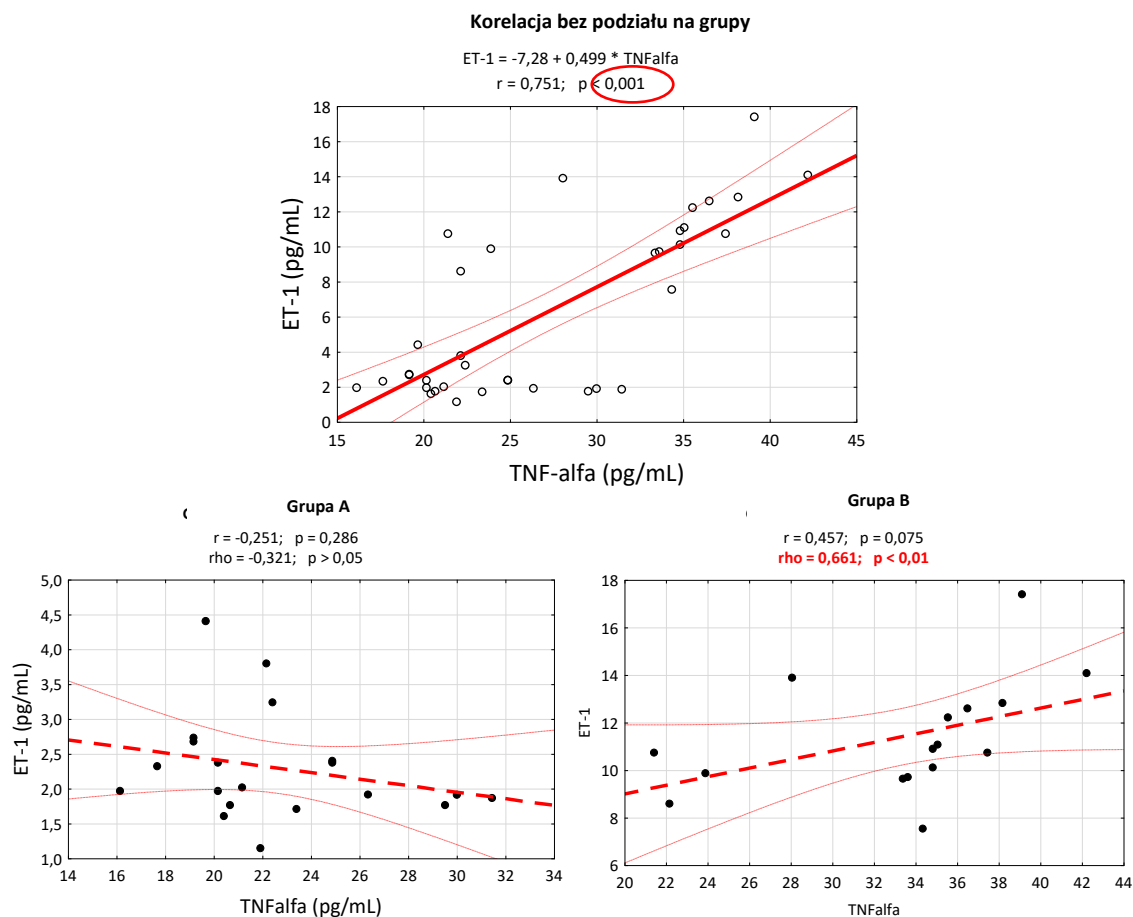


Rycina 24. Średnie brzegowe TNF α w grupach, etapach oraz interakcja grupa \times etap i wyniki testów istotności.

W grupie B średnie stężenie TNF- α było wyższe niż w grupie A ($p < 0,001$), niemniej dla całości sesji doświadczalnych, bez podziału na grupy nie zaobserwowano istotnych zmian stężenia TNF- α w trakcie kolejnych etapów, nie występuje interakcja grupa \times etap.

Analiza korelacji

Zaobserwowano istotną statystycznie, dodatnią korelację między stężeniem TNF- α i ET-1 dla wszystkich sesji doświadczalnych (bez podziału na grupy A i B). Korelacje oceniane oddzielnie wykazały: w grupie A – brak korelacji, w grupie B, również dodatnią korelację między ET-1 i TNF- α .



Rycina 25 Wykres rozrzutu stężeń ET-1 względem stężeń TNF- α i wartość współczynnika korelacji rang Spearmana.

	ET-1 (pg/mL)	TNFalfa (pg/mL)
Częstość stymulacji HR (1/min) Bez podziału na grupy	N = 18 r = 0,769 (p < 0,001) ρ = 0,759 (p < 0,001)	N = 18 r = 0,514 (p = 0,029) ρ = 0,535 (p < 0,05)
Częstość stymulacji HR (1/min) Grupa A	N = 10 r = 0,400 (p = 0,252) ρ = 0,354 (p > 0,05)	N = 10 r = -0,022 (p = 0,952) ρ = -0,083 (p > 0,05)
Częstość stymulacji HR (1/min) Grupa B	N = 8 r = 0,525 (p = 0,182) ρ = 0,434 (p > 0,05)	N = 8 r = 0,026 (p = 0,952) ρ = 0,274 (p > 0,05)
Numer doświadczenia (1-10) Bez podziału na grupy	N = 18 r = 0,860 (p < 0,001) ρ = 0,822 (p < 0,001)	N = 18 r = 0,513 (p = 0,030) ρ = 0,479 (p < 0,05)
Numer doświadczenia (2-6) Grupa A	N = 10 r = 0,624 (p = 0,054) ρ = 0,642 (p < 0,05)	N = 10 r = -0,759 (p = 0,011) ρ = -0,689 (p < 0,05)
Numer doświadczenia (7-10) Grupa B	N = 8 r = -0,396 (p = 0,332) ρ = -0,390 (p > 0,05)	N = 8 r = 0,203 (p = 0,630) ρ = -0,025 (p > 0,05)
SYS (mm Hg) Bez podziału na grupy	N = 18 r = -0,719 (p = 0,001) ρ = -0,674 (p < 0,05)	N = 18 r = -0,403 (p = 0,097) ρ = -0,369 (p > 0,05)

SYS (mm Hg)	N = 10	N = 10
Grupa A	r = -0,412 (p = 0,237) $\rho = -0,347$ (p > 0,05)	r = 0,514 (p = 0,129) $\rho = 0,564$ (p > 0,05)
SYS (mm Hg)	N = 8	N = 8
Grupa B	r = 0,032 (p = 0,939) $\rho = -0,262$ (p > 0,05)	r = -0,403 (p = 0,322) $\rho = -0,407$ (p > 0,05)
DIA (mm Hg)	N = 18	N = 18
Bez podziału na grupy	r = -0,628 (p = 0,005) $\rho = -0,582$ (p < 0,05)	r = -0,296 (p = 0,233) $\rho = -0,226$ (p > 0,05)
DIA (mm Hg)	N = 10	N = 10
Grupa A	r = -0,338 (p = 0,340) $\rho = -0,492$ (p > 0,05)	r = 0,609 (p = 0,061) $\rho = 0,612$ (p > 0,05)
DIA (mm Hg)	N = 8	N = 8
Grupa B	r = 0,020 (p = 0,962) $\rho = -0,204$ (p > 0,05)	r = -0,485 (p = 0,223) $\rho = -0,386$ (p > 0,05)
MAP (mm Hg)	N = 18	N = 18
Bez podziału na grupy	r = -0,711 (p = 0,001) $\rho = -0,720$ (p < 0,01)	r = -0,365 (p = 0,137) $\rho = -0,387$ (p > 0,05)
MAP (mm Hg)	N = 10	N = 10
Grupa A	r = -0,437 (p = 0,206) $\rho = -0,334$ (p > 0,05)	r = 0,581 (p = 0,078) $\rho = 0,636$ (p < 0,05)
MAP (mm Hg)	N = 8	N = 8
Grupa B	r = -0,021 (p = 0,961) $\rho = -0,262$ (p > 0,05)	r = -0,395 (p = 0,333) $\rho = -0,407$ (p > 0,05)

Tabela 11. Analiza korelacji między stężeniami ET-1- endoteliny-1 i TNF- α – czynnika martwicy nowotworów alfa a wybranymi parametrami. SYS – ciśnienie skurczowe, DIA – ciśnienie rozkurczowe, MAP- średnie ciśnienie tętnicze.

Morfologia krwi, układ krzepnięcia, podstawowe parametry biochemiczne i gazometria krwi tętniczej.

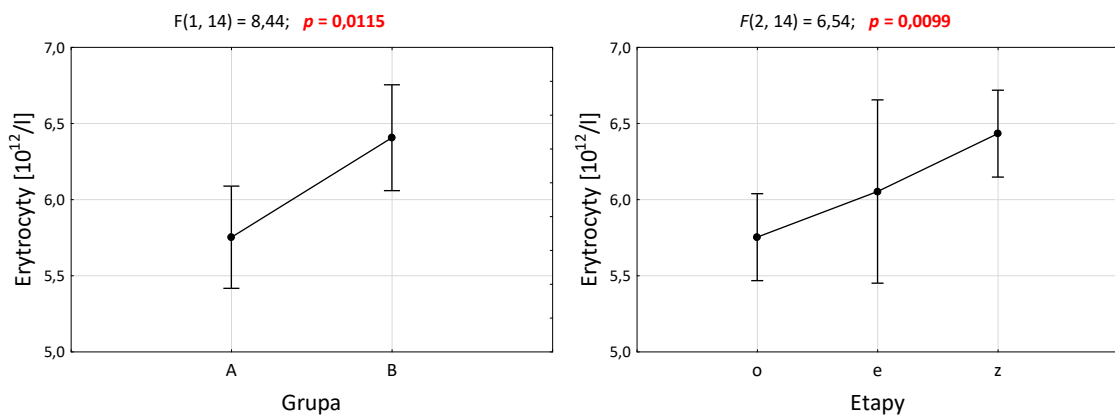
Morfologia krwi

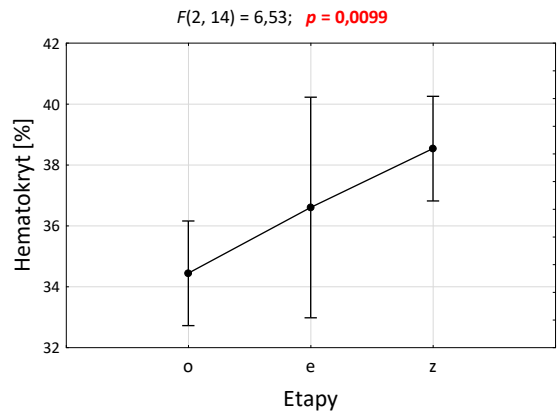
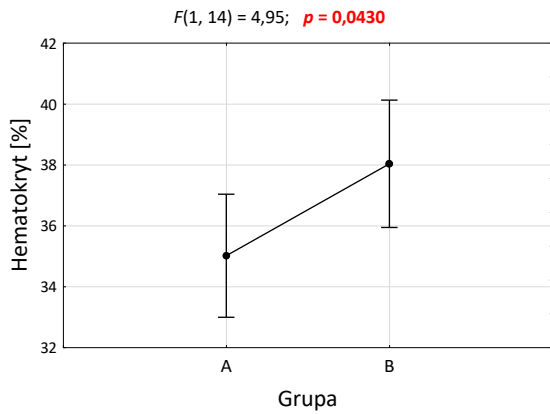
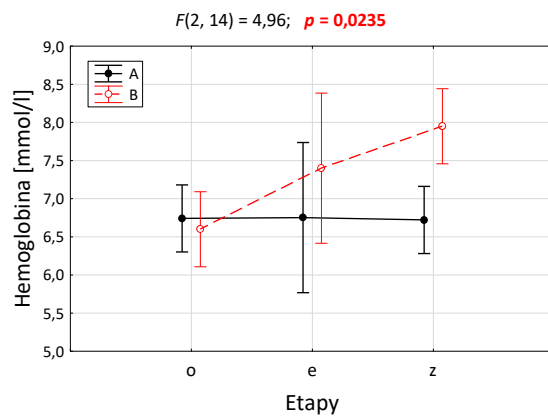
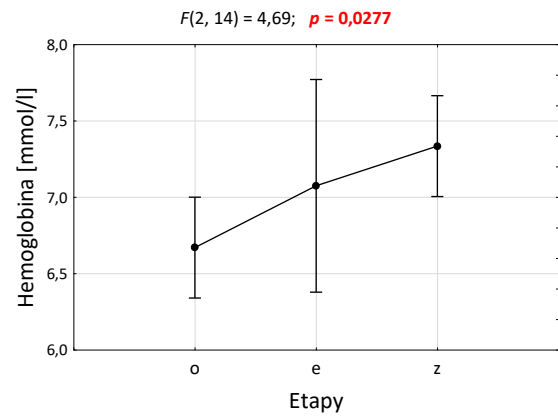
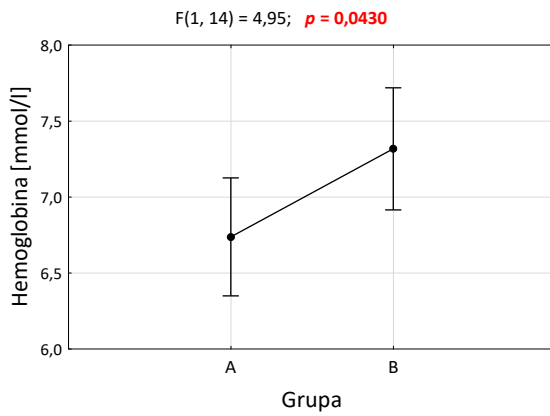
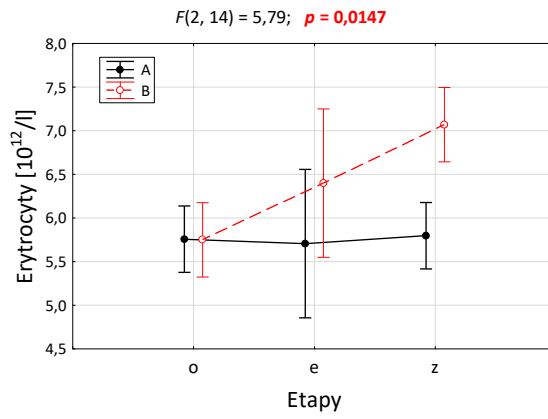
Parametr	Etap	Grupa A	Grupa B	A vs. B
Leukocyty [$\times 10^9/l$]	0	14,8 \pm 2,2	14,8 \pm 1,8	p = 0,980
	E	15,1 \pm 1,7	15,6 \pm 0,6	p = 0,759
	Z	17,4 \pm 1,8	16,2 \pm 2,0	p = 0,356
			p = 0,107	p = 0,568
Trombocyty [$\times 10^9/l$]	0	194 \pm 30	180 \pm 68	p = 0,648
	E	202 \pm 1	129 \pm 1	p < 0,001
	Z	190 \pm 26	161 \pm 20	p = 0,088
			p = 0,874	p = 0,485
Erytrocyty [$\times 10^{12}/l$]	0	5,77 \pm 0,20	5,77 \pm 0,54	p = 0,989
	E	5,71 \pm 0,05	6,40 \pm 0,14	p = 0,022
	Z	5,89 \pm 0,31	7,24 \pm 0,28	p < 0,001
			p = 0,602	p = 0,004
Hemoglobina [mmol/l]	0	6,72 \pm 0,28	6,68 \pm 0,67	p = 0,893
	E	6,75 \pm 0,07	7,40 \pm 0,14	p = 0,028
	Z	6,78 \pm 0,29	8,15 \pm 0,19	p < 0,001
			p = 0,915	p = 0,008

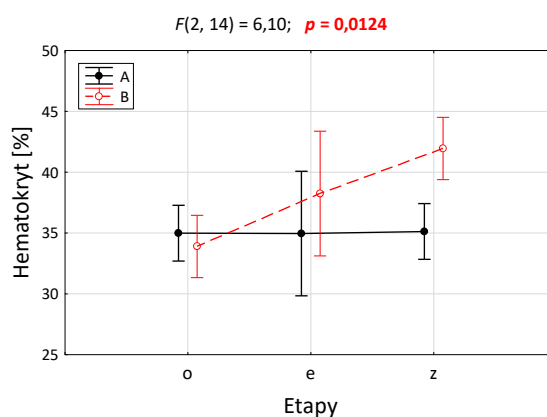
Hematokryt [%]	0	34,9 ± 0,9	34,1 ± 3,5	$p = 0,606$
	E	35,0 ± 0,2	38,3 ± 0,8	$p = 0,029$
	Z	35,5 ± 1,8	43,1 ± 1,3	$p < 0,001$
		$p = 0,698$	$p = 0,004$	×
MCV [fl]	0	60,5 ± 1,0	59,1 ± 0,8	$p = 0,045$
	E	61,3 ± 0,2	59,8 ± 0,1	$p = 0,008$
	Z	60,4 ± 0,8	59,5 ± 0,5	$p = 0,095$
		$p = 0,451$	$p = 0,466$	×
MCH [fmol]	0	1,16 ± 0,02	1,16 ± 0,02	$p = 0,621$
	E	1,18 ± 0,002	1,16 ± 0,003	$p = 0,011$
	Z	1,15 ± 0,02	1,13 ± 0,03	$p = 0,113$
		$p = 0,246$	$p = 0,140$	×
MCHC [mmol/l]	0	19,2 ± 0,4	19,6 ± 0,1	$p = 0,116$
	E	19,3 ± 0,1	19,3 ± 0,02	$p = 0,644$
	Z	19,1 ± 0,3	18,9 ± 0,3	$p = 0,428$
		$p = 0,659$	$p = 0,010$	×

Tabela 12. Podstawowe statystyki opisowe (średnia ± SD) parametrów morfologicznych na kolejnych etapach doświadczeń w grupach A i B oraz wyniki parametrycznych testów istotności. MCV – średnia objętość krwinki czerwonej, MCH – średnia zawartość hemoglobiny w erytrocytach, MCHC – średnie stężenie hemoglobiny w erytrocytach.

Zaobserwowane różnice dotyczą głównie układu czerwonokrwinkowego. W przypadku liczby erytrocytów, stężenia hemoglobiny i hematokrytu występują podobne zależności: na etapie zerowym nie wykazano różnic w obrębie tych parametrów między grupami A i B. Każdy z parametrów wykazuje istotny wzrost swojej wartości w trakcie trwania kolejnych etapów tylko w grupie B, co za tym idzie, na etapach E i Z wartość parametru w grupie B jest istotnie większa niż w grupie A.







Rycina 26. Wartości brzegowe parametrów czerwonych (erytrocytów, hemoglobiny i hematokrytu) w grupach A i B, na etapach 0, E i Z doświadczenia oraz interakcje grupa \times etap i wyniki testów.

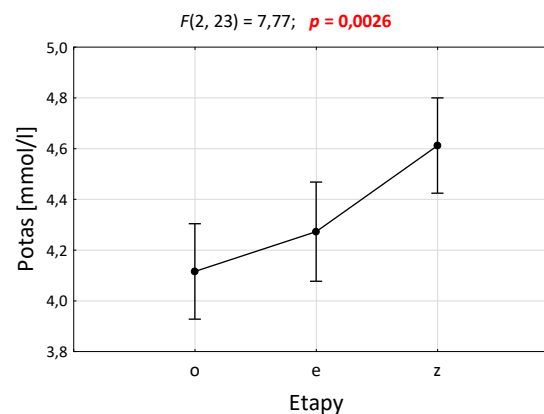
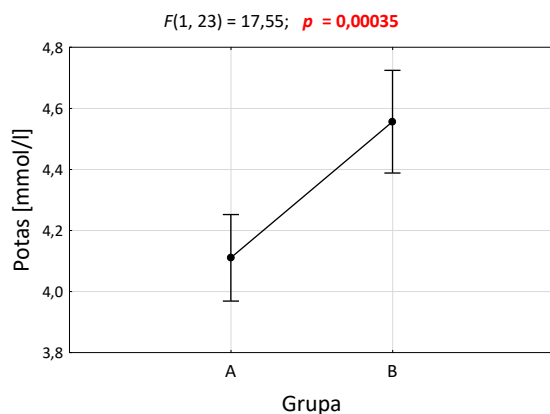
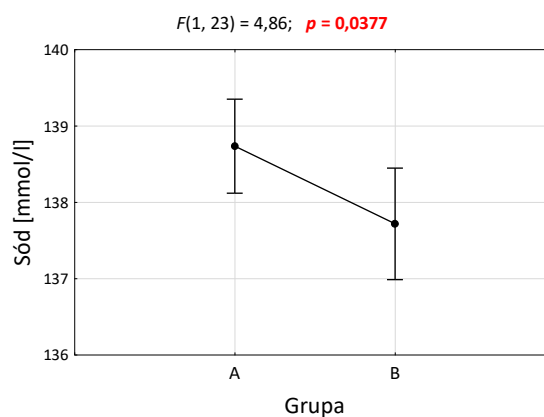
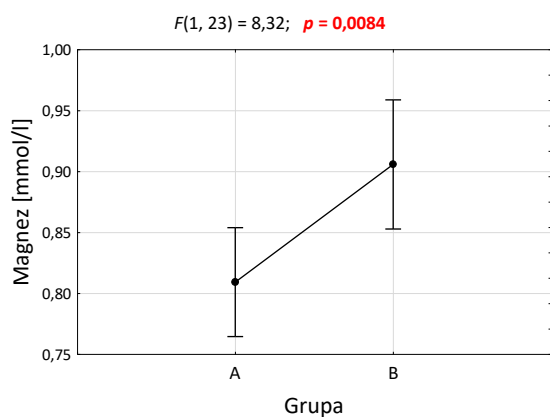
Analiza bez podziału na etapy pokazuje, że w grupie B wartość parametrów czerwonych jest istotnie wyższa niż w grupie A; analiza bez podziału na grupy ukazuje, że w trakcie trwania sesji doświadczalnych (sekwencja etapów 0→E→Z) dochodzi istotnego przyrostu wartości parametrów czerwonych, analiza interakcji wykazała silniejszy przyrost wartości w grupie B niż w grupie A w trakcie trwania sesji doświadczalnych. MCV na etapie 0 i E jest istotnie niższa w grupie B niż A. Na etapie E w grupie B zaobserwowano niższą liczbę płytek krwi niż w grupie A.

