

Scuola di Ingegneria Industriale e dell'Informazione

Corso di Laurea Magistrale in Ingegneria Biomedica



**Analisi dei parametri emodinamici e
del fenomeno di vascular decoupling
durante lo sviluppo dello stato di shock settico.**

Relatore Prof. Giuseppe Baselli

Correlatore Prof.ssa Manuela Ferrario

Dott.ssa Marta Carrara

Tesi di laurea di

Francesca Maccarone 852466

Anno Accademico 2019-2020

Sommario

La sepsi e lo shock settico rappresentano attualmente un'importante emergenza sanitaria a livello mondiale. Il presente lavoro di tesi si focalizza sugli effetti di tali patologie sul sistema circolatorio nella transizione da fase infiammatoria all'entrata in shock. Lo scopo del presente lavoro è quello di valutare in tale transizione il cambiamento dei parametri emodinamici e il fenomeno del '*peripheral vascular decoupling*', ossia un'alterazione della propagazione dell'onda pressoria lungo l'albero arterioso, al fine di identificare se i cambiamenti già studiati e identificati nelle fasi di shock avanzato e dopo rianimazione siano correlati ai fenomeni che portano allo shock e non una sua diretta conseguenza.

Lo studio è stato condotto su nove maiali, di cui sei hanno costituito il gruppo di shock settico, indotto tramite iniezione di feci autologhe nel peritoneo, e tre il gruppo di controllo. Sono stati misurati i valori di pressione con tre diverse misurazioni a livello aortico, femorale e radiale, da cui sono stati ricavati gli andamenti degli indici emodinamici, quali pressione arteriosa sistolica (SAP), pressione arteriosa diastolica (DAP), pressione pulsatoria (PP) e periodo cardiaco (HP). La costante temporale τ , rappresentativa delle proprietà meccaniche dei vasi, è stata inoltre calcolata tramite il metodo recentemente proposto e denominato Long Time Interval Analysis (LTIA) e che si basa sul modello di Windkessel. I parametri sono stati sottoposti ad un'analisi sia nel dominio del tempo sia nel dominio delle frequenze. L'analisi dei trend dei parametri emodinamici evidenzia l'innescarsi già in fase di ingresso in shock dei meccanismi tipici dello shock, quali ipotensione, meccanismi compensativi come la tachicardia e il delinarsi del fenomeno di inversione della pressione pulsatoria associata al *peripheral vascular decoupling*. L'analisi spettrale evidenzia la riduzione della regolazione del sistema nervoso autonomo simpatico nella regolazione dei vasi. In conclusione, le alterazioni dell'albero arterioso concorrono allo svilupparsi della condizione di shock.

Abstract

Sepsis and septic shock represent currently a primary clinical emergency at global level. This thesis focuses on the effects of such pathological conditions on the vascular system during the transition from the inflammatory phase to the shock development. The focus of this study is to evaluate how these pathologies affect the hemodynamic parameters and to study the peripheral vascular decoupling phenomenon, which is associated to an alteration on the waves propagation into the arterial tree. The aim is to assess whether the changes on the arterial tree, already studied and detected in late shock phase and after resuscitation, occur even during the phase of septic shock development and not a consequence of the shock itself.

Nine pigs were considered in the study and divided in two groups: the control group (3 pigs) and the septic shock group (6 pigs), in which sepsis was induced by autologous fecis inoculation into the abdomen. Pressure waves signals were measured at three sampling sites, in the aorta and in the radial and femoral arteries. The hemodynamic indices were computed for each arterial blood pressure signal, in particular, the systolic arterial pressure (SAP), the diastolic arterial pressure (SAP), the pulse pressure (PP) and the heart period (HP). In addition, the time constant τ , representing the vascular mechanical properties according to the Windkessel model, was assessed by means of the method named Long Time Interval Analysis (LTIA). The time series of the hemodynamic indices were analysed both in the time and in the frequency domain. The analysis in the time domain confirms the typical trends observed in septic shock, such as hypotension, the compensatory mechanism of tachycardia, the phenomenon of PP inversion and the peripheral vascular decoupling. The spectral analysis underlies the decrease of the sympathetic nervous system regulation on the vascular system. In conclusion, the alterations in the arterial tree contributes to the shock development and are not consequences of the prolonged inflammation.

Indice

SOMMARIO	3
ABSTRACT.....	4
INDICE DELLE FIGURE.....	7
INDICE DELLE TABELLE	9
1 INTRODUZIONE	10
1.1 SEPSI	10
1.2 SHOCK SETTICO.....	12
1.3 MODELLI DI STUDIO DELLA SEPSI E DELLO SHOCK SETTICO	13
1.3.1 <i>Modello suino</i>	14
1.3.2 <i>Modello animale di sepsi indotta da peritonite</i>	15
1.4 SHOCK SETTICO E SISTEMA CIRCOLATORIO: IL FENOMENO DEL VASCULAR DECOUPLING.....	16
1.5 OBIETTIVI DELLA TESI.....	18
2 MATERIALI E METODI.....	19
2.1 DATI DI PARTENZA – PROTOCOLLO SPERIMENTALE	19
2.2 ACQUISIZIONE DEL SEGNALE E PREPROCESSING	20
2.3 ANALISI DELLA QUALITÀ DEL SEGNALE	26
2.4 LA GITTATA CARDIACA E LA COSTANTE TEMPORALE T.....	27
2.5 METODO LTIA	29
2.6 ANALISI TEMPORALE E ANALISI SPETTRALE	33
2.7 ANALISI STATISTICA.....	35
3 RISULTATI.....	36
3.1 ANALISI NEL DOMINIO DEL TEMPO	36
3.1.1 <i>Andamenti dei parametri emodinamici</i>	36
3.1.2 <i>Andamento della costante di tempo τ</i>	46
3.1.3 <i>Confronti tra la costante di tempo τ e la pressione pulsatoria</i>	48
3.1.4 <i>Confronti tra gli andamenti dei valori di PP</i>	52
3.2 ANALISI NEL DOMINIO DELLA FREQUENZA.....	55
3.2.1 <i>Analisi delle componenti a bassa frequenza</i>	55
3.2.2 <i>Analisi della potenza spettrale</i>	58
4 DISCUSSIONE E CONCLUSIONI	61
4.1 LIMITI DELLO STUDIO E SVILUPPI FUTURI.....	64
4.2 CONCLUSIONI	65
BIBLIOGRAFIA.....	66

Indice delle Figure

Figura 2.1 Andamento temporale del segnale di pressione arteriosa aortica[mmHg] di un maiale in fase di baseline. .	21
Figura 2.2 Andamento temporale del segnale di pressione arteriosa aortica di un maiale in fase di shock prima della rianimazione con fluidi e vasopressori.	21
Figura 2.3 Diagramma di flusso dell’algoritmo per l’identificazione degli onset. Figura tratta da Zong et al. (2003).....	23
Figura 2.4 Segnale di pressione arteriosa aortica [mmHg] di un maiale in stato di shock. Sono evidenziati gli onset che hanno consentito la successiva estrazione delle serie battito-battito con gli asterischi rossi.	24
Figura 2.5 Esempio di serie SAP [mmHg] estratta da un segnale di pressione.....	24
Figura 2.6 Esempio di serie PP [mmHg] estratta da un segnale di pressione.	25
Figura 2.7 Esempio di serie HP[msec] estratta da un segnale di pressione.	25
Figura 2.8 Schema a blocchi dell’algoritmo di valutazione di qualità del segnale. L’input è una forma d’onda pressoria (ABP). L’output è una stringa binaria, che assegna un valore (no flag=0, flag=1) a ciascun battito della forma d’onda ABP. Figura tratta da Sun et al. (2006).	26
Figura 2.9 Esempio di applicazione dell’algoritmo di qualità su un tracciato di pressione arteriosa. In verde i battiti riconosciuti come artefatti o non di qualità sufficiente.	27
Figura 2.10 In accordo con il modello Windkessel (a sinistra), ABP decade come un esponenziale puro durante ciascun intervallo diastolico con una costante temporale (τ) pari al prodotto di TPR e la costante AC in caso in cui il fenomeno delle onde riflesse trascurabile come in aorta addominale. Tratto da Mukkamala et al. (2005).	29
Figura 2.11 Rappresentazione della tecnica per monitorare il CO da una forma d’onda ABP periferica.	31
Figura 2.12 Esempio di risposta all’impulso	32
Figura 2.13 Esempio di spettro in frequenza di un segnale di pressione aortica a baseline	34
Figura 3.1 Andamento medio nel tempo della pressione sistolica (SAP) misurata a livello aortico per ciascun maiale. .	39
Figura 3.2 Andamento medio nel tempo della pressione sistolica (SAP) misurata a livello radiale per ciascun maiale. .	39
Figura 3.3 Andamento medio nel tempo della pressione sistolica (SAP) misurata a livello radiale per ciascun maiale. .	39
Figura 3.4 Andamento medio nel tempo della pressione diastolica (DAP) misurata a livello aortico per ciascun maiale.	40
Figura 3.5 Andamento medio nel tempo della pressione diastolica (DAP) misurata a livello radiale per ciascun maiale.	41
Figura 3.6 Andamento medio nel tempo della pressione diastolica (DAP) misurata a livello femorale per ciascun maiale.	41
Figura 3.7 Andamento medio nel tempo di HP misurato a livello aortico per ciascun maiale.	42
Figura 3.8 Andamento medio nel tempo HP misurato a livello radiale per ciascun maiale.	42
Figura 3.9 Andamento medio nel tempo HP misurato a livello femorale per ciascun maiale.	43
Figura 3.10 Andamento medio nel tempo di PP misurata a livello aortico per ciascun maiale.	44
Figura 3.11 Andamento medio nel tempo di PP misurata a livello radiale per ciascun maiale.....	45
Figura 3.12 Andamento medio nel tempo di PP misurata a livello femorale per ciascun maiale.	45

Figura 3.13 Andamento nel tempo del valore di τ calcolato su finestre di 5 minuti a partire dal segnale di pressione aortica.....	46
Figura 3.14 Andamento nel tempo del valore di τ calcolato su finestre di 5 minuti a partire dal segnale di pressione femorale.....	47
Figura 3.15 Andamento nel tempo del valore di τ calcolato su finestre di 5 minuti a partire dal segnale di pressione radiale.....	47
Figura 3.16 Per ciascun animale si mostrano i trend della costante di tempo τ (sec) e i valori di PP (mmHg) misurati a livello aortico.	49
Figura 3.17 Per ciascun animale si mostrano i trend della costante di tempo τ (sec) e i valori di PP (mmHg) misurati a livello dell'arteria radiale.	50
Figura 3.18 Per ciascun animale si mostrano i trend della costante di tempo τ (sec) e i valori di PP (mmHg) misurati a livello dell'arteria femorale.....	51
Figura 3.19 Valori di PP aortica e PP radiale per ciascun animale considerato nello studio	53
Figura 3.20 Valori di PP aortica e PP femorale per ciascun animale considerato nello studio.....	54
Figura 3.21 Distribuzione (mediana [25°, 75° percentile]) dei valori di potenza alle basse frequenze (LF) di SAP calcolati a livello aortico, radiale e femorale ai due time point T1 e T2.....	56
Figura 3.22 Distribuzione (mediana [25°, 75° percentile]) dei valori di potenza alle basse frequenze (LF) di DAP calcolati a livello aortico, radiale e femorale ai due time point T1 e T2.....	56
Figura 3.23 Distribuzione (mediana [25°, 75° percentile]) dei valori di potenza alle basse frequenze percentuale (LF%) di SAP calcolati a livello aortico, radiale e femorale ai due time point T1 e T2.	57
Figura 3.24 Distribuzione (mediana [25°, 75° percentile]) dei valori di potenza alle basse frequenze percentuale (LF%) di DAP calcolati a livello aortico, radiale e femorale ai due time point T1 e T2.....	58
Figura 3.25 Distribuzione (mediana [25°, 75° percentile]) dei valori di potenza totale (PTOT) di SAP calcolati a livello aortico, radiale e femorale ai due time point T1 e T2.	59
Figura 3.26 Distribuzione (mediana [25°, 75° percentile]) dei valori di potenza totale (PTOT) di DAP calcolati a livello aortico, radiale e femorale ai due time point T1 e T2.	60
Figura 3.27 Distribuzione (mediana [25°, 75° percentile]) dei valori di potenza totale (PTOT) di HP calcolati a livello aortico, radiale e femorale ai due time point T1 e T2.	60

Indice delle Tabelle

Tabella 1.1 Sequential (sepsi-related) Organ Failure Assessment (SOFA) score.	11
Tabella 3.1 Valori dei parametri emodinamici, dati clinici, compliance arteriosa stimata (AC) e resistenza periferica totale (TPR) calcolati in corrispondenza di ciascun time point dell'esperimento. PP, pressione pulsatoria (mmHg); MAP, pressione media (mmHg); SAP, pressione sistolica (mmHg); DAP, pressione diastolica (mmHg); HR, frequenza cardiaca (bpm); CO, gittata cardiaca (l/min); SV, volume sistolico (ml); UO, diuresi (l); Lact, lattato (mmol/l); SvO ₂ , saturazione di ossigeno venoso misto (%); PPV, pulse pressure variation (%); AC, total arterial compliance (ml/mmHg); TPR, total peripheral resistance (dyne*s*cm ⁵). T1, baseline; T2, shock; T4, dopo rianimazione con fluidi e noradrenalina. Wilcoxon signed test: *p < 0.05, **p < 0.01 rispetto a T1, § p-value < 0.05, §§ p-value < 0.01 rispetto a T2 (Friedman test p-value < 0.05). Mann–Whitney U-test: #p < 0.05, ##p < 0.01 rispetto alla pressione aortica per ogni time point.....	37
Tabella 3.2 Valori riportati come mediana (25°, 75° percentile) della serie SAP (mmHg) misurata a livello aortico, femorale e radiale in T1 (baseline) e T2 (shock). p-value calcolato con il test accoppiato Wilcoxon Signed Rank.....	38
Tabella 3.3 Valori riportati come mediana (25°, 75° percentile) della serie DAP (mmHg) misurata a livello aortico, femorale e radiale in T1 (baseline) e T2 (shock). p-value calcolato con il test accoppiato Wilcoxon Signed Rank.....	40
Tabella 3.4 Valori riportati come mediana (25°, 75° percentile) della serie HP (sec) misurata a livello aortico, femorale e radiale in T1 (baseline) e T2 (shock). p-value calcolato con il test accoppiato Wilcoxon Signed Rank.	42
Tabella 3.5 Valori riportati come mediana (25°, 75° percentile) della serie PP (mmHg) misurata a livello aortico, femorale e radiale in T1 (baseline) e T2 (shock). p-value calcolato con il test accoppiato Wilcoxon Signed Rank.....	44
Tabella 3.6 Valori riportati come mediana (25°, 75° percentile) della serie τ(sec) misurata a livello aortico, femorale e radiale in T1 (baseline) e T2 (shock). p-value calcolato con il test accoppiato Wilcoxon Signed Rank.	46
Tabella 3.7 Valori riportati come mediana (25°, 75° percentile) della potenza alle basse frequenze (LF) di SAP, DAP e HP a livello aortico, femorale e radiale in T1 (baseline) e T2 (shock). p-value calcolato con il test accoppiato Wilcoxon Signed Rank.	55
Tabella 3.8 Valori riportati come mediana (25°, 75° percentile) di LF percentuale di SAP, DAP e HP a livello aortico, femorale e radiale in T1 (baseline) e T2 (shock). p-value calcolato con il test accoppiato Wilcoxon Signed Rank.....	57
Tabella 3.9 Valori riportati come mediana (25°, 75° percentile) della potenza totale (PTOT) di SAP, DAP e HP a livello aortico, femorale e radiale in T1 (baseline) e T2 (shock). p-value calcolato con il test accoppiato Wilcoxon Signed Rank.	59

1 INTRODUZIONE

1.1 Sepsi

Il presente lavoro di tesi si inserisce nel contesto degli studi riguardanti gli effetti sul sistema circolatorio della sepsi e dello shock settico, concentrandosi principalmente sulla transizione dalla fase infiammatoria all'entrata in shock.

Nel 2018 l'OMS ha riconosciuto la sepsi come un'emergenza sanitaria mondiale (K. Thompson et al, 2019). Tale condizione deriva da una risposta eccessiva e incontrollata ad un'infezione da parte del soggetto. Si tratta di una sindrome che coinvolge alterazioni patologiche sia a livello cardiocircolatorio che biochimiche indotte da una infezione (Singer et al, 2016). Oggi la sepsi viene definita come una disfunzione d'organo associata a un'alta mortalità a seguito di una risposta infiammatoria alterata. L'interazione tra ospite e patogeno è estremamente complessa e si caratterizza dall'attivazione sistemica di molteplici percorsi infiammatori, tra cui il complesso antiinfiammatorio e pro-infiammatorio delle citochine e la cascata della coagulazione (L. F. Poli-de-Figueiredo, 2008).

La definizione di sepsi è stata oggetto negli anni di diversi dibattiti tra esperti nel settore che hanno portato a vari aggiornamenti. In particolare la definizione di sepsi e shock settico è stata aggiornata nel 2016 allo scopo di riuscire ad indentificare pazienti con più alto rischio di mortalità e morbilità, soprattutto quelli che necessitano di un monitoraggio invasivo e trattamenti in continua in terapia intensiva (*'Intensive Care Unit'*, ICU) o ad elevato rischio di morte. Nelle linee guida precedenti una diagnosi di sepsi richiedeva la presenza di un'infezione accompagnata da due o più criteri relativi alla cosiddetta *'Systemic Inflammatory Response Syndrome'* (SIRS), e se accompagnata da una disfunzione d'organo veniva definita *severe sepsis'*.

System	Score				
	0	1	2	3	4
Respiration					
P _{aO₂} /F _{iO₂} , mm Hg (kPa)	≥400 (53.3)	<400 (53.3)	<300 (40)	<200 (26.7) with respiratory support	<100 (13.3) with respiratory support
Coagulation					
Platelets, ×10 ³ /μL	≥150	<150	<100	<50	<20
Liver					
Bilirubin, mg/dL (μmol/L)	<1.2 (20)	1.2-1.9 (20-32)	2.0-5.9 (33-101)	6.0-11.9 (102-204)	>12.0 (204)
Cardiovascular					
MAP ≥70 mm Hg	MAP <70 mm Hg	Dopamine <5 or dobutamine (any dose) ^b	Dopamine 5.1-15 or epinephrine ≤0.1 or norepinephrine ≤0.1 ^b	Dopamine >15 or epinephrine >0.1 or norepinephrine >0.1 ^b	
Central nervous system					
Glasgow Coma Scale score ^c	15	13-14	10-12	6-9	<6
Renal					
Creatinine, mg/dL (μmol/L)	<1.2 (110)	1.2-1.9 (110-170)	2.0-3.4 (171-299)	3.5-4.9 (300-440)	>5.0 (440)
Urine output, mL/d				<500	<200

Abbreviations: F_{iO₂}, fraction of inspired oxygen; MAP, mean arterial pressure; P_{aO₂}, partial pressure of oxygen.

^b Catecholamine doses are given as μg/kg/min for at least 1 hour.
^c Glasgow Coma Scale scores range from 3-15; higher score indicates better

Tabella 1.1 Sequential (sepsi-related) Organ Failure Assessment (SOFA) score.

La definizione aggiornata non considera più la copresenza di un'infezione e di SIRS per indicare la presenza di sepsi: la diagnosi di sepsi richiede la presenza di un'infezione a cui si aggiunge una disfunzione di organo, a sua volta evidenziata da un rapido incremento di 2 o più punti dell'indice SOFA ('*Sequential Organ Failure Assessment*'). La definizione del SOFA score è illustrata in Tabella 1.1. In tal modo ciò che prima era diagnosticato come '*severe sepsis*' diventa ora '*sepsis*' in base alla nuova definizione, con specifici criteri per identificare la disfunzione di un organo. In presenza di sepsi, la disfunzione di più di un organo è la principale causa di morte ('*multiorgan failure*', MOF) (Poli-de-Figueiredo, 2008).