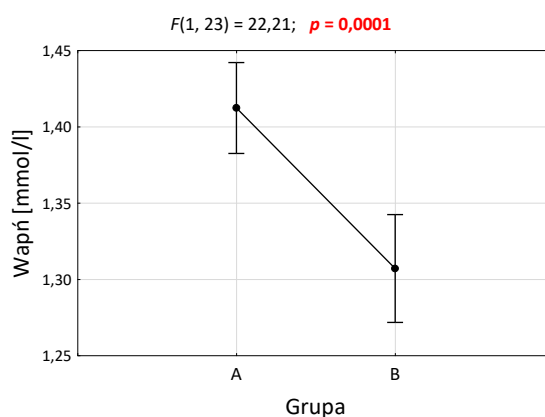
Podstawowe parametry biochemiczne

Parametr	Etap	Grupa A	Grupa B	A vs. B
CK [U/l]	0	5518 ± 8680	1308 ± 982	$p = 0,371$
	E	6001 ± 8835	2066 ± 713	$p = 0,230$
	Z	5036 ± 7050	2103 ± 887	$p = 0,441$
		$p = 0,975$	$p = 0,301$	×
CRP [mg/l]	0	4,93 ± 1,71	4,00 ± 1,07	$p = 0,365$
	E	4,48 ± 1,27	4,19 ± 0,49	$p = 0,548$
	Z	4,23 ± 1,17	4,08 ± 0,69	$p = 0,816$
		$p = 0,674$	$p = 0,905$	×
Magnez [mmol/l]	0	0,77 ± 0,10	0,85 ± 0,08	$p = 0,235$
	E	0,78 ± 0,06	0,94 ± 0,09	$p = 0,001$
	Z	0,87 ± 0,10	0,93 ± 0,07	$p = 0,345$
		$p = 0,085$	$p = 0,301$	×
Sód [mmol/l]	0	140 ± 1	138 ± 1	$p = 0,016$
	E	138 ± 1	137 ± 1	$p = 0,193$
	Z	139 ± 2	138 ± 1	$p = 0,769$
		$p = 0,023$	$p = 0,392$	×
Potas [mmol/l]	0	4,06 ± 0,28	4,17 ± 0,30	$p = 0,554$
	E	4,01 ± 0,20	4,53 ± 0,26	$p < 0,001$
	Z	4,26 ± 0,25	4,97 ± 0,40	$p = 0,009$
		$p = 0,153$	$p = 0,010$	×

Chlorki [mmol/l]	0	97,9 ± 1,6	98,5 ± 4,2	$p = 0,756$
	E	97,7 ± 1,9	98,8 ± 3,6	$p = 0,408$
	Z	97,8 ± 1,0	99,1 ± 5,2	$p = 0,547$
		$p = 0,969$	$p = 0,978$	×
Wapń [mmol/l]	0	1,42 ± 0,05	1,31 ± 0,10	$p = 0,044$
	E	1,43 ± 0,02	1,31 ± 0,08	$p = 0,001$
	Z	1,39 ± 0,02	1,30 ± 0,06	$p = 0,010$
		$p = 0,104$	$p = 0,984$	×
Glukoza [mmol/l]	0	3,90 ± 0,79	4,73 ± 1,68	$p = 0,318$
	E	4,46 ± 0,61	5,25 ± 1,14	$p = 0,076$
	Z	5,68 ± 1,04	5,00 ± 1,98	$p = 0,491$
		$p = 0,003$	$p = 0,848$	×

Tabela 13. Podstawowe statystyki opisowe (średnia ± SD) parametrów biochemicznych na kolejnych etapach doświadczeń w grupach A i B oraz wyniki parametrycznych testów istotności. CK-kinaza keratynowa, CRP- białko C-reaktywne.





Rycina 27. Wartości brzegowe stężeń elektrolitów w grupach A i B oraz (jeśli uzyskano istotność) na kolejnych etapach. Czerwoną czcionką podano wyniki testu istotności.

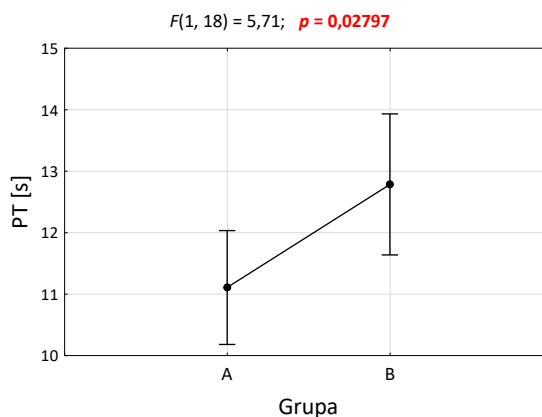
Tylko w obrębie stężenia chlorków nie uzyskano różnic między grupami/ etapami. Stężenie magnezu było wyższe na etapie E w grupie B oraz generalnie w grupie B w przypadku analizy bez podziału na etapy (rycina 29). Podobne zależności dotyczą stężenia potasu, dodatkowo jego stężenie było również wyższe na etapie Z w grupie B. Potas jako jedyny badany elektrolit wykazuje konsekwentny i istotny wzrost stężenia w trakcie trwania sesji doświadczalnych (sekwencja etapów 0→E→Z) w grupie B i w całości pomiarów (bez uwzględniania podziału na grupy). Jedynie w grupie A nie zaobserwowano zmian w stężeniu potasu w trakcie trwania kolejnych etapów. Należy dodać, że w momencie rozpoczynania sesji doświadczalnych (etapy 0) stężenia potasu między grupami A i B nie różniły się. Uwzględniając podział na etapy, różnica w stężeniu sodu występowała jedynie na etapie zerowym (wyższe stężenie w grupie A), pomijając podział na etapy, stężenie sodu w grupie A było wyższe. Stężenie wapnia było wyższe w grupie A na każdym etapie. Nie zaobserwowano istotnych różnic w stężeniu kinazy keratynowej lub białka C-reaktywnego między grupami/etapami. Stężenie glukozy rosło w trakcie trwania sesji doświadczalnych tylko w grupie A.

Parametry układu krzepnięcia.

Parametr	Etap	Grupa A	Grupa B	A vs. B
PT [s]	O	11,2 ± 0,7	12,0 ± 0,8	$p = 0,154$
	E	11,0 ± 0,6	14,0 ± 4,9	$p = 0,099$
	Z	11,0 ± 1,3	11,0 ± 0,8	$p = 0,932$
		$p = 0,903$	$p = 0,347$	×
Fibrynogen [g/l]	O	2,92 ± 0,56	2,46 ± 0,35	$p = 0,195$
	E	2,90 ± 0,45	2,84 ± 0,34	$p = 0,853$
	Z	2,79 ± 0,46	2,41 ± 0,09	$p = 0,144$
		$p = 0,897$	$p = 0,156$	×

APTT [s]	O	26,9 ± 11,2	20,7 ± 6,9	$p = 0,366$
	E	22,8 ± 9,7	16,4 ± 1,0	$p = 0,298$
	Z	26,1 ± 12,0	16,4 ± 1,0	$p = 0,155$
		$p = 0,769$	$p = 0,333$	×

Tabela 14. Podstawowe statystyki opisowe (średnia ± SD) parametrów układu krzepnięcia na kolejnych etapach doświadczeń w grupach A i B oraz wyniki parametrycznych testów istotności. PT-czas protrombinowy, APTT- czas częściowej tromboplastyny po aktywacji



Rycina 28. Wartości brzegowe czasu protrombinowego w grupach A i B i wynik testu.

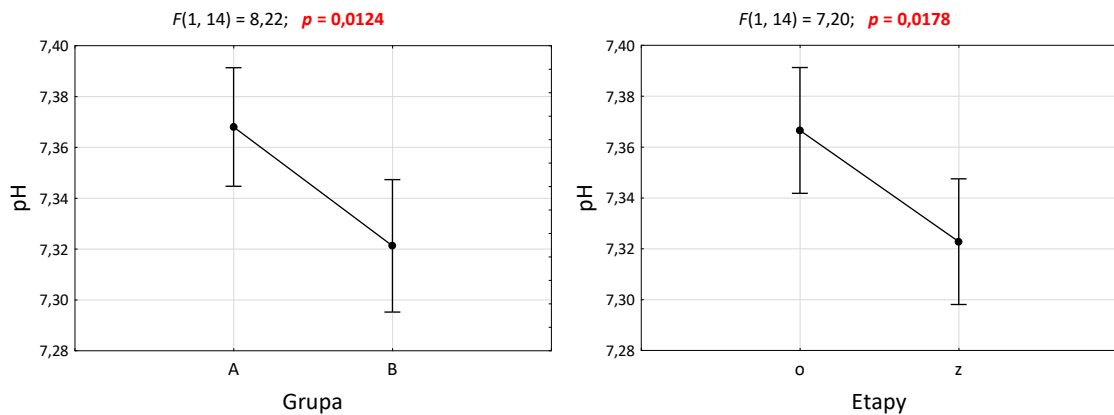
Poza dłuższym czasem protrombinowym (PT) w grupie B (tylko bez uwzględniania podziału na etapy) nie zaobserwowano istotnych różnic w parametrach układu krzepnięcia.

Gazometria krwi tętniczej

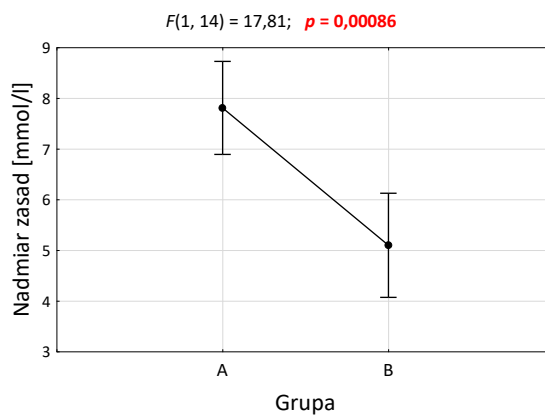
Parametr	Etap	Grupa A	Grupa B	A vs. B
pH	0	7,39 ± 0,02	7,35 ± 0,04	$p = 0,085$
	Z	7,35 ± 0,02	7,30 ± 0,05	$p = 0,078$
	0 vs. Z	$p = 0,017$	$p = 0,199$	×
pCO ₂ [mmHg]	0	59,2 ± 4,1	62,3 ± 5,4	$p = 0,367$
	Z	64,6 ± 3,4	66,3 ± 8,7	$p = 0,707$
	0 vs. Z	$p = 0,054$	$p = 0,466$	×
pO ₂ [mmHg]	0	485 ± 38	504 ± 19	$p = 0,394$
	Z	465 ± 63	407 ± 160	$p = 0,475$
	0 vs. Z	$p = 0,567$	$p = 0,275$	×
Nadmiar zasad (BE- base excess) [mmol/l]	0	8,22 ± 1,62	6,18 ± 1,92	$p = 0,126$
	Z	7,40 ± 0,63	4,03 ± 0,91	$p < 0,001$
	0 vs. Z	$p = 0,322$	$p = 0,090$	×
tCO ₂ [mmol/l] suma wszystkich form CO ₂	0	36,2 ± 1,8	34,7 ± 1,3	$p = 0,200$
	Z	36,1 ± 0,7	33,0 ± 1,8	$p = 0,007$
	0 vs. Z	$p = 0,908$	$p = 0,163$	×
HCO ₃ ⁻ [mmol/l]	0	34,4 ± 1,7	32,8 ± 1,3	$p = 0,181$
	Z	34,2 ± 0,7	31,0 ± 1,6	$p = 0,004$
	0 vs. Z	$p = 0,832$	$p = 0,127$	×
Zasady buforujące (BB- buffer base) [mmol/l]	0	54,3 ± 1,3	51,9 ± 1,4	$p = 0,038$
	Z	53,2 ± 0,7	50,1 ± 1,3	$p = 0,003$
	0 vs. Z	$p = 0,158$	$p = 0,118$	×
BE _{ecf} [mmol/l] BE w płynie pozakomórkowym	0	9,56 ± 1,75	7,43 ± 1,85	$p = 0,119$
	Z	8,80 ± 0,66	4,75 ± 1,37	$p = 0,001$
	0 vs. Z	$p = 0,390$	$p = 0,059$	×

Standaryzowany	0	31,1 ± 1,5	29,2 ± 1,8	$p = 0,127$
HCO ₃ ⁻ [mmol/l]	Z	30,3 ± 0,6	26,6 ± 1,0	$p < 0,001$
(do pH=7,40, pCO ₂ =40mmHg i 37°C)	0 vs. Z	$p = 0,276$	$p = 0,041$	×
standaryzowane pH	0	7,51 ± 0,02	7,49 ± 0,03	$p = 0,130$
(do pCO ₂ =40mmHg i 37°C)	Z	7,50 ± 0,01	7,45 ± 0,02	$p < 0,001$
	0 vs. Z	$p = 0,306$	$p = 0,046$	×
tHb [mmol/l]	0	6,48 ± 0,68	5,65 ± 0,78	$p = 0,248$
Całkowite stężenie hemoglobiny	Z	6,18 ± 0,53	7,45 ± 0,49	$p = 0,048$
	0 vs. Z	$p = 0,513$	$p = 0,110$	×
saturacja O ₂ [%]	0	100 ± 0	100 ± 0	-
	Z	100 ± 0	99,5 ± 0,7	$p = 0,178$
	0 vs. Z	-	$p = 1,000$	×
O ₂ ct[vol%]	0	16,0 ± 1,7	14,2 ± 1,8	$p = 0,279$
	Z	14,5 ± 1,1	16,4 ± 0,5	$p = 0,082$
	0 vs. Z	$p = 0,186$	$p = 0,218$	×

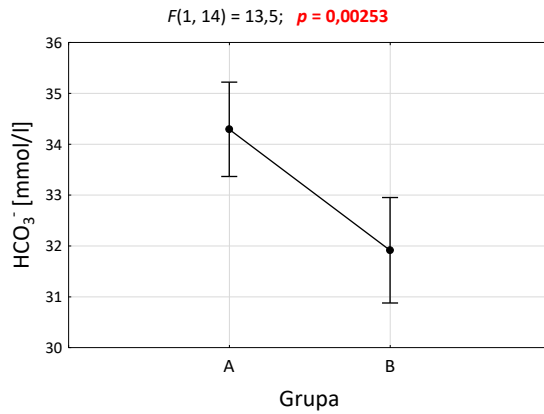
Tabela 15. Podstawowe statystyki opisowe (średnia ± SD) parametrów gazometrii na etapie zerowym i końcowym doświadczeń w grupach A i B oraz wyniki parametrycznych testów istotności.



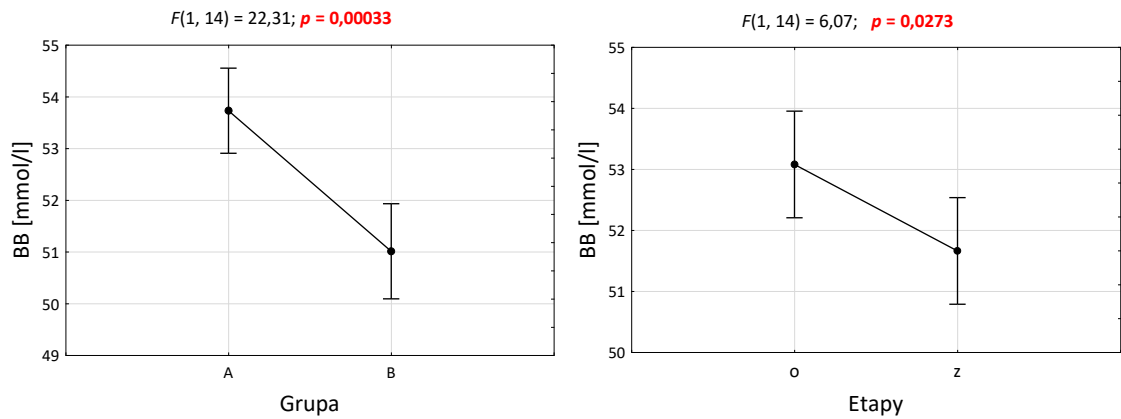
Rycina 29. Wartości brzegowe pH w grupach doświadczeń A i B oraz przed i po włączeniu stymulatora (etap 0 i Z) oraz wyniki testów istotności.



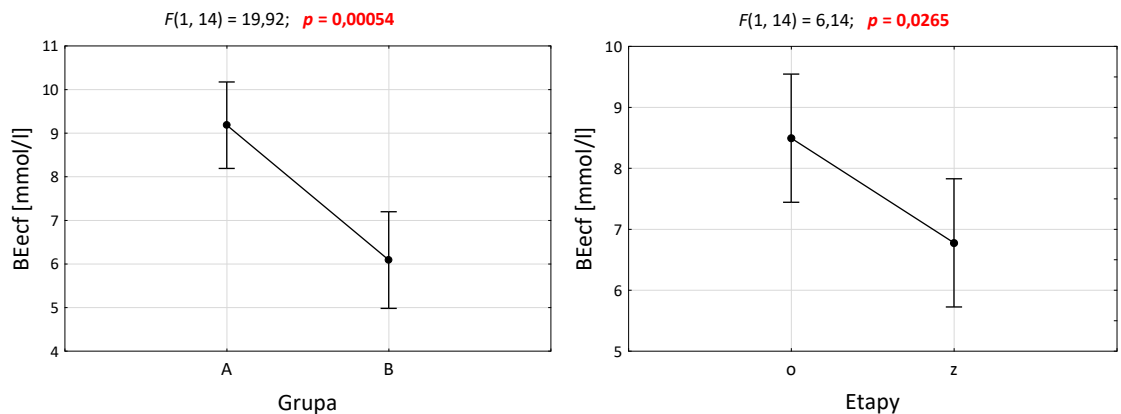
Rycina 30. Wartości brzegowe nadmiaru zasad w grupach doświadczeń A i B oraz wynik testu istotności.



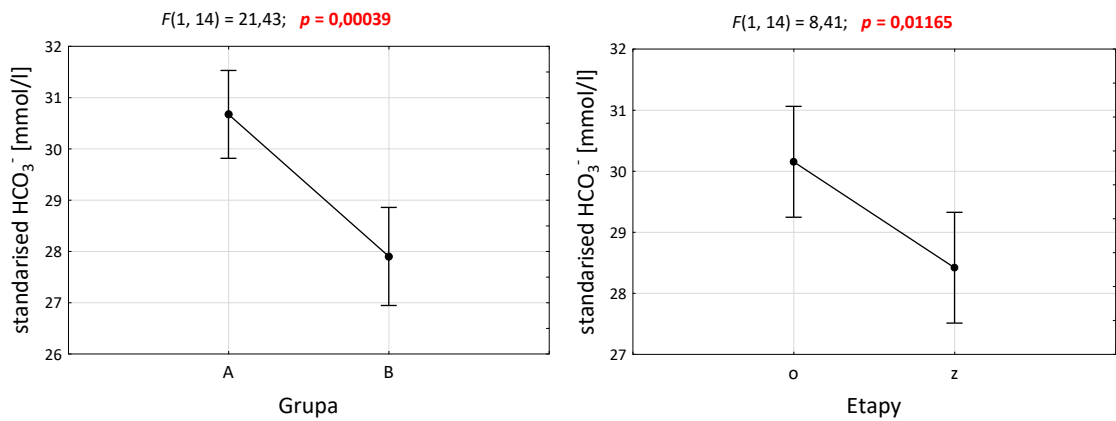
Rycina 31. Wartości brzegowe HCO_3^- w grupach doświadczeń A i B oraz wynik testu istotności.



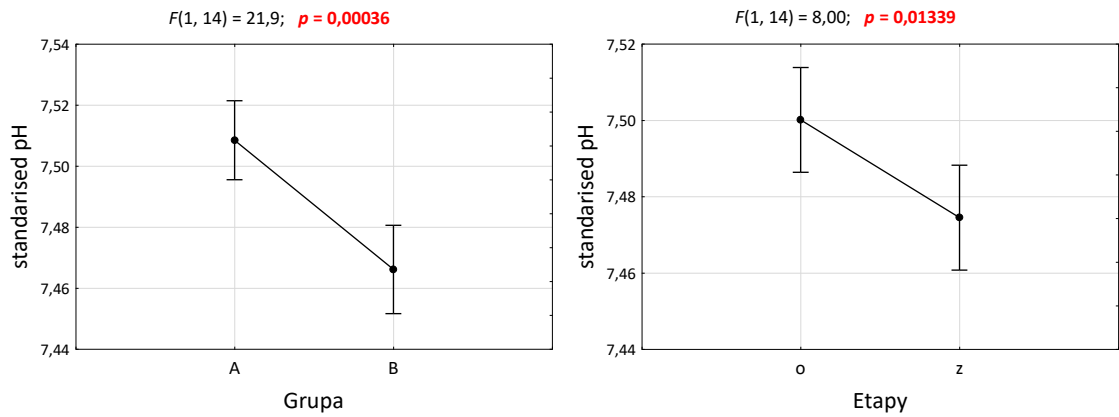
Rycina 32. Wartości brzegowe zasad buforujących BB (buffer base) w grupach doświadczeń A i B oraz przed i po włączeniu stymulatora (etap 0 i Z) i wyniki testów istotności.



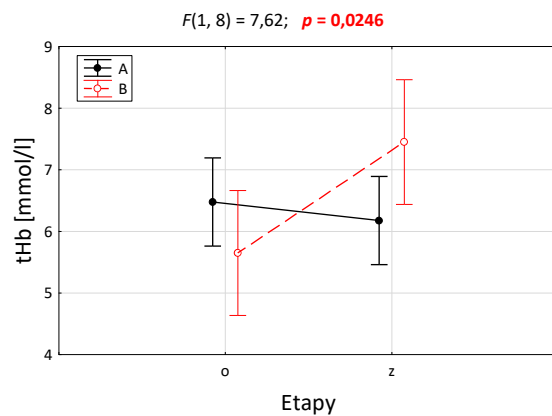
Rycina 33. Wartości brzegowe BEecf (nadmiar zasad w płynie pozakomórkowym) w grupach doświadczeń A i B oraz przed i po włączeniu stymulatora (etap 0 i Z) oraz wyniki testów istotności.



Rycina 34. Wartości brzegowe HCO_3^- standaryzowanego w grupach doświadczeń A i B oraz przed i po włączeniu stymulatora (etap 0 i Z) i wyniki testów istotności.



Rycina 35. Wartości brzegowe pH standaryzowanego w grupach doświadczeń A i B oraz przed i po włączeniu RVP (etap 0 i Z) oraz wyniki testów istotności.



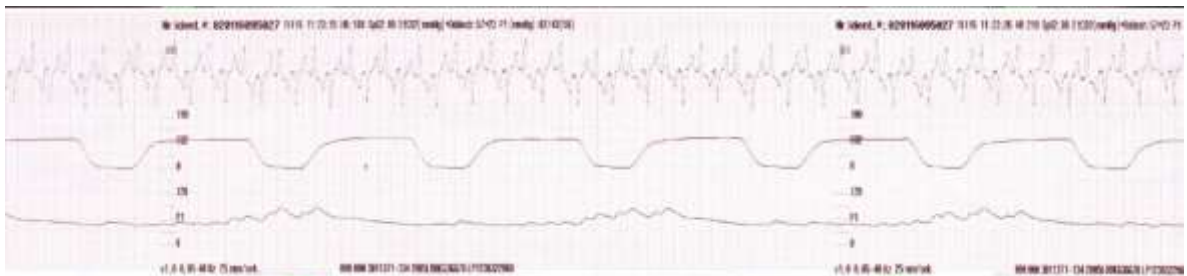
Rycina 36. Wartości brzegowe tHb (całkowitego stężenia hemoglobiny) oraz interakcje grupa \times etap i wynik testu.

Zjawisko rozkojarzenia elektromechanicznego, symulowanego częstoskurczu dwukierunkowego oraz alternansu pulsu i EKG.

Podczas sesji doświadczalnych zaobserwowano szereg zjawisk, podczas których dochodziło do rozbieżności pomiędzy aktywnością elektryczną i mechaniczną serca. Według obserwacji własnych występowały one zwłaszcza przy wyższych PR i częściej w grupie B niż A. Nie przeprowadzono systematycznej obserwacji ani analizy statystycznej występowania tych zjawisk, gdyż pojawiły się one w sposób nieoczekiwany. Zadaniem eksperymentów pilotażowych jest odkrycie niespodziewanych zjawisk i uwzględnienie ich przy projektowaniu dalszych eksperymentów.

Rozkojarzenie elektromechaniczne

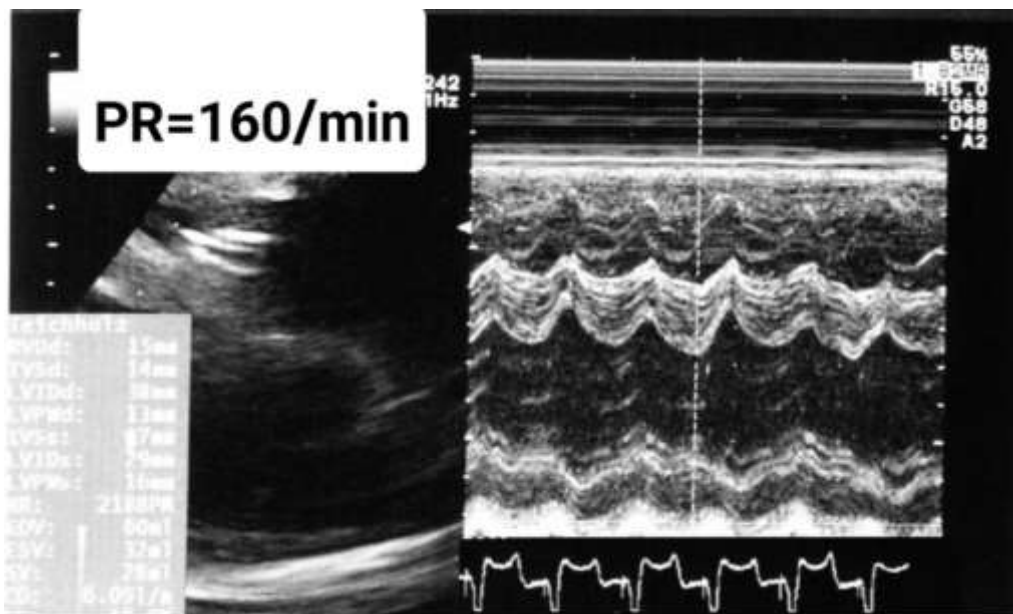
Autor pod nazwą tego zjawiska rozumie okresowy zanik fali tętna mierzony w sposób inwazyjny w dużej tętnicy, pomimo zapisu wskazującego na zorganizowaną elektryczną aktywność serca¹⁸⁹.



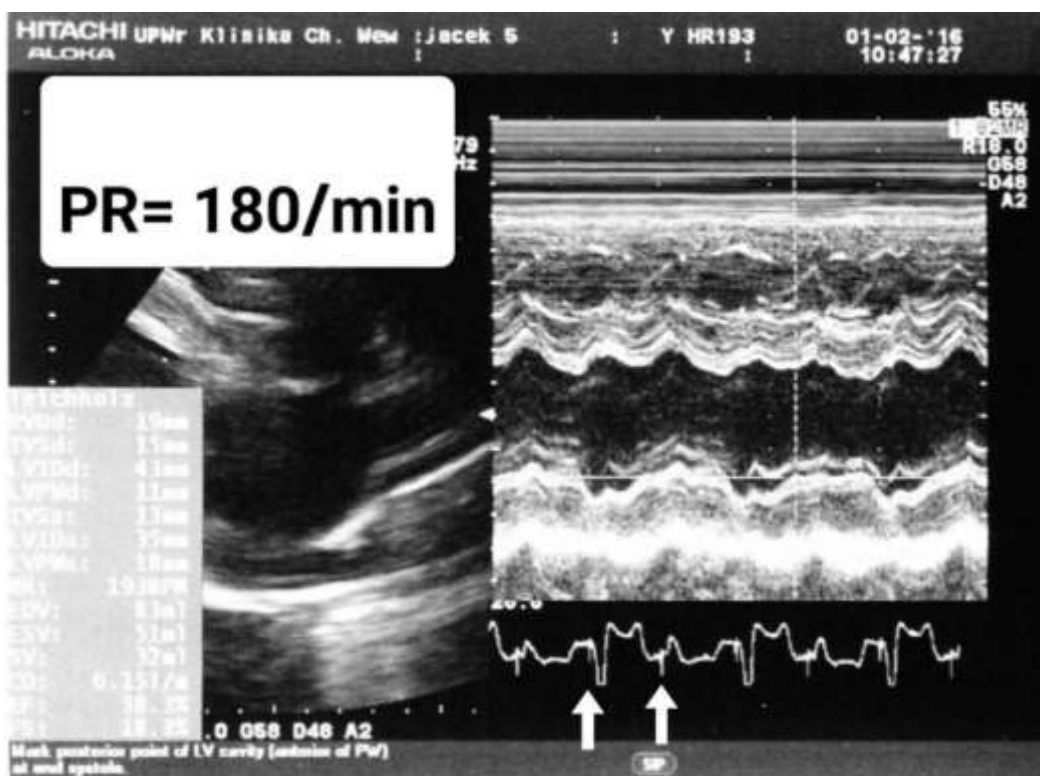
Rycina 37. Sesja doświadczalna S6, Faza 5 (PR=220/min). Elektrokardiograficznie występuje zjawisko częstoskurczu dwukierunkowego o częstotliwości równej PR. Krzywa tętna wykazuje zmienność w przynajmniej dwóch cyklach. Cykl długi – krzywa tętna naprzemiennie wypłaszcza się i osiąga wartości maksymalne. Okres tych zmian (ok. 5,2s) jest dwa razy dłuższy od okresu cyklu oddechowego - (ok. 2,6s, liczba oddechów ok. 23/min). Cykl krótki: W trakcie, kiedy krzywa tętna osiąga wartości największe, widoczna jest naprzemiennność między skurczami (beat to beat) – po skurczu silnym występuje skurcz słaby.

Częstoskurcz dwukierunkowy i czynność mechaniczna serca podczas tego zjawiska

Pomimo stymulacji RV naprzemiennie w dwóch różnych miejscach, przy niższych PR obserwowano podobną morfologię kolejnych zespołów QRS/T i powtarzalny przebieg skurczu LV oceniany w trybie M-Mode (rycina 38.).



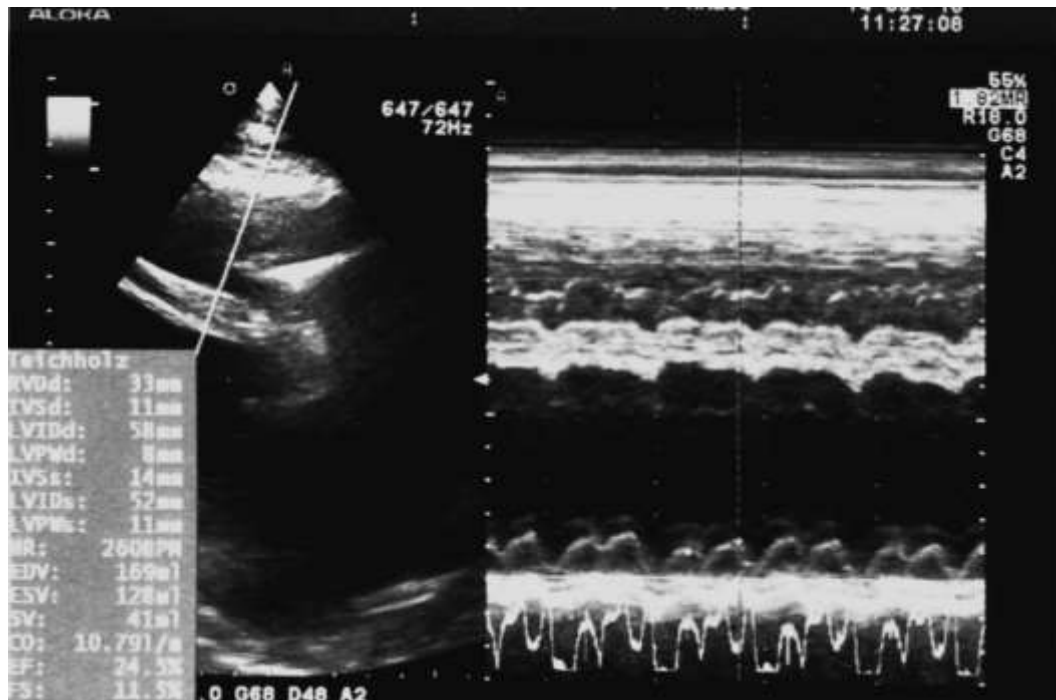
Rycina 38. Przy PR=160/min (sesja S6, faza 1) zespoły QRS/T mają zbliżone kształty, kolejne skurcze LV (oceniane w M-Mode mają podobną morfologię.



Rycina 39. Przy PR=180/min (sesja S6, faza 2) pojawiła się dodatkowa morfologia QRS/T występująca naprzemiennie z poprzednią. Na powyższej rycinie widać efektywny skurcz LV (lewej komory) od strony IVS (przegrody międzykomorowej) przy każdym kompleksie QRS, natomiast od strony LVPW (ściany tylnej) efektywny skurcz odnotowano tylko przy co drugim zespole QRS.

Już nieznaczne przyspieszenie PR (do ok. 180-200bpm) prowadziło do wyodrębnienia się dwóch różnych morfologii QRS/T, które występowały naprzemiennie (ryc. 39), odpowiadały im dwie różne morfologie przebiegu skurczu LV oceniane w M-Mode (skurcz A i B):

- skurcz A: kontrakcja LV następuje zarówno od strony IVS i LVPW
- skurcz B: przebiegający z wyłącznie jednej z wyżej wymienionych stron.

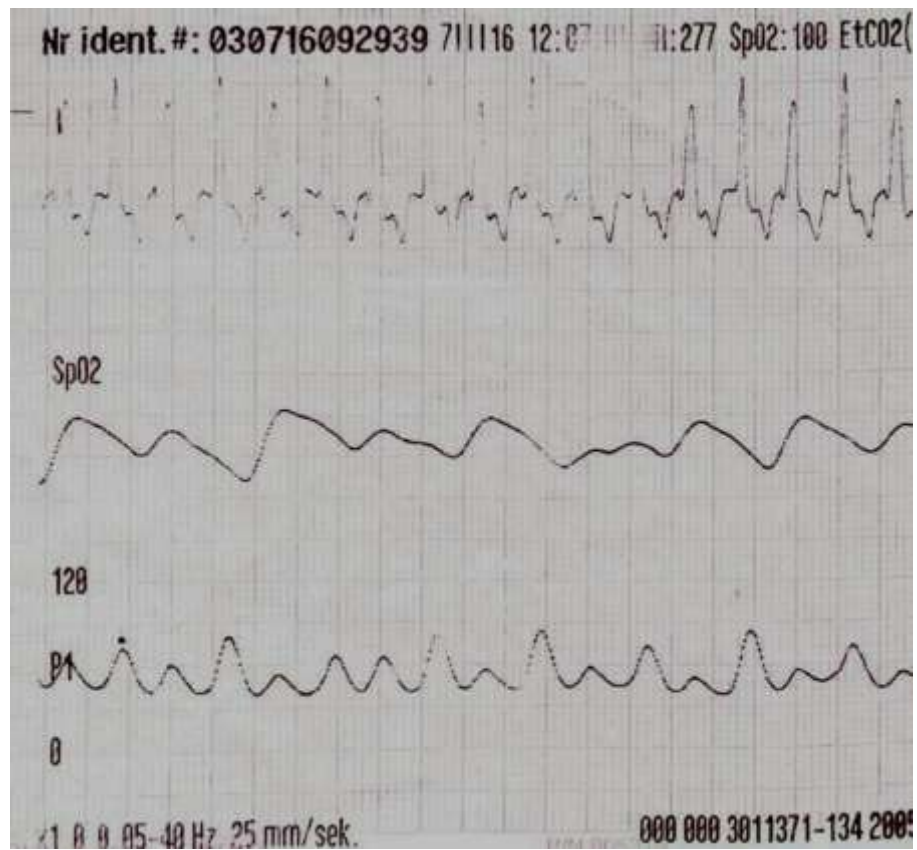


Rycina 40. Na powyższej rycinie (sesja 7, faza 5) dalej występuje naprzemiennosc zespołów QRS/T, lecz w przeciwieństwie do poprzedniej ryciny, synchronicznie z każdym zespołem QRS widać efektywny skurcz od strony LVPW (ściany tylnej lewej komory), natomiast od strony IVS (przegrody międzykomorowej) efektywny skurcz występuje dopiero przy co drugim zespole QRS/T.

Co ciekawe, pomiędzy sesjami doświadczalnymi zaobserwowano różnicę: w jednych skurcz B przebiegał wyłącznie od strony IVS, w innych wyłącznie od LVPW.

Naprzemiennosc (alternans) pulsu i EKG

Sporadycznie występowały zjawiska alternansu pulsu i zespołów QRS/T. Choć oba zjawiska mogą zachodzić niezależnie od siebie, na wydruku z ryciny 41. Udało się zaobserwować ich współwystępowanie.



Rycina 41. Zespoły QRS/T mają podobną morfologię, lecz naprzemiennie różną amplitudę (alternans EKG). Fala ciśnienia tętniczego mierzonego w sposób inwazyjny wykazuje naprzemiennność (alternans pulsu).

Dyskusja

Dla przejrzystości i łatwości przekazu autor postanowił poprowadzić dyskusję na zasadzie postawionego pytania i rozprawienia się z nim przy pomocy uzyskanych wyników, jak i informacji pozyskanych z przeglądu literatury. Celem pracy była kompleksowa charakterystyka wytworzonego modelu, poszczególne grupy parametrów (echokardiograficzne, hemodynamiczne, metaboliczne itd.) pozostają w ścisłym związku ze sobą, ich odrębne omawianie bez wzajemnego kontekstu wydaje się bezcelowe.

Jak należy interpretować protokół doświadczalny i podział na grupy?

Opisane doświadczenie jest połączeniem dwóch nakładających się na siebie modeli niewydolności serca wywołanych przy pomocy RVP. Same sesje doświadczalne S1-S10 z RVP o wysokiej i wrastającej częstotliwości (nawet do 260/min) symulują ostrą niewydolność serca / wstrząs kardiogeny rozwijaną na podłożu tachyarytmii komorowej. Sposób w jaki całe doświadczenie jest zaprojektowane pozwala na wyodrębnienie dwóch grup (A i B), w każdej z nich RVP pojawia się w innym kontekście klinicznym.

Sesje doświadczalne poprzedzające przewlekłą kilkutygodniową stymulację serca, czyli S1-S6 (lub inaczej, grupa doświadczalna A) można interpretować w kontekście pojawiania się utrwalonego częstoskurczu komorowego w zdrowym sercu przez 30-70 min, w zależności od sesji doświadczalnej.

Ciągła RVP pomiędzy sesjami, począwszy od końca S6, miała na celu wytworzenie RVP-CHF. Stąd wyniki sesji S7-S10 połączono w grupę B, gdyż oczekiwano, że wyjściowy status układu krążenia (a przede wszystkim samej funkcji serca) w momencie rozpoczynania sesji doświadczalnej jest już patologicznie zmieniony. W zamyśle autora, sesje grupy B symulują pojawiania się utrwalonego częstoskurczu komorowego w sercu przewlekle niewydolnym.

Czy interwencja doświadczalna była wystarczająco silna, aby wytworzyć wstrząs kardiogeny, zwłaszcza w przypadku serca uprzednio zdrowego (grupa A)?

Wstrząs kardiogeny definiowany jest jako stan kliniczny, w którym na skutek zaburzeń funkcji i/lub struktury serca dochodzi do utrzymującej się hipoperfuzji i hipoksji tkankowej. Rozpoznanie opiera się o kryteria hemodynamiczne (CO, ciśnienie tętnicze, ciśnienie zaklinowania w tętnicy płucnej, PCPW) i wykładniki metaboliczne/ funkcyjne – mleczanowa kwasica metaboliczna, oliguria lub bardziej subiektywnie – zimne kończyny¹⁹⁰.

W przypadku kryteriów rozpoznania u ludzi autorzy wyżej cytowanego artykułu określają wartości graniczne na poziomie:

- SYS<90mmHg lub konieczność stosowania leczenia podnoszącego SYS powyżej 90mmHg,
- diureza <30ml/h lub zimne kończyny,
- CI < 2,2l/min/m²,
- PCPW > 15mmHg.

W doświadczeniach nad wstrząsem kardiogenym wywoływanym u świń nie stosowano jednorodnych kryteriów rozpoznania. Szereg prac powoływał się wyłącznie na średnie ciśnienie tętnicze (MAP), choć tu stosowano też dość szeroki zakres wartości krytycznych (MAP poniżej 60 lub 80 mmHg) lub na rzut serca CO (nie CI) i frakcje wyrzutową (CO < 3,5l/min, LVEF <30%)¹⁹¹⁻¹⁹³. Wyniki pomiarów CO dokonywane w opisywanej obecnie pracy podlegały istotnym zaburzeniom, ze względu zastosowanie metody nieinwazyjnej i wystąpienia niespodziewanych zjawisk elektro-mechanicznych, problematykę tę omówiono szczegółowo poniżej.

Średnia i odchylenie standardowe MAP z etapów E (czyli podczas RVP ze wzrastającymi częstotliwościami) w grupie A wynosiła 73±11 mmHg, a w grupie B 49±7mmHg, a różnica między nimi była istotna, p=0,005. Średnia MAP przy stymulacji z maksymalną PR (PR_{max}) wynosiła w grupie A 65±14 mmHg, a w grupie B 43±13 mmHg, p=0,043 (Tabela 6.). Średnia i odchylenie standardowe EF z etapów E (czyli podczas RVP ze wzrastającymi częstotliwościami) w grupie A wynosiła 43±21% , a w grupie B 20±6 % , a różnica między nimi była istotna, p<0,001. Analiza przebiegu zmienności EF od PR (Rycina 16.) wykazuje, że:

- EF w grupie B jest przez cały czas trwania RVP poniżej 30%,
- EF w grupie A spada poniżej 30% przy PR > 210-230/min, osiągając przy PR_{max} skrajnie niskie wartości.

U pacjentów krytycznie chorych z hipoperfuzją narządową dochodzi o spadku pH organizmu, a niższe pH wiąże się z gorszym rokowaniem¹⁹⁴. Często stosowanym parametrem, który rzekomo dowodzi hipoperfuzji tkanek, jest stężenie mleczanu, które w omawianym doświadczeniu nie było oznaczane. Niemniej jego synteza wcale nie musi być wynikiem hipoperfuzji tkankowej, a jedynie współwystępuje w sepsie z hipoperfuzją. Prawdziwą przyczyną wzrostu jest zaburzenie metabolizmu mitochondriów, za którą odpowiadają endotoksyny uczestniczące w patofizjologii rozwoju wstrząsu septycznego¹⁹⁵. Nie istnieje prosta korelacja między pH, a stężeniem mleczanu. Zarówno w grupie B jak i A, pH po RVP było niższe niż przed, między grupami nie zaobserwowano znamienych różnic. Progresywne zakwaszenie jest kolejnym dowodem, choć pośrednim, na skuteczność wywoływania wstrząsu kardiogenego.

Reasumując – stworzony model jest zdolny do indukcji wstrząsu kardiogenego w obu grupach. Przy czym w grupie A obiektywne cechy hemodynamiczne i echokardiograficzne zaistniałego wstrząsu występowały dopiero przy najwyższych PR. W grupie B kryteria diagnostyczne wstrząsu były spełnione w trakcie całego etapu E. W przewlekłej niewydolności krążenia tolerancja symulowanego częstoskurczu komorowego maleje.

Czy zastosowane metody pomiarowe podstawowych parametrów hemodynamicznych, echokardiograficznych i saturacji krwi tlenem są adekwatne do sytuacji klinicznej? Z jakimi błędami w ich interpretacji należy się liczyć?

Najbardziej obiektywnymi mierzonymi parametrami tej kategorii było ciśnienie tętnicze (SYS, DIA i MAP). Pozostałe parametry obliczane były w sposób pośredni na podstawie pomiarów echokardiograficznych (CO i TPR) lub spektrofotometrycznych (SpO₂) obarczonych większym błędem.

Inwazyjny pomiar ciśnienia tętniczego jest złotym standardem i nie może być zastąpiony metodami nieinwazyjnymi, co zostało udowodnione nawet bezpośrednio w przypadku świń poddanych znieczuleniu ogólnemu¹⁹⁶. Zwłaszcza w przypadku hipotensji i szybkich/nier regularnych rytmów nieinwazyjne metody dostarczają nieprecyzyjnych (zawyżonych) wyników¹⁹⁷. Gdy podczas sesji doświadczalnych pojawiało się zjawisko rozkojarzenia elektryczno-mechanicznego lub inne przypadki szybko zmieniających się krzywych ciśnienia, uśredniano wartości kilku kolejnych krzywych i tylko wartość uśredniona podlegała analizie statystycznej. W dodatku, inwazyjny pomiar ciśnienia rzeczywiście mierzy MAP, podczas gdy metody nieinwazyjne jedynie je szacują. Uznaje się, że to MAP determinuje jakość perfuzji narządowej i stąd, to MAP, koreluje z prognozą u pacjentów krytycznie chorych i w celach terapeutycznych wytyczne odnoszą się do MAP^{197–199}. Należy jednak zaznaczyć, że perfuzja narządowa dzięki mechanizmom regulującym mikrokrążenie nie jest prostą funkcją MAP ani CO. Perfuzja tkankowa pozostaje na stałym, dopasowanym do aktualnych potrzeb metabolicznych, poziomie dla szerokiego zakresu MAP, dopiero przy skrajnych wartościach MAP mechanizmy regulacyjne zawodzą i perfuzja tkankowa wykracza poza optymalny zakres²⁰⁰.

Echokardiografia przezklatkowa używana była głównie w dwóch celach:

- 1) określenie wymiarów ścian i jam komór serca pomiędzy i w trakcie trwania sesji doświadczalnych oraz frakcji skracania,
- 2) określenie objętości (EDV, ESV, SV) lewej komory i LV-EF.

Dokonywano wyłącznie pomiarów jednowymiarowych (M-Mode) w projekcjach przymostkowych, które są standardowymi projekcjami w stosunku do parametrów z Pkt.1²⁰¹,

lecz w przypadku określania objętości i ich pochodnych (Pkt. 2) natrafiają na liczne ograniczenia i błędy. Uzyskanie dobrej jakości projekcji koniuszkowych u świń, potrzebnych do zastosowania lepszych w tym celu metod dwuwymiarowych (metoda Simpsona/sumowania objętości dysków), często jest utrudnione lub niemożliwe, zwłaszcza w przypadku świń o dużej masie^{202,203}.

Do zalet metod jednowymiarowych należy wysoka powtarzalność między- i wewnątrzobserwatorowa²⁰⁴, niemniej szacowanie na podstawie takich pomiarów objętości lewej komory jest obarczone błędem systematycznym, niezależnym od doświadczenia obserwatora. Metoda Teichholza wykorzystuje pewne założenia geometrii LV potrzebne do estymacji objętości końcowo-skurczowych i -rozkurczowych, jedynie na podstawie jej wymiaru wewnętrznego (LVID). Na podstawie różnicy szacowanych objętości oblicza się SV i LV-EF. Założenia geometryczne metody Teichholza mogą nie być spełnione zwłaszcza w przypadku odcinkowych zaburzeń kurczliwości, dylatacji LV, jej nieregularnej morfologii lub asynchronicznego przebiegu skurczu. Ostatnie zjawisko z pewnością występowało u badanego osobnika w trakcie RVP, ze względu na ominięcie układu His-Purkinje uwarunkowane stymulacją RV. W dodatku stymulowano z dwóch różnych lokalizacji w obrębie RV, a co za tym idzie, potencjalnie dwóch różnych wzorach propagacji fali depolaryzacji/skurczu miokardium^{204,205}. Również zjawisko dylatacji LV poza obszar normy (powyżej tabelarycznej średniej dla masy + 2 odchylenia standardowe²⁰³) zostało zaobserwowane.