La sepsi induce variazioni significative emodinamiche, a livello sistemico e locale, disturbi microcircolatori diffusi, alterazioni cellulari, che portano ad un disaccoppiamento tra flusso di sangue e richieste metaboliche, e se non recuperate portano a MOF e quindi a morte. Ad oggi non vi sono terapie farmacologiche risolutive e con chiare evidenze cliniche per la cura della sepsi, ma vi sono più che altro terapie che agiscono sui sintomi più che sulle cause scatenanti di una sostenuta ipovolemia e un massiccio fenomeno di '*capillary leakage*'. Una diagnosi precoce e un tempestivo trattamento, in particolare una rapida somministrazione di antibiotici specifici, hanno mostrato di essere associati ad una minore mortalità. Tuttavia i pazienti che sopravvivono spesso hanno comorbidità secondarie alla sepsi o disfunzioni gravi, quali disabilità fisiche, psicologiche e cognitive.

La sepsi è caratterizzata principalmente da una persistente condizione di ipotensione, le attuali linee guida prevedono la rianimazione di pazienti in sepsi attraverso la somministrazione di fluidi e di vasopressori, secondo quelle che sono le linee guida cliniche correnti, avendo come *target*

terapeutico principale il ripristino della pressione media arteriosa a 65mmHg. È inoltre noto in letteratura che talvolta l'eccessiva somministrazione di fluidi durante la rianimazione può determinare un eccesso di fluido, che a sua volta può avere effetti negativi sulla salute del paziente (Carrara et al., 2017). Il persistere della condizione di sovraccarico di fluidi nei primi giorni di rianimazione incrementa a sua volta il rischio di disfunzioni a livello cardiaco, renale e polmonare.

1.2 Shock settico

La forma più grave di sepsi è lo shock settico, con un significativo aumento della mortalità legato a gravi alterazioni circolatorie, cellulari e metaboliche (P. Maggio, 2020). Lo shock settico rappresenta uno stato di insufficienza circolatoria. Tale condizione si verifica spesso in pazienti immunocompromessi o con patologie croniche debilitanti. Inoltre ha un maggiore tasso di incidenza in soggetti anziani, in neonati e donne in stato di gravidanza.

Per quanto concerne la diagnosi di shock settico, essa richiede la presenza di sepsi e di una condizione di ipotensione. Pertanto è necessaria una terapia a base di vasopressori al fine di mantenere la pressione media arteriosa (*'Mean Arterial Pressure'*, MAP) a valori superiori, o al più uguali, a 65 mmHg e di lattato minore o uguale a 2 mmol/L. Laddove la misura del lattato non sia disponibile, si possono usare per la diagnosi altri indici di ipoperfusione, come oliguria, stato mentale alterato, refill capillare ritardato.

Nella patofisiologia dello shock settico, la risposta infiammatoria iniziale consiste nella vasodilatazione di arterie e arteriole, diminuzione della resistenza periferica e aumento della gittata cardiaca (*'Cardiac Output'*, CO). Questa fase iniziale viene indicata *'warm shock'*. Successivamente il CO potrebbe diminuire, la pressione del sangue decresce, con o senza aumento della resistenza periferica e appaiono le tipiche caratteristiche dello shock. Anche nella fase iniziale di aumento della gittata cardiaca CO, i mediatori vasoattivi ostacolano lo scambio a livello dei vasi capillari. Il flusso capillare limitato causa l'ostruzione di questi vasi a causa della formazione di microtrombi, e causa una diminuzione del rilascio di ossigeno e ostacola la rimozione dell'anidride carbonica. Questa ridotta perfusione provoca la disfunzione e talvolta anche la disfunzione di uno o più organi, tra cui quelli vitali come cuore e cervello, i primi a risentire dell'effetto dello shock settico, e a seguire reni, polmoni e fegato.

1.3 Modelli di studio della sepsi e dello shock settico

Ad oggi lo studio pre-clinico della sepsi e dello shock si basa su modelli animali, tra cui cani, conigli, roditori e suini, nei quali viene indotta la sepsi e lo shock settico secondo modalità diverse. Il motivo principale per cui si usano modelli animali riproducibili per la sepsi è legato alla necessità di uno scenario controllato, che diminuisce il numero di variabili in gioco così da poter studiare nel dettaglio i meccanismi responsabili dei cambiamenti immunologici, cardiovascolari e metabolici in queste condizioni.

Varie sono le modalità attraverso cui la sepsi può essere indotta nei modelli animali, portando a condizioni cardiovascolari e infiammatorie simili a quelle della sepsi umana, tra cui:

- Infusione intravascolare di endotossine o batteri
- Peritonite batterica
- Procedura di occlusione e perforazione dell'intestino cieco
- Infezione dei tessuti molli
- Modello di polmonite
- Modello di meningite

I modelli rivelano diversi limiti. L'infezione dovuta all'infusione di endotossine e batteri, ad esempio di lipopolisaccaride (LPS), non sono focalizzati a studiare un'infezione locale che si propaga da un organo specifico. Possono riprodurre molte caratteristiche della sepsi e sono molto controllati e standardizzati, tuttavia i modelli clinicamente più rilevanti, che con successo replicano le condizioni cliniche della sepsi, sono quelli che ripropongono un modello di sepsi con un'infezione d'organo, invece che usare modelli che inducono un'infiammazione sistemica (Freise et al, 2001; Hubbard et al., 2005).

Nella sepsi umana organismi gram-positivi e funghi sono le principali cause di sepsi rispetto ai batteri gram-negativi. Si ritiene che vi siano importanti differenze nelle risposte infiammatorie e dell'ospite a seconda del tipo di patogeno, se organismi gram-positivi o gram-negativi.

Numerose ricerche sono state fatte per studiare la patofisiologia e il trattamento dello shock settico. La maggior parte degli studi clinici volti a studiare nuove strategie di trattamento sono risultate inefficaci: ciò potrebbe essere dovuto alla grande variabilità ed eterogeneità dei pazienti. Per quanto riguarda gli studi animali, ad esempio in un lavoro di Deicht (Deicht et al., 1998) si

sostiene che l'inadeguatezza dei modelli potrebbe derivare da diversi fattori, tra cui la produzione di un'intossicazione invece che di un'infezione, l'uso, ad esempio, di una infezione monomicrobica anziché polimicrobica.

Inoltre, l'uso di modelli animali con roditori ha presentato diversi limiti (Poli-de-Figueireido, 2008). I roditori si rivelano abbastanza resistenti alle endotossine e con un profilo emodinamico diverso e con un volume di sangue limitato rispetto all'uomo.

Le condizioni sperimentali incontrate negli studi clinici di sepsi umana sono più complesse di quelle simulate su animali anche di grossa taglia. Tuttavia, il modello animale ha il vantaggio di eliminare molti fattori confondenti come l'età, le comorbidità, etc.. Gli animali vengono accuratamente selezionati e poi sottoposti ad un singolo evento ben definito e ciò permette di vedere gli effetti associati solo alla sepsi.

1.3.1 Modello suino

I dati considerati nel presente studio provengono da un modello animale di suino. Il suino condivide con l'essere umano un certo numero di caratteristiche anatomiche e fisiologiche che lo rendono potenzialmente un modello migliore per alcune procedure e studi rispetto ad altre specie animali (Swindle et al., 2012). I sistemi che sono comunemente citati come modelli adeguati includono quello cardiovascolare, urinario, tegumentario e digestivo. Il cuore del maiale è simile a quello della maggior parte dei mammiferi con alcune variazioni. La distribuzione dell'approvvigionamento di sangue da parte dell'arteria coronaria è praticamente identica a quella umana. La dimensione del cuore e dei vasi in determinate razze, come quella *Hanford*, è molto più simile a quella dell'uomo rispetto sia al cane che ai primati. In generale il modello suino si rivela di successo negli studi relativi al sistema di conduzione cardiaca.

Per quanto concerne la sepsi, uno studio condotto sui maiali (R. Goldfarb et al., 2005) ha permesso di evidenziare che:

- i maiali hanno una sensibilità all'endotossina e antigeni molto simili a quella dell'uomo;
- la dimensione dei maiali permette l'uso estensivo di strumentazione invasiva per il monitoraggio di diversi parametri e segnali;
- la fisiologia cardiovascolare e renale del maiale è simile a quella dell'uomo.

Il tipico profilo emodinamico di shock settico nel maiale prevede una riduzione della gittata cardiaca (*Cardiac Output*, CO) e una concomitante tachicardia, cioè aumento di '*Heart Rate*' (HR). La pressione media (MAP), volume di eiezione ('*Stroke Volume*', SV) diminuiscono, mentre la pressione arteriosa polmonare e la resistenza vascolare polmonare aumentano.

1.3.2 Modello animale di sepsi indotta da peritonite

I modelli suini di sepsi o shock settico possono essere indotti alla condizione settica tramite peritonite. La peritonite può essere indotta nell'animale con diverse tecniche.

Una tecnica definita '*cecal ligation and puncture*' consiste nel legare e poi perforare l'intestino cieco oppure si può indurre la peritonite tramite l'inoculazione di materiale fecale o colture di soli batteri all'interno della cavità peritoneale (Parker SJ, 2001), inducendo un'infezione dapprima locale che diventa sistemica.

La procedura '*cecal ligation and puncture*' (CLP) è un modello semplice e riproducibile, ampiamente utilizzato nella ricerca relativa alla sepsi e allo shock settico e soddisfa molti dei criteri definiti essenziali perché un modello di sepsi possa essere considerato appropriato (Hubbard et al., 2005): è polimicrobico, ha un'origine da un'infezione focale, produce setticemia, rilascia prodotti batterici nella periferia. Può, inoltre, produrre l'intero spettro di gravità della sepsi, da quella acuta e fatale alla cronica, permettendo in tal modo un ampio ventaglio di sperimentazioni. In più per attuare questa tecnica non sono richieste particolari abilità chirurgiche, rendendo la procedura accessibile a un'ampia varietà di laboratori.

Il modello animale usato nella presente tesi è invece il modello di inoculazione di feci nell'addome. I dati analizzati sono stati raccolti durante uno studio sperimentale controllato, eseguito nel laboratorio sperimentale di terapia intensiva dell'Université Libre de Bruxelles.

In una popolazione di 9 suini di entrambi i sessi, prelevati da una fattoria locale. Di questi, 6 hanno costituito il gruppo di shock settico (SS, n=6), ai quali lo shock è stato indotto mediante peritonite polimicrobica fecale, mentre 3 hanno costituito il gruppo di controllo (Sham, n=3). Nella prima fase dello studio i 9 suini sono stati sedati nella loro gabbia con un'iniezione intramuscolare nel collo di *Midazolam* e *Azaperone*. In seguito, sono stati trasportati in sala operatoria, dove i suini sono stati sottoposti a:

- Inserimento nell'arteria femorale sinistra di un catetere per il monitoraggio invasivo della pressione arteriosa e per la raccolta di campioni di sangue (accesso arterioso);
- Inserimento di un catetere venoso centrale nella vena femorale sinistra, che permette di accedere ai vasi sanguigni venosi di calibro maggiore per la somministrazione di farmaci e anestetici (accesso venoso);
- Anestesia mediante infusione continua di anestetici per via endovenosa e per inalazione;
- Intubazione e ventilazione meccanica artificiale;
- Posizionamento di due drenaggi nella cavità addominale, per consentire l'induzione della peritonite polimicrobica.

Si possono distinguere 3 fasi principali nell'esperimento: baseline (T1) in cui tutti i suini sono stati sottoposti a misurazioni iniziali prima dell'insulto (ad esempio, peso e pressione arteriosa) e al prelievo di campioni di sangue arterioso; shock settico (T2) in cui dopo l'induzione della sepsi nei 6 suini del gruppo dello shock settico mediante peritonite polibatterica, ottenuta dall'instillazione di feci autologhe dai due drenaggi addominali. La sepsi innesca a cascata meccanismi quali ipotensione, ipoperfusione tissutale periferica e insufficienza multiorgano, portando allo shock settico. Sono necessarie circa 5 ore perché questi meccanismi siano ben consolidati. Successivamente dopo lo sviluppo dello shock si procede con la somministrazione di fluidi e vasopressori al fine di ristabilire una pressione arteriosa nell'intervallo prestabilito ovvero >65mmHg.

Al termine dell'esperimento tutti i suini sono stati soppressi per condurre ulteriori studi sui tessuti cardiaci, prelevati mediante biopsia.

1.4 Shock settico e sistema circolatorio: il fenomeno del vascular

Decoupling

A partire dagli anni '50 sono moltissimi gli studi riguardanti gli effetti di sepsi e shock settico su uno dei sistemi che maggiormente risente di tali condizioni, cioè il sistema cardiovascolare (Merx et al., 2007). Recentemente diversi studi hanno evidenziato le variazioni di flusso all'interno dell'intero albero arterioso, mostrando i cambiamenti locali e i meccanismi ad essi associati in fase

di sepsi e shock settico. In un recente studio (Hatib et al., 2011) condotto su maiali in stato di shock endotossico, è stato possibile vedere come la condizione di shock porti ad una variazione significativa delle proprietà meccaniche dei vasi arteriosi e come tale fenomeno avvenga in maniera non uniforme nell'albero arterioso. In tale studio durante lo shock endotossico si evidenzia un cambiamento delle caratteristiche d'impedenza vascolare in aorta a livello centrale e in arterie periferiche, che porta ad un disaccoppiamento nella propagazione della pressione dall'arterie centrali a quelle periferiche con il fenomeno definito *'pulse pressure reversal'* e di *'peripheral vascular decoupling'*. In condizioni iniziali fisiologiche i valori di pressione pulsatoria (*'pulse pressure'*, PP) crescono in maniera progressiva dall'aorta alle arterie periferiche, quali la femorale e la radiale. Dopo l'induzione dello stato di shock, attraverso l'infusione di un endotossina, si osserva che a livello centrale i valori di PP rimangono pressochè costanti, mentre a livello sia femorale che radiale decrescono progressivamente fino al verificarsi dell'inversione dei valori di PP, maggiori in aorta che a livello periferico.

In fase di shock si assiste quindi ad un'inversione dell'usuale amplificazione di PP dal centro alla periferia vascolare. Tale fenomeno è stato riportato anche in un recente studio (M. Carrara et al., 2020). L'eziologia di tale fenomeno si spiegherebbe considerando la diversa composizione tissutale dei vasi arteriosi a livello centrale e periferico e alla loro diversa risposta a sostanze, come l'ossido nitrico (NO), tipicamente rilasciate in sepsi. In tale studio, durante la sepsi e lo shock settico si assiste a cambiamenti locali nei parametri dei vasi. A baseline la resistenza (R) è simile a livello centrale e periferico, mentre la complianza (C) è molto maggiore a livello centrale nelle grosse arterie più elastiche rispetto a quelle periferiche. I compartimenti centrali diventano più rigidi, meno complianti, mentre quelli più periferici diventano più elastici. Questi cambiamenti indotti dallo shock settico dei parametri legati alla struttura dei vasi possono essere spiegati con la diversa risposta dei vasi alla produzione endogena di ossido nitrico che si ha in sepsi e in shock settico. La produzione intravascolare di NO in sepsi non è ancora chiara, ma vi sono evidenze sperimentali per cui potrebbe essere la muscolatura liscia dei vasi, presente principalmente a livello periferico, che produce NO in risposta all'infiammazione. È stato dimostrato che nelle grosse arterie elastiche la generazione locale di NO contribuisce invece all'irrigidimento dei vasi. A livello periferico, invece, la grossa quantità di NO prodotta, in base a numerose evidenze (Lush e Kvietys, 2000), ha un ruolo importante del determinare la risposta di vasodilatazione e il suo persistere nel tempo, riducendo pertanto la resistenza dei vasi. Rimangono ignoti, invece, i meccanismi per cui si abbia riduzione della rigidità a livello periferico.

Nello studio di M. Carrara (M. Carrara et al., 2020) viene confermato il meccanismo di inversione nella propagazione dell'ampiezza di PP dai siti centrali a quelli periferici non solo in fase di shock settico, ma è stata mostrata anche la sua persistenza dopo il trattamento con fluidi e vasopressori, come la noradrenalina. È stato dimostrato che la condizione di shock settico induce non solo cambiamenti nelle proprietà meccaniche dei vasi, ma anche disfunzioni nelle risposte del sistema nervoso autonomo simpatico (ANS).

1.5 Obiettivi della tesi

La presente tesi si inserisce nell'ambito degli studi relativi agli effetti dello shock settico sul sistema vascolare con particolare attenzione al fenomeno del '*vascular decoupling*' che, come sopra descritto, è ben noto in letteratura e di cui è ampiamente dimostrato il verificarsi in stato di shock settico avanzato e anche in fase di somministrazione di terapie a base di fluidi. Quanto rimane da considerare è se tale fenomeno si espliciti anche durante la fase di ingresso e di sviluppo dello shock e se pertanto il disaccoppiamento vascolare sia un evento correlato ai fenomeni che portano allo shock e non conseguente al suo sviluppo e suo risultato. Lo studio, pertanto, va ad analizzare come variano i parametri emodinamici in arterie periferiche e in aorta di una popolazione di maiali in cui è stato indotto lo shock settico, valutando con particolare attenzione gli andamenti di due parametri strettamente legati al fenomeno di disaccoppiamento vascolare:

- i valori di pressione pulsatoria (PP), dalla cui valutazione è possibile verificare la presenza del fenomeno di inversione;
- la costante temporale di Windkessel τ , legata alle caratteristiche meccaniche dei vasi e calcolata utilizzando il metodo del '*Long Time Interval Analysis*', per la cui trattazione si rimanda al capitolo relativo Materiali e Metodi.

2 MATERIALI E METODI

2.1 *Dati di partenza – Protocollo sperimentale*

Lo studio sperimentale di partenza è stato condotto presso il Laboratorio Sperimentale di Cure Intensive dell'Università Libre di Bruxelles su una vasta popolazione di giovani suini adulti in cui è stato indotto lo shock settico tramite peritonite fecale. Nel presente studio è stato considerato un campione di 6 maiali di ambo i sessi (età 4-6 mesi, peso 43.8 ± 3.9 kg, espresso come media \pm deviazione standard). L'esperimento ha previsto più fasi. Nella fase iniziale dell'esperimento, della durata di circa 3 ore, i maiali sono stati intubati e sono stati inseriti i cateteri per le varie misure emodinamiche. L'applicazione dei cateteri per la misura della pressione arteriosa è avvenuta per via mininvasiva, tramite inserimento percutaneo guidato ecograficamente. Successivamente l'animale è rimasto a riposo per circa 2 ore dopo di che si sono fatte le misure dei parametri emodinamici che sono state considerate di controllo o di riferimento iniziale (*baseline*, T1). La condizione di shock settico è stata indotta tramite inoculazione intraperitoneale di 3 g/kg di feci autologhe, filtrate e diluite in 300 ml di glucosio concentrata al 5%. A partire dal momento iniziale di induzione della sepsi è stata fatta una perfusione continua di cristalloidi a basso dosaggio e non appena raggiunto uno stato ipotensivo della pressione arteriosa media MAP al di sotto dei 50 mmHg, il dosaggio è stato lievemente aumentato al fine di mantenere il valore di MAP tra i 45 e i 50 mmHg per circa un'ora, in modo da consolidare l'ipoperfusione periferica e l'inizio di una condizione che potenzialmente potrebbe portare a un danno multiorgano. Al termine di questa fase è stato definito un secondo *time point* T2 riferito alla condizione di shock settico, ovvero a valle del completo sviluppo della condizione di shock. A tale fase, comprendente sia l'ingresso nella condizione di shock settico e lo sviluppo dello shock, della durata complessiva di 5 ore, sono seguite due ulteriori fasi di 'fluid resuscitation', in cui sono stati somministrati fluidi e vasopressori, in due tempi distinti.