Reasumując – istnieją przesłanki, że założenia Teichholza nie były spełnione. Na korzyść zastosowania omawianej metody w naszym doświadczeniu, przemawia jednak fakt, że wszystkich pomiarów dokonywano u tego samego osobnika, a jedynie w różnych momentach realizacji protokołu doświadczalnego, stąd można zakładać, że odstępstwa od założeń geometrii LV Teichholza były, przynajmniej przez jakiś czas (postęp dylatacji LV w miarę trwania doświadczenia), podobne. Wartości absolutne pomiarów mogą być więc zniekształcone, ale porównywanie ich wartości między sobą, może być już bardziej zasadne.

Prezentowana w wynikach frakcja wyrzutowa lewej komory była obliczana metodą Teichholza ze wzoru $LVEF_{Teichholz} = \frac{EDV-ESV}{EDV} = \frac{SV}{EDV}$, a co za tym idzie podlega podobnym ograniczeniom. Niemniej obliczano również FS, która nie opiera się o założenia Teichholza. FS koreluje w sposób istotny, z umiarkowanie silnym współczynnikiem korelacji r wynoszącym ok. 0,7, z LV-EF mierzoną dokładnymi metodami radioizotopowymi²⁰⁵.

Rzut serca (CO) obliczany był jako iloczyn SV i HR/PR (elektrokardiograficznie). Błąd szacowania SV omówiono powyżej. Najprawdopodobniej jednak głównym czynnikiem ograniczającym użyteczność szacunków CO, zwłaszcza przy najwyższych PR, jest zjawisko elektromechanicznego rozkojarzenia, częstoskurczu dwukierunkowego i naprzemiennej odpowiedzi mechanicznej komór. Choć echokardiograficzna metoda oceny CO przy wysokich HR, może osiągać zbliżoną dokładność do metod inwazyjnych²⁰⁶, zakłada, że zmierzona SV jest stała lub ulega co najwyżej niewielkim wahaniom w czasie. Tylko wtedy mnożenie SV przez HR jest uzasadnione, by oszacować realny CO. W opisywanym doświadczeniu, zwłaszcza przy wyższych PR, zaobserwowano naprzemienną zmienność kompleksów QRS i odpowiadającą im różną reakcję mechaniczną komór – po skurczu słabym (niska SV) następował silny (względnie wysoka SV), a po nim znowu słaby itd. (patrz ryciny 39 i 40). Precyzyjne zmierzenie wymiarów LVID (dla skurczu i rozkurczu) skurczu słabego było utrudnione, ze względu na atypowy wygląd takiego skurczu w M-Mode, mierzono więc zazwyczaj skurcze silne, o ponadprzeciętnej SV. Iloczyn tej SV z PR (częstotliwość wszystkich skurczów, a nie tylko skurczów silnych) mógł zawyżać wartości estymowanej CO.

Do wniosków wyciąganych z analizy CO należy podchodzić z ostrożnością. Standardową, optymalną techniką byłaby metoda termodylucji, która wymagałaby jednak ciągłego dostępu do żyły centralnej zwierzęcia, a to wiązałoby się z dużym ryzykiem zakażenia, biorąc pod uwagę czas trwania doświadczenia. Dostępne są też dokładniejsze metody nieinwazyjne, które jednak wymagają zaawansowanych i kosztownych urządzeń pomiarowych²⁰⁷.

TPR obliczany był jako iloraz MAP i CO. Dzielnik możemy uznać za parametr obiektywny, a o ograniczeniach w interpretacji pomiarów CO wspomniano wyżej. TPR podlega więc takim samym ograniczeniom co CO.

Pomiar saturacji metodą pulsoksymetryczną podlega licznym ograniczeniom, m.in., gdy stosowany jest przy słabej perfuzji obwodowej, typowej dla wstrząsu/sytuacji klinicznych z niskim CO²⁰⁸. W trakcie sesji doświadczalnych korzystano z bardziej obiektywnej metody pomiaru saturacji – gazometrii krwi tętniczej, choć rzadziej – tylko 2 razy - tuż przed rozpoczęciem i tuż po zakończeniu RVP, natomiast odczyt SpO₂ metodą pulsoksymetryczną następował równie często co odczyt ciśnienia tętniczego (5 razy na każdy etap).

Na czym polegały wyżej wspomniane zjawiska częstoskurczu dwukierunkowego, rozkojarzenia elektromechanicznego i alternansu (naprzemienności)? Czy nie dało się tego przewidzieć i dostosować metod pomiarowych? Wszak pomiary CO wydają się być kluczowe.

Zaczynając od końca, owszem CO to jeden z kluczowych parametrów hemodynamicznych, zwłaszcza, gdy badanie dotyczy wstrząsu kardiogenego, definiowanego przecież przez niedostateczny CO/CI. Niemniej okazuje się, że to właśnie ciśnienie tętnicze w trakcie utrwalonego częstoskurczu komorowego, a nie CO, przesądza o jego dobrej lub złej tolerancji klinicznej²⁰⁹. Pomiary MAP w prezentowanym badaniu były prowadzone według złotego standardu²¹⁰.

Na podstawie przeglądu literatury, można wprowadzić było stwierdzić, że chociaż część tych zjawisk natury elektro-mechanicznej może wystąpić, ale opisane w literaturze zjawiska miały charakter krótkotrwały (sekundy lub minuty) po czym spontanicznie ustępowały, wstępowały tylko w prawdziwych sVT (nie symulowanych przez RVP) u ludzi. W przeglądzie literatury nie znaleziono informacji o występowaniu tego zjawiska w sposób utrwalony w modelach zwierzęcych RVP.

Pod pojęciem częstoskurczu dwukierunkowego rozumie się zjawisko pierwotnie elektrofizjologiczne, polegające na tym, że naprzemiennie występują dwie różne morfologie QRS/T w trakcie VT. Nie jest to jednak bigeminia, podczas której wprowadzić występują naprzemiennie różne morfologie QRS/T, ale jedna z nich jest zespołem standardowym (zazwyczaj zapoczątkowanym pobudzeniem węzła przedsionkowo komorowego), a druga przedwczesnym pobudzeniem komorowym²¹¹. Jeżeli morfologii QRS/T w trakcie VT jest więcej, to mówimy o częstoskurczu wielokształtnym¹⁸⁷.

Jeżeli zorganizowanej elektrycznej aktywności nie towarzyszy czynność mechaniczna, to nazywamy to rozkojarzeniem elektromechanicznym, przy czym rozkojarzenie elektromechaniczne może też zachodzić okresowo lub przez długi okres, aż do zatrzymania krążenia, może towarzyszyć jednakowej morfologii QRS/T, też w rytmie zatokowym¹⁸⁹. Częstoskurczowi dwukierunkowemu nie musi towarzyszyć rozkojarzenie elektromechaniczne.

Pojęcie alternansu EKG odnosi także wyłącznie do zjawiska elektrofizjologicznego, naprzemienności ulega tylko amplituda QRS, nie jego szerokość lub kształt. Zazwyczaj występuje w chorobach osierdzia, przede wszystkim wycięku. Może także się pojawić podczas oddychania, gdy ruchy oddechowe zmieniają orientację serca względem elektrod²¹².

U ludzi w trakcie monomorficznego VT opisywano zjawisko rozkojarzenia elektromechanicznego, charakteryzowano je jako okresową całkowitą niezdolność do czynności skurczowej serca, jej czas trwania był jednak zazwyczaj krótki (do 1minuty), zjawisko to powiązane jest z gorszą tolerancją kliniczną VT i gorszym rokowaniem. Powrót do sprzężonej akcji elektro-mechanicznej serca przypisuje się dostatecznie zwiększonemu

napięciu współczulnemu umożliwiającemu wystarczająco silny skurcz LV i poprawę ciśnienia tętniczego²⁰⁹.

Choć proponuje się wiele różnych mechanizmów odpowiedzialnych za powstawanie częstoskurczu dwukierunkowego, w tym późne depolaryzacje następcze, dwa obwody re-entry, zaburzenia elektrolitowe, w tym przeładowanie Ca^{2+} przez glikozydy naporstnicy¹⁸⁷, to w opisywanym doświadczeniu najprawdopodobniej odpowiedzialne za to zjawisko była stymulacja z 2 różnych ognisk w prawej komorze. Znalaziono tylko jeszcze jeden model RVP, w którym korzystano z podobnego rozwiązania technicznego⁴⁵, nie opisano w nim ani zmienności morfologii zespołów QRS/T, ani rozkojarzenia elektryczno-mechanicznego.

Proponuje się następujące wyjaśnienie zaobserwowanego zjawiska:

-Obserwacja: Przy względnie niskiej PR morfologie QRS/T i morfologia skurczu oceniana w M-Mode są identyczne.

Wyjaśnienie: miejsca stymulacji w RV są względnie blisko siebie (oznaczymy je jako I i II), ale czas jaki upływa między stymulacją z lokalizacji I, a II, jest dłuższy niż okres refrakcji. Pobudzenia z obu lokalizacji są więc przewodzone w zbliżony sposób w całym miokardium.

-Obserwacja: wzrost PR powoduje, że obserwujemy 2 różne morfologie QRS/T i 2 różne morfologie skurczu oceniane w M-Mode – kontrakcja pełna (zarówno ze strony IVS jak i LVPW) występuje naprzemiennie z kontrakcją „połowiczą” – skurcz albo ze strony IVS, albo ze strony LVPW. Raz zapoczątkowana morfologia połowiczna nie zmienia się, chyba, że w międzyczasie PR zostanie zmniejszona, a następnie znowu zwiększona.

Wyjaśnienie: następuje stymulacja z lokalizacji I, w kierunku lokalizacji II rozchodzi się fala depolaryzacji, a następnie repolaryzacji miokardium. Lecz tym razem, po już względnie krótkim czasie następuje stymulacja z lokalizacji II, trafia ona na miokardium, które nie wyszło jeszcze całkowicie z okresu refrakcji, rozchodzenie kolejnej fali depolaryzacji będącej skutkiem stymulacji z lokalizacji II jest ograniczone, stąd inna przestrzennie propagacja fali depolaryzacji i inna morfologia skurczu (założmy, że kontrakcja tylko od strony IVS). Cykl ten może równie dobrze zacząć się z lokalizacji II, decyduje o nim przypadek, wtedy zaobserwujemy kontrakcję tylko ze strony LVPW.

Na rycinie 37. da się zauważyć, że rozkojarzenie elektryczno-mechaniczne synchronizowane jest z akcją oddechową, stąd potencjalne wyjaśnienie, że za zjawisko to odpowiada zmniejszony lub praktycznie nieobecny powrót żylny. Skutkuje to brakiem rzutu serca, pomimo zorganizowanej akcji elektrycznej. Dlaczego okres zmian elektryczno-mechanicznych jest 2-krotnością okresu cyklu oddechowego pozostaje niejasne.

Spośród zaobserwowanych w prezentowanym doświadczeniu zjawisk zjawisko alternansu ma najmniejsze znaczenie kliniczne, gdyż wiąże się jedynie z naprzemiennością amplitudy QRS/T w EKG, źródło jego występowania pozostaje jednak niejasne, ponieważ nie stwierdzono płynu w worku osierdziowym, a częstotliwość oddechów była znacząco niższa częstotliwość alternansu.

Czy powtarzane epizody RVP w odstępach 2-tygodniowych w grupie A, w świetle informacji z przeglądu literatury, mogły doprowadzić do rozwoju jakiejś formy niewydolności serca, co byłoby z punktu widzenia metodologii i interpretacji znaczenia grup A i B, niepożądane?

Nie odnaleziono wystarczających dowodów, że w uprzednio zdrowym sercu takie nawracające w okresach 14-dniowych, krótkie epizody szybkich częstoskurczów indukują utrzymujące się upośledzenie funkcji serca. Wiadomo natomiast, że w sercach, które uprzednio rozwinęły kardiomiopatię tachyartmiczną (TIC), a następnie pozornie ozdrowiały (normalizacja LV-EF), nawracające krótkie epizody częstoskurczów zarówno komorowych, jak i nadkomorowych prowadzą do szybkiego rozwoju niewydolności serca i wiążą się gorszym rokowaniem²¹³.

Czy analiza czynników humoralnych może wskazywać na to, że w grupie A rozwinęła się niewydolność serca?

Stężenie ET-1 wzrasta w przebiegu rozwoju dysfunkcji lewej komory^{214,215}, a jej stężenie koreluje z poziomem peptydów natriuretycznych²¹⁶ i ciężkością niewydolności serca²¹⁷. Nie przeprowadzono analizy statystycznej czy stężenia ET-1 na etapach 0, czyli w momentach, kiedy od ostatniego RVP minęło najwięcej czasu, a kolejny protokół doświadczalny jeszcze się nie rozpoczął, rosły z sesji na sesję kolejną. Przy zaledwie 6 punktach pomiarowych taka analiza nie miałaby większego sensu. Aczkolwiek na etapach 0 kolejnych doświadczeń w grupie A, zaobserwowano zbliżone do siebie i niskie stężenia ET-1 (średnia dla etapu 0 wynosi około 2.094 pg/ml, z bardzo małym odchyleniem standardowym 0,260 pg/ml).

Podobnie zachowuje się TNF- α w przebiegu niewydolności serca. Początkowo obserwacje powiązały bardzo wysokie stężenia TNF- α z kachektycznymi pacjentami w schyłkowych fazach CHF, stąd też pierwotna nazwa tej cytokiny – kacheksyna. Późniejsze badania wykazały, że jej wzrost występuje już w początkowych fazach CHF, co więcej, raczej bezsporny jest udział TNF- α w patofizjologii rozwoju CHF. Mimo to, podobnie jak w przypadku ET-1, blokada kaskad sygnalizacyjnych w obu układach nie odniosła sukcesów terapeutycznych¹⁶⁴. Stężenie TNF- α koreluje z klasami funkcjonalnymi objawów CHF (NYHA)²¹⁸, ciśnieniami napełniania LV i przeciążeniami objętościowego. Zmniejszenie

obciążenia hemodynamicznego wiąże się szybkim spadkiem stężeń TNF- α u ludzi i w eksperymentach na zwierzętach^{166,167}. Podobnie jak powyżej, tak i tu nie przeprowadzono analiz statystycznych, ale wizualna analiza stężeń TNF- α na etapach 0 kolejnych sesji ukazuje wyraźny trend ku coraz niższym wartościom.

Stężenia TNF- α wykazują ujemną korelację z numerem sesji doświadczalnej w grupie A ($\rho=-0,689$ $p<0,05$), tj. w kolejnych sesjach doświadczalnych S1-S6, stężenia TNF- α były średnio coraz niższe (patrz tabela 11.). Znaczenie tej obserwacji jest trudne do oceny.

Czy analiza literatury pozwala założyć, że w grupie B udało się wyindukować RVP-CHF?

Stymulacja z umiarkowanie szybką częstotliwością, lecz w sposób przewlekły w okresach 14-dniowych pomiędzy sesjami D7-D10 (grupa B) to dobrze przebadany i najczęściej stosowany model indukcji CHF u dużych zwierząt²¹⁹⁻²²¹. Łączny czas przewlekłej stymulacji (RVP z 160/min) do D10 wyniósł 6 tygodni. PR i czas trwania RVP celem indukcji RVP-CHF w analizowanej literaturze różniły się znacząco pomiędzy doświadczeniami, gatunkami zwierząt doświadczalnych i celem doświadczenia. W przypadku dużych zwierząt (psy, owce, świnie) najczęściej stosowano częstotliwości od ok 180/min do nawet 250/min przez 1-8 tygodni^{2,56,61,221} z różnymi modyfikacjami.

Niemniej udowodniono, że nawet przy stosunkowo niskich PR (zbliżonych do naszego protokołu) indukcja RVP-CHF jest możliwa, z tym, że CHF rozwija się wolniej, bardziej stopniowo i łagodniej, najprawdopodobniej ze względu na to, że mechanizmy kompensacyjne mają więcej czasu efektywnie rozwinąć swoje działanie^{222,223}.

W modelach RVP-CHF istnieje zależność między łącznym czasem trwania stymulacji a ciężkością wywołanych zmian. W pierwszej fazie pojawiają się wyłącznie zmiany strukturalne serca, a dopiero później pojawiają się objawy kliniczne CHF²²⁴⁻²²⁶. Metodyka większości cytowanych badań była tak skonstruowana, że najpierw dokonywano RVP przez z góry założony czas, a dopiero potem dokonywano analizy badanych parametrów. W opisywanym przypadku w miarę progresji RVP-CHF, w odstępach 14-dniowych miejsce miały kolejne sesje doświadczalne z analizą wszelkich parametrów. Należy się spodziewać, że poziom przewlekłej niewydolności serca zwierzęcia w końcowych sesjach doświadczalnych był bardziej zaawansowany niż w pierwszych. Udowodniono, że stymulacja prawej komory serca dwiema elektrodami umieszczonymi w różnych obszarach prawej komory serca, tak jak miało to też miejsce w naszym doświadczeniu, zwana stymulacją dyssynchroniczną, silniej upośledza parametry hemodynamiczne oraz prowadzi do mocniej wyrażonych zaburzeń morfologii serca, zarówno makroskopowych (rozstrzeń i przerost mięśnia sercowego) jak i mikroskopowych (włóknienie, zaburzenia cytoszkieletu kardiomiocytów i aktywności

metaloproteinaz)²¹⁹ w porównaniu do stymulacji wyłącznie jedną elektrodą, mimo identycznej PR. Podobnie, RVP z nierównymi odstępami VV (np. 120ms i 180 ms dla średniej PR 200/min) przyspiesza rozwój RVP-CHF⁴⁵, w przypadku opisywanego doświadczenia nie korzystano z tej metody, choć od strony technicznej byłoby to możliwe (opisywana modyfikacja systemu stymulacji serca, z elektrodą przedsionkową i komorową zaimplementowaną w RV, nierówne odstępy impulsów pobudzających RV można uzyskać odpowiednio modyfikując PR i czas opóźnienia przedsionkowo komorowego).

Czy uzyskane wyniki podstawowych pomiarów hemodynamicznych są zgodne z tym, czego należałoby się spodziewać po przeglądzie literatury?

Projekt doświadczenia zakłada, że dokonywana interwencja (RVP symulująca VT) bezpośrednio oddziałuje na funkcję serca, prowadząc do obniżenia CO, zaś pozostałe mierzone parametry (ciśnienie tętnicze, TPR, reakcje humoralne itd.) są wtórną reakcją organizmu na te zmiany. Należy jednak pamiętać, że samo serce może być źródłem substancji regulujących układ krążenia, co więcej sama stymulacja elektryczna miokardium, niezależnie od statusu hemodynamicznego, może być bodźcem do ich uwalniania⁸⁶.

Analiza estymowanego rzutu serca nie wykazała żadnych istotnych zależności, nie stwierdzono różnic ani w przebiegu kolejnych etapów sesji doświadczalnych (0→E→Z), ani pomiędzy grupami A i B, CO nie koreluje z PR. Zakładamy, że obserwacje te są błędne, zaś błąd wynika z echokardiograficznej oceny SV, ta z kolei była zaburzona przez występowanie zjawisk częstoskurczu dwukierunkowego i rozkojarzenia elektryczno-mechanicznego pracy serca. Z analizy literatury należałoby się spodziewać zjawiska trój- lub dwufazowego przebiegu zależności CO od PR. W sercu zdrowym (grupa A) CO w miarę wzrostu PR w powinien najpierw rosnąć, następnie się wypłaszczać, a w końcu maleć. W przypadku serca uprzednio niewydolnego (grupa B) należałoby się spodziewać osiągnięcia wartości maksymalnej, a następnie w miarę wzrostu PR, szybkiego załamania wartości CO, tym wcześniej im większy stopień niewydolności serca⁴⁸⁻⁵⁰. O tym, że w istocie osiągnano niskie wartości CO świadczą w sposób pośredni wypłaszczone/ zanikające krzywe inwazyjnego pomiaru ciśnienia tętniczego (rycina 39), gdyż powierzchnia pod krzywą koreluje z CO²²⁷, podobnie jak parametry biochemiczne świadczące o hipoperfuzji narządowej (pH po RVP było niższe niż przed²²⁸ i humoralne – silny wyrzut ET-1, najsilniejszego znanego wazopresora).

Wprawdzie z powodów metodologicznych nie można ocenić jednego z najważniejszych parametrów hemodynamicznych jakim jest objętość minutowa, jednak w opisywanym doświadczeniu przy użyciu złotego standardu mierzono parametr ściśle z nią związany jakim jest ciśnienie tętnicze²¹⁰. Jak już wspomniano, jest ono wprost proporcjonalne do iloczynu

CO i TPR. W dodatku jest parametrem, którego pomiar kliniczny jest prosty i stosowany na szeroką skalę, w przeciwieństwie do pomiarów CO.

Zaobserwowane zmiany ciśnienia tętniczego zostaną tu omówione na przykładzie MAP, głównej determinancie perfuzji narządowej. Pozostałe wartości ciśnień tętniczych (DIA, SYS) wykazywały identyczny kierunek zmian w badanych grupach, ich osobne omawianie jest więc bezcelowe. Należy pamiętać, że poza badanymi tu wybranymi mechanizmami humoralnymi, w adaptacji układu krążenia do warunków hemodynamicznych występujących w trakcie VT, ważną rolę odgrywa też, nie badana tutaj, regulacja neuronalna i neurohumoralne. Pod kątem sygnałów aferentnych w łuku odruchowym regulującym napięcie układu współczulnego, model niestabilności hemodynamicznej wywołany przy udziale RVP jest unikalny, ponieważ baroreceptory tętnicze zostają zahamowane przez spadek MAP, a baroreceptory sercowo-płucne pobudzone przez wzrost ciśnienia napełniania. Te pierwsze w reakcji na zmiany hemodynamiczne pobudzają układ współczulny, a drugie go hamują. Ostatecznie przeważa odpowiedź z baroreceptorów tętniczych, aktywacja układu współczulnego, skurcz naczyń obwodowych, wzrost oporu obwodowego i stymulacja adrenergiczna serca^{229,230}.

Jeszcze przed rozpoczęciem RVP (etap 0) MAP w grupie B, było niższe niż w grupie A, za to w trakcie RVP (etap E) spadek względem wartości wyjściowych zaobserwowano wyłącznie w grupie A. Pomimo tego, w trakcie RVP, MAP w grupie B pozostawało nadal istotnie niższe niż w grupie A (49 ± 7 vs. 73 ± 11 mmHg, $p=0,005$). Należy zauważyć, że w większości świńskich modeli wstrząsu kardiogenego / zatrzymania krążenia za krytyczną wartość MAP autorzy uznawali 60-80 mmHg^{192,193}. W grupie B na etapie 0 obserwowano $MAP=63 \pm 7$ mmHg, czyli już wyjściowo znajdowało się ono na krytycznej granicy dla utrzymania perfuzji narządowej. Przebieg MAP w trakcie etapu E pozostawał płaski (rycina 5.) dopiero przy maksymalnej PR zaobserwowano załamanie MAP, którego istotność potwierdziła też analiza statystyczna - 63 ± 7 mmHg na etapie 0 vs. 43 ± 13 mmHg przy $PR_{max}=260/\text{min}$, $p=0,035$.

Autor proponuje następujące wytłumaczenie obserwacji:

- układ krążenia w grupie A przed rozpoczęciem RVP dysponował wystarczającymi rezerwami, tj. (perfuzja znacznie większa od minimalnej, mechanizmy adaptacyjne nieuruchomione lub tylko w nieznacznym stopniu),
- w układzie krążenia w grupie B przed rozpoczęciem RVP – brak rezerw, mechanizmy adaptacyjne odgrywały już istotną rolę w utrzymaniu perfuzji na minimalnym wymaganym poziomie,

- w trakcie RVP – w grupie A – dochodziło do zużywania rezerw – perfuzja malała w kierunku minimalnej, nie przekraczała jej jednak, w miarę dalszego wzrostu PR i spadku MAP, mechanizmy kompensacyjne były coraz silniej aktywowane,
- w trakcie RVP – w grupie B – ze względu na brak rezerw w perfuzji kluczowych dla życia narządów – w miarę wzrostu PR, konieczna była silna aktywacja mechanizmów adaptacyjnych i wzrost oporu obwodowego dla utrzymania granicznych wartości MAP,
- przy maksymalnych wartościach stymulacji (PR_{max}) w obu grupach stopień wywołanych zaburzeń funkcji serca przewyższa możliwości kompensacyjne, pomimo maksymalnej aktywacji mechanizmów kontrregulujących, MAP spada poniżej wartości krytycznych. Mimo wszystko MAP w grupie B pozostaje niższe niż w grupie A.

Argumenty, które popierają powyższą hipotezę:

- jeszcze przed rozpoczęciem RVP (etap 0) stężenie ET-1, najsilniejszego wazopresora, w grupie B było istotnie wyższe niż w grupie A ($9,16 \pm 1,38$ vs. $2,09 \pm 0,24$ pg/ml $p < 0,001$) - mechanizmy humoralne jeszcze przed RVP w grupie B były już silnie aktywowane, aby utrzymać, i tak niskie już, ciśnienie tętnicze,
- w obu grupach zaobserwowano istotny wzrost ET-1 w trakcie trwania sesji doświadczalnych, czyli realizowania etapów 0→E→Z. Stwierdzono dodatnią, silną korelację między częstotliwością stymulacji (PR) a stężeniem ET-1, ($\rho = 0,769$, $p < 0,001$), a także ujemne korelacje: silną między ET-1 a MAP ($\rho = -0,720$, $p < 0,01$) oraz umiarkowaną między PR, a MAP ($\rho = -0,537$, $p < 0,001$) – w trakcie symulacji utrwalonego VT ze wzrastającymi częstotliwościami, wykładniki słabnącej perfuzji narządowej (zaobserwowany spadek MAP, malejące pH krwi tętniczej w obu grupach) nasilają się mimo wzmożonej aktywności mechanizmów humoralnych.

Argumenty przeciwko powyższej hipotezie:

- genetycznie zmodyfikowane myszy, których śródbłonek był niezdolny do produkcji ET-1, miały wprawdzie spoczynkowo niższe ciśnienia tętnicze niż grupa kontrolna, lecz reagowały prawidłowo na farmakologicznie indukowany spadek lub wzrost ciśnienia tętniczego. ET-1 nie jest więc, jedynym czynnikiem, który zapewnia homeostazę w warunkach wstrząsu kardiogenego. Inne mechanizmy regulacyjne takie jak : układ renina-angiotensyna-aldosteron, układ adrenergiczny, wazopresyna pełnią przynajmniej równie istotną rolę i ich skuteczność pozostaje niezależna od układu endotelin²³¹.
- jeżeli PR_{max} ostatecznie prowadzi do krytycznie niskich wartości MAP w obu grupach, to dlaczego maksymalne stężenia ET-1 w grupie A wciąż pozostawały niższe niż w grupie B?

W obu grupach osiągnięto niemal identyczną destabilizację układu krążenia, więc i mechanizmy adaptacyjne powinny być podobnie silnie wyrażone.

- liczba punktów pomiarowych, o które opiera się analiza zmian MAP w grupie B była względnie niska, przeprowadzono 4 sesje, każda z 6 etapami. Być może także w grupie B dochodzi do istotnych, lecz mniej gwałtownych zmian MAP, a ze względu na niskie liczebności, testy statystyczne nie są w stanie potwierdzić istotności tych zmian.

Jak interpretować zwiększone stężenia ET-1 w kontekście przeprowadzonych doświadczeń?

Znaczenie kliniczne zaobserwowanych zwiększonych poziomów ET-1 w warunkach wstrząsu kardiogennego pozostaje niejasne. Wzrost oporu obwodowego wynikający z egzogennej podaży ET-1 podczas resuscytacji krążeniowo oddechowej, przyczynia się do poprawy krążenia wieńcowego zarówno w modelu psim jak i świńskim, ale wpływa także silnie negatywnie na okres poresuscytacyjny, a przede wszystkim, rokowanie. Po raz kolejny podkreśla się rolę innych układów regulacyjnych aniżeli tylko ET-1 – poprawa perfuzji wieńcowej jest największa w przypadku synergistycznego działania ET-1 i adrenaliny^{6,7}. Coraz częściej postuluje się szkodliwy wpływ obwodowej ekscesywnej wazokonstrykcji wywoływanej przez ET-1, zwłaszcza w stanach, gdzie jej stężenie osiąga najwyższe wartości, czyli np. we wstrząsie septycznym. Selektywna blokada receptorów ETA lub ETB mając poprawić perfuzję obwodową stanowi badane obecnie podejście terapeutyczne⁸.

Poznano już wcześniej patofizjologiczny udział ET-1 i TNF- α w rozwoju CHF oraz ich korelację ze stopniem nasilenia zmian hemodynamicznych. Czy wyniki przeprowadzonego doświadczenia wniosły jakieś nowe aspekty lub były sprzeczne z dotychczasową wiedzą?

Większość wyników otrzymanych w zakresie badania mechanizmów humoralnych jest zgodna z informacjami z przeglądu literatury. Stężenia ET-1 w grupie B były wyższe niż w grupie A na każdym z etapów, w obu grupach RVP prowadziło do wzrostu stężeń ET-1, a analiza interakcji ukazała, że aplikowanie RVP w sercu przewlekle niewydolnym (B) prowadzi do wyższego przyrostu ET-1 niż w sercu zdrowym (A). Stężenia ET-1 wykazywały dodatnią korelację z PR i numerem sesji doświadczalnej (im późniejsza sesja doświadczalna tym wyższe średnie stężenie ET-1) – zarówno w przebiegu wszystkich 10 sesji, jak i w przebiegu pierwszych 6 sesji (grupa A). Ujemna korelacja z ciśnieniem tętniczym również jest zgodna z oczekiwaniami (tabela 10, 11. i rycina 23.).

Jedyną zależnością, której autor nie potrafi w pełni wyjaśnić w kontekście informacji pozyskanych z literatury, jest dodatnia korelacja między poziomem ET-1 a numerem sesji

w grupie A (sesje 1-6). Przy założeniu, że powtarzane, krótkie fazy RVP nie prowadziły do rozwoju CHF, każda kolejna sesja doświadczalna powinna uwalniać podobne ilości ET-1, a wyniki wskazują na to, że tendencyjnie w sesjach późniejszych stężenia ET-1 były wyższe. Wy tłumaczyć to zjawisko można w oparciu o protokół doświadczalny (tabela 4.) – sesje 1-6 miały coraz więcej faz i coraz wyższe PR_{max}. Sesje 1,2 miały tylko 3 fazy i zakończono je po RVP 200/min, a sesje 5-6 aż 6 faz i stymulowano do PR=240/min. Kolejnym proponowanym wytłumaczeniem jest zjawisko desensytyzacji, czyli odwrażliwienia. Zjawisko to zostało opisane w przypadku receptorów endoteliny i polega na zmniejszeniu ich ekspresji w tętnicach i żyłach w warunkach przewlekłej lub powtarzanej ekspozycji na wysokie stężenia ET-1. Przy mniejszej liczbie receptorów, osiągnięcie podobnego stopnia rozwoju mechanizmów adaptacyjnych wymaga większego wyrzutu endoteliny-1. Jest to wyłącznie hipoteza autora, pierwotnie zjawisko to dotyczy rozwoju nadciśnienia tętniczego¹²⁸.

Stężenie TNF- α w grupie B również było wyższe niż w grupie A (rycina 24.), lecz analizując poszczególne etapy, nie wykazano różnic między grupami na etapie 0. Na etapie E i Z różnice w stężeniach były już istotne i zgodnie z oczekiwaniami, wyższe stężenia TNF- α zmierzono w grupie B (tabela 10.). Na etapie 0 wynik testu znajduje się na granicy istotności i najprawdopodobniej przy wyższej liczbie sesji lub osobników granica ta zostałaby przekroczona. Uwagę zwraca większy rozrzut (odchylenie standardowe) poziomów TNF- α (tabela 10. i rycina 19.). TNF- α może zostać uwolniony przez komórki układu odpornościowego w odpowiedzi na każdy bodziec potencjalnie szkodliwy, nie tylko natury sercowo-naczyniowej. Najprawdopodobniej sama egzystencja zwierzęcia przez tygodnie trwania eksperymentu mogła doprowadzać do pozornie przypadkowych wyrzutów TNF- α w odpowiedzi na zmienne warunki środowiska (kontakt z patogenami, zmienne temperatury otoczenia, pokarm, reakcja na leki, stres itd.). W przypadku eksperymentu przeprowadzonego na większej liczbie osobników takie fluktuacje wzajemnie by się wyrównały.

Analiza korelacji wykazała również spodziewaną dodatnią korelację TNF- α z PR. Ujemna, względnie silna, korelacja między TNF- α a numerem sesji w grupie A jest natomiast zaskoczeniem (tabela 11.). Graficznie zależność tą uwidoczniono wyraźnie na rycinie 19 i 20. Wy tłumaczenie zjawiska w świetle posiadanej wiedzy jest kłopotliwe. Autor proponuje, że korelacja ta może mieć związek z przygotowaniem zwierzęcia do sesji doświadczalnej, udowodniono bowiem, że procedury anestezyjologiczne, w tym leki, mogą prowadzić do wyrzutu TNF- α ^{232,233}. Stąd na wczesnych etapach (krótki czas po indukcji znieczulenia) obserwowano najwyższe stężenia cytokiny, które potem, w miarę trwania kolejnych faz, spadały (taki przebieg widoczny jest wyraźnie na rycinie 19.). Takie wytłumaczenie wymaga

jednak założenia, że wobec powtarzanych indukcji znieczulenia rozwija się pewna tolerancja (przy szóstym znieczuleniu wyrzut nie jest już tak silny jak przy pierwszym), a samo RVP w grupie A nie jest silnym bodźcem stymulującym uwalnianie TNF- α .

Dlaczego dochodzi do wzrostu parametrów czerwonych w grupie B w trakcie trwania sesji doświadczalnych?

Analiza podstawowych parametrów morfologii krwi ukazała ciekawą zależność. Hematokryt, stężenie hemoglobiny i liczba erytrocytów wykazywały identyczny charakter zmian i będą zbiorczo nazywane parametrami czerwonych.

W przebiegu trwania sesji doświadczalnych zaobserwowano zjawisko wzrostu parametrów czerwonych, ale tylko w grupie B. Skutkowało to istotnie wyższymi parametrami czerwonych na etapie E i Z w grupie B vs. A przy braku różnic na etapie 0 (*tabela 12.*). Zjawisko to może wydawać się nieintuicyjne, gdyż w praktyce klinicznej CHF i anemia często ze sobą współistnieją.

Anemia często towarzyszy CHF, może wynikać zarówno z niedoborów substancji potrzebnych do erytropoezy (w tym przede wszystkim żelaza), przewlekłej aktywacji mediatorów stanu zapalnego, oporności na erytropoetynę lub jej niedostatecznego poziomu z powodu dysfunkcji nerek^{234,235}. Anemia, jak również sam niedobór żelaza, przyczyniają się pogorszenia objawów i rokowania CHF²³⁶.

Zmierzone parametry czerwonych nie różniły się między grupami na etapie 0, nie wykroczyły też poza zakres normy w żadnej z grup. Za wartości referencyjne przyjęto te, które stosowano w laboratorium dokonującym analiz, były one zgodne z wartościami podawanymi w publikacjach naukowych^{237,238}. Czas na rozwój anemii w mechanizmie niedoborowym lub zaburzonej regulacji erytropoezy w grupie B był zbyt krótki w kontekście czasu trwania eksperymentu. Jedynie anemia z rozcieńczenia w wyniku ekscesywnej objętości krążącej, miała dość czasu na rozwój, ale jej nie zaobserwowano, nie stanowi ona kryterium rozpoznania CHF⁴. Szybkość przyrastania parametrów czerwonych w grupie B była bardzo wysoka - średnio ok. 1,5 mmol hemoglobiny/l i ok. $1,5 \times 10^{12}$ krwinek czerwonych/l w przeciągu ok. 90 minut, które mijały pomiędzy pomiarem na etapie 0 i Z. Zaobserwowane przyrosty znacząco przekraczają zdolności szpiku kostnego do erytropoezy²³⁹ i wynikają najprawdopodobniej z przesunięcia składników osocza, a przede wszystkim wody, do przestrzeni pozanaczyniowej oraz wtórnego zagęszczenia elementów morfotycznych krwi. Zjawisko utraty osocza z objętości krwi krążącej zostało opisane w zwierzęcych modelach wstrząsu kardiogenego i występuje w jego najcięższych postaciach. Mechanizmy, które mogą być zaangażowane w jego rozwój to zaburzenia regulacji

napięcia żyłek i tętniczek w łożysku kapilarnym, ale przede wszystkim dysfunkcja śródbłonna naczyń, do której znacząco przyczyniają się, znów, czynniki prozapalne²⁴⁰⁻²⁴³. Co więcej, zwiększona przepuszczalność naczyń dotyczy także makromolekuł - albumin. Utrata albumin dodatkowo obniża ciśnienie onkotyczne krwi i przyspiesza ucieczkę wody do przestrzeni pozanaczyniowej, co może objawić się obrzękami²⁴³. Hipoalbuminemia rozwijana w trakcie wstrząsu kardiogenego związana jest z pogorszeniem rokowania²⁴⁴.

Nie ma wystarczających danych, aby stwierdzić, dlaczego zjawisko zagęszczania elementów morfotycznych krwi w trakcie trwania sesji doświadczalnych występowało tylko w grupie B. Autor przypuszcza, że zaobserwowane różnice wynikają z bardziej zaawansowanego wstrząsu w grupie B. Prawdopodobne jest też, że przewlekła stymulacja serca pomiędzy sesjami doprowadziła, wraz z rozwojem RVP-CHF, do zaburzeń funkcji śródbłonna naczyń.

Ograniczenia badania

Podstawowym ograniczeniem przedstawionej metodyki jest wykonywanie pomiarów wyłącznie na jednym osobniku, czyni ją to podatną na przypadkowe zmiany i ogranicza siłę testów statystycznych. Aby częściowo skompensować to ograniczenie, na tym samym osobniku przeprowadzono kilka sesji doświadczalnych. Podejście polegające na wykonywaniu dużej liczby serii doświadczalnych na niewielkiej liczbie, osobników (optymalnie jednym), jest zgodne z zasadą 3R – *replacement* (zastąp - zwierzę innym modelem), *refinement* (udoskonalaj – metody badawcze, aby były mało inwazyjne i możliwie bezbolesne), *reduction* (zredukuj - liczbę zwierząt, zwiększ liczbę serii)²⁴⁵ i aktualnymi wytycznymi rad naukowych dotyczącymi sposobu postępowania ze zwierzętami doświadczalnymi²⁴⁵.

Nawracające występowanie złożonych zjawisk sprzężenia elektromechanicznego znacząco ogranicza przydatność echokardiografii przezklatkowej, a sama anatomia i fizjonomia osobnika doświadczalnego już wcześniej ograniczała ją do stosowania wyłącznie projekcji przymostkowych i pomiarów objętości LV wyłącznie w M-Mode.

Regulacja układu krążenia podlega wielu niezależnym systemom homeostatycznym. Analiza wyłącznie ET-1 i TNF- α nie oddaje w pełni złożoności problemu.

W celu eliminacji ograniczeń, sugestią autora byłoby:

- Zwiększenie liczby osobników do przynajmniej 10.
- Stosowanie inwazyjnych metod pomiaru rzutu serca i objętości wyrzutowych, najlepiej przy wykorzystaniu metody termodylucji i PiCCO.

-Dodatkowe oznaczenie retikulocytów, stężenia albuminy, ośrodkowego ciśnienia żylnego oraz ewentualnie impedancji i PCWP (ciśnienia zaklinowania w tętnicy płucnej) w celu zbadania hipotezy o utracie objętości krążącego osocza i wtórnym zagęszczeniu elementów morfotycznych krwi.

-Przeprowadzenie systematycznej analizy zjawisk rozkojarzenia elektryczno-mechanicznego, zestawiając ich występowanie z parametrami PR i stopniem zaawansowania niewydolności serca, a także ewentualnie odległością między miejscami implantacji elektrod stymulujących w RV (prawa komora), z wykorzystaniem EKG dwunastoodprowadzeniowego i zestawienia morfologii QRS/T z inwazyjnymi aktualnymi pomiarami objętości wyrzutowej.

-Uzupełnienie oznaczanych czynników humoralnych o peptydy natriuretyczne, aminy katecholaminowe, parametry układu RAA (renina-angiotensyna-aldosteron) i wazopresyny. Celem określenia dokładnej roli biologicznej endoteliny pierwszej i czynnika martwicy nowotworów alfa w kontekście RVP, należałoby wykorzystać na przykład farmakologiczną blokadę tych osi.

Wnioski:

- Zaproponowany model okazał się być skuteczny w kontekście wywoływania nagłych i silnych zmian w układzie krążenia badanego zwierzęcia,
- Skuteczność ta została potwierdzona wieloma różnymi parametrami – hemodynamicznymi, echokardiograficznymi i metabolicznymi, zarówno w kontekście serca uprzednio zdrowego, jak i w przypadku wcześniej wytworzonej RVP-CHF,
- Zaburzenia homeostazy wywołane przez opisany model indukują silną odpowiedź humoralną ocenianą na przykładzie ET-1 i TNF- α ,
- Zmiany hemodynamiczne, echokardiograficzne jak i metaboliczne w przypadku RVP-CHF są silniej wyrażone niż w przypadku serca uprzednio zdrowego. Postuluje się, że przewlekła niewydolność serca pogarsza tolerancję utrwalonego częstoskurczu komorowego,
- nawet w kontekście RVP-CHF obecne, i względnie skuteczne, są mechanizmy adaptacyjne w odpowiedzi na symulowany częstoskurcz komorowy, pozwalają one (przynajmniej do pewnych granic) utrzymać perfuzję narządową na minimalnym poziomie,
- w przypadku RVP-CHF odpowiedź humoralna na wstrząs kardiogeny, mierzona stężeniem ET-1 jest silniejsza niż w przypadku serca uprzednio zdrowego,
- w przypadku stosowania opisanego modelu wstrząsu kardiogenego w RVP-CHF dochodzi do szybkiego wzrostu parametrów czerwonych, przekraczających zdolności produkcyjne szpiku kostnego, hipotetyczne wyjaśnienie tego zjawiska opiera się na utracie osocza z objętości krążącej i wtórnego zagęszczenia elementów morfotycznych krwi,
- powtarzalne zaburzenia w układzie krążenia wywołane przez symulowany utrwalony częstoskurcz komorowy w sercu uprzednio zdrowym, pomimo a) krótkiego czasu trwania, b) wystarczająco długiego czasu na rekonwalescencję i c) pełnej rekonwalescencji podstawowych parametrów hemodynamicznych, osłabiają odpowiedź humoralną mierzona stężeniem TNF- α , a wzmacniają tę, mierzona stężeniem ET-1, na kolejny utrwalony częstoskurcz komorowy.

Streszczenia rozprawy doktorskiej w języku polskim i angielskim

Tytuł: Humoralne mechanizmy w doświadczalnym modelu tachyarytmicznego wstrząsu kardiogenego

Wstęp: Zwierzęcy model przewlekłej niewydolności serca (chronic heart failure ,CHF) indukowany przewlekłą szybką stymulacją serca (rapid ventricular pacing induced CHF, RVP-CHF) rozwija się przy udziale podobnych mechanizmów humoralnych, co CHF u ludzi. Z tego powodu jest on szczególnie często stosowany do badań nad przewlekłymi zmianami w układzie krążenia. Szybka stymulacja komór serca była także używana do wywoływania gwałtownej destabilizacji układu krążenia (rapid ventricular pacing induced acute heart failure, RVP-AHF), lecz doświadczenia te skupiały się głównie na szczegółowo wyselekcjonowanych parametrach. Brakuje opisów zwierzęcych modeli wstrząsu kardiogenego opartych o RVP ukazujących w sposób kompleksowy jak zmieniają się podstawowe parametry hemodynamiczne, echokardiograficzne i biochemiczne w relacji do zachodzących mechanizmów humoralnych.

Cele: 1) wytworzenie i podstawowa charakterystyka hemodynamiczna, echokardiograficzna, biochemiczna modelu tachyarytmicznego wstrząsu kardiogenego świni rasy polskiej białej zwisłouchej, 2) zastosowanie w/w modelu do symulacji częstoskurczu komorowego przebiegającego ze wstrząsem kardiogenym w przypadku serca zdrowego (grupa A) jak i w trakcie rozwoju CHF (grupa B), 3) opis i porównanie zachodzących mechanizmów humoralnych w obu przypadkach na przykładzie endoteliny-1 (ET-1) i czynnika martwicy nowotworów alfa (TNF- α).

Materiał i metody: Żeńskiemu, 8-miesięcznemu osobnikowi świni rasy polskiej białej o masie 72kg wszczepiono stymulator serca w zmodyfikowanym układzie umożliwiającym stymulację z bardzo wysokimi częstościami. Przeprowadzono 10 sesji doświadczalnych w odstępach 2-tygodniowych, podczas każdej z nich zwiększano stopniowo częstość stymulacji w odstępach 10 minutowych. Przed (Etap 0), w trakcie (etap E) i po (etap Z) zbierano dane hemodynamiczne, echokardiograficzne, biochemiczne i oznaczano stężenia czynników humoralnych. Między sesjami 1-6 rozrusznik wyłączano, dane z tych sesji tworzą grupę A, między sesjami 6-10 stymulowano ciągle z częstością 160/min, dane z tych sesji tworzą grupę B.