Nell'ambito della presente tesi, le fasi di interesse sono quella di *baseline*, cioè di controllo prima dell'induzione dello shock, e la fase di *shock*, intesa in questo lavoro come la fase di ingresso nello stato di shock settico successivo alla fase di insulto (inoculazione delle feci) sino allo stabilizzarsi della condizione di shock. La fase di *baseline*, in generale, è molto importante perché permette di analizzare i parametri a regime e valutare successivamente come cambiano quando interviene un'alterazione dello stato del soggetto.

Per ciascun maiale per l'intera durata dell'esperimento sono state acquisite tre serie pressorie a livello arterioso, il segnale ECG, il segnale di pressione e volume ventricolare attraverso un catetere inserito nel ventricolo sinistro, provvisto di elettrodi a distanza fissa che permette di ottenere misure di pressione e volume a livello ventricolare, il segnale di pressione polmonare arteriosa ('*pulmonary arterial pressure*', PAP) e la gittata cardiaca in continua ('*continuous cardiac output*', CCO). Per quanto riguarda la pressione arteriosa, segnale d'interesse nello studio, essa è stata misurata in tre punti diversi dall'albero circolatorio. Tale segnale è stato acquisito a livello aortico, quindi a livello centrale con una misura molto invasiva, a livello radiale, quindi molto periferico, e a livello femorale. I segnali di pressione aortica e femorale sono stati registrati ad una frequenza di campionamento di 500 Hz, mentre quella radiale a 250 Hz.

2.2 *Acquisizione del segnale e preprocessing*

Le forme d'onda sono state inizialmente acquisite e salvate attraverso un software NOTOCORD® e successivamente estratte e importate in ambiente MATLAB®. Per ciascuno dei sei maiali, in condizione di *baseline* e in condizione di *shock*, sono state considerate tre forme d'onda non processate: il segnale di pressione aortica, il segnale di pressione femorale, entrambi campionati ad una frequenza di 500 Hz, e il segnale di pressione radiale, campionato alla frequenza di 250 Hz. L'analisi iniziale di queste forme d'onda è stato svolto allo scopo di estrarre i punti fiduciali e quindi le serie di valori battito-battito di SAP, DAP, MAP, PP e HP.

In primo luogo, subito dopo avere importato i dati in MATLAB®, è stata fatta la visualizzazione degli andamenti delle forme d'onda grezze, cioè non ancora processate, per verificare la presenza di possibile perdita di segnale o artefatti. A titolo di esempio gli andamenti dell'intero tracciato del segnale di pressione arteriosa di un maiale sono mostrati in fase di *baseline* e di *shock* rispettivamente in Figura 2.1 e Figura 2.2.

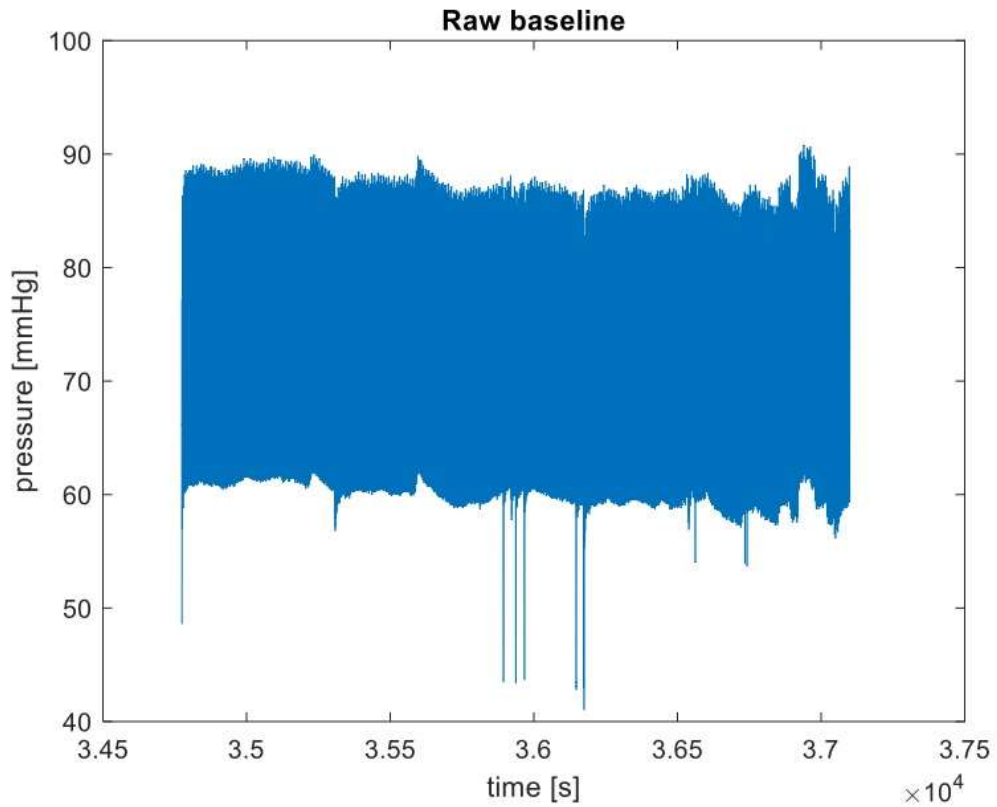


Figura 2.1 Andamento temporale del segnale di pressione arteriosa aortica [mmHg] di un maiale in fase di baseline.

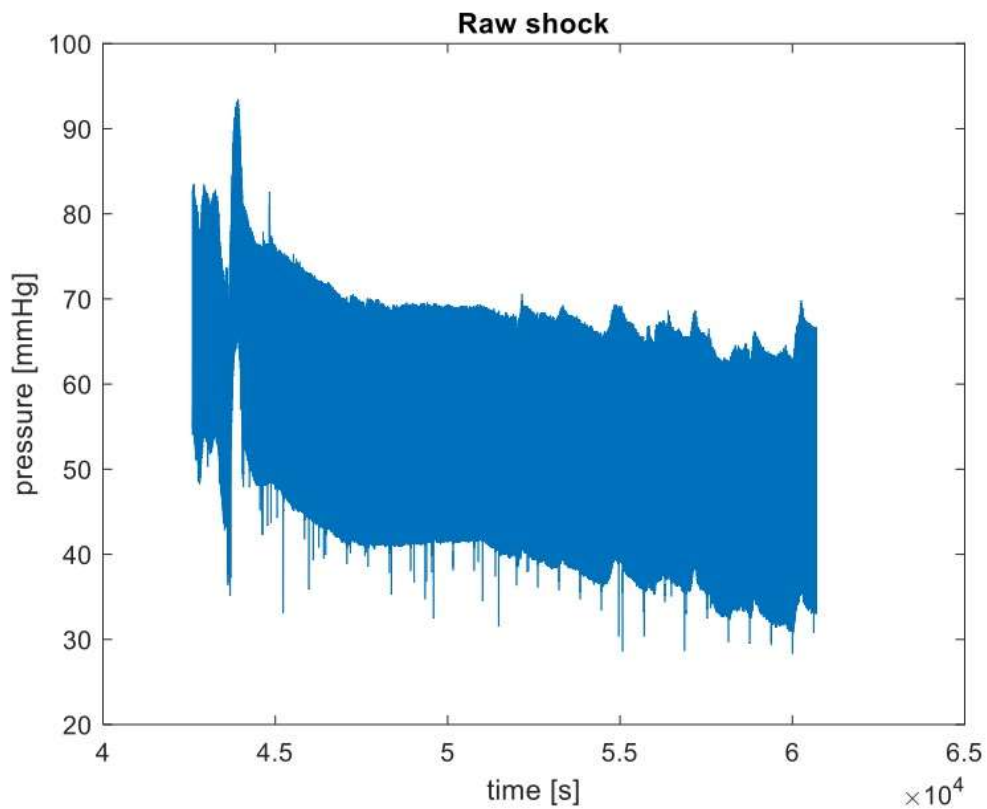


Figura 2.2 Andamento temporale del segnale di pressione arteriosa aortica di un maiale in fase di shock prima della rianimazione con fluidi e vasopressori.

Le forme d'onda sono state ricampionate, in particolare sottocampionate, tramite la funzione *downsample* a 125 Hz al fine di poter utilizzare i successivi algoritmi di estrazione dei punti fiduciali e di controllo qualità del segnale. Gli algoritmi utilizzati in questa fase di analisi preliminare verranno illustrati brevemente qui di seguito.

Per ciascuna forma d'onda pressoria sono quindi stati individuati gli *onset* di ciascun battito attraverso la funzione *wabp* (algoritmo open source). Per ciascun battito l'algoritmo identifica il campione corrispondente all'*onset* sfruttando la funzione '*Slope Sum Function*' (SSF) (Zong et al., 2003). L'algoritmo proposto è composto da tre passi fondamentali (Figura 2.3):

- Il segnale viene inizialmente filtrato utilizzando un filtro passa-basso ricorsivo del secondo ordine al fine di eliminare il rumore ad alta frequenza che potrebbe interferire con l'individuazione degli *onset*. La funzione di trasferimento e la risposta in frequenza del filtro sono riportate di seguito:

$$H(z) = \frac{(1-z^{-5})^2}{(1-z^{-1})^2}, \quad (2.1)$$

$$|H(\omega T)| = \frac{\sin^2(3\omega T)}{\sin^2(\omega T/2)}, \quad (2.2)$$

- Successivamente, la funzione di somma delle pendenze *Slope Sum Function* (SSF) viene definita come segue:

$$z_i = \sum_{k=i-w}^i \Delta u_k, \quad \Delta u_k = f(x) = \begin{cases} \Delta y_k: \Delta y_k > 0 \\ 0: \Delta y_k \leq 0 \end{cases} \quad (2.3)$$

dove w è la lunghezza della finestra che si sta considerando, i è l' i -esimo istante di tempo considerato e y_k è il segnale filtrato ricavato nel punto precedente. In questo modo si vuole aumentare la pendenza positiva delle onde pressorie, eliminando la restante parte del segnale. Gli *onset* presenti sulla SSF sono generalmente coincidenti con gli *onset* pressori e l'individuazione di tali *onset* sulla funzione SSF risulta semplificata;

- Infine, l'individuazione degli *onset* di ciascun battito viene ottenuta attraverso una serie di regole decisionali. Innanzitutto, si deve individuare l'impulso SSF e a tale scopo si utilizza una soglia adattativa. La soglia viene inizializzata a un valore pari a 3 volte il valor medio della funzione SSF calcolato sui primi 10 secondi. La soglia è quindi aggiornata in modo adattativo sulla base del valor massimo in corrispondenza di ciascun ciclo cardiaco individuato sulla SSF e determinata come pari al 60% del suo valore di base. Se il segnale SSF supera la soglia, l'algoritmo cerca, all'interno di una determinata finestra temporale

nell'intorno di quel determinato punto, un valore di minimo e un valore di massimo; la rilevazione di quell'impulso SSF viene tenuta in considerazione solo se la differenza tra il suo valore di massimo e il suo valore di minimo è maggiore di una certa quantità.

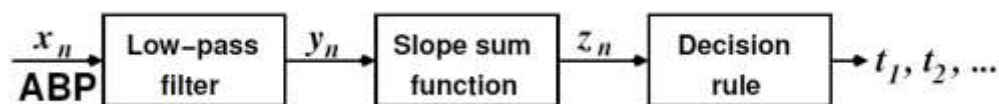


Figura 2.3 Diagramma di flusso dell'algoritmo per l'identificazione degli onset. Figura tratta da Zong et al. (2003).

Una volta individuati gli *onset* dei segnali ABP e LVP, è stato possibile estrarre le serie temporali battito-battito di alcuni parametri caratteristici dell'onda di pressione arteriosa, utilizzando la funzione proposta da J.X. Sun et al. (2006). In particolare, gli indici estratti sono:

- Periodo cardiaco (*'heart period'* – HP), calcolato come la differenza tra i valori degli istanti temporali di due *onset* consecutivi. Questa distanza è considerata paragonabile all'intervallo RR, la distanza tra due picchi R successivi nel segnale ECG. La serie HP è stata calcolata a partire dalla sola pressione aortica, essendo tale distanza temporale simile in quale ABP misurata sull'albero arterioso
- Pressione arteriosa sistolica (*'systolic arterial pressure'* - SAP), calcolata come il valore massimo all'interno di ciascun battito;
- Pressione arteriosa diastolica (*'diastolic arterial pressure'* - DAP), calcolata come il valore minimo all'interno di ciascun ciclo cardiaco;
- Pressione arteriosa media (*'mean arterial pressure'* - MAP), calcolata come il valor medio di ciascun battito;
- Pressione pulsatoria (*'pulse pressure'* - PP), calcolata come SAP-DAP.

Un esempio di identificazione dei punti fiduciali di pressione su un tratto del tracciato di pressione arteriosa di un maiale viene mostrato in Figura 2.4.

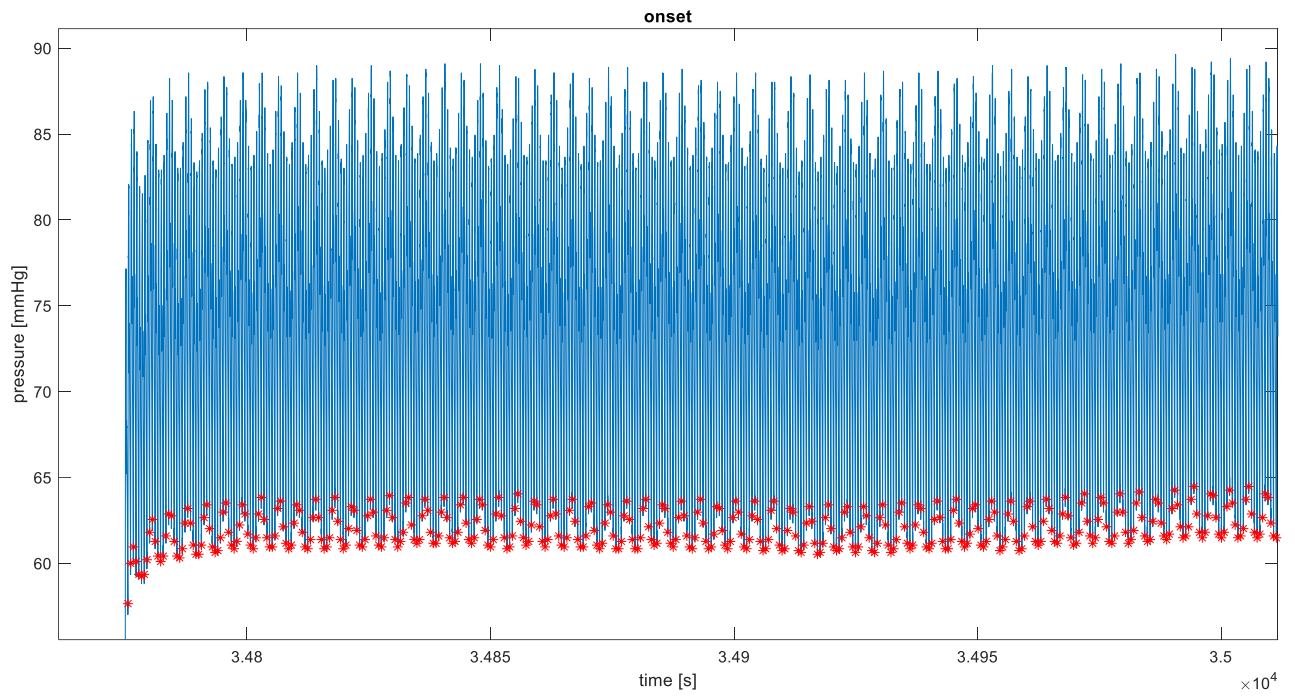


Figura 2.4 Segnale di pressione arteriosa aortica [mmHg] di un maiale in stato di shock. Sono evidenziati gli onset che hanno consentito la successiva estrazione delle serie battito-battito con gli asterischi rossi.

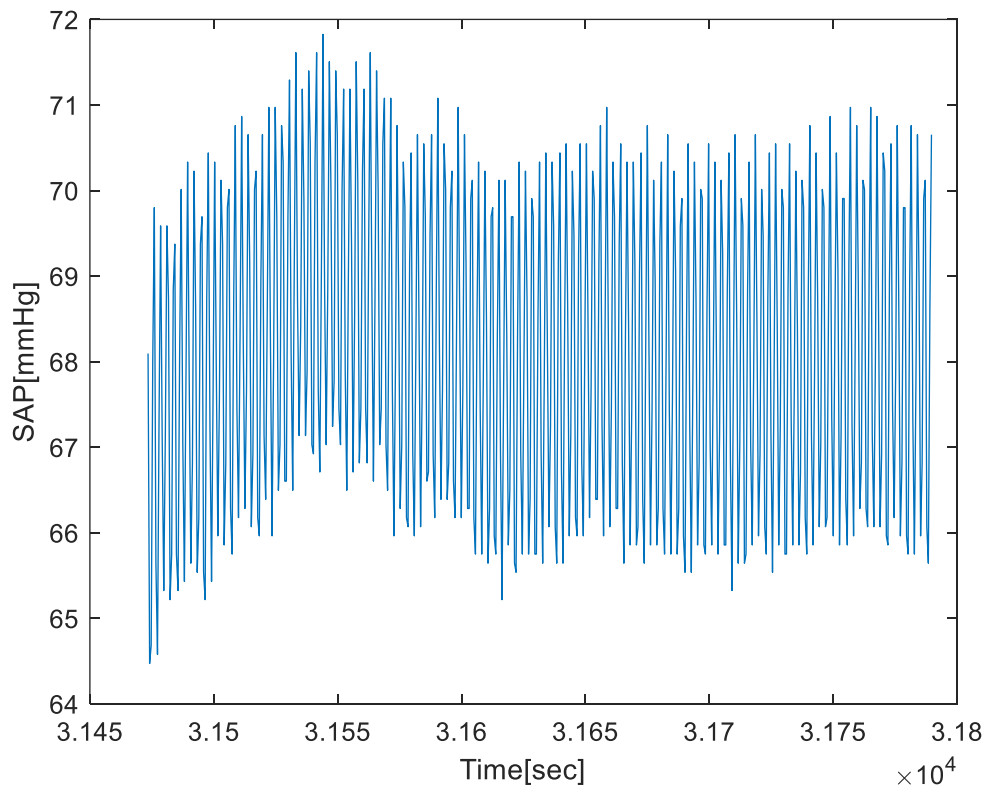


Figura 2.5 Esempio di serie SAP [mmHg] estratta da un segnale di pressione.