Wyniki: Zarówno przed RVP (etap 0), jak i w jego trakcie (etap E) średnie ciśnienie tętnicze (MAP, mmHg) w grupie B było niższe niż w grupie A (B vs. A, etap E: 49 ± 7 vs. 73 ± 11 , $p=0,005$, B vs. A, etap 0: 63 ± 7 vs. 105 ± 14 , $p<0,001$). Uruchomienie RVP: w grupie A powodowało obniżenie MAP (105 ± 14 vs. 73 ± 11 $p<0,001$), w grupie B nie zaobserwowano spadku (63 ± 7 vs. 49 ± 7 , $p=0,149$). Ciśnienie tętnicze koreluje ujemnie z częstością stymulacji (pacing rate, PR) ($\rho = -0,537$, $p<0,001$). Grupę B charakteryzowała obniżona frakcja wyrzutowa względem grupy A (etap 0, przed RVP: $27,9 \pm 8,9\%$ vs. $59,9 \pm 4,6\%$ $p=0,003$). Objętość wyrzutowa (wszystkie następujące objętości podano w cm^3) ulegała zmniejszeniu pod wpływem RVP w obu grupach (RVP vs. Etap 0; grupa A: $44,1 \pm 34,9$ vs. $86,5 \pm 19$, $p=0,021$; grupa B $29,2 \pm 9,3$ vs. 45 ± 17 , $p=0,044$). Podczas RVP w grupie B względem grupy A obserwowano: niższą frakcję wyrzutową ($19,8 \pm 6,2\%$ vs. $43,2 \pm 21,1\%$, $p<0,001$), większe objętości końcoworozkurczowe (149 ± 23 vs. 89 ± 34 , $p<0,001$) i końcowoskurczowe ($119,8 \pm 21,8$ vs. $44,9 \pm 9,3$ $p<0,001$) przy braku różnicy w objętości wyrzutowej ($29,2 \pm 9,3$ vs. $44,1 \pm 34,9$, $p=0,124$). Stężenie ET-1 [pg/ml] w obu grupach rosło w miarę progresji etapów sesji doświadczalnych $0 \rightarrow E \rightarrow Z$ (grupa A: $2,09 \pm 0,24 \rightarrow 1,99 \pm 0,59 \rightarrow 3,14 \pm 0,92$, $p=0,012$; grupa B: $9,16 \pm 1,38 \rightarrow 10,91 \pm 1,06 \rightarrow 14,56 \pm 1,98$, $p<0,001$). Średnie stężenie ET-1 w grupie B było wyższe niż w grupie A ($p<0,001$). Analiza interakcji grupy (A czy B) i etapu ($0 \rightarrow E \rightarrow Z$) wykazała silniejszy przyrost stężeń ET-1 w grupie B niż w grupie A w trakcie sesji doświadczalnych (wartość testu $F=8,07$, $p=0,003$). Stężenie ET-1 koreluje w sposób dodatni z częstością stymulacji PR ($\rho = 0,759$ $p < 0,001$), zaś w sposób ujemny z ciśnieniem tętniczym

($\rho = -0,720$, $p < 0,01$ dla MAP). Najwyższe stężenie ET-1 i TNF- α w każdej sesji doświadczalnej występowało zawsze na etapie Z (po RVP), reguła ta nie dotyczy jedynie TNF- α w grupie A. Stężenie TNF- α [pg/ml] w grupie B było wyższe niż w grupie A na każdym etapie z wyjątkiem etapu 0. Dla całości wyników, bez podziału na grupy nie stwierdzono zmian w stężeniach TNF- α w miarę progresji etapów doświadczeń (0→E→Z), nie występuje interakcja grupa x etap. W grupie A: stężenia TNF- α korelują negatywnie z liczbą porządkową sesji doświadczalnej - w każdej kolejnej sesji stężenia TNF- α były średnio niższe (korelacja między TNF- α a liczbą porządkową doświadczenia $\rho = -0,689$, $p < 0,05$), zaś dla ET-1 korelacja ta ma wartość pozytywną ($\rho = 0,642$, $p < 0,05$). Korelacje takie nie zachodzą w grupie B. Stężenia ET-1 i TNF- α korelują ze sobą w grupie B, lecz nie A. W grupie B zaobserwowano wzrost parametrów układu czerwonerwinkowego w trakcie trwania kolejnych etapów (0→E→Z) – na przykładzie stężenia hemoglobiny [mmol/l] ($6,68 \pm 0,67$ vs. $7,4 \pm 0,14$ vs. $8,15 \pm 0,19$ $p = 0,008$), w grupie B występowały wyższe stężenia potasu, a niższe wapnia względem grupy A ([mmol/litr, na przykładzie etapów E, B vs. A: $K^+ : 4,53 \pm 0,26$ vs. $4,01 \pm 0,2$ $p < 0,001$; $Ca^{2+} : 1,31 \pm 0,08$ vs. $1,43 \pm 0,02$, $p = 0,001$). Nie zaobserwowano zmian w układzie krzepnięcia. Po RVP odnotowano niższe pH niż przed (grupa A: $7,35 \pm 0,02$ vs. $7,39 \pm 0,02$ $p = 0,017$, grupa B $7,45 \pm 0,02$ vs. $7,49 \pm 0,03$ $p = 0,046$), po RVP pH w grupie B było niższe niż w grupie A ($7,45 \pm 0,02$ vs. $7,50 \pm 0,01$, $p < 0,001$).

Wnioski:

- Zaproponowany model okazał się być skuteczny w kontekście wywoływania nagłych i silnych zmian w układzie krążenia badanego zwierzęcia,
- Skuteczność ta została potwierdzona wieloma różnymi parametrami – hemodynamicznymi, echokardiograficznymi i metabolicznymi, zarówno w kontekście serca uprzednio zdrowego, jak i w przypadku wcześniej wytworzonej RVP-CHF,
- Zaburzenia homeostazy wywołane przez opisany model indukują silną odpowiedź humoralną ocenianą na przykładzie ET-1 i TNF- α ,
- Zmiany hemodynamiczne, echokardiograficzne jak i metaboliczne w przypadku RVP-CHF są silniej wyrażone niż w przypadku serca uprzednio zdrowego. Postuluje się, że utrwalony częstoskurcz komorowy w kontekście klinicznym przewlekłej niewydolności serca jest gorzej tolerowany,
- nawet w kontekście RVP-CHF obecne, i względnie skuteczne, są mechanizmy adaptacyjne w odpowiedzi na symulowany częstoskurcz komorowy, pozwalają one (przynajmniej do pewnych granic) utrzymać perfuzję narządową na minimalnym poziomie,
- w przypadku RVP-CHF odpowiedź humoralna na wstrząs kardiogeny, mierzona stężeniem ET-1 jest silniejsza niż w przypadku serca uprzednio zdrowego,
- w przypadku stosowania opisanego modelu wstrząsu kardiogenego w RVP-CHF dochodzi do szybkiego wzrostu parametrów czerwonerwinkowych, przekraczających zdolności produkcyjne szpiku kostnego, hipotetyczne wyjaśnienie tego zjawiska opiera się na utracie osocza z objętości krążącej i wtórnego zagęszczenia elementów morfotycznych krwi,
- powtarzalne zaburzenia w układzie krążenia wywołane przez symulowany utrwalony częstoskurcz komorowy w sercu uprzednio zdrowym, pomimo a) krótkiego czasu trwania, b) wystarczająco długiego czasu na rekonwalescencję i c) pełnej rekonwalescencji podstawowych parametrów hemodynamicznych, osłabiają odpowiedź humoralną mierzoną stężeniem TNF- α , a wzmacniają tę, mierzoną stężeniem ET-1, na kolejny utrwalony częstoskurcz komorowy.

Title: Humoral mechanisms in an experimental model of cardiogenic shock due to induced tachyarrhythmia.

Introduction: Humoral factors involved in the development of chronic heart failure (CHF) in people and in animal models of chronic heart failure induced by rapid ventricular pacing (RVP-CHF) are similar. For that reason, these models are often used for research on CHF. Rapid ventricular pacing has also been used to induce acute and profound circulatory decompensation, but only in research restricted to highly specific parameters. Complex characteristics of basic hemodynamic, echocardiographic and biochemical parameters in comparison to humoral changes are lacking.

Aims: 1) to create and characterize in terms of basic hemodynamic, echocardiographic and biochemical parameters an swine model of tachycardia-induced cardiogenic shock, 2) to use the model mentioned above, to induce cardiogenic shock due to simulated sustained ventricular tachycardia in an healthy heart (group A), as well as in the development phase of CHF, 3) to characterize and compare humoral mechanisms activated in both groups, by example of endothelin-1 (ET-1) and tumor necrosis factor alpha (TNF- α).

Materials and methods: The experiment was conducted on a female, 8-month-old, 72 kg Polish Large White (Loop-eared) swine. A pacemaker system, specially modified to be able to achieve high pacing rates, was implanted. 10 experimental sessions (ES) in 14-days intervals were conducted. In each, the pacing rate (PR) was gradually increased in 10-minute intervals. Data on basic hemodynamic, echocardiographic, biochemical parameters, as well as the serum concentration of ET-1 and TNF- α were collected at following phases: phase 0 - before initiating RVP, phase E - during RVP, phase Z - after cessation of RVP. Between ES 1-6 the pacemaker system was inactive, between ES 7-10 the heart was paced at a constant rate of 160/min. For analysis, the collected data were divided into following groups: group A consists of data collected from ES 1-6, group B consists of data collected from ES 7-10.

Results: Mean arterial blood pressure (MAP, mmHg) in group B was lower than in group A during phase E (B vs. A 49 ± 7 vs. 73 ± 11 , $p=0,005$) and phase 0 (B vs. A 63 ± 7 vs. 105 ± 14 , $p<0,001$). In group A rapid ventricular pacing led to a decrease of MAP (105 ± 14 vs. 73 ± 11 $p<0,001$), in group B this drop wasn't significant (63 ± 7 vs. 49 ± 7 $p=0,149$). MAP negatively correlates with PR ($\rho=0,537$, $p<0,001$). Ejection fraction in group B was lower compared to A (phase 0, $27,9 \pm 8,9\%$ vs. $59,9 \pm 4,6\%$ $p=0,003$). Stroke volume (all following volumes expressed in cm^3) decreased during RVP in both groups (RVP vs. phase 0; A: $44,1 \pm 34,9$ vs. $86,5 \pm 19$, $p=0,021$; B: $29,2 \pm 9,3$ vs. 45 ± 17 , $p=0,044$), but the difference between them wasn't significant (phase E, B vs. A $29,2 \pm 9,3$ vs. $44,1 \pm 34,9$, $p=0,124$). During RVP group B in comparison to group A was characterized by a lower ejection fraction ($19,8 \pm 6,2\%$ vs. $43,2 \pm 21,1\%$, $p<0,001$), greater end-diastolic (149 ± 23 vs. 89 ± 34 , $p<0,001$) and end-systolic volumes ($119,8 \pm 21,8$ vs. $44,9 \pm 9,3$, $p<0,001$). ET-1 [pg/ml] concentrations constantly increased during progression in phases 0→E→Z (group A: $2,09 \pm 0,24$ → $1,99 \pm 0,59$ → $3,14 \pm 0,92$, $p=0,012$; group B: $9,16 \pm 1,38$ → $10,91 \pm 1,06$ → $14,56 \pm 1,98$, $p<0,001$). Interaction analysis: *group* (A or B) x *phase* (0→E→Z) revealed a stronger increase of ET-1 concentrations during phase progression (0→E→Z) in group B than A (test F-value=8,07, $p=0,003$). ET-1 concentrations correlate positively with PR ($\rho=0,759$, $p < 0,001$), but negatively with MAP ($\rho = -0,720$, $p < 0,01$). ET-1 and TNF- α achieved its peak concentration for every single ES in phase Z, this rule doesn't apply to TNF- α in group A. TNF- α concentrations [pg/ml] in group B were higher than in group A during every phase except phase 0. For the whole data (ES 1-10, without group analysis) TNF- α concentration didn't increase during phase progression (0→E→Z), there is no significant *group x phase* interaction for TNF- α . For group A only: in later conducted ES, TNF- α concentrations were lower (negative correlation between the ordinal number of ES and TNF- α , $\rho = -0,689$, $p<0,05$), but ET-1 concentrations were higher (positive

correlation $\rho = 0,642$, $p < 0,05$). There is a positive correlation between ET-1 and TNF- α concentrations, but only in group B. Hemoglobin concentration [mmol/l] did constantly rise during phase progression (0→E→Z) only in group B (6,68±0,67 vs. 7,4±0,14 vs. 8,15±0,19 $p=0,008$). No changes in basic coagulation parameters were observed. Electrolytes- in group B vs. A the concentration [mmol/l] of: potassium was higher, calcium was lower (K^+ :4,53±0,26 vs. 4,01±0,2, $p<0,001$; Ca^{2+} : 1,31±0,08 vs. 1,43±0,02, $p=0,001$). After RVP-cessation (phase Z) pH in both groups was lower than before RVP (phase 0) (group A: 7,35±0,02 vs. 7,39±0,02 $p=0,017$, group B 7,45±0,02 vs. 7,49±0,03 $p=0,046$). At phase Z, pH in group B was lower compared to A (7,45±0,02 vs. 7,50±0,01, $p<0,001$).

Conclusions:

- the developed model has proven as sufficient to deteriorate the animal's circulatory system deeply,
- this was proven by a variety of different parameters in both groups – in the healthy heart, as well as in RVP-CHF,
- a significant humoral activation in response, to the induced disturbances has been proven by changes in serum concentration of TNF- α and ET-1,
- the simulation of sustained ventricular tachycardia (sVT) in RVP-CHF, leads to more profound disturbances in basic hemodynamic, echocardiographic and metabolic parameters. sVT tolerance in CHF seems to be impaired, compared to healthy hearts,
- even in settings of RVP-CHF, adaptive reactions to sVT are present and relatively effective, their aim is to maintain tissue perfusion,
- in settings of RVP-CHF the humoral response to cardiogenic shock, measured by the changes in ET-1 concentration, is more prominent, than in a healthy heart,
- in settings of RVP-CHF, there was a constant rise of red blood cell parameters seen, it is much more intensive, than bone marrow capabilities. We suggest loss of circulating serum volume to explain this phenomenon,
- Recurrent disturbances in the circulatory system caused by simulated sustained ventricular tachycardia in a previously healthy heart, despite a) a short duration, b) sufficient recovery time, and c) full recovery of basic hemodynamic parameters, weaken the humoral response measured by TNF- α concentration and enhance the response measured by ET-1 concentration to subsequent sustained ventricular tachycardia.

Spis Rycin

- Rycina 1 Zależność między objętością minutową serca, a częstością stymulacji.
- Rycina 2 Natychmiastowe efekty hemodynamiczne związane z włączeniem RVP.
- Rycina 3 Zależność pomiędzy skurczowym ciśnieniem tętniczym (SYS), a częstotliwością stymulacji (PR) – dla wszystkich sesji doświadczalnych i z podziałem na grupy.
- Rycina 5 Zależność pomiędzy częstotliwością stymulacji, a ciśnieniem tętniczym średnim.
- Rycina 6 Zależność pomiędzy częstotliwością stymulacji, a naczyniowym oporem obwodowym.
- Rycina 7 Zależność pomiędzy częstotliwością stymulacji, a objętością minutową serca.
- Rycina 8 Zależność między częstotliwością stymulacji, a wymiarem końcoworozkurczowym lewej komory.
- Rycina 9 Zależność między częstotliwością stymulacji, a objętością końcoworozkurczową lewej komory.
- Rycina 10 Wartości brzegowe LVIDd w grupach A i B oraz na etapach 0, E i Z.
- Rycina 11 Wartości brzegowe EVD w grupach A i B oraz na etapach 0, E i Z.
- Rycina 12 Zależność między PR, a wymiarem końcowoskurczowym lewej komory.
- Rycina 13 Zależność między PR, a objętością końcowoskurczową lewej komory.
- Rycina 14 Wartości brzegowe LVIDs i ESV w grupach A i B oraz wyniki testów.
- Rycina 15 Zależność między PR, a objętością wyrzutową lewej komory z podziałem na grupy.
- Rycina 16 Zależność między PR, a frakcją wyrzutową lewej komory dla wszystkich doświadczeń.
- Rycina 17 Zależność między PR, a frakcją skracania lewej komory – dla wszystkich doświadczeń i z podziałem na grupy.
- Rycina 18 Wartości brzegowe SV, EF i FS w grupach A i B oraz wyniki testów istotności.
- Rycina 19 Stężenia endoteliny-1 i czynnika martwicy nowotworów alfa w zależności od sesji doświadczalnej i fazy doświadczenia.
- Rycina 20 Stężenia ET-1 i TNF- α w fazie 0 kolejnych sesji doświadczalnych.
- Rycina 21 Stężenia ET-1 i TNF- α w fazie 1 i 2 kolejnych sesji doświadczalnych.
- Rycina 22 Stężenia ET-1 i TNF- α na etapie Z (po zaprzestaniu RVP) dla poszczególnych sesji doświadczalnych.

- Rycina 23 Wartości brzegowe stężenia ET-1 w grupach (A i B) i na etapach (0, E i Z) doświadczeń oraz interakcja grupa × etap i wyniki testów.
- Rycina 24 Średnie brzegowe TNF α w grupach, etapach oraz interakcja grupa × etap i wyniki testów istotności.
- Rycina 25 Rycina 25. Wykres rozrzutu stężeń ET-1 względem stężeń TNF- α i wartość współczynnika korelacji rang Spearmana.
- Rycina 26 Wartości brzegowe parametrów czerwonych (erytrocytów, hemoglobiny i hematokrytu) w grupach A i B, na etapach 0, E i Z doświadczenia oraz interakcje grupa × etap i wyniki testów.
- Rycina 27 Wartości brzegowe stężeń elektrolitów w grupach A i B oraz wyniki testów istotności na kolejnych etapach.
- Rycina 28 Wartości brzegowe czasu protrombinowego w grupach A i B i wynik testu.
- Rycina 29 Wartości brzegowe pH w grupach doświadczeń A i B oraz przed i po włączeniu stymulatora (etap 0 i Z) oraz wyniki testów istotności.
- Rycina 30 Wartości brzegowe nadmiaru zasad w grupach doświadczeń A i B oraz wynik testu istotności.
- Rycina 31 Wartości brzegowe HCO $_3^-$ w grupach doświadczeń A i B oraz wynik testu istotności.
- Rycina 32 Wartości brzegowe zasad buforujących BB (buffer base) w grupach doświadczeń.
A i B oraz przed i po włączeniu stymulatora (etap 0 i Z) i wyniki testów istotności.
- Rycina 33 Wartości brzegowe BE_{ecf} (nadmiaru zasad w płynie pozakomórkowym) w grupach doświadczeń A i B oraz przed i po włączeniu stymulatora (etap 0 i Z) oraz wyniki testów istotności.
- Rycina 34 Wartości brzegowe HCO $_3^-$ standaryzowanego w grupach doświadczeń A i B oraz przed i po włączeniu stymulatora (etap 0 i Z) i wyniki testów istotności.
- Rycina 35 Wartości brzegowe pH standaryzowanego w grupach doświadczeń A i B oraz przed i po włączeniu RVP (etap 0 i Z) oraz wyniki testów istotności.
- Rycina 36 Wartości brzegowe tHb (całkowitego stężenia hemoglobiny) oraz interakcje grupa × etap i wynik testu.
- Rycina 37 EKG, krzywa tętna i kapnografia z sesji doświadczalnej S6, fazy 5.
- Rycina 38 Echokardiografia (M-Mode) i EKG przy PR=160/min.

- Rycina 39 Echokardiografia (M-Mode) i EKG przy PR=180/min.
Rycina 40 Echokardiografia (M-Mode) i EKG przy PR=260/min.
Rycina 41 Alternans EKG i pulsu.

Spis Tabel

- Tabela 1 Rozmieszenie receptorów endoteliny w tkankach i ich aktywność biologiczna.
Tabela 2 Protokół doświadczalny z PR dla danej fazy i sesji.
Tabela 3 łączny czas stymulacji RVP 160/min w momencie rozpoczęcia danej sesji doświadczalnej.
Tabela 4 Protokół doświadczalny z zaznaczonym podziałem na grupy, fazy i etapy.
Tabela 5 Podstawowe statystyki opisowe (średnia \pm SD) parametrów hemodynamicznych na kolejnych etapach doświadczeń w grupach A i B oraz wyniki nieparametrycznych testów istotności.
Tabela 6 Zmiany ciśnienia tętniczego w obu grupach pomiędzy etapem zerowym a fazą z maksymalną wartością stymulacji.
Tabela 7 Średnia i odchylenie standardowe wymiarów i objętości końcoworozkurczowych na kolejnych etapach doświadczeń w grupach A i B oraz wyniki parametrycznych testów istotności.
Tabela 8 Średnia i odchylenie standardowe wymiarów i objętości końcowoskurczowych na kolejnych etapach doświadczeń w grupach A i B oraz wyniki parametrycznych testów istotności.
Tabela 9 Średnia i odchylenie standardowe objętości skurczowej, frakcji wyrzutowej i frakcji skracania na kolejnych etapach doświadczeń w grupach A i B oraz wyniki parametrycznych testów istotności.
Tabela 10 Podstawowe statystyki opisowe (średnia \pm SD) ET-1 i TNF- α na kolejnych etapach doświadczeń w grupach A i B oraz wyniki parametrycznych testów istotności.
Tabela 11 Analiza korelacji między stężeniami ET-1- endoteliny-1 i TNF- α – czynnika martwicy nowotworów alfa a wybranymi parametrami.
Tabela 12 Podstawowe statystyki opisowe (średnia \pm SD) parametrów morfologicznych na kolejnych etapach doświadczeń w grupach A i B oraz wyniki parametrycznych testów istotności.
Tabela 13 Podstawowe statystyki opisowe (średnia \pm SD) parametrów biochemicznych na kolejnych etapach doświadczeń w grupach A i B oraz wyniki parametrycznych testów istotności.

Tabela 14 Podstawowe statystyki opisowe (średnia \pm SD) parametrów układu krzepnięcia na kolejnych etapach doświadczeń w grupach A i B oraz wyniki parametrycznych testów istotności.

Tabela 15 Podstawowe statystyki opisowe (średnia \pm SD) parametrów gazometrii na etapie zerowym i końcowym doświadczeń w grupach A i B oraz wyniki parametrycznych testów istotności.

Bibliografia

1. Spannbauer, A. *et al.* Large Animal Models of Heart Failure With Reduced Ejection Fraction (HFrEF). *Front Cardiovasc Med* **6**, (2019).
2. Silva, K. A. S. & Emter, C. A. Large Animal Models of Heart Failure. *JACC Basic Transl Sci* **5**, 840–856 (2020).
3. Moe, G. Pacing-induced heart failure: a model to study the mechanism of disease progression and novel therapy in heart failure. *Cardiovasc Res* **42**, 591–599 (1999).
4. McDonagh, T. A. *et al.* 2021 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure. *Eur Heart J* **42**, 3599–3726 (2021).
5. Shah, A. P. *et al.* Endothelin-1 Attenuates the Hemodynamic Response to Exogenous Epinephrine in a Porcine Ischemic Ventricular Fibrillation Cardiac Arrest Model. *Journal of Interferon & Cytokine Research* **31**, 679–684 (2011).
6. DeBehnke, D. J., Spreng, D., Wickman, L. L. & Crowe, D. T. The Effects of Endothelin-1 on Coronary Perfusion Pressure during Cardiopulmonary Resuscitation in a Canine Model. *Academic Emergency Medicine* **3**, 137–141 (1996).
7. Hilwig, R. W., Berg, R. A., Kern, K. B. & Ewy, G. A. Endothelin-1 Vasoconstriction During Swine Cardiopulmonary Resuscitation Improves Coronary Perfusion Pressures but Worsens Postresuscitation Outcome. *Circulation* **101**, 2097–2102 (2000).
8. Magder, S. & Cernacek, P. Role of endothelins in septic, cardiogenic, and hemorrhagic shock. *Can J Physiol Pharmacol* **81**, 635–643 (2003).
9. LLUCH, S. *et al.* A Reproducible Model of Cardiogenic Shock in the Dog. *Circulation* **39**, (1969).
10. Markovitz, L. J. *et al.* Large animal model of left ventricular aneurysm. *Ann Thorac Surg* **48**, (1989).
11. Millner, R. W. J., Mann, J. M., Pearson, I. & Pepper, J. R. Experimental model of left ventricular failure. *Ann Thorac Surg* **52**, (1991).
12. Rienzo, M. *et al.* A total closed chest sheep model of cardiogenic shock by percutaneous intracoronary ethanol injection. *Sci Rep* **10**, (2020).
13. Mitsos, S., Katsanos, K., Dougeni, E., Koletsis, E. N. & Dougenis, D. A critical appraisal of open- and closed-chest models of experimental myocardial ischemia. *Lab Anim (NY)* **38**, (2009).