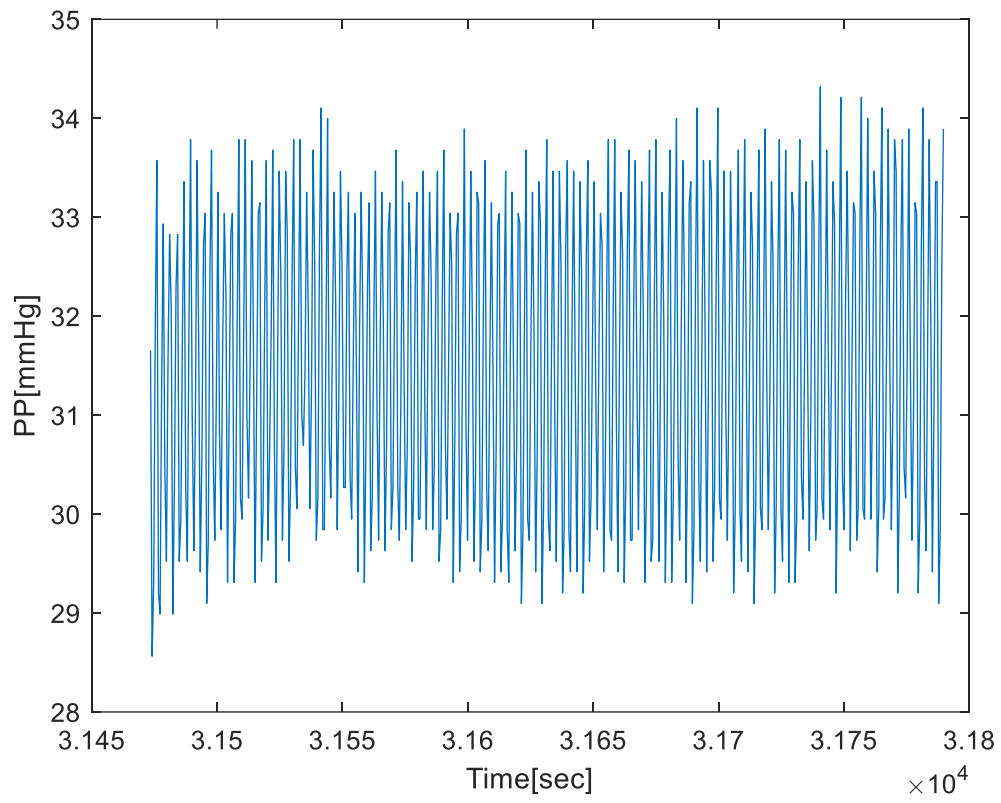


Figura 2.6 Esempio di serie PP [mmHg] estratta da un segnale di pressione.

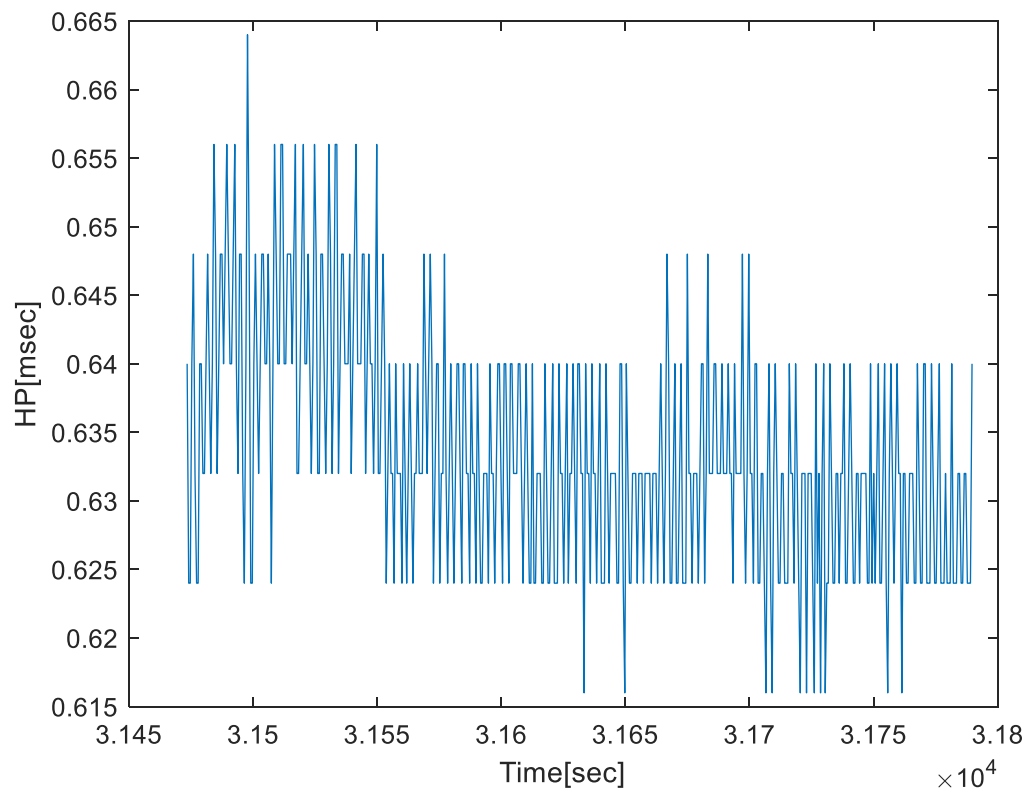


Figura 2.7 Esempio di serie HP [msec] estratta da un segnale di pressione.

2.3 Analisi della qualità del segnale

Dal momento che le serie fisiologiche possono essere corrotte da artefatti, battiti ectopici o rumore, le serie *'beat-to-beat'* estratte sono state, poi, analizzate utilizzando un algoritmo per valutarne la qualità, come proposto in Sun et al. (2006) al fine di determinarne l'affidabilità. Lo schema a blocchi del processo è descritto in Figura 2.8.

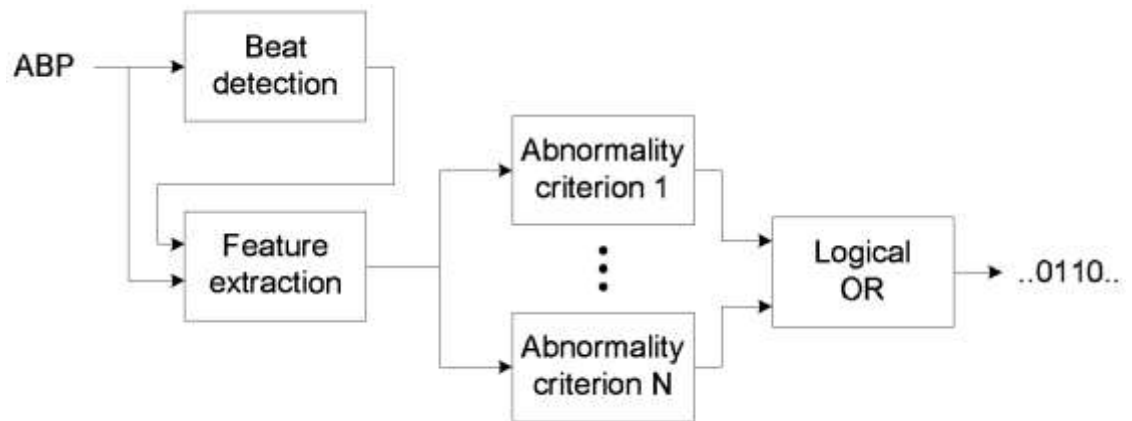


Figura 2.8 Schema a blocchi dell'algoritmo di valutazione di qualità del segnale. L'input è una forma d'onda pressoria (ABP). L'output è una stringa binaria, che assegna un valore (no flag=0, flag=1) a ciascun battito della forma d'onda ABP. Figura tratta da Sun et al. (2006).

Le caratteristiche di ogni battito vengono valutate sulla base di una serie di criteri di anomalia, che tengono conto di fattori quali il livello del rumore, gli intervalli fisiologici e le variazioni tra un battito e il successivo. L'output per ciascun criterio di anomalia è binario. Esso ha valore:

- "0" se il battito non presenta anomalie in merito a quella specifica caratteristica;
- "1" se sono presenti delle anomalie relative a quella specifica caratteristica.

L'output finale dell'algoritmo, che è un indice di anomalia (*'signal abnormality index'* - SAI), è dato dalla combinazione tramite l'operatore logico OR dei valori dei singoli criteri di anomalia. Pertanto questo algoritmo è stato applicato al fine di valutare la qualità dei tracciati. Le forme d'onda sono state valutate al fine di eliminare segmenti di segnale affetti da artefatti, rumore (ad esempio legato alla modalità di acquisizione del segnale, allo spostamento del catetere utilizzato per le misure), battiti ectopici, outliers.

Ogni segnale è stato sottoposto ad ispezione visiva dopo l'applicazione dell'algoritmo di valutazione della qualità, un esempio è illustrato in figura 2.9. Sono stati valutati spezzoni di 5 minuti. Spezzoni di segnale riportanti un elevato numero di battiti anomali sono stati scartati per le

analisi successive (soglia all'85%). Singoli battiti ectopici presenti in maniera isolata negli andamenti non sono stati invece scartati dall'analisi.

Per garantire coerenza temporale tra le varie forme d'onda (aortica, radiale, femorale), laddove è stato eliminato un segmento di 5 minuti in un tracciato si è eliminato lo stesso segmento anche agli altri due segnali pressori. La coerenza temporale tra i segnali è fondamentale per le ulteriori analisi svolte e al fine di avere le serie, estratte dalle tre forme d'onda, allineate temporalmente.

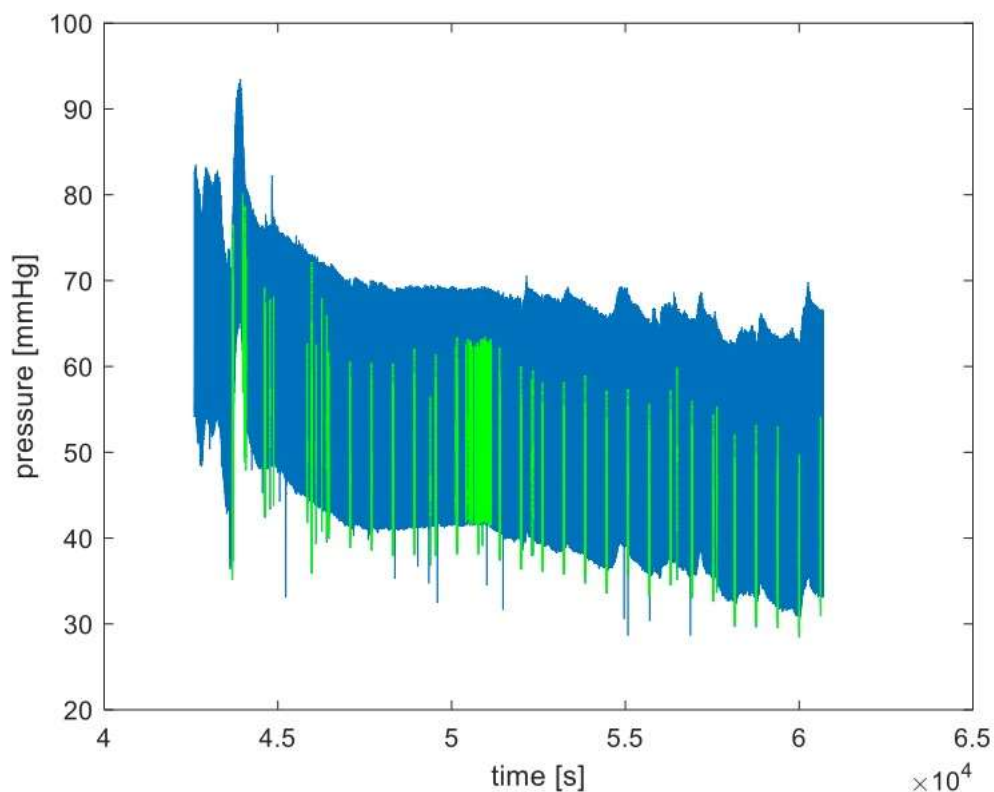


Figura 2.9 Esempio di applicazione dell'algoritmo di qualità su un tracciato di pressione arteriosa. In verde i battiti riconosciuti come artefatti o non di qualità sufficiente.

2.4 La gittata cardiaca e la costante temporale τ

Con il termine '*cardiac output*' (CO) si intende la gittata cardiaca, definita come la quantità di sangue pompata dal cuore ogni minuto in aorta. Monitorare il CO permette di avere un'informazione più accurata dello stato circolatorio del paziente (Reisner et al., 2011). La misura diretta della gittata cardiaca richiede l'utilizzo di un flussimetro, che deve essere collocato

chirurgicamente attorno a un vaso. Tale tecnica si rivela pertanto molto invasiva e pertanto non applicabile per il monitoraggio clinico, ma solo in studi animali. Ad oggi la tecnica utilizzata comunemente nella pratica clinica e considerata come *gold standard* è quella della termodiluizione. Si inietta una quantità predefinita di un indicatore termico, generalmente una soluzione salina fredda. L'infusione viene fatta solitamente in vena cava e si rileva la variazione di temperatura in arteria polmonare o femorale (termodiluizione transpolmonare). Maggiore è la velocità di diluizione della soluzione, maggiore è il valore di CO. La termodiluizione ha come svantaggio principale quello di non consentire una stima continua della gittata cardiaca, ma solo puntuale, e nel caso della termodiluizione con il catetere di Swan-Ganz richiede la cateterizzazione dell'arteria polmonare, procedura ritenuta rischiosa e quindi usata solo in un sottogruppo di pazienti (Connors et al., 1996).

Esiste una serie di metodi di stima del CO minimamente invasivi. La maggior parte di questi stima il CO a partire dall'analisi della forma d'onda della pressione arteriosa (ABP), e sono già disponibili a livello commerciale [Sun et al, anno] [Mukkamala et al, anno]. La stima della gittata cardiaca a partire dalla forma d'onda della pressione arteriosa (ABP) presenta una serie di vantaggi:

- ABP è ottenibile per via mini o non invasiva
- ABP viene misurata di routine in ICU (ad esempio, l'ABP periferica viene misurata tramite cateteri arteriosi)
- ABP viene misurata in maniera continua permettendo una stima continua di CO
- Non è richiesta una strumentazione costosa

Tra i metodi non invasivi per il calcolo di CO, e quindi il monitoraggio dello stato circolatorio si trova, ad esempio: '*Modelflow Algorithm*' (CO-MP), che permette di stimare la gittata cardiaca applicando ciascun battito di ABP ad un modello arterioso non lineare a tre elementi; CO-EBI permette attraverso la bioimpedenza elettrica cardiografica di stimare CO correlando i cambiamenti di impedenza toracica con i cambiamenti nel volume di sangue toracico dovuti all'eiezione e al riempimento del cuore. Il CO può essere infine calcolato a partire dalla conoscenza della costante temporale di decadimento del modello di Windkessel, cioè τ . Tale parametro è calcolabile, ad esempio, usando una tecnica di fitting esponenziale (Mukkamala et al., 2010).

In particolare, in questa tesi è stato utilizzato un metodo proposto in letteratura per stimare i valori di CO a partire da una forma di pressione arteriosa misurata a livello radiale che è stata definita LTIA ('*Long Time Interval Analysis*') (Zhang e Mukkamala, 2012).

2.5 Metodo LTIA

Molti metodi di calcolo di CO usano il segnale di 'Arterial Blood pressure' (ABP) periferico: ne deriva uno stimatore impreciso. Il segnale di ABP a livello centrale è un indicatore più affidabile sia del postcarico cardiaco sia della perfusione. I livelli di pressione a livello periferico non sono in grado di descrivere tempestivamente gli eventi emodinamici. Il problema principale è dovuto alla presenza delle onde riflesse: quando l'onda pressoria incontra un restringimento del vaso, biforcazioni o cambiamenti di calibro, si genera un'onda riflessa. Poiché la pressione in un dato punto dell'arteria è data dalla somma del flusso entrante e uscente da quel sito, l'onda di ABP è sempre più distorta allontanandosi al cuore. Esistono modelli in grado di stimare CO usando modelli che partono dalla pressione aortica centrale. Uno dei primi tra questi è quello di Bourgeois (1974). Questi modelli visualizzano l'albero arterioso come un modello Windkessel a due elementi: la compliance ('Arterial Compliance', AC), che approssima il comportamento delle grandi arterie, e la resistenza periferica ('Total Peripheral Resistance', TPR) che modella le piccole arterie. Il segnale di pressione centrale decade come un esponenziale con costante di tempo τ , pari al prodotto di TPR e AC. Se si assume AC costante ad ogni ciclo cardiaco, viene calcolata τ e la stima di CO è derivata a meno di un fattore $1/AC$ come:

$$CO \propto \frac{MAP}{\tau} \quad (2.4)$$

in cui MAP rappresenta la pressione arteriosa media.

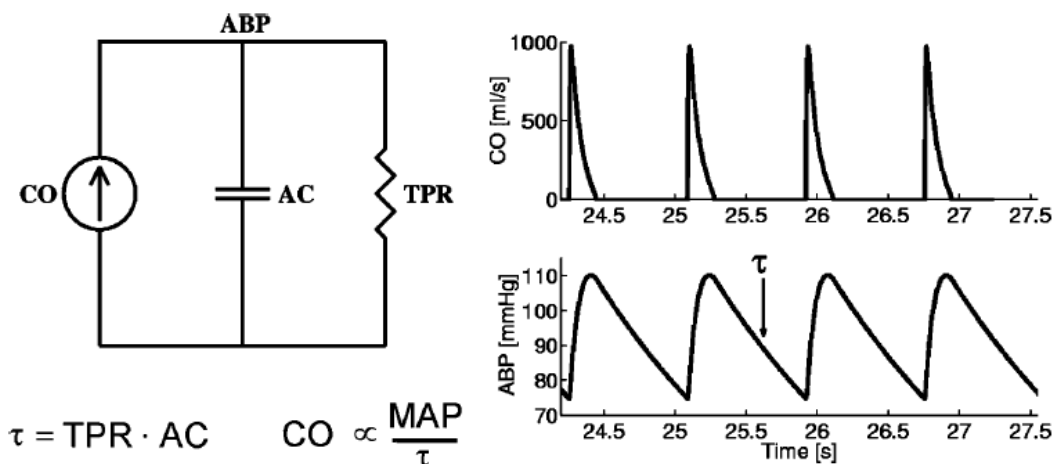


Figura 2.10 In accordo con il modello Windkessel (a sinistra), ABP decade come un esponenziale puro durante ciascun intervallo diastolico con una costante temporale (τ) pari al prodotto di TPR e la costante AC in caso in cui il fenomeno delle onde riflesse trascurabile come in aorta addominale. Tratto da Mukkamala et al. (2005).

Avendo come scala temporale il singolo ciclo cardiaco però, non riesce ad ovviare al problema delle onde di riflessione e risulta quindi sottoposto a delle limitazioni. Tuttavia i risultati ottenuti con questo modello ha portato a due considerazioni importanti:

- a livello centrale l'albero arterioso può essere visto come un singolo Windkessel invece che costituito da serbatoi infinitesimi a pressioni differenti. Infatti, le distanze tra l'aorta e i siti principali di riflessione nelle arterie ad alta resistenza vengono percepite in aorta come onde sfasate tra loro. Perciò onde con una lunghezza d'onda relativamente corta, le quali corrispondono a cambiamenti di ABP ad alta frequenza, interferiscono in maniera distruttiva così da diminuire la loro propagazione nell'aorta. Mentre le onde con una lunghezza d'onda maggiore che corrispondono a variazioni a bassa frequenza del segnale di ABP vanno a interferire in maniera costruttiva. Il punto chiave è che con il crescere della lunghezza d'onda dell'onda di propagazione le pressioni nei vari siti dell'arteria convergono allo stesso livello rendendo così plausibile il modello a singolo serbatoio. (Mukkamala et al.,2010).

- La compliance arteriosa (AC) è approssimativamente costante. Infatti essa è principalmente dovuta all'aorta, la quale è immersa nel muscolo liscio. Perciò cambiamenti nel tono vasomotore hanno solo un piccolo effetto sulla AC. Inoltre non è molto sensibile ai cambiamenti di ABP, è quindi possibile concludere che AC è costante in un ampio intervalli di valori di ABP e in una scala temporale che va da mesi ad anni (Mukkamala et al.,2010)

Il metodo '*Long Time Interval Analysis*' (LTIA) proposto nel lavoro di Mukkamala et al. (2003) si basa sull'idea di ovviare al problema delle onde di riflessione sfruttando il fatto che queste diminuiscono abbassando la frequenza o innalzando la scala temporale. Perciò il modello di Windkessel diventa un più che valido modello di rappresentazione su scale temporali più lunghe. La tecnica analizza quindi l'onda di ABP su più cicli cardiaci e quindi su un intervallo di tempo sufficientemente lungo per determinare il decadimento esponenziale puro.