14. Mehl, M. L. *et al.* Evaluation of ameroid ring constrictors for treatment for single extrahepatic portosystemic shunts in dogs: 168 cases (1995–2001). *J Am Vet Med Assoc* **226**, 2020–2030 (2005).
15. Udesen, N. L. J. *et al.* Impact of concomitant vasoactive treatment and mechanical left ventricular unloading in a porcine model of profound cardiogenic shock. *Crit Care* **24**, (2020).
16. Misra, S. N., Stanley, E. L. & Kezdi, P. Hemodynamic determinants of cardiogenic shock. *J Surg Oncol* **2**, (1970).
17. Sakaguchi, G. *et al.* A pig model of chronic heart failure by intracoronary embolization with gelatin sponge. *Ann Thorac Surg* **75**, (2003).
18. Kwiatkowski, P., Sai-Sudhakar, C., Philips, A., Parthasarathy, S. & Sun, B. Development of a Novel Large Animal Model of Ischemic Heart Failure Using Autologous Platelet Aggregates. *Int J Artif Organs* **33**, (2010).
19. Herr, M. D., McInerney, J. J., Copenhaver, G. L. & Morris, D. L. Coronary artery embolization in closed-chest canines using flexible radiopaque plugs. *J Appl Physiol* **64**, (1988).
20. Dib, N. *et al.* A percutaneous swine model of myocardial infarction. *J Pharmacol Toxicol Methods* **53**, (2006).
21. Møller-Helgestad, O. K., Ravn, H. B. & Møller, J. E. Large Porcine Model of Profound Acute Ischemic Cardiogenic Shock. *Methods Mol Biol* **1816**, (2018).
22. Heusch, G., Schulz, R., Baumgart, D., Haude, M. & Erbel, R. Coronary microembolization. *Prog Cardiovasc Dis* **44**, (2001).
23. Inoue, H., Waller, B. F. & Zipes, D. P. Intracoronary ethyl alcohol or phenol injection ablates aconitine-induced ventricular tachycardia in dogs. *J Am Coll Cardiol* **10**, (1987).
24. Kumar, R., Hood, W. B., Joison, J., Norman, J. C. & Abelmann, W. H. Experimental myocardial infarction. *Journal of Clinical Investigation* **49**, (1970).
25. Cohen, M. v, Yang, X. M., Liu, Y., Snell, K. S. & Downey, J. M. A new animal model of controlled coronary artery occlusion in conscious rabbits. *Cardiovasc Res* **28**, (1994).
26. Debley, V. G. Miniature hydraulic occluder for zero blood flow determination. *J Appl Physiol* **31**, (1971).
27. Vatner, S. F. Correlation between acute reductions in myocardial blood flow and function in conscious dogs. *Circ Res* **47**, (1980).

28. Saku, K. *et al.* Left Ventricular Mechanical Unloading by Total Support of Impella in Myocardial Infarction Reduces Infarct Size, Preserves Left Ventricular Function, and Prevents Subsequent Heart Failure in Dogs. *Circ Heart Fail* **11**, (2018).
29. Arimura, T. *et al.* Intravenous electrical vagal nerve stimulation prior to coronary reperfusion in a canine ischemia-reperfusion model markedly reduces infarct size and prevents subsequent heart failure. *Int J Cardiol* **227**, 704–710 (2017).
30. Tanamati, C. *et al.* Cardiogenic shock: an experimental animal model. *Crit Care* **9**, P10 (2005).
31. Skoog, C. A. & Engebretsen, K. M. Are vasopressors useful in toxin-induced cardiogenic shock? *Clin Toxicol* **55**, 285–304 (2017).
32. Kerns, W., Schroeder‡, D., Williams‡, C., Tomaszewski, C. & Raymond, R. Insulin Improves Survival in a Canine Model of Acute β -Blocker Toxicity. *Ann Emerg Med* **29**, 748–757 (1997).
33. Love, J. N., Leasure, J. A., Mundt, D. J. & Janz, T. G. A Comparison of Amrinone and Glucagon Therapy for Cardiovascular Depression Associated with Propranolol Toxicity in a Canine Model. *J Toxicol Clin Toxicol* **30**, 399–412 (1992).
34. Toet, A. *et al.* Experimental study of the detrimental effect of dopamine/glucagon combination in d,l- propranolol intoxication. *Hum Exp Toxicol* **15**, 411–421 (1996).
35. Skoog, C. A. & Engebretsen, K. M. Are vasopressors useful in toxin-induced cardiogenic shock? *Clin Toxicol* **55**, 285–304 (2017).
36. Katzung, K. G. *et al.* A randomized controlled study comparing high-dose insulin to vasopressors or combination therapy in a porcine model of refractory propranolol-induced cardiogenic shock. *Clin Toxicol* **57**, 1073–1079 (2019).
37. Kline, J. A., Leonova, E. & Raymond, R. M. Beneficial myocardial metabolic effects of insulin during verapamil toxicity in the anesthetized canine. *Crit Care Med* **23**, 1251–1263 (1995).
38. Kline, J. A., Raymond, R. M., D. Leonova, E., Williams, T. C. & Watts, J. A. Insulin improves heart function and metabolism during non-ischemic cardiogenic shock in awake canines. *Cardiovasc Res* **34**, 289–298 (1997).
39. Stone, C. K., May, W. A. & Carroll, R. Treatment of Verapamil Overdose With Glucagon in Dogs. *Ann Emerg Med* **25**, 369–374 (1995).
40. Barry, J. D. *et al.* Vasopressin treatment of verapamil toxicity in the porcine model. *Journal of Medical Toxicology* **1**, 3–10 (2005).

41. Sztajnkrycer, M. D. Use of Vasopressin in a Canine Model of Severe Verapamil Poisoning: A Preliminary Descriptive Study. *Academic Emergency Medicine* **11**, 1253–1261 (2004).
42. Kline JA, Tomaszewski CA & Schroeder JD. Insulin is a superior antidote for cardiovascular toxicity induced by verapamil in the anesthetized canine. *J Pharmacol Exp Ther* 744–750 (1993).
43. Abarbanell, A. M. *et al.* Animal Models of Myocardial and Vascular Injury. *Journal of Surgical Research* **162**, 239–249 (2010).
44. Dibner-Dunlap, M. E. & Thames, M. D. A Simplified Technique for the Production of Heart Failure in the Dog by Rapid Ventricular Pacing. *Am J Med Sci* **300**, (1990).
45. Gong, X. *et al.* “Pacing Bigeminal”. *Int Heart J* **57**, (2016).
46. Dibner-Dunlap, M., Thames, M. ;, Hála, P., Mlček, M. & Ošťádal, P. Basic Physiological Studies on Cardiac Pacing with Special Reference to the Optimal Mode and Rate after Cardiac Surgery. The Thoracic and Cardiovascular Surgeon. *American Journal of Physiology-Legacy Content* **300**, 651–657 (1990).
47. Hála, P. *et al.* Tachycardia-Induced Cardiomyopathy As a Chronic Heart Failure Model in Swine. *Journal of Visualized Experiments* (2018) doi:10.3791/57030.
48. WESSALE, J. L., VOELZ, M. B. & GEDDES, L. A. Stroke Volume and the Three Phase Cardiac Output Rate Relationship with Ventricular Pacing. *Pacing and Clinical Electrophysiology* **13**, (1990).
49. Baller, D. *et al.* Basic Physiological Studies on Cardiac Pacing with Special Reference to the Optimal Mode and Rate after Cardiac Surgery. *Thorac Cardiovasc Surg* **29**, (1981).
50. WESSALE, J. L., GEDDES, L. A., FEARNOT, N. E., JANAS, W. & ANN GROTE, L. Cardiac Output Versus Pacing Rate at Rest and with Exercise in Dogs with AV Block. *Pacing and Clinical Electrophysiology* **11**, (1988).
51. Cowley, A. W. & Guyton, A. C. Heart rate as a determinant of cardiac output in dogs with arteriovenous fistula. *Am J Cardiol* **28**, (1971).
52. Sugimoto, T., Sagawa, K. & Guyton, A. Effect of tachycardia on cardiac output during normal and increased venous return. *American Journal of Physiology-Legacy Content* **211**, (1966).
53. Miller, D. E., Gleason, W. L., Whalen, R. E., Morris, J. J. & McIntosh, H. D. Effect of Ventricular Rate on the Cardiac Output in the Dog with Chronic Heart Block. *Circ Res* **10**, (1962).

54. ROSS, J. & BRAUNWALD, E. Studies on Starling's Law of the Heart. *Circulation* **30**, (1964).
55. BUCKLEY, N. M., OGDEN, E. & LINTON, D. S. The Effects of Work Load and Heart Rate on Filling of The Isolated Right Ventricle of The Dog Heart. *Circ Res* **3**, (1955).
56. Ogilvie, R. I. & Zborowska-Sluis, D. Vascular capacitance and cardiac output in pacing-induced canine models of acute and chronic heart failure. *Can J Physiol Pharmacol* **73**, (1995).
57. NAKANO, J. *et al.* Effect of ventricular tachycardia and arteriovenous fistula on catecholamines blood level. *Am J Physiol* **200**, (1961).
58. Saldien, V. *et al.* Rapid Ventricular Pacing for Flow Arrest During Cerebrovascular Surgery. *Operative Neurosurgery* **70**, ons270–ons275 (2012).
59. Okamura, A. *et al.* Rapid ventricular pacing can reduce heart motion and facilitate stent deployment to the optimal position during coronary artery stenting: initial experience. *EuroIntervention* **3**, 239–242 (2007).
60. O'Brien, D., Smith, W. & Henderson, R. Stabilisation of coronary stents using rapid right ventricular pacing. *EuroIntervention* **3**, 235–238 (2007).
61. Redfield, M. M. *et al.* Failure of atrial natriuretic factor to increase with volume expansion in acute and chronic congestive heart failure in the dog. *Circulation* **80**, (1989).
62. Holmer, S. R., Riegger, A. J. G., Notheis, W. F., Kromer, E. P. & Kochsiek, K. Hemodynamic changes and renal plasma flow in early heart failure: implications for renin, aldosterone, norepinephrine, atrial natriuretic peptide and prostacyclin. *Basic Res Cardiol* **82**, (1987).
63. Simmons, W. W., Moe, G. W., Grima, E. A., Howard, R. J. & Armstrong, P. W. Myocardial energetics and blood flow in acute rapid ventricular pacing. *Can J Physiol Pharmacol* **72**, (1994).
64. Gare, M. *et al.* Reactive oxygen species contribute to contractile dysfunction following rapid ventricular pacing in dogs. *Int J Cardiol* **83**, (2002).
65. Díez, J. L., Hernandiz, A., Cosín-Aguilar, J., Aguilar, A. & Portolés, M. Sum of effects of myocardial ischemia followed by electrically induced tachycardia on myocardial function. *Med Sci Monit Basic Res* **19**, (2013).
66. Wang, Y. G. *et al.* Brief rapid pacing depresses contractile function via Ca²⁺/PKC-dependent signaling in cat ventricular myocytes. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* **280**, (2001).

67. Ferdinandy, P., Das, D. K. & Tosaki, A. Pacing-induced Ventricular Fibrillation Leading to Oxygen Free Radical Formation in Aerobically Perfused Rat Hearts. *J Mol Cell Cardiol* **25**, (1993).
68. Suga, H. *et al.* Heart rate-independent energetics and systolic pressure-volume area in dog heart. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* **244**, (1983).
69. BOERTH, R. C., COVELL, J. W., POOL, P. E. & ROSS, J. Increased Myocardial Oxygen Consumption and Contractile State Associated with Increased Heart Rate in Dogs. *Circ Res* **24**, 725–734 (1969).
70. Baller, D., Wolpers, H. G., Zipfel, J., Hoeft, A. & Hellige, G. Unfavorable effects of ventricular pacing on myocardial energetics. *Basic Res Cardiol* **76**, (1981).
71. Maxwell, G. M., Castillo, C. A., White, D. H., Crumpton, C. W. & Rowe, G. G. Induced Tachycardia: Its Effect upon the Coronary Hemodynamics, Myocardial Metabolism and Cardiac Efficiency of the Intact Dog¹². *Journal of Clinical Investigation* **37**, (1958).
72. BADEER, H. S. & FEISAL, K. A. Effect of Atrial and Ventricular Tachycardia on Cardiac Oxygen Consumption. *Circ Res* **17**, (1965).
73. BALLER, D., WOLPERS, H., ZIPFEL, J., BRETSCHNEIDER, H. & HELLIGE, G. Comparison of the Effects of Right Atrial, Right Ventricular Apex and Atrioventricular Sequential Pacing on Myocardial Oxygen Consumption and Cardiac Efficiency: A Laboratory Investigation*. *Pacing and Clinical Electrophysiology* **11**, 394–403 (1988).
74. Sørensen, J. *et al.* Myocardial Efficiency. *JACC Cardiovasc Imaging* **13**, 1564–1576 (2020).
75. Baller, D., Bretschneider, H. J. & Hellige, G. Coronary Circulation, Myocardial Energetics and Pumping Efficiency under Cardiac Pacing. in *Cardiac Pacing* (Steinkopff, Heidelberg, 1983). doi:10.1007/978-3-642-72367-4_2.
76. Baller, D. *et al.* Increase of myocardial oxygen consumption due to active diastolic wall tension. *Basic Res Cardiol* **79**,.
77. Laurent, D., Bolene-Williams, C., Williams, F. L. & Katz, L. N. Effects of Heart Rate on Coronary Flow and Cardiac Oxygen Consumption. *American Journal of Physiology-Legacy Content* **185**, 355–364 (1956).
78. Honikman, R. *et al.* Using near-infrared spectroscopy myocardial oximetry to monitor myocardial oxygen balance in a swine model of cardiac surgery: a descriptive study. *J Clin Monit Comput* (2020) doi:10.1007/s10877-020-00610-y.

79. SCHOLZ, K. *et al.* Protective effect of the hemopump left ventricular assist device in experimental cardiogenic shock. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery* **6**, (1992).
80. Travill, C. M. *et al.* Haemodynamic and neurohumoral response in heart failure produced by rapid ventricular pacing. *Cardiovasc Res* **26**, (1992).
81. Grantham, J. A., Borgeson, D. D. & Burnett, J. C. BNP: pathophysiological and potential therapeutic roles in acute congestive heart failure. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* **272**, (1997).
82. Wambach, G. & Koch, J. BNP Plasma Levels During Acute Volume Expansion and Chronic Sodium Loading in Normal Men. *Clin Exp Hypertens* **17**, (1995).
83. Leskinen, H., Vuolteenaho, O., Leppäluoto, J. & Ruskoaho, H. Role of nitric oxide on cardiac hormone secretion: effect of NG-nitro-L-arginine methyl ester on atrial natriuretic peptide and brain natriuretic peptide release. *Endocrinology* **136**, (1995).
84. Tharaux, P.-L. *et al.* Plasma Atrial and Brain Natriuretic Peptides in Mitral Stenosis Treated by Valvulotomy. *Clin Sci* **87**, (1994).
85. Moe, G. W. *et al.* Response of atrial natriuretic factor to acute and chronic increases of atrial pressures in experimental heart failure in dogs. Role of changes in heart rate, atrial dimension, and cardiac tissue concentration. *Circulation* **83**, (1991).
86. Schiebinger, R. J. & Linden, J. Effect of atrial contraction frequency on atrial natriuretic peptide secretion. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* **251**, (1986).
87. Villarreal, D., Freeman, R. H., Davis, J. O., Verburg, K. M. & Vari, R. C. Atrial natriuretic factor secretion in dogs with experimental high-output heart failure. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* **252**, (1987).
88. Martin, F. L. *et al.* Distinct roles for renal particulate and soluble guanylyl cyclases in preserving renal function in experimental acute heart failure. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* **293**, (2007).
89. Hanada, S. *et al.* Effect of the technique for assisting renal blood circulation on ischemic kidney in acute cardiorenal syndrome. *Journal of Artificial Organs* **15**, (2012).
90. Villarreal, D., Freeman, R. H., Davis, J. O., Verburg, K. M. & Vari, R. C. Renal mechanisms for suppression of renin secretion by atrial natriuretic factor. *Hypertension* **8**, (1986).
91. Ogilvie, R. I. & Zborowska-Sluis, D. Captopril Attenuates Pacing-Induced Acute Heart Failure by Increasing Total Vascular Capacitance. *J Cardiovasc Pharmacol* **22**, (1993).

92. Yanagisawa, M. *et al.* A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* **332**, 411–415 (1988).
93. Wang, R. *et al.* Epigenetic inactivation of endothelin-2 and endothelin-3 in colon cancer. *Int J Cancer* **132**, 1004–1012 (2013).
94. Kohan, D. E., Rossi, N. F., Inscho, E. W. & Pollock, D. M. Regulation of Blood Pressure and Salt Homeostasis by Endothelin. *Physiol Rev* **91**, 1–77 (2011).
95. Takasaki, C., Tamiya, N., Bdolah, A., Wollberg, Z. & Kochva, E. Sarafotoxins S6: Several isotoxins from *Atractaspis engaddensis* (burrowing asp) venom that affect the heart. *Toxicon* **26**, 543–548 (1988).
96. Arinami, T. *et al.* Chromosomal assignments of the human endothelin family genes: the endothelin-1 gene (EDN1) to 6p23-p24, the endothelin-2 gene (EDN2) to 1p34, and the endothelin-3 gene (EDN3) to 20q13.2-q13.3. *Am J Hum Genet* **48**, 990–6 (1991).
97. Inoue, A. *et al.* The human proendothelin-1 gene. Complete nucleotide sequence and regulation of expression. *J Biol Chem* **264**, 14954–9 (1989).
98. Masaki, T., Kimura, S., Yanagisawa, M. & Goto, K. Molecular and cellular mechanism of endothelin regulation. Implications for vascular function. *Circulation* **84**, 1457–1468 (1991).
99. Blais, V. *et al.* Processing of proendothelin-1 by members of the subtilisin-like pro-protein convertase family. *FEBS Lett* **524**, 43–48 (2002).
100. D'Orléans-Juste, P., Plante, M., Honoré, J. C., Carrier, E. & Labonté, J. Synthesis and degradation of endothelin-1. *Can J Physiol Pharmacol* **81**, 503–510 (2003).
101. Xu, D. *et al.* ECE-1: A membrane-bound metalloprotease that catalyzes the proteolytic activation of big endothelin-1. *Cell* **78**, 473–485 (1994).
102. Emoto, N. & Yanagisawa, M. Endothelin-converting Enzyme-2 Is a Membrane-bound, Phosphoramidon-sensitive Metalloprotease with Acidic pH Optimum. *Journal of Biological Chemistry* **270**, 15262–15268 (1995).
103. Ikeda, S., Emoto, N., Alimsardjono, H., Yokoyama, M. & Matsuo, M. Molecular isolation and characterization of novel four subisoforms of ECE-2. *Biochem Biophys Res Commun* **293**, 421–426 (2002).
104. Hasegawa, H. *et al.* Purification of a novel endothelin-converting enzyme specific for big endothelin-3. *FEBS Lett* **428**, 304–308 (1998).
105. Levin, E. R. Endothelins. *New England Journal of Medicine* **333**, 356–363 (1995).

106. Yamashita, K., Discher, D. J., Hu, J., Bishopric, N. H. & Webster, K. A. Molecular Regulation of the Endothelin-1 Gene by Hypoxia. *Journal of Biological Chemistry* **276**, 12645–12653 (2001).
107. Magder, S., Javeshghani, D., Cernacek, P. & Giaid, A. REGIONAL DISTRIBUTION OF ENDOTHELIN-1 AND ENDOTHELIN CONVERTING ENZYME-1 IN PORCINE ENDOTOXEMIA. *Shock* **16**, 320–325 (2001).
108. Yoshizumi, M. *et al.* Hemodynamic shear stress stimulates endothelin production by cultured endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* **161**, 859–864 (1989).
109. Morita, T. *et al.* Role of Ca²⁺ and protein kinase C in shear stress-induced actin depolymerization and endothelin 1 gene expression. *Circ Res* **75**, 630–636 (1994).
110. Sumpio, B. E. & Widmann, M. D. Enhanced production of endothelium-derived contracting factor by endothelial cells subjected to pulsatile stretch. *Surgery* **108**, 277–81; discussion 281-2 (1990).
111. Tønnessen, T. *et al.* Increased In Vivo Expression and Production of Endothelin-1 by Porcine Cardiomyocytes Subjected to Ischemia. *Circ Res* **76**, 767–772 (1995).
112. Barton, M. Aging and endothelin: Determinants of disease. *Life Sci* **118**, 97–109 (2014).
113. Stow, L. R., Jacobs, M. E., Wingo, C. S. & Cain, B. D. Endothelin-1 gene regulation. *The FASEB Journal* **25**, 16–28 (2011).
114. von Brandenstein, M., Richter, C. & Fries, J. W. U. MicroRNAs: Small but amazing, and their association with endothelin. *Life Sci* **91**, 475–489 (2012).
115. Houde, M., Desbiens, L. & D'Orléans-Juste, P. Endothelin-1. in 143–175 (2016). doi:10.1016/bs.apha.2016.05.002.
116. Nelson, J., Bagnato, A., Battistini, B. & Nisen, P. The endothelin axis: emerging role in cancer. *Nat Rev Cancer* **3**, 110–116 (2003).
117. Lowenstein, C. J., Morrell, C. N. & Yamakuchi, M. Regulation of Weibel–Palade Body Exocytosis. *Trends Cardiovasc Med* **15**, 302–308 (2005).
118. Rondaij, M. G., Bierings, R., Kragt, A., van Mourik, J. A. & Voorberg, J. Dynamics and Plasticity of Weibel-Palade Bodies in Endothelial Cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **26**, 1002–1007 (2006).
119. Dhaun, N. & Webb, D. J. Endothelins in cardiovascular biology and therapeutics. *Nat Rev Cardiol* **16**, 491–502 (2019).
120. Davenport, A. P. *et al.* Endothelin. *Pharmacol Rev* **68**, 357–418 (2016).
121. Miyauchi, T. & Goto, K. Endothelins. in *Handbook of Biologically Active Peptides* 1402–1407 (Elsevier, 2013). doi:10.1016/B978-0-12-385095-9.00190-1.

122. Gregory, L. G., Jones, C. P., Mathie, S. A., Pegorier, S. & Lloyd, C. M. Endothelin-1 directs airway remodeling and hyper-reactivity in a murine asthma model. *Allergy* **68**, 1579–1588 (2013).
123. Ezhilarasan, D. Endothelin-1 in portal hypertension: The intricate role of hepatic stellate cells. *Exp Biol Med* **245**, 1504–1512 (2020).
124. Pontes, R. B. *et al.* Involvement of Endothelin Receptors in Peripheral Sensory Neuropathy Induced by Oxaliplatin in Mice. *Neurotox Res* **36**, 688–699 (2019).
125. Rosanò, L., Spinella, F. & Bagnato, A. Endothelin 1 in cancer: biological implications and therapeutic opportunities. *Nat Rev Cancer* **13**, 637–651 (2013).
126. Hall, S. M., Davie, N., Klein, N. & Haworth, S. G. Endothelin receptor expression in idiopathic pulmonary arterial hypertension: effect of bosentan and epoprostenol treatment. *Eur Respir J* **38**, 851–60 (2011).
127. Dhaun, N. & Webb, D. J. Endothelins in cardiovascular biology and therapeutics. *Nat Rev Cardiol* **16**, 491–502 (2019).
128. Thakali, K., Fink, G. D. & Watts, S. W. Arteries and Veins Desensitize Differently to Endothelin. *J Cardiovasc Pharmacol* **43**, 387–393 (2004).
129. Cocks, T. M., Faulkner, N. L., Sudhir, K. & Angus, J. Reactivity of endothelin-1 on human and canine large veins compared with large arteries in vitro. *Eur J Pharmacol* **171**, 17–24 (1989).
130. Valentin, J. P., Gardner, D. G., Ribstein, J., Mimran, A. & Humphreys, M. H. Extravascular transfer of fluids and proteins induced by endothelin in the binephrectomized rat. *Arch Mal Coeur Vaiss* **84**, 1159–62 (1991).
131. Victorino, G. P., Wisner, D. H. & Tucker, V. L. Direct Actions of Endothelin-1 on Single Vessel Hydraulic Permeability. *The Journal of Trauma: Injury, Infection, and Critical Care* **47**, 713 (1999).
132. Victorino, G. P., Wisner, D. H. & Tucker, V. L. Basal Release of Endothelin-1 and the Influence of the ETB Receptor on Single Vessel Hydraulic Permeability. *The Journal of Trauma: Injury, Infection, and Critical Care* **49**, 314–319 (2000).
133. Filep, J. G. *et al.* Enhancement by endothelin-1 of microvascular permeability via the activation of ETA receptors. *Br J Pharmacol* **109**, 880–886 (1993).
134. Dupuis, J. *et al.* Kinetics of endothelin-1 binding in the dog liver microcirculation in vivo. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* **277**, G905–G914 (1999).