L'algoritmo si basa sulla ricostruzione del segnale di contrazione cardiaca $x(t)$ tramite un treno di impulsi costruito in modo che ogni impulso è posto all'istante di tempo corrispondente all'onset individuato sull'onda ABP ed ha un area pari al valore di PP corrispondente. Quindi viene stimata la funzione di trasferimento tra la forma d'onda dell'ABP $y(t)$ e il treno di impulsi $x(t)$, in modo da ottenere la risposta all'impulso $h(t)$ che convoluta con $x(t)$ dia un segnale che meglio interpoli $y(t)$ ai minimi quadrati. Per definizione quindi la risposta all'impulso rappresenta la risposta

dell'ABP ad una singola contrazione cardiaca (normalizzata approssimativamente dal valore medio di PP).

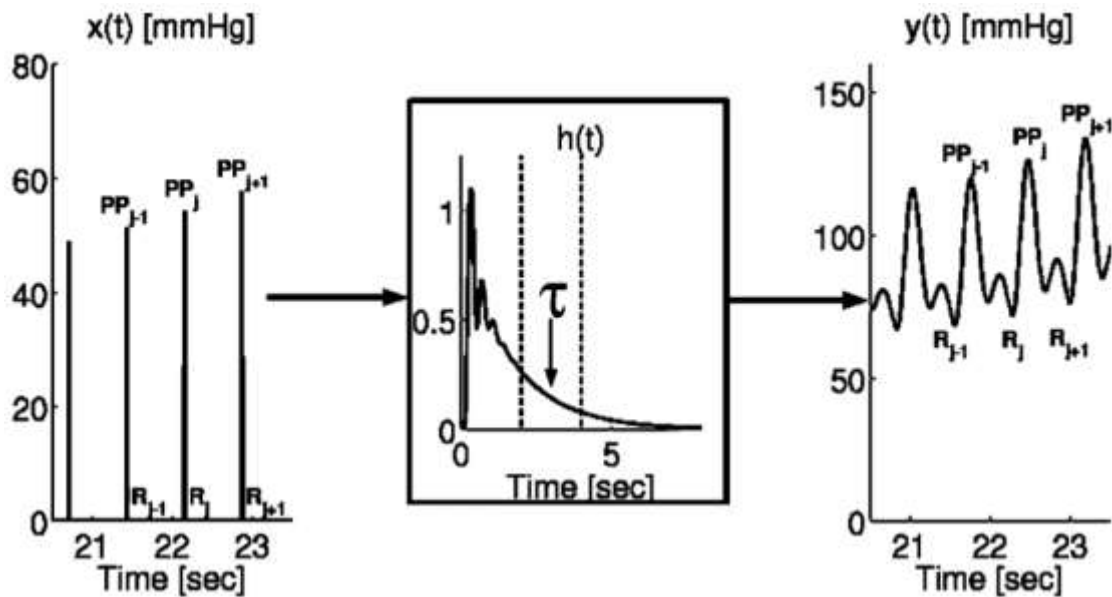


Figura 2.11 Rappresentazione della tecnica per monitorare il CO da una forma d'onda ABP periferica.

La funzione di risposta all'impulso viene stimata utilizzando il seguente modello esogeno autoregressivo (ARX):

$$y(t) = \sum_{k=1}^m a_k y(t-k) + \sum_{k=1}^n b_k x(t-k) + e(t) \quad (2.5)$$

dove $e(t)$ è l'errore residuo non misurato, a_k e b_k sono i parametri incogniti e m ed n definiscono l'ordine del modello. Per stimare i parametri del modello autoregressivo il segnale selezionato è stato diviso in due parti, una utilizzata per modellizzare il segnale e la seconda per la validazione.

Una volta stabilito l'ordine del modello tramite il criterio di minimizzazione del 'Minimum Description Length' (MDL), i parametri a_k e b_k sono stimati attraverso la minimizzazione ai minimi quadrati (*least-squares*, LS) dell'errore residuo. Con i parametri così stimati la risposta all'impulso viene calcolata secondo la seguente formula:

$$h(t) = \sum_{k=1}^m a_k h(t-k) + \sum_{k=1}^n b_k \delta(t-k) \quad (2.6)$$

dove $\delta(t-k)$ è la funzione impulso unitaria. Un esempio di andamento di $h(t)$ è mostrato nella sottostante figura.

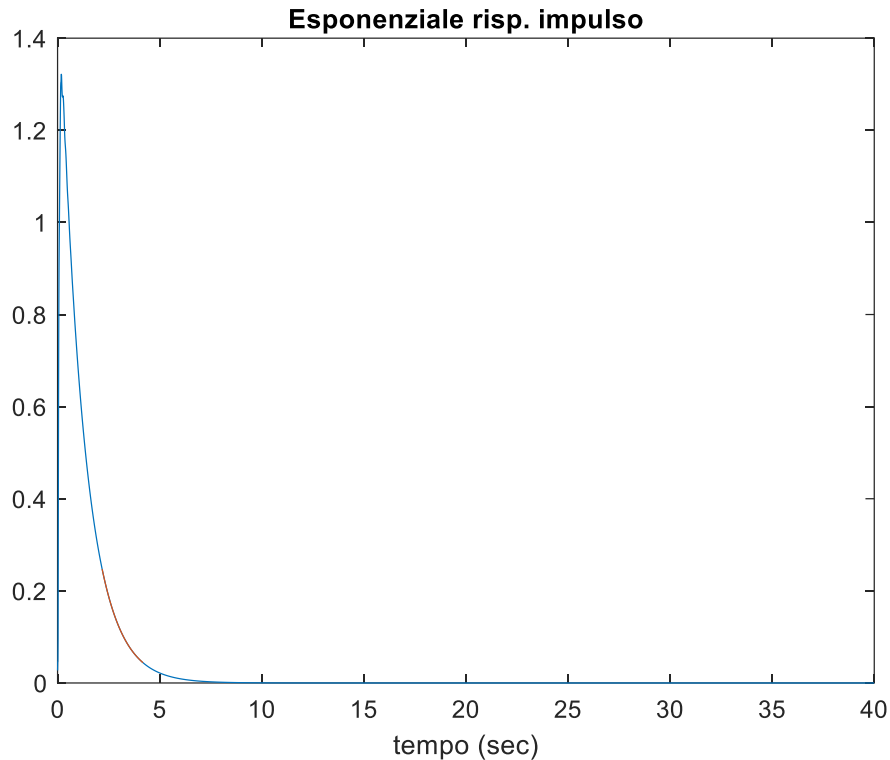


Figura 2.12 Esempio di risposta all'impulso

A questo punto, stimato l'andamento della risposta all'impulso, la costante temporale di Windkessel τ è determinata in un intervallo temporale di $h(t)$ che va da 2 a 4 s dopo il valore massimo sfruttando la seguente equazione:

$$h(t) = Ae^{t/\tau} + w(t) \quad (2.7)$$

dove i parametri A e τ sono stimati attraverso la minimizzazione ai minimi quadrati dell'errore residuo non misurato, $w(t)$.

Una volta nota la costante di Windkessel τ , il CO viene determinato attraverso la legge di Ohm:

$$CO \propto \frac{\sum_{t=1}^N y(t)}{N \tau} \quad (2.8)$$

cioè come rapporto tra il segnale ABP mediato su un numero N di campioni e la costante di tempo di Windkessel.

Inoltre a partire dal modello LTIA è stato introdotto un ulteriore modello: LTIA normalizzato. La normalizzazione prevede di dividere la stima del CO fatta con il modello LTIA per un fattore pari a (SAP + DAP). Studi condotti al fine di verificare l'efficacia della tecnica LTIA a partire da un dato database, MIMIC II, hanno evidenziato che il metodo LTIA, rispetto ad altre tecniche di stima di CO,

essendo valutato su un intervallo di scala temporale superiore al singolo battito, non riesce a modellizzare correttamente le rapide variazioni di gittata, che portano ad oscillazione ad alta frequenza. L'accuratezza, rispetto ad altri metodi, risulta maggiore per variazioni lente, che portano oscillazioni a basse frequenze. Per variazioni di CO attorno al 10% il metodo LTIA normalizzato risulta il più accurato, mentre per fluttuazioni più ampie la stima migliore è fornita dal metodo LTIA (Zhang et al., 2012).

2.6 Analisi temporale e analisi spettrale

Al termine della fase di *preprocessing* i segnali di ABP sono stati suddivisi in finestre senza sovrapposizioni della durata di 5 minuti. Su ciascuna finestra sono stati calcolati due indici, il valore medio e la deviazione standard per SAP, DAP, PP e HP. Inoltre su ciascuna finestra è stato applicato l'algoritmo di calcolo del parametro τ corrispondente. Questa fase di estrazione degli indici temporali è stata svolta al fine di poter visualizzare per ogni parametro vitale l'andamento medio e poter mettere a confronto i trend.

Sulle stesse serie temporali, è stata quindi eseguita l'analisi nel dominio delle frequenze delle serie battito-battito DAP, SAP e HP. Ciascuna serie è stata ricampionata alla frequenza di 2 Hz tramite una tecnica *zero order hold*, ovvero senza un'interpolazione lineare. È stato quindi applicato alle serie ricampionate la rimozione dei trend con una funzione interpolante polinomiale di ordine 10. Una delle ipotesi di base per una stima corretta dello spettro è la stazionarietà del segnale, condizione che potrebbe non essere raggiunta in presenza di eventuali artefatti. Pertanto è stata verificata su ciascuna finestra la stazionarietà tramite il test di Kwiatkowski, Phillips, Schmidt and Shin (KPSS), scartando dall'analisi spettrale le serie non stazionarie. Sulle finestre analizzabili è stato quindi stimato lo spettro utilizzando una funzione che applica un'analisi spettrale autoregressiva.

Una volta stimato lo spettro sono state considerate due bande spettrali: una banda compresa tra 0.04 e 0.15 Hz per quanto riguarda le basse frequenze (*'low frequency'*, LF) e una tra 0.15 e 0.4 Hz per quanto riguarda le alte frequenze (*'high frequency'*, HF). Tali valori sono stati scelti a partire da precedenti lavori relativi ai parametri cardiovascolari in maiali in stato di shock settico (Carrara et al., 2018). In particolare, le oscillazioni LF sono legate all'attività vasomotrice, le oscillazioni HF sono connesse all'attività respiratoria (Malliani et al., 1994), che in questo modello sperimentale è alterata per via della ventilazione meccanica.

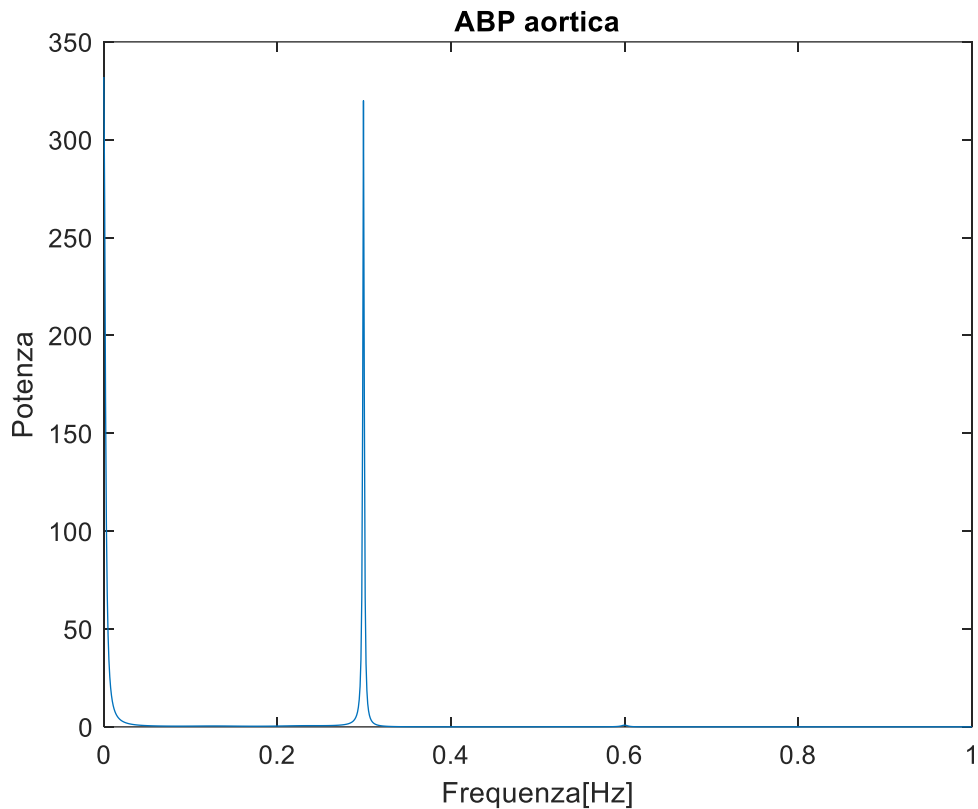


Figura 2.13 Esempio di spettro in frequenza di un segnale di pressione aortica a baseline .

Gli indici spettrali calcolati a partire dagli spettri in potenza sono stati la potenza alle basse frequenze (LF); la potenza alle alte frequenze (HF); la potenza totale (TP), che rappresenta l'area totale sottesa dallo spettro e che è una misura della variabilità complessiva della serie; la potenza relativa nella banda delle basse frequenze, LF%, calcolata come $LF / (TP - VLF) \%$, in cui VLF ('very low frequency') rappresenta la potenza del segnale calcolato nella banda tra 0 e 0.04 Hz.

2.7 *Analisi statistica*

Per gli indici statistici (media e varianza) calcolati sulle serie temporali e gli indici dell'analisi in frequenza è stato considerato il valore medio del parametro in condizione di baseline, corrispondente al time point T1, e il valore medio degli ultimi tre valori in condizione di shock, corrispondente a T2. I risultati sono stati espressi come mediana (25° percentile, 75° percentile). Al fine di poter verificare variazioni significative nei valori degli indici tra T1 e T2 all'interno della popolazione costituita dai 6 maiali, è stato eseguito il test accoppiato Wilcoxon Signed Rank. Sono stati considerati significativi p-values < 0.05.

3 RISULTATI

3.1 Analisi nel dominio del tempo

3.1.1 Andamenti dei parametri emodinamici

I dati dell'esperimento animale utilizzato per la presente tesi sono stati in parte utilizzati anche in precedenti studi (M. Carrara et al., 2020). La tabella 3.1 riporta valori in termini di mediana, 25° e 75° percentile relativi ai parametri emodinamici, alle variabili cliniche, la compliance arteriosa totale stimata (AC) e la resistenza totale periferica (TPR). I valori sono stati calcolati in tre dei time point identificati durante l'esperimento: T1, a baseline; T2, dopo lo sviluppo dello shock settico; T4, dopo una fase di terapia basata sulla somministrazione di fluidi e noradrenalina. Il time point T3 si riferisce alla fase successiva alla sola somministrazione di fluidi ma non è stato considerato nei lavori di ricerca successivi dal momento che 2 dei 6 animali sono stati rianimati subito anche con vasopressori.

Seppur non considerati nel presente studio, importante è la valutazione dei parametri clinici. Nello studio viene evidenziato un incremento dei valori di lattato (Lact) e una moderata riduzione di saturazione di ossigeno venoso misto (SvO₂) che denotano un metabolismo cellulare potenzialmente di tipo anaerobico e alterazioni microcircolatorie tipiche dello stato di shock.

	T1	T2	T4	Delta T2-T1	Delta T4-T1	Delta T4-T2
Aortic						
PP	29.9 (28.2,31.6)	31.1 (26.3,34.6)	51.5 (48,61.1)*	3.1 (-1.6,4.5)	22.8 (19.8,32.2)	19.7 (18.9,27.1)
SAP	84.1 (79.3,86.3)	65.6 (62.1,69.5)	94.9 (92.3,100.3) ^{§§}	-18.3 (-20.9,-16.3)	9.3 (6.2,14)	26 (24.3,32.3)
DAP	55.2 (50.5,56.6)	35.1 (33.6,35.8)*	45 (30,48.7)	-18.5 (-24.4,-15)	-11.9 (-18.3, -9)	7.5 (-1.2,12.9)
MAP	70.1 (65.9,71.8)	45.3 (45.2,45.5)*	67.6 (53.2,70.5)	-23.3 (-26.5,-18.9)	-3.5 (-12.9,0.6)	18.8 (7.8,23.9)
Femoral						
PP	44.9 (41.1,47.1) ^{##}	25.5 (22,26.2)*	34 (28.7,42.1) [#]	-19.2 (-24.3, -14.1)	-12.5 (-19.9,2.9)	7.4 (2.6,17)
SAP	102.4 (95.1,105.3) ^{##}	62.2 (55.5,63.5)**	82.4 (70.3,92.5)	-39.6 (-41.8,-36.5)	-22.5 (-30.4,-8)	14.9 (9.2,31.5)
DAP	57.5 (51.2,58.5)	36.6 (35.8,38.4)**	44.2 (40.7,49.7)	-19.8 (-21.1,-16.6)	-10.7 (-11.6,-8.5)	8.3 (4.8,14.4)
MAP	74.9 (68.7,75.8)	47.9 (45.4,49.8)**	64.4 (54.8,66.9)	-25.4 (-28,-23.3)	-9.1 (-16.4,-5.2)	14.9 (6.9,24.4)
Radial						
PP	46.8 (41.3,48.6) ^{##}	29.7 (22.8,34.4)	56.4 (46.8,63.3) [§]	-14.4 (-24.6,-13.8)	8.1 (-1.8,22.5)	27.8 (11.2,36.5)
SAP	100.6 (96.5,101.7) ^{##}	64 (60.8,68.6)*	97.4 (80.6,110.9)	-36.7 (-40.2,-34.1)	-5.5 (-15.9,11.2)	32 (12,47.3)
DAP	54.6 (51.5,55.3)	36.3 (33,38)**	41 (35,47.6)	-17.7 (-22,-14.9)	-13.7 (-14.1,-11.3)	4.4 (2.6,10.8)
MAP	71.6 (66.9,73)	45.6 (44.9,46.1)**	62.3 (52.8,68.9)	-25.4 (-27.8,-21.2)	-9.4 (-12.9,-4.3)	16 (6.7,23.5)
HR	82.1 (76.3,85.3)	131 (103,158.8)	146 (144,150)*	43.4 (23.9,78.4)	66.9 (64.9,68.8)	12 (-13.5,44)
CO	5 (4.5,5.3)	2.97 (2.4,4.3) [§] ⁿ⁼⁵	9.5 (8.2,10.2) [§]	-1.9 (-2.2,-0.8) ⁿ⁼⁵	4.9 (2.8,6.3)	5.2 (4.4,6.3) ⁿ⁼⁵
SV	59 (52,60.5)	23.3 (20.1,36.8) ⁿ⁼⁵	65.5 (57.6,69.6) [§]	-29.5 (-35,-21.7) ⁿ⁼⁵	7.3 (-1.9,16.8)	34.3 (17,45) ⁿ⁼⁵
UO	1 (0.53,1.1)	0.1 (0.06,0.45)	0.22 (0.2,0.24)	-0.7 (-0.98,-0.2)	-0.8 (-0.9,-0.6)	0.1 (0,0.2)
Lact	0.9 (0.9,0.9)	1.7 (1.3,2.1)	2.45 (1.9,3.1)**	0.8 (0.4,1.2)	1.55 (1,2.2)	0.45 (0.1,1)
SvO₂	65 (61,69)	59.5 (53,68)	75 (68,78)	-6.5 (-11,1)	9 (3,15)	14.5 (-1,23)
PPV	8 (7,10)	22.5 (17,30)**	11.5 (11,12)	14 (9,20)	4 (2,6)	-10 (-13,-5)
AC (SV/PP)	1.98 (1.8,2.14)	0.88 (0.7,1.05) ^{n=5*}	1.17 (1.05,1.34)	-1.19 (-1.36,-0.85) ⁿ⁼⁵	-0.78 (-0.99,-0.48)	0.38 (-0.03,0.57) ⁿ⁼⁵
AC (area)	1.96 (1.62,2.07)	0.9 (0.74,1.33) ^{n=5*}	1.11 (0.95,1.17)	-0.79 (-1.29,-0.54) ⁿ⁼⁵	-0.8 (-1.12,-0.4)	0.19 (-0.3,0.35) ⁿ⁼⁵
TPR	1124 (1061,1286)	1217 (879,1626) ⁿ⁼⁵	568 (437,676) [§]	155 (-161,363) ⁿ⁼⁵	-572 (-870,-420)	-540 (-918,-447) ⁿ⁼⁵

Tabella 3.1 Valori dei parametri emodinamici, dati clinici, compliance arteriosa stimata (AC) e resistenza periferica totale (TPR) calcolati in corrispondenza di ciascun time point dell'esperimento. PP, pressione pulsatoria (mmHg); MAP, pressione media (mmHg); SAP, pressione sistolica (mmHg); DAP, pressione diastolica (mmHg); HR, frequenza cardiaca (bpm); CO, gittata cardiaca (l/min); SV, volume sistolico (ml); UO, diuresi (l); Lact, lattato (mmol/l); SvO₂, saturazione di ossigeno venoso misto (%); PPV, pulse pressure variation (%); AC, total arterial compliance (ml/mmHg); TPR, total peripheral resistance (dyne*s*cm⁵). T1, baseline; T2, shock; T4, dopo rianimazione con fluidi e noradrenalina. Wilcoxon signed test: *p < 0.05, **p < 0.01 rispetto a T1, § p-value < 0.05, §§ p-value < 0.01 rispetto a T2 (Friedman test p-value < 0.05). Mann-Whitney U-test: #p < 0.05, ##p < 0.01 rispetto alla pressione aortica per ogni time point.

Nel seguito sono riportati l'andamento medio temporale delle serie estratte a partire dalle pressioni, ovvero le serie temporali degli indici SAP, DAP, PP e HP per tutti i segnali di pressione misurati: centrale, cioè aortico, radiale e femorale.

Per la fase di baseline è stato condensato un unico valore, ottenuto tramite una media di alcuni spezzoni e rappresentativo della condizione emodinamica prima dell'induzione dello shock. Per tutti i trend l'istante zero corrisponde a quello di inizio dell'inoculazione delle feci intraddominali ('insult'). Segue l'andamento dell'indice considerato nella fase d'ingresso dello shock settico, periodo d'interesse nello studio. In ogni grafico gli andamenti relativi ai sei maiali risultano allineati in modo da rendere più semplice il confronto

Poiché però i tempi di inizio della rianimazione che rappresenta la fine della fase di shock, sono diversi per i sei maiali, gli andamenti terminano ad istanti temporali differenti. Si noti inoltre che al fine di garantire la coerenza temporale sono riportate anche eventuali finestre in cui non compare alcun valore, in quanto con un numero di artefatti eccessivo. Per ogni sito di misura della pressione considerato (aortica, femorale e radiale), viene presentato un grafico che raccoglie i sei trend sovrapposti.

Pressione arteriosa sistolica

Nei grafici riportati si osserva per tutti i soggetti considerati e per tutti i tre siti di misura una riduzione nel tempo del valore di pressione arteriosa sistolica (SAP), coerentemente alla condizione di vasodilatazione sistemica e ipotensione che si instaura durante la fase di shock. La riduzione della pressione inizia subito dopo l'insulto e procede progressivamente durante tutta la fase successiva.

		T1	T2	p_value
SAP [mmHg]	Aortic	83.6 (79.1, 84.9)	64.8 (60.8,69.5)	p<0.05
	Femoral	101.6 (94.4, 104.7)	61.1 (54.2, 71.8)	p<0.05
	Radial	100.6 (95.8,102.2)	62.6 (56.2, 64.3)	p<0.05

Tabella 3.2 Valori riportati come mediana (25°, 75° percentile) della serie SAP (mmHg) misurata a livello aortico, femorale e radiale in T1 (baseline) e T2 (shock). p-value calcolato con il test accoppiato Wilcoxon Signed Rank.

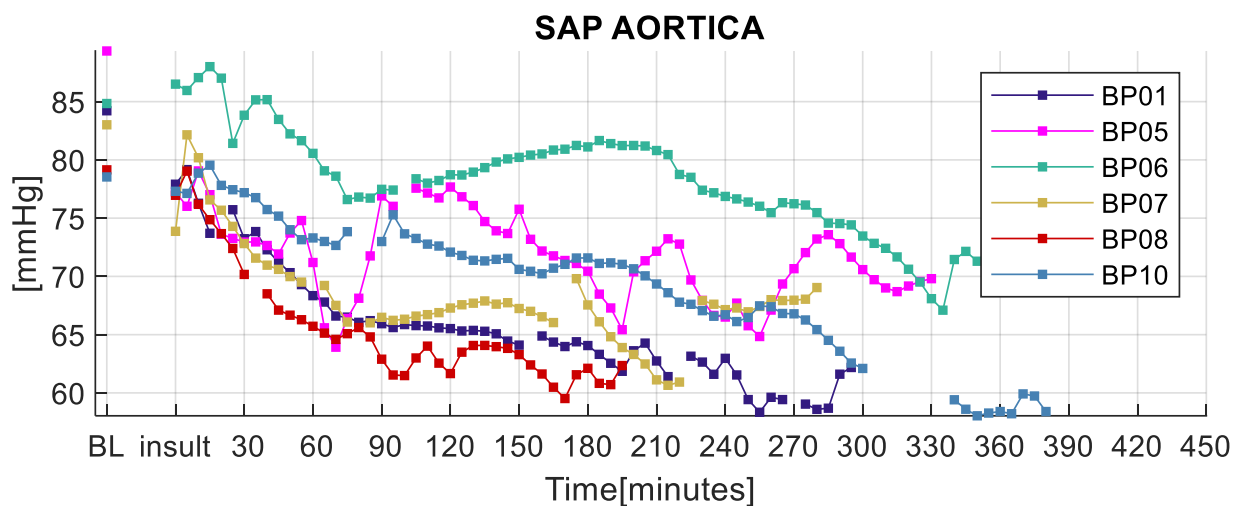


Figura 3.1 Andamento medio nel tempo della pressione sistolica (SAP) misurata a livello aortico per ciascun maiale.

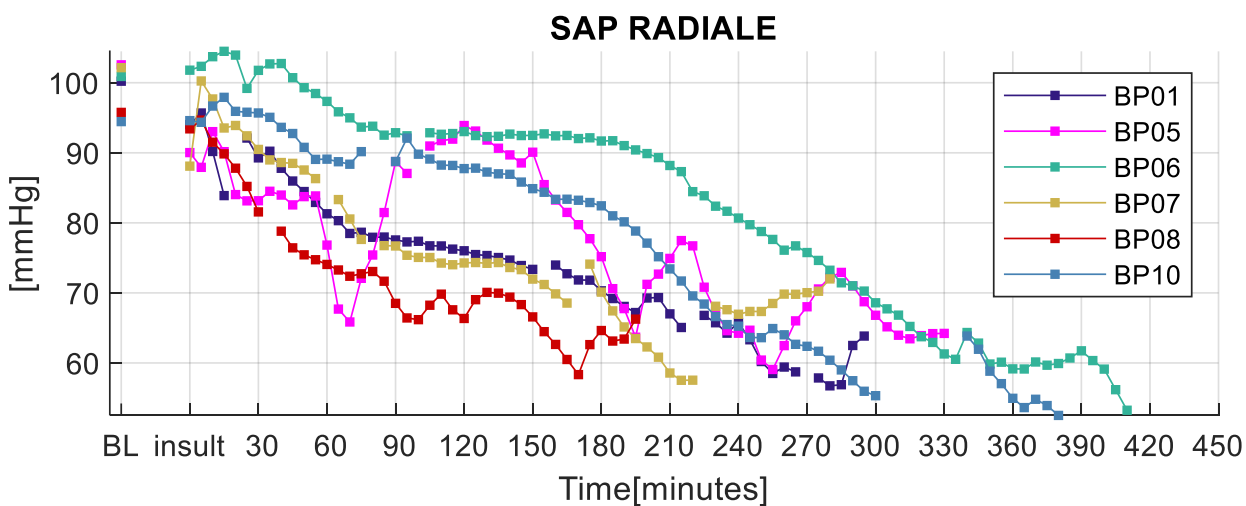


Figura 3.2 Andamento medio nel tempo della pressione sistolica (SAP) misurata a livello radiale per ciascun maiale.

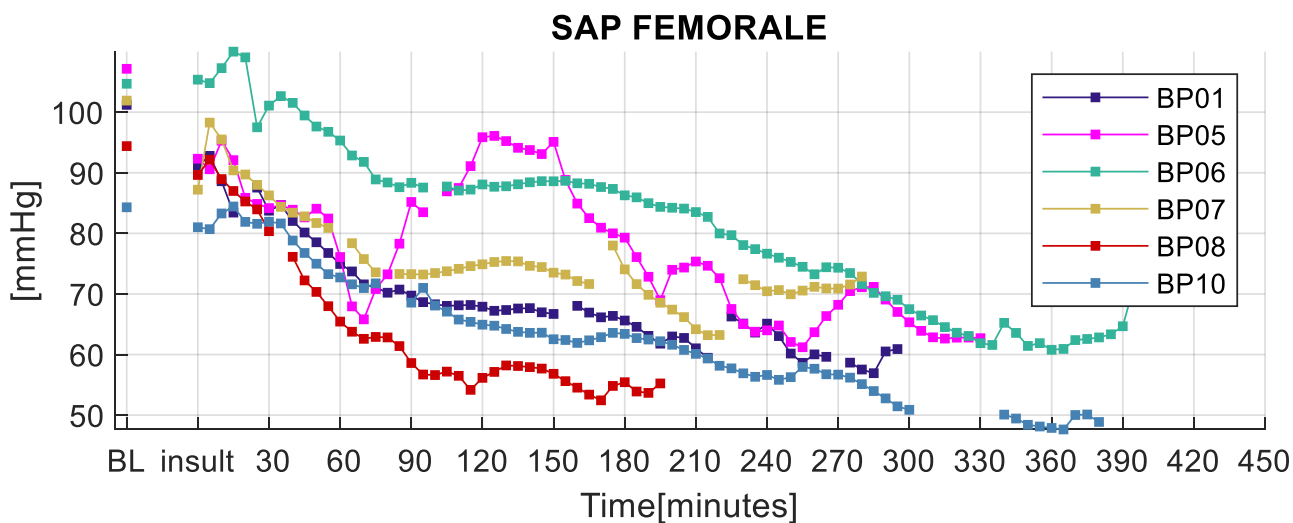


Figura 3.3 Andamento medio nel tempo della pressione sistolica (SAP) misurata a livello radiale per ciascun maiale.

Pressione arteriosa diastolica

Analogamente a quanto osservato per i valori di SAP, i grafici sottostanti mostrano un trend decrescente del valore di pressione arteriosa diastolica (DAP) a partire dall'induzione dello shock.

		T1	T2	p_value
DAP [mmHg]	Aortic	54.5 (50.9, 57)	35.2 (33.3, 35.9)	p<0.05
	Femoral	57.3 (50.9, 57.9)	35.2 (33.2, 35.9)	p<0.05
	Radial	53.4 (52.1, 56.6)	36,4 (35.1, 38.5)	p<0.05

Tabella 3.3 Valori riportati come mediana (25°, 75° percentile) della serie DAP (mmHg) misurata a livello aortico, femorale e radiale in T1 (baseline) e T2 (shock). p-value calcolato con il test accoppiato Wilcoxon Signed Rank.

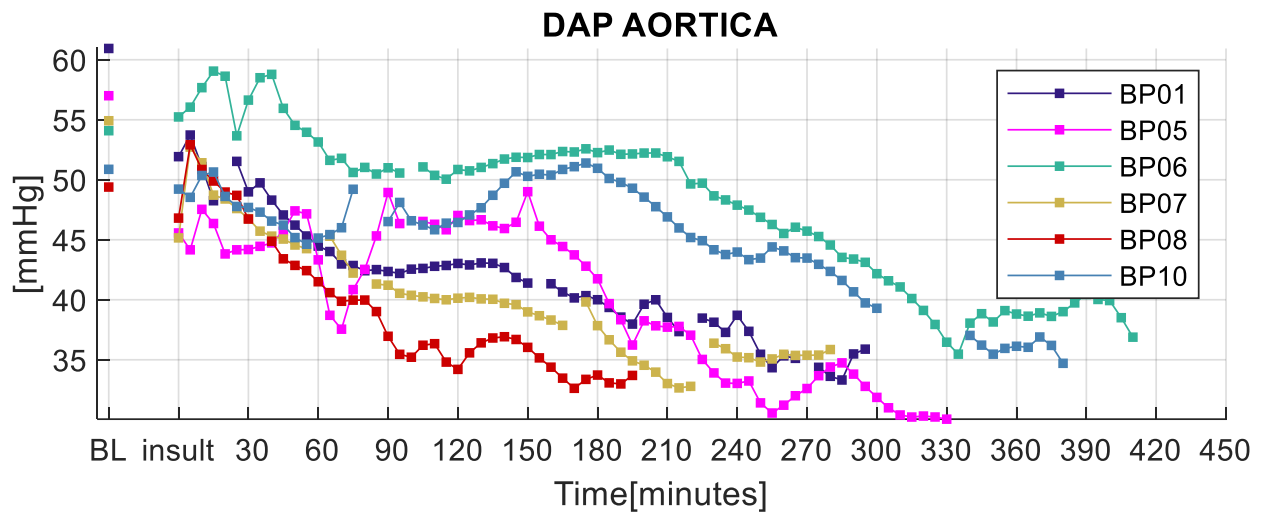


Figura 3.4 Andamento medio nel tempo della pressione diastolica (DAP) misurata a livello aortico per ciascun maiale.

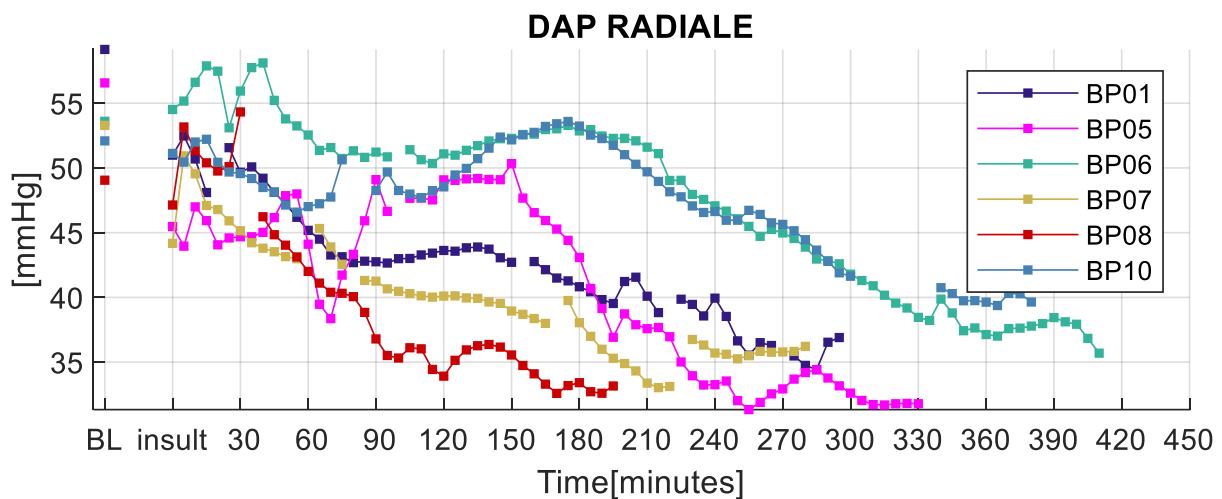


Figura 3.5 Andamento medio nel tempo della pressione diastolica (DAP) misurata a livello radiale per ciascun maiale.

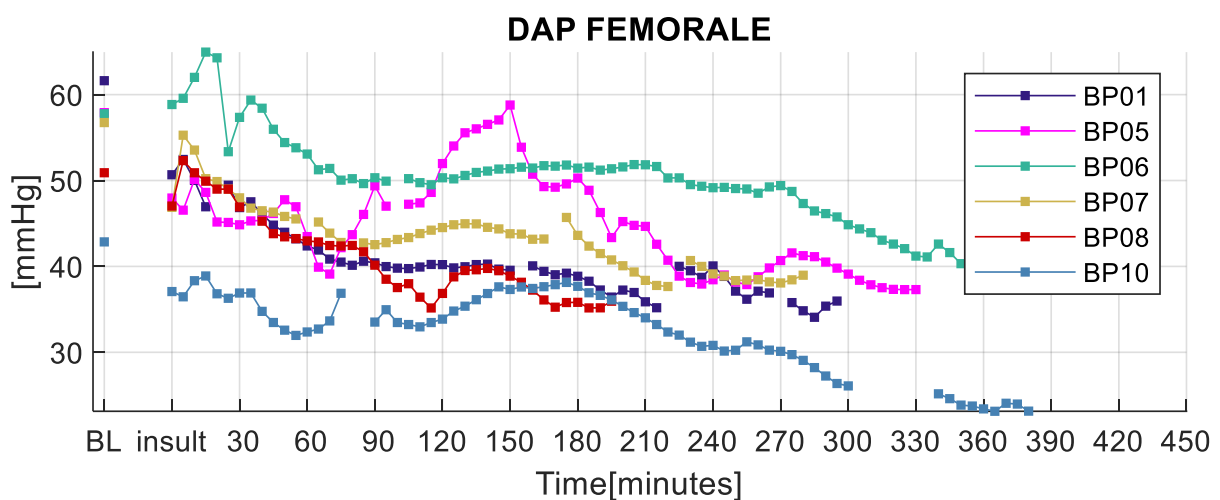


Figura 3.6 Andamento medio nel tempo della pressione diastolica (DAP) misurata a livello femorale per ciascun maiale.

Periodo cardiaco

La serie della durata del ciclo cardiaco (serie delle distanze dei picchi R), stimata come periodo cardiaco ('heart period', HP), come mostrano i risultati, ha un andamento indipendente dall'arteria considerata, se centrale o periferica. In tutti i maiali risulta una riduzione di HP ovvero un aumento della frequenza cardiaca a partire dall'insulto, a cui segue un'ulteriore riduzione in maniera più o meno accentuata a seconda del soggetto considerato. La riduzione di tale parametro è indicativa di un aumento della frequenza cardiaca, meccanismo compensatorio tipico della condizione di shock settico (R. Ramchandra et al., 2009).

		T1	T2	p_value
HP [s]	Aortic	0.7289 (0.700, 0.8004)	0.459 (0.3765, 0.5813)	p<0.05
	Femoral	0.7288 (0.700, 0.8004)	0.459 (0.3765, 0.5815)	p<0.05
	Radial	0.7288 (0.6968, 0.8004)	0.459 (0.3765, 0.5815)	p<0.05

Tabella 3.4 Valori riportati come mediana (25°, 75° percentile) della serie HP (sec) misurata a livello aortico, femorale e radiale in T1 (baseline) e T2 (shock). p-value calcolato con il test accoppiato Wilcoxon Signed Rank.