135. Dupuis, J., Goresky, C. A. & Fournier, A. Pulmonary clearance of circulating endothelin-1 in dogs in vivo: exclusive role of ET_B receptors. *J Appl Physiol* **81**, 1510–1515 (1996).
136. Strachan, F. E. *et al.* Systemic Blockade of the Endothelin-B Receptor Increases Peripheral Vascular Resistance in Healthy Men. *Hypertension* **33**, 581–585 (1999).
137. Opgenorth, T. J. *et al.* Effects of Endothelin Receptor Antagonists on the Plasma Immunoreactive Endothelin-1 Level. *J Cardiovasc Pharmacol* **36**, S292–S296 (2000).
138. Schneider, M. P., Boesen, E. I. & Pollock, D. M. Contrasting Actions of Endothelin ET_A and ET_B Receptors in Cardiovascular Disease. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* **47**, 731–759 (2007).
139. Knowles, J., Loizidou, M. & Taylor, I. Endothelin-1 and Angiogenesis in Cancer. *Curr Vasc Pharmacol* **3**, 309–314 (2005).
140. Woods, M. *et al.* Cytokine and Lipopolysaccharide Stimulation of Endothelin-1 Release from Human Internal Mammary Artery and Saphenous Vein Smooth-Muscle Cells. *J Cardiovasc Pharmacol* **31**, S348–S350 (1998).
141. Merkus, D., Brzezinska, A. K., Zhang, C., Saito, S. & Chilian, W. M. Cardiac myocytes control release of endothelin-1 in coronary vasculature. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* **288**, H2088–H2092 (2005).
142. Preisig-Müller, R., y Schnitzler, M. M., Derst, C. & Daut, J. Separation of cardiomyocytes and coronary endothelial cells for cell-specific RT-PCR. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* **277**, H413–H416 (1999).
143. Thomas, P. B. *et al.* Exogenous effects and endogenous production of endothelin in cardiac myocytes: potential significance in heart failure. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* **271**, H2629–H2637 (1996).
144. Suzuki, T., Kumazaki, T. & Mitsui, Y. Endothelin-1 Is Produced and Secreted by Neonatal Rat Cardiac Myocytes in Vitro. *Biochem Biophys Res Commun* **191**, 823–830 (1993).
145. Yamazaki, T. *et al.* Endothelin-1 Is Involved in Mechanical Stress-induced Cardiomyocyte Hypertrophy. *Journal of Biological Chemistry* **271**, 3221–3228 (1996).
146. Sütsch, G. & Barton, M. Endothelin in heart failure. *Curr Hypertens Rep* **1**, 62–68 (1999).
147. Gaggin, H. K. *et al.* Systematic Evaluation of Endothelin 1 Measurement Relative to Traditional and Modern Biomarkers for Clinical Assessment and Prognosis in Patients With Chronic Systolic Heart Failure. *Am J Clin Pathol* **147**, 461–472 (2017).

148. Gottlieb, S. S. *et al.* Prognostic significance of active and modified forms of endothelin 1 in patients with heart failure with reduced ejection fraction. *Clin Biochem* **48**, 292–296 (2015).
149. Olivier, A. *et al.* Combined baseline and one-month changes in big endothelin-1 and brain natriuretic peptide plasma concentrations predict clinical outcomes in patients with left ventricular dysfunction after acute myocardial infarction: Insights from the Eplerenone Post-Acute Myocardial Infarction Heart Failure Efficacy and Survival Study (EPHESUS) study. *Int J Cardiol* **241**, 344–350 (2017).
150. Leary, P. J. *et al.* Endothelin-1, cardiac morphology, and heart failure: the MESA angiogenesis study. *The Journal of Heart and Lung Transplantation* **39**, 45–52 (2020).
151. Hathaway, C. K. *et al.* Endothelin-1 critically influences cardiac function via superoxide-MMP9 cascade. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **112**, 5141–5146 (2015).
152. Aggarwal, B. B., Gupta, S. C. & Kim, J. H. Historical perspectives on tumor necrosis factor and its superfamily: 25 years later, a golden journey. *Blood* **119**, 651–665 (2012).
153. Idriss, H. T. & Naismith, J. H. TNF alpha and the TNF receptor superfamily: structure-function relationship(s). *Microsc Res Tech* **50**, 184–95 (2000).
154. Coley, W. B. The treatment of malignant tumors by repeated inoculations of erysipelas. With a report of ten original cases. 1893. *Clin Orthop Relat Res* 3–11 (1991).
155. O'MALLEY, W. E., ACHINSTEIN, B. & SHEAR, M. J. Action of Bacterial Polysaccharide on Tumors. II. Damage of Sarcoma 37 by Serum of Mice Treated with *Serratia Marcescens* Polysaccharide, and Induced Tolerance. *Nutr Rev* **46**, 389–391 (2009).
156. Carswell, E. A. *et al.* An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **72**, 3666–3670 (1975).
157. Aggarwal, B. B., Henzel, W. J., Moffat, B., Kohr, W. J. & Harkins, R. N. Primary structure of human lymphotoxin derived from 1788 lymphoblastoid cell line. *J Biol Chem* **260**, 2334–44 (1985).
158. Aggarwal, B. B. *et al.* Human tumor necrosis factor. Production, purification, and characterization. *J Biol Chem* **260**, 2345–54 (1985).
159. Aggarwal, B. B., Moffat, B. & Harkins, R. N. Human lymphotoxin. Production by a lymphoblastoid cell line, purification, and initial characterization. *J Biol Chem* **259**, 686–91 (1984).

160. Feldmann, M. & Maini, R. N. Anti-TNF α Therapy of Rheumatoid Arthritis: What Have We Learned? *Annu Rev Immunol* **19**, 163–196 (2001).
161. McTiernan, C. F. & Feldman, A. M. The role of tumor necrosis factor alpha in the pathophysiology of congestive heart failure. *Curr Cardiol Rep* **2**, 189–197 (2000).
162. El Missiri, A., Alzurfi, A. & Keddeas, V. The Relationship between Tumor Necrosis Factor Alpha and Left Ventricular Diastolic Function. *J Cardiovasc Echogr* **30**, 62 (2020).
163. Kapadia, S. R. *et al.* Elevated circulating levels of serum tumor necrosis factor-alpha in patients with hemodynamically significant pressure and volume overload. *J Am Coll Cardiol* **36**, 208–212 (2000).
164. McTiernan, C. F. & Feldman, A. M. The role of tumor necrosis factor alpha in the pathophysiology of congestive heart failure. *Curr Cardiol Rep* **2**, 189–197 (2000).
165. Wagner, D. R. *et al.* Adenosine Inhibits Lipopolysaccharide-Induced Cardiac Expression of Tumor Necrosis Factor- α . *Circ Res* **82**, 47–56 (1998).
166. Kapadia, S. R. *et al.* Hemodynamic Regulation of Tumor Necrosis Factor- α Gene and Protein Expression in Adult Feline Myocardium. *Circ Res* **81**, 187–195 (1997).
167. Torre-Amione, G. *et al.* Decreased Expression of Tumor Necrosis Factor- α in Failing Human Myocardium After Mechanical Circulatory Support. *Circulation* **100**, 1189–1193 (1999).
168. Irwin, M. W. *et al.* Tissue Expression and Immunolocalization of Tumor Necrosis Factor- α in Postinfarction Dysfunctional Myocardium. *Circulation* **99**, 1492–1498 (1999).
169. Grosjean, S. A. *et al.* Inducible nitric oxide synthase and tumor necrosis factor in animal models of myocardial necrosis induced by coronary artery ligation or isoproterenol injection. *J Card Fail* **5**, 236–245 (1999).
170. Cicha, I. & Urschel, K. TNF- α in the cardiovascular system: from physiology to therapy. *Int J Interferon Cytokine Mediat Res* **9** (2015) doi:10.2147/IJICMR.S64894.
171. Pober, J. S. Activation and injury of endothelial cells by cytokines. *Pathol Biol (Paris)* **46**, 159–63 (1998).
172. Angelini, D. J. *et al.* TNF- α increases tyrosine phosphorylation of vascular endothelial cadherin and opens the paracellular pathway through fyn activation in human lung endothelia. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology* **291**, L1232–L1245 (2006).
173. Gao, X. *et al.* Tumor Necrosis Factor- α Induces Endothelial Dysfunction in Lepr^{db} Mice. *Circulation* **115**, 245–254 (2007).

174. Neumann, P., Gertzberg, N. & Johnson, A. TNF- α induces a decrease in eNOS promoter activity. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology* **286**, L452–L459 (2004).
175. Chandrasekharan, U. M. *et al.* Tumor necrosis factor α (TNF- α) receptor-II is required for TNF- α -induced leukocyte-endothelial interaction in vivo. *Blood* **109**, 1938–1944 (2007).
176. Urschel, K., Wörner, A., Daniel, W. G., Garlich, C. D. & Cicha, I. Role of shear stress patterns in the TNF- α -induced atherogenic protein expression and monocytic cell adhesion to endothelium. *Clin Hemorheol Microcirc* **46**, 203–210 (2010).
177. Partridge, J. *et al.* Laminar shear stress acts as a switch to regulate divergent functions of NF- κ B in endothelial cells. *The FASEB Journal* **21**, 3553–3561 (2007).
178. Harry, B. L. *et al.* Endothelial Cell PECAM-1 Promotes Atherosclerotic Lesions in Areas of Disturbed Flow in ApoE-Deficient Mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **28**, 2003–2008 (2008).
179. Rolski, F. & Błyszczuk, P. Complexity of TNF- α Signaling in Heart Disease. *J Clin Med* **9**, 3267 (2020).
180. Al-Lamki, R. S. *et al.* TNF Receptors Differentially Signal and Are Differentially Expressed and Regulated in the Human Heart. *American Journal of Transplantation* **9**, 2679–2696 (2009).
181. Keck, M. *et al.* Cardiac inflammatory CD11b/c cells exert a protective role in hypertrophied cardiomyocyte by promoting TNFR2- and Orai3- dependent signaling. *Sci Rep* **9**, 6047 (2019).
182. Defer, N., Azroyan, A., Pecker, F. & Pavoine, C. TNFR1 and TNFR2 Signaling Interplay in Cardiac Myocytes. *Journal of Biological Chemistry* **282**, 35564–35573 (2007).
183. Aker, S. *et al.* Serum but not myocardial TNF- α concentration is increased in pacing-induced heart failure in rabbits. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* **285**, R463–R469 (2003).
184. Zhou, L. *et al.* Cardioprotective Role of Myeloid-Derived Suppressor Cells in Heart Failure. *Circulation* **138**, 181–197 (2018).
185. Feldman, A. M. *et al.* The role of tumor necrosis factor in the pathophysiology of heart failure. *J Am Coll Cardiol* **35**, 537–544 (2000).
186. Cauwels, A. & Brouckaert, P. Survival of TNF toxicity: Dependence on caspases and NO. *Arch Biochem Biophys* **462**, 132–139 (2007).

187. Almarzuqi, A., Kimber, S., Quadros, K. & Senaratne, J. Bidirectional Ventricular Tachycardia: Challenges and Solutions. *Vasc Health Risk Manag* **18**, 397–406 (2022).
188. Goldmann, C. *et al.* Combination anesthesia with ketamine and pentobarbital: a long-term porcine model. *Research in Experimental Medicine* **199**, 35–50 (1999).
189. Oliver, T., Sadiq, U. & Grossman, S. Pulseless Electrical Activity. *StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK513349/> (2023).*
190. Kosaraju A, Pendela VS & Hai O. Cardiogenic Shock. *StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482255/> (2023).*
191. OSTADAL, P. *et al.* Novel Porcine Model of Acute Severe Cardiogenic Shock Developed by Upper-Body Hypoxia. *Physiol Res* 711–715 (2016) doi:10.33549/physiolres.933294.
192. Hicks, S. D. *et al.* Lipid Emulsion Combined with Epinephrine and Vasopressin Does Not Improve Survival in a Swine Model of Bupivacaine-induced Cardiac Arrest. *Anesthesiology* **111**, 138–146 (2009).
193. Betz, A. E., Menegazzi, J. J., Logue, E. S., Callaway, C. W. & Wang, H. E. A randomized comparison of manual, mechanical and high-impulse chest compression in a porcine model of prolonged ventricular fibrillation. *Resuscitation* **69**, 495–501 (2006).
194. Friedman, G., Berlot, G., Kahn, R. J. & Vincent, J.-L. Combined measurements of blood lactate concentrations and gastric intramucosal pH in patients with severe sepsis. *Crit Care Med* **23**, 1184–1193 (1995).
195. Curtis, S. E. & Cain, S. M. Regional and Systemic Oxygen Delivery/Uptake Relations and Lactate Flux in Hyperdynamic, Endotoxin-treated Dogs. *American Review of Respiratory Disease* **145**, 348–354 (1992).
196. Tuohy, P. P., Raisia, A. L. & Drynan, E. A. Agreement of invasive and non-invasive blood pressure measurements in anaesthetised pigs using the Surgivet V9203. *Res Vet Sci* **115**, 250–254 (2017).
197. Lehman, L. H., Saeed, M., Talmor, D., Mark, R. & Malhotra, A. Methods of Blood Pressure Measurement in the ICU*. *Crit Care Med* **41**, 34–40 (2013).
198. Pinsky, M. R. & Payen, D. Functional hemodynamic monitoring. *Crit Care* **9**, 566 (2005).

199. Sarkar, S., Singh, S. & Rout, A. Mean Arterial Pressure Goal in Critically Ill Patients: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *J Clin Med Res* **14**, 196–201 (2022).
200. Galley, H. F. & Webster, N. R. Acidosis and Tissue Hypoxia in the Critically Ill: How to Measure it and What Does it Mean. *Crit Rev Clin Lab Sci* **36**, 35–60 (1999).
201. LANG, R. *et al.* Recommendations for chamber quantification☆. *European Journal of Echocardiography* **7**, 79–108 (2006).
202. LANG, R. *et al.* Recommendations for chamber quantification☆. *European Journal of Echocardiography* **7**, 79–108 (2006).
203. Paslawska, U. *et al.* Normal electrocardiographic and echocardiographic (M-mode and two-dimensional) values in Polish Landrace pigs. *Acta Vet Scand* **56**, 54 (2014).
204. Wess, G., Mäurer, J., Simak, J. & Hartmann, K. Use of Simpson's Method of Disc to Detect Early Echocardiographic Changes in Doberman Pinschers with Dilated Cardiomyopathy. *J Vet Intern Med* **24**, 1069–1076 (2010).
205. Quinones, M. A. *et al.* A new, simplified and accurate method for determining ejection fraction with two-dimensional echocardiography. *Circulation* **64**, 744–753 (1981).
206. Christie, J. *et al.* Determination of stroke volume and cardiac output during exercise: comparison of two-dimensional and Doppler echocardiography, Fick oximetry, and thermodilution. *Circulation* **76**, 539–547 (1987).
207. Van Heerden, P. V., Baker, S., Lim, S. I., Weidman, C. & Bulsara, M. Clinical Evaluation of the Non-Invasive Cardiac Output (NICO) Monitor in the Intensive Care Unit. *Anaesth Intensive Care* **28**, 427–430 (2000).
208. Poorzargar, K. *et al.* Accuracy of pulse oximeters in measuring oxygen saturation in patients with poor peripheral perfusion: a systematic review. *J Clin Monit Comput* **36**, 961–973 (2022).
209. Delasnerie, H. *et al.* Hemodynamical consequences and tolerance of sustained ventricular tachycardia. *PLoS One* **18**, e0285802 (2023).
210. Pittman, J. A. L., Ping, J. S. & Mark, J. B. Arterial and Central Venous Pressure Monitoring. *Int Anesthesiol Clin* **42**, 13–30 (2004).
211. Sattar Y & Hashmi MF. Ventricular Premature Complexes. : *StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK547713/> (2024).*

212. Ingram D & Strecker-McGraw MK. Electrical Alternans. *StatPearls [Internet]*. StatPearls Publishing Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK534229/> (2024).
213. Nerheim, P., Birger-Botkin, S., Piracha, L. & Olshansky, B. Heart Failure and Sudden Death in Patients With Tachycardia-Induced Cardiomyopathy and Recurrent Tachycardia. *Circulation* **110**, 247–252 (2004).
214. Zolk, O. *et al.* Expression of Endothelin-1, Endothelin-Converting Enzyme, and Endothelin Receptors in Chronic Heart Failure. *Circulation* **99**, 2118–2123 (1999).
215. Zolk, O. Activation of the cardiac endothelin system in left ventricular hypertrophy before onset of heart failure in TG(mREN2)27 rats. *Cardiovasc Res* **53**, 363–371 (2002).
216. Qin, L., Liu, X. & Li, Y. Correlation of serum BNP and ET-1 levels with cardiac pump function and ventricular remodeling in patients with heart failure. *Cell Mol Biol* **66**, 125–131 (2020).
217. Pousset, F. *et al.* Prognostic value of plasma endothelin-1 in patients with chronic heart failure. *Eur Heart J* **18**, 254–258 (1997).
218. Torre-Amione, G. *et al.* Proinflammatory cytokine levels in patients with depressed left ventricular ejection fraction: A report from the studies of left ventricular dysfunction (SOLVD). *J Am Coll Cardiol* **27**, 1201–1206 (1996).
219. Möllmann, H. *et al.* Desynchronization: A Novel Model to Induce Heart Failure. *Thorac Cardiovasc Surg* **57**, 441–448 (2009).
220. Gralinski, M., Neves, L. A. A. & Tiniakova, O. Methods to Induce Cardiac Hypertrophy and Insufficiency. in *Drug Discovery and Evaluation: Pharmacological Assays* 287–333 (Springer International Publishing, Cham, 2016). doi:10.1007/978-3-319-05392-9_8.
221. Skrzypczak, P. *et al.* Effect of short-term rapid ventricular pacing followed by pacing interruption on arterial blood pressure in healthy pigs and pigs with tachycardiomyopathy. *Pol J Vet Sci* **17**, 85–91 (2014).
222. Paslawska, U. *et al.* Development of porcine model of chronic tachycardia-induced cardiomyopathy. *Int J Cardiol* **153**, 36–41 (2011).
223. Power, J. M. & Tonkin, A. M. Large animal models of heart failure. *Aust N Z J Med* **29**, 395–402 (1999).
224. Birner, C. M. *et al.* Head-to-head comparison of BNP and IL-6 as markers of clinical and experimental heart failure: Superiority of BNP. *Cytokine* **40**, 89–97 (2007).
225. Luchner, A. Differential expression of cardiac ANP and BNP in a rabbit model of progressive left ventricular dysfunction. *Cardiovasc Res* **51**, 601–607 (2001).

226. Birner, C. *et al.* Antihypertrophic effects of combined inhibition of the renin–angiotensin system (RAS) and neutral endopeptidase (NEP) in progressive, tachycardia-induced experimental heart failure. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* **385**, 1117–1125 (2012).
227. Grensemann, J. Cardiac Output Monitoring by Pulse Contour Analysis, the Technical Basics of Less-Invasive Techniques. *Front Med (Lausanne)* **5**, (2018).
228. Foucher CD & Tubben RE. Lactic Acidosis. [Updated 2023 Jul 17]. In: StatPearls [Internet]. . *StatPearls* (2023).
229. Uryga, A., Kasprowicz, M., Woźniak, J. & Burzyńska, M. Zaburzenia funkcji baroreceptorów tętniczych po urazach mózgu. *Polski Przegląd Neurologiczny* **14**, 52–56 (2017).
230. Smith, M. L. *et al.* Reflex Control of Sympathetic Activity During Simulated Ventricular Tachycardia in Humans. *Circulation* **100**, 628–634 (1999).
231. Kisanuki, Y. Y. *et al.* Low Blood Pressure in Endothelial Cell–Specific Endothelin 1 Knockout Mice. *Hypertension* **56**, 121–128 (2010).
232. Milanović, D. *et al.* Propofol anesthesia induces proapoptotic tumor necrosis factor- α and pro-nerve growth factor signaling and prosurvival Akt and XIAP expression in neonatal rat brain. *J Neurosci Res* **92**, 1362–1373 (2014).
233. Liu, Q. *et al.* Sirtuin 3 protects against anesthesia/surgery-induced cognitive decline in aged mice by suppressing hippocampal neuroinflammation. *J Neuroinflammation* **18**, 41 (2021).
234. Chatterjee, B., Nydegger, U. E. & Mohacsi, P. Serum erythropoietin in heart failure patients treated with ACE-inhibitors or AT₁ antagonists. *Eur J Heart Fail* **2**, 393–398 (2000).
235. Jankowska, E. A., von Haehling, S., Anker, S. D., Macdougall, I. C. & Ponikowski, P. Iron deficiency and heart failure: diagnostic dilemmas and therapeutic perspectives. *Eur Heart J* **34**, 816–829 (2013).
236. Cleland, J. G. F. *et al.* Prevalence and Outcomes of Anemia and Hematinic Deficiencies in Patients With Chronic Heart Failure. *JAMA Cardiol* **1**, 539 (2016).
237. Kenneth S. Latimer (Editor). *Duncan and Prasse's Veterinary Laboratory Medicine: Clinical Pathology, 5th Edition*. (Wiley-Blackwell, 2011).
238. Douglas J. Weiss, K. J. W. O. W. S. *Schalm's Veterinary Hematology*. (Wiley-Blackwell, Ames, Iowa, 2010, 2010).

239. Moreno, M. & Wiegand, T. J. Blood. in *Encyclopedia of Toxicology* 526–532 (Elsevier, 2014). doi:10.1016/B978-0-12-386454-3.00683-7.
240. Perlroth, M. G. & Harrison, D. C. Cardiogenic shock: A review. *Clin Pharmacol Ther* **10**, 449–467 (1969).
241. Barbosa Evora, P. R., Celotto, A. C., Sumarelli Albuquerque, A. A. & Martinez Évora, P. Endothelial Dysfunction in Cardiogenic Shock. in *Vasoplegic Endothelial Dysfunction* 41–44 (Springer International Publishing, Cham, 2021). doi:10.1007/978-3-030-74096-2_6.
242. Mellander, S. & Lewis, D. H. Effect of Hemorrhagic Shock on the Reactivity of Resistance and Capacitance Vessels and on Capillary Filtration Transfer in Cat Skeletal Muscle. *Circ Res* **13**, 105–118 (1963).
243. Fleck, A. *et al.* INCREASED VASCULAR PERMEABILITY: A MAJOR CAUSE OF HYPOALBUMINAEMIA IN DISEASE AND INJURY. *The Lancet* **325**, 781–784 (1985).
244. Jääntti, T. *et al.* Hypoalbuminemia is a frequent marker of increased mortality in cardiogenic shock. *PLoS One* **14**, e0217006 (2019).
245. *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals*. (National Academies Press, Washington, D.C., 2011). doi:10.17226/12910.