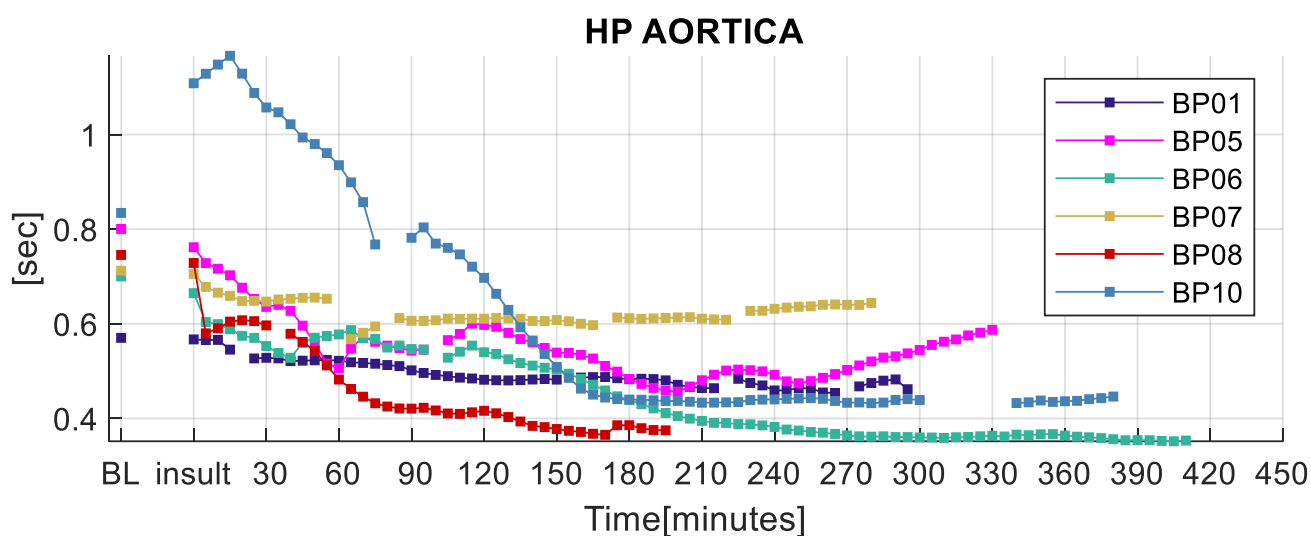


Figura 3.7 Andamento medio nel tempo di HP misurato a livello aortico per ciascun maiale.

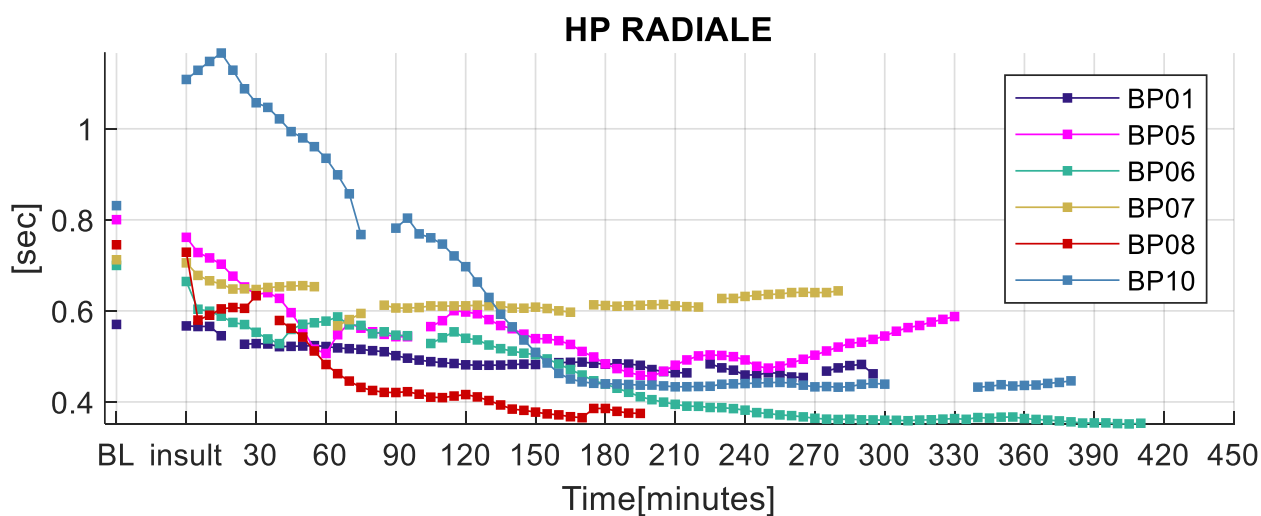


Figura 3.8 Andamento medio nel tempo HP misurato a livello radiale per ciascun maiale.

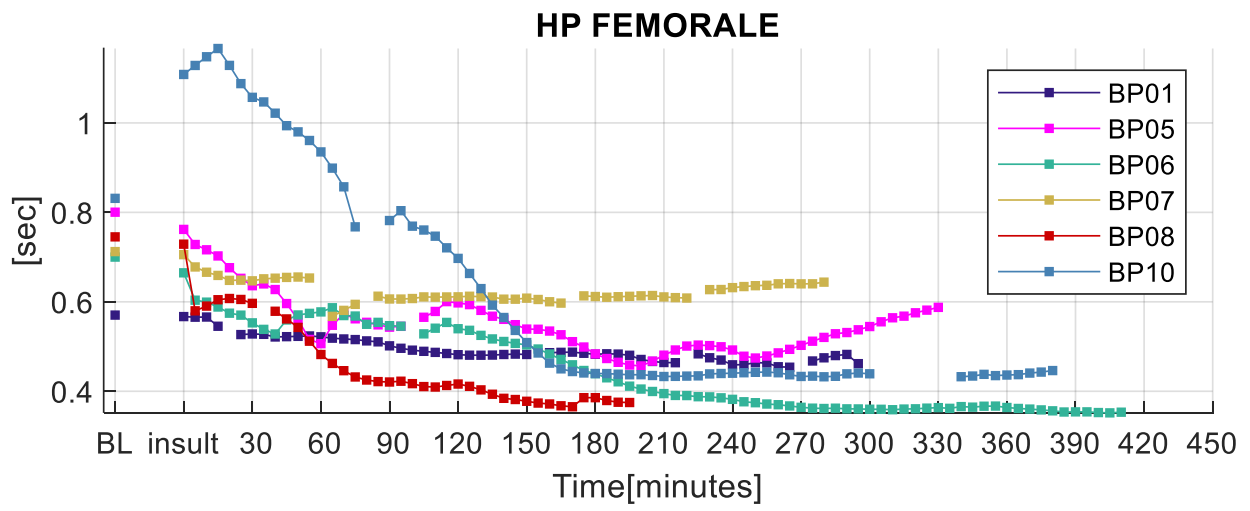


Figura 3.9 Andamento medio nel tempo HP misurato a livello femorale per ciascun maiale.

Pressione Pulsatoria

A differenza di quanto visto nelle serie precedenti, nel caso delle serie di pressione pulsatoria (*'pulse pressure'*, PP) si nota un disaccoppiamento (*'decoupling'*) nel comportamento tra livello centrale e periferico. A livello aortico si osserva, sebbene con alcune fluttuazioni nel tempo, un mantenimento, talvolta un incremento, del valore di PP, che dunque risulta stabile durante l'instaurarsi della condizione di shock. A livello radiale e femorale, invece, si nota che, sebbene con diverse dinamiche per ciascun maiale, si ha una marcata riduzione di PP dall'insulto allo sviluppo dello shock.

		T1	T2	p_value
PP[mmHg]	Aortic	28.9 (27.7, 30.8)	30.4 (25.9, 34.8)	n.s.
	Femoral	44.3 (41.4, 47.0)	25.7 (24.3, 28.2)	p<0.05
	Radial	47.0 (46.0, 48.9)	28.3 (19.4, 32.3)	p<0.05

Tabella 3.5 Valori riportati come mediana (25°, 75° percentile) della serie PP (mmHg) misurata a livello aortico, femorale e radiale in T1 (baseline) e T2 (shock). p-value calcolato con il test accoppiato Wilcoxon Signed Rank.

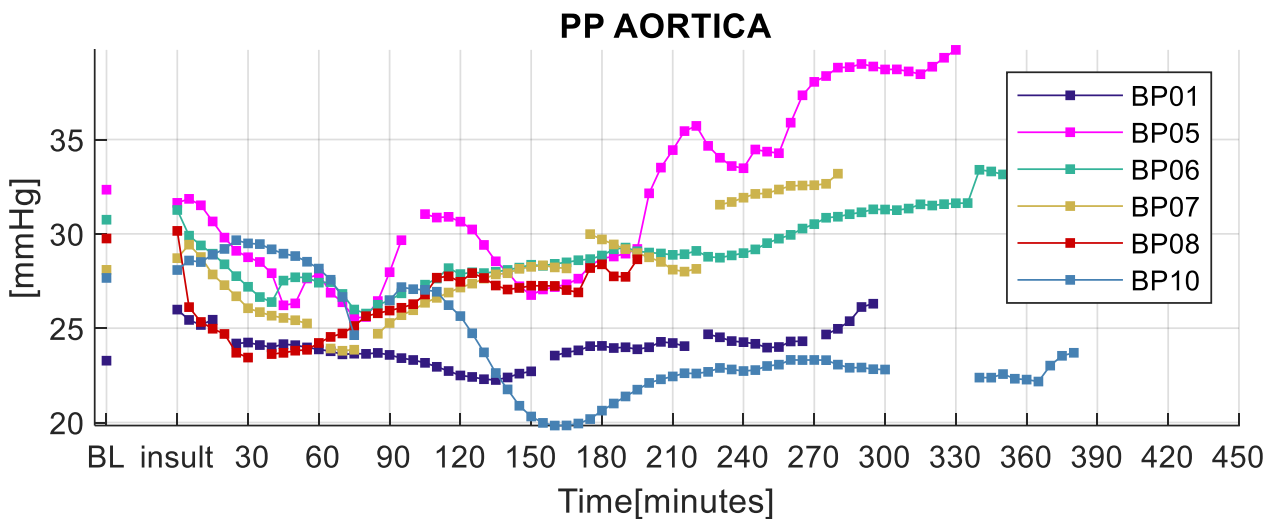


Figura 3.10 Andamento medio nel tempo di PP misurata a livello aortico per ciascun maiale.

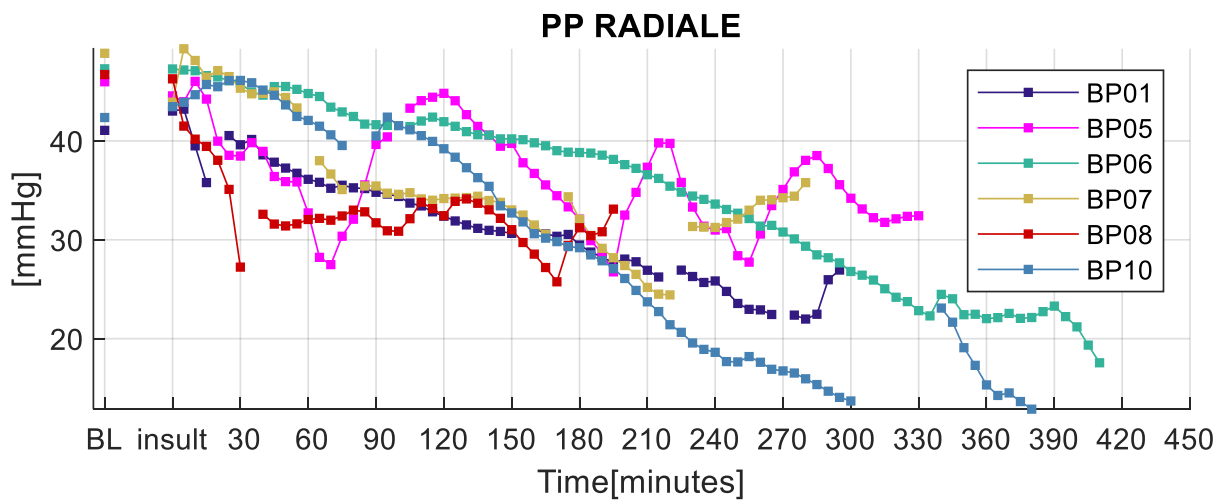


Figura 3.11 Andamento medio nel tempo di PP misurata a livello radiale per ciascun maiale.

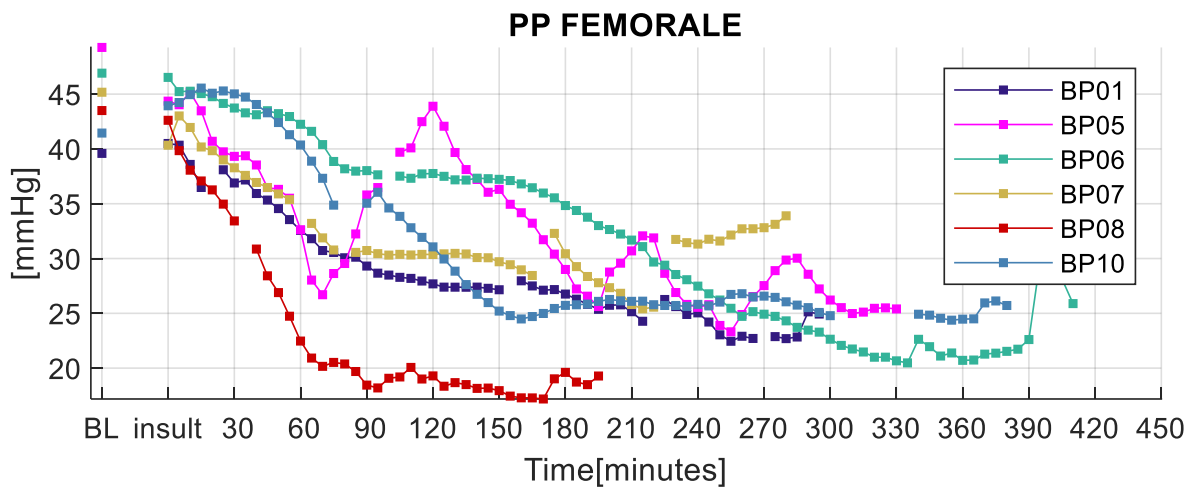


Figura 3.12 Andamento medio nel tempo di PP misurato a livello femorale per ciascun maiale.

3.1.2 Andamento della costante di tempo τ

I grafici sottostanti mostrano l'andamento nel tempo della costante di tempo τ , calcolato con il metodo LTIA, descritto nel capitolo precedente, a partire da finestre temporali di 5 minuti sul segnale di pressione aortica, radiale e femorale. Si nota che per tutti segnali pressori considerati aortico, femorale e radiale, e per tutti i maiali, il valore di τ diminuisce nel tempo dall'inizio dell'insulto in poi e questo è maggiormente evidente per il segnale ABP aortico.

		T1	T2	p_value
τ [s]	Aortic	1.1884 (1.0503, 1.2846)	0.6789 (0.4949, 0.7762)	p<0.05
	Femoral	1.0117 (0.9898, 1.0708)	0.6426 (0.5565, 0.6677)	p<0.05
	Radial	1.2918 (1.1761, 1.3818)	0.7604 (0.7022, 0.8213)	p<0.05

Tabella 3.6 Valori riportati come mediana (25°, 75° percentile) della serie τ (sec) misurata a livello aortico, femorale e radiale in T1 (baseline) e T2 (shock). p-value calcolato con il test accoppiato Wilcoxon Signed Rank.

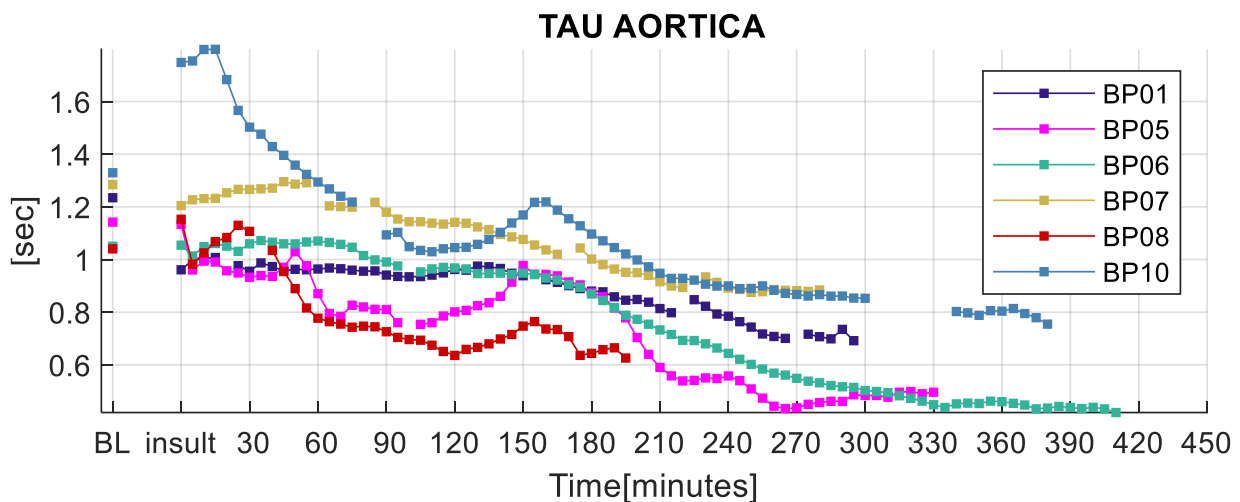


Figura 3.13 Andamento nel tempo del valore di τ calcolato su finestre di 5 minuti a partire dal segnale di pressione aortica.

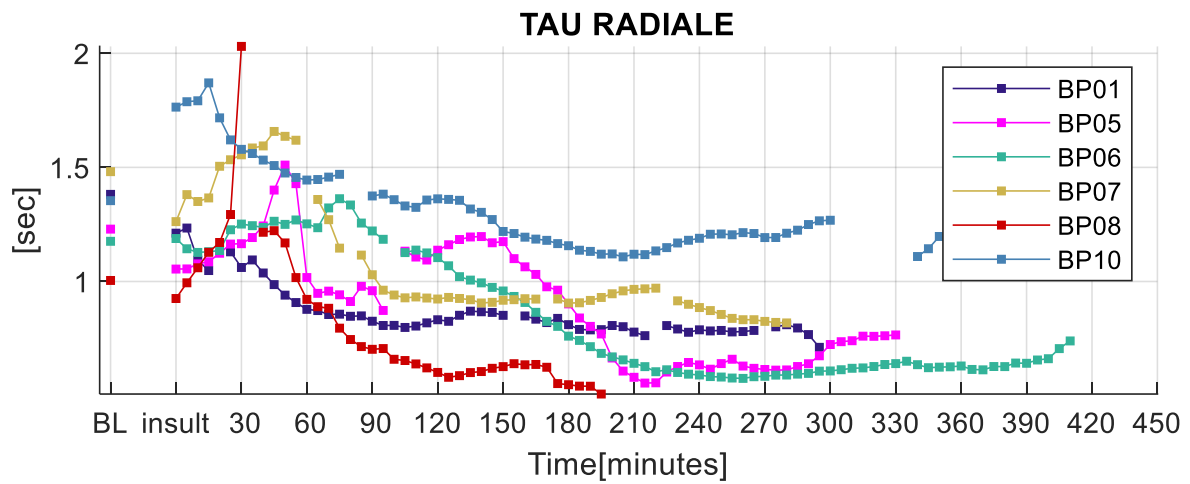


Figura 3.14 Andamento nel tempo del valore di τ calcolato su finestre di 5 minuti a partire dal segnale di pressione femorale

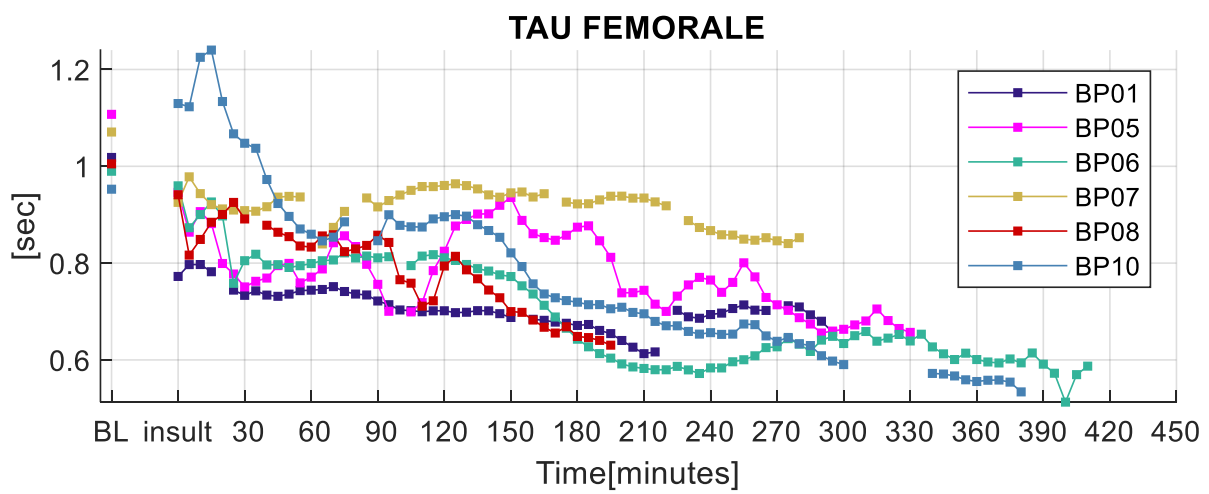


Figura 3.15 Andamento nel tempo del valore di τ calcolato su finestre di 5 minuti a partire dal segnale di pressione radiale.

3.1.3 Confronti tra la costante di tempo τ e la pressione pulsatoria

Viene presentato per i tre siti di misura il confronto tra i trend di τ e PP. Dall'osservazione dei grafici risultanti quello che si nota è un comportamento differente tra livello periferico e centrale. A livello radiale e femorale si nota che le due curve poste a confronto hanno andamenti simili, entrambi decrescenti nel tempo. Vi sono punti di *crossover*, cioè di intersezione delle curve, legati alle fluttuazioni dei trend, ma in entrambi l'andamento è marcatamente di tipo decrescente.

Per quanto riguarda il segnale ABP misurato in aorta si ottengono dei trend differenti. Qui il fenomeno di crossover delle curve è legato a due andamenti completamente diversi: mentre infatti PP rimane pressochè costante o cresce lievemente, τ ha un marcato andamento decrescente.

AORTA

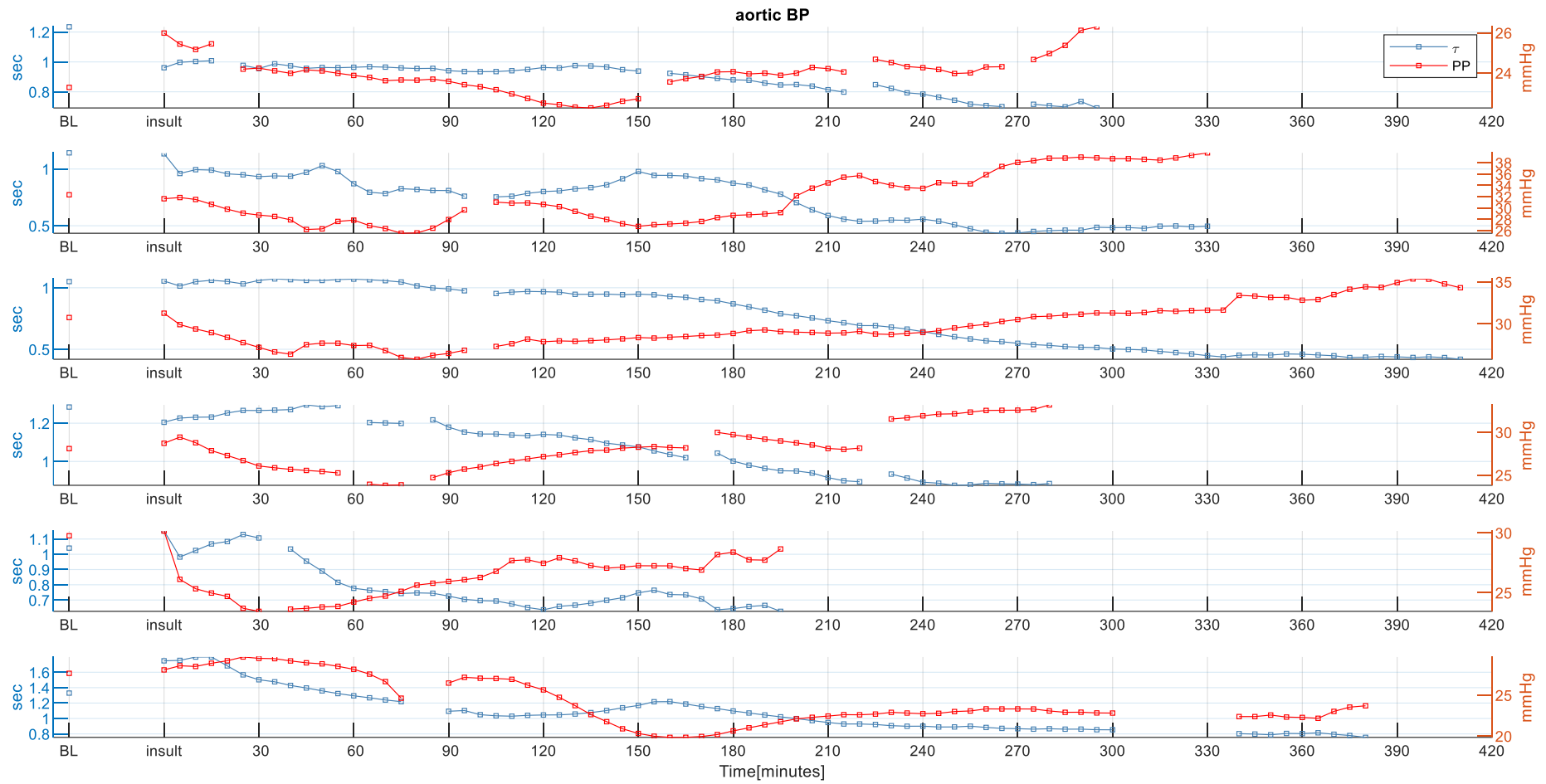


Figura 3.16 Per ciascun animale si mostrano i trend della costante di tempo τ (sec) e i valori di PP (mmHg) misurati a livello aortico.

RADIALE

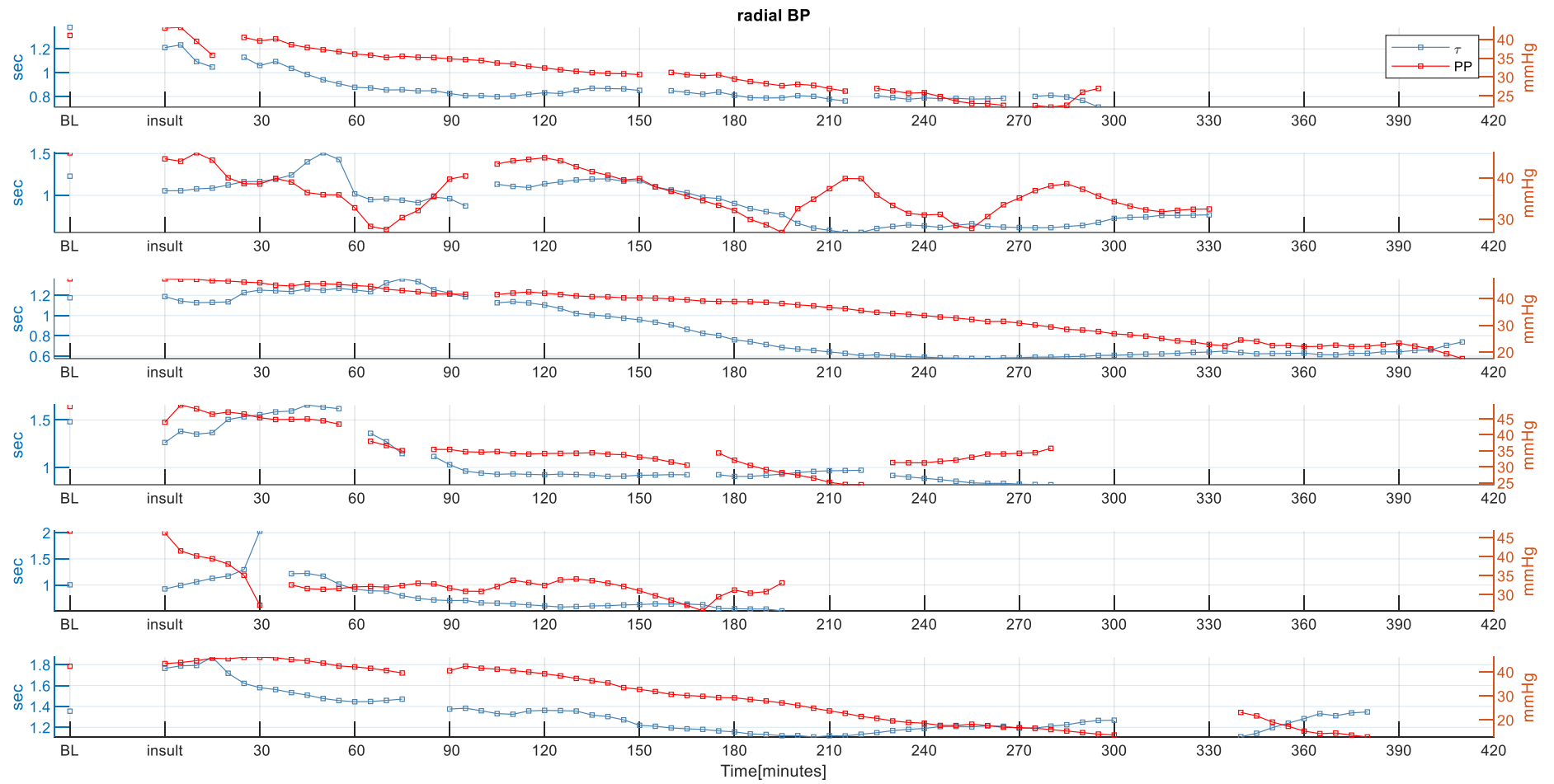


Figura 3.17 Per ciascun animale si mostrano i trend della costante di tempo τ (sec) e i valori di PP (mmHg) misurati a livello dell'arteria radiale.

FEMORALE

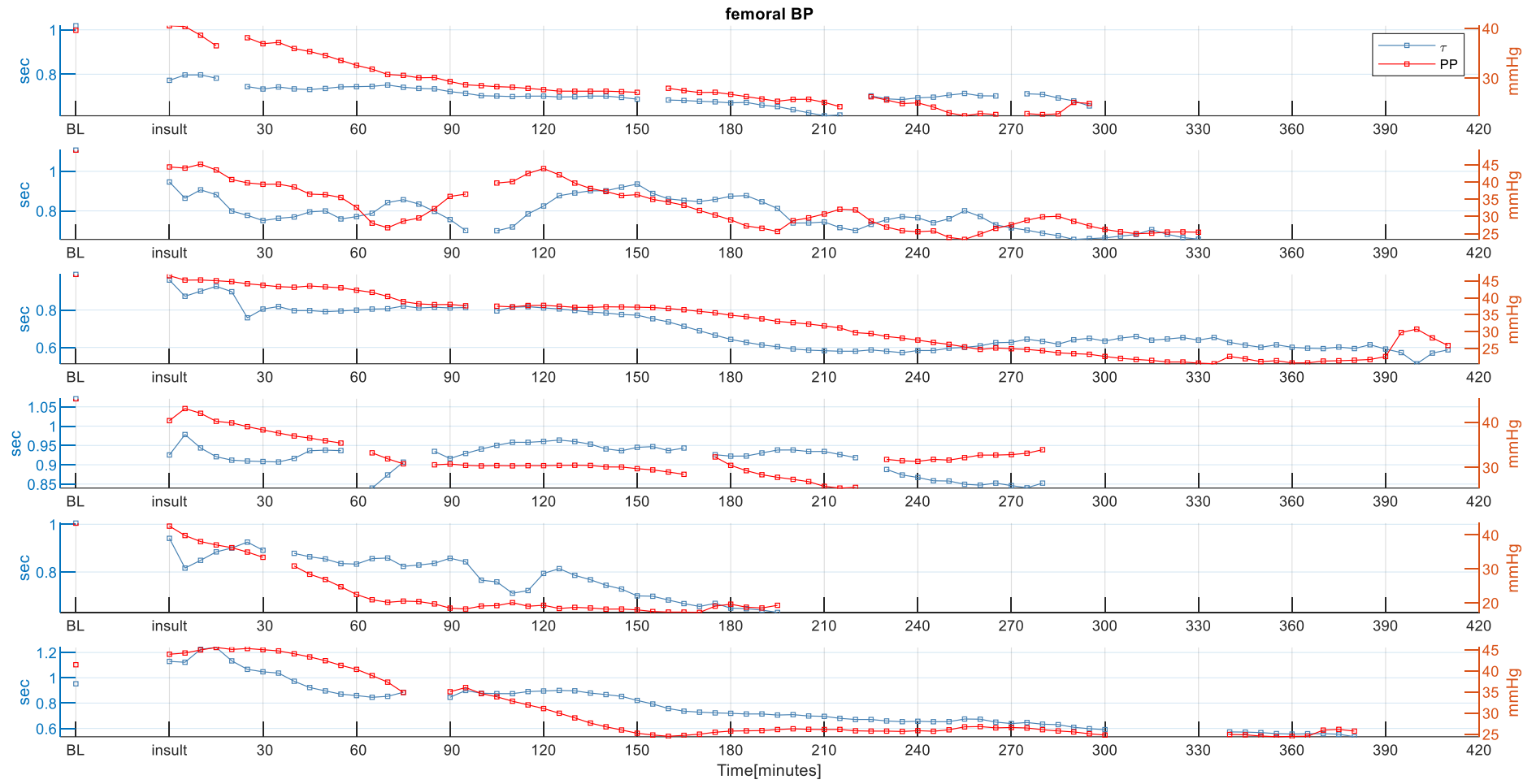


Figura 3.18 Per ciascun animale si mostrano i trend della costante di tempo τ (sec) e i valori di PP (mmHg) misurati a livello dell'arteria femorale

3.1.4 Confronti tra gli andamenti dei valori di PP

Per ciascun maiale l'andamento di pressione pulsatoria aortica viene confrontato con il trend del medesimo parametro a livello radiale e femorale. Quello che si nota dall'osservazione dei grafici è un trend, come già visto nei precedenti risultati, pressochè costante nel tempo dei valori di PP aortica.

A baseline la PP aortica assume valori inizialmente inferiori dei valori di PP misurata a livello radiale e femorale, sino ad arrivare ad un punto di intersezione delle curve, ben visibile in quasi tutti gli animali, in cui si ha una inversione di tendenza, per cui i valori di PP aortica si trovano al di sopra dei valori di PP femorale e radiale, entrambe decrescenti nel tempo.

Tali risultati confermano il fenomeno del '*PP reversal*' e indicano come tale fenomeno sia concomitante allo svilupparsi dello shock settico e non sia un fenomeno successivo.

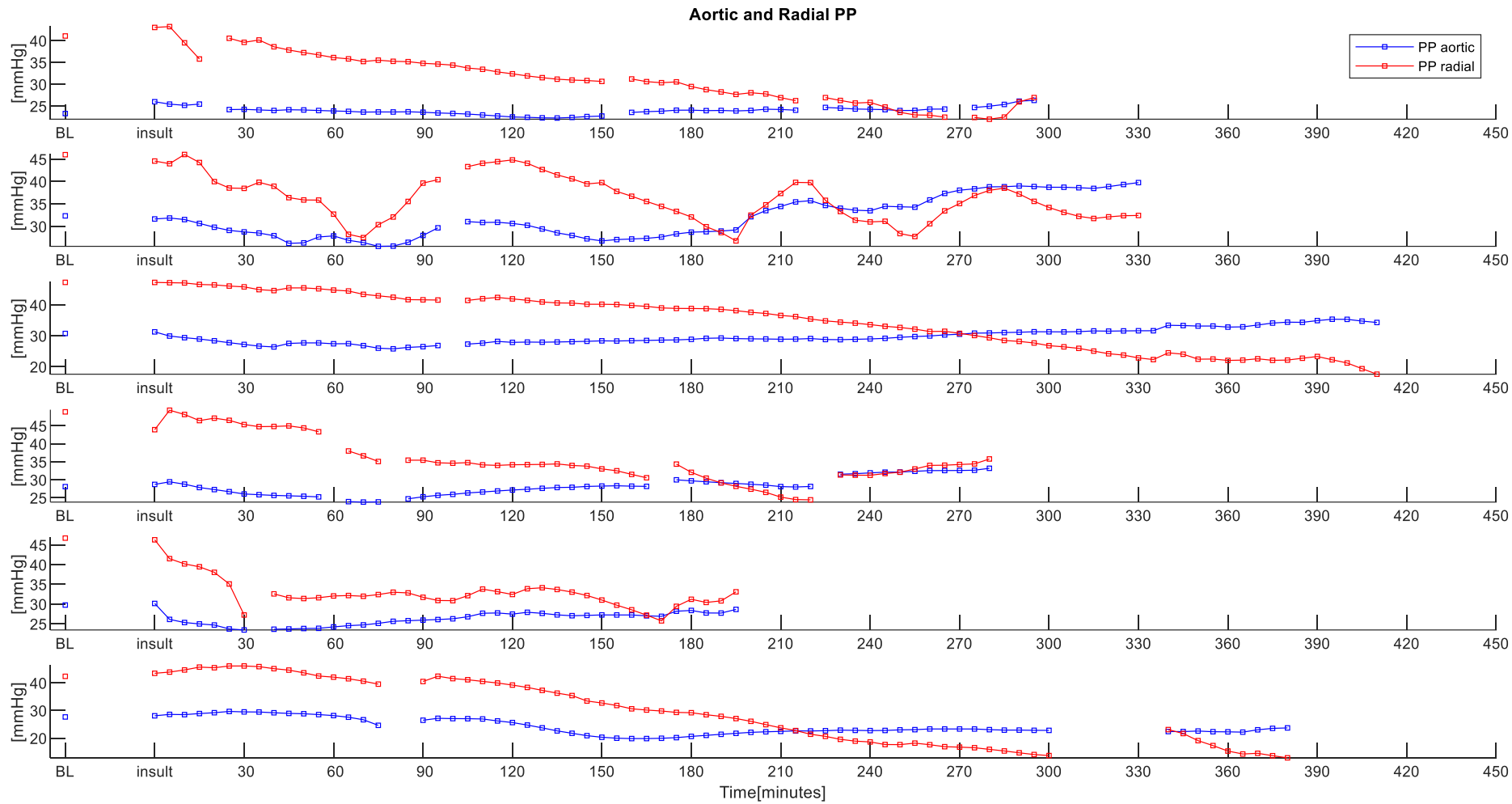


Figura 3.19 Valori di PP aortica e PP radiale per ciascun animale considerato nello studio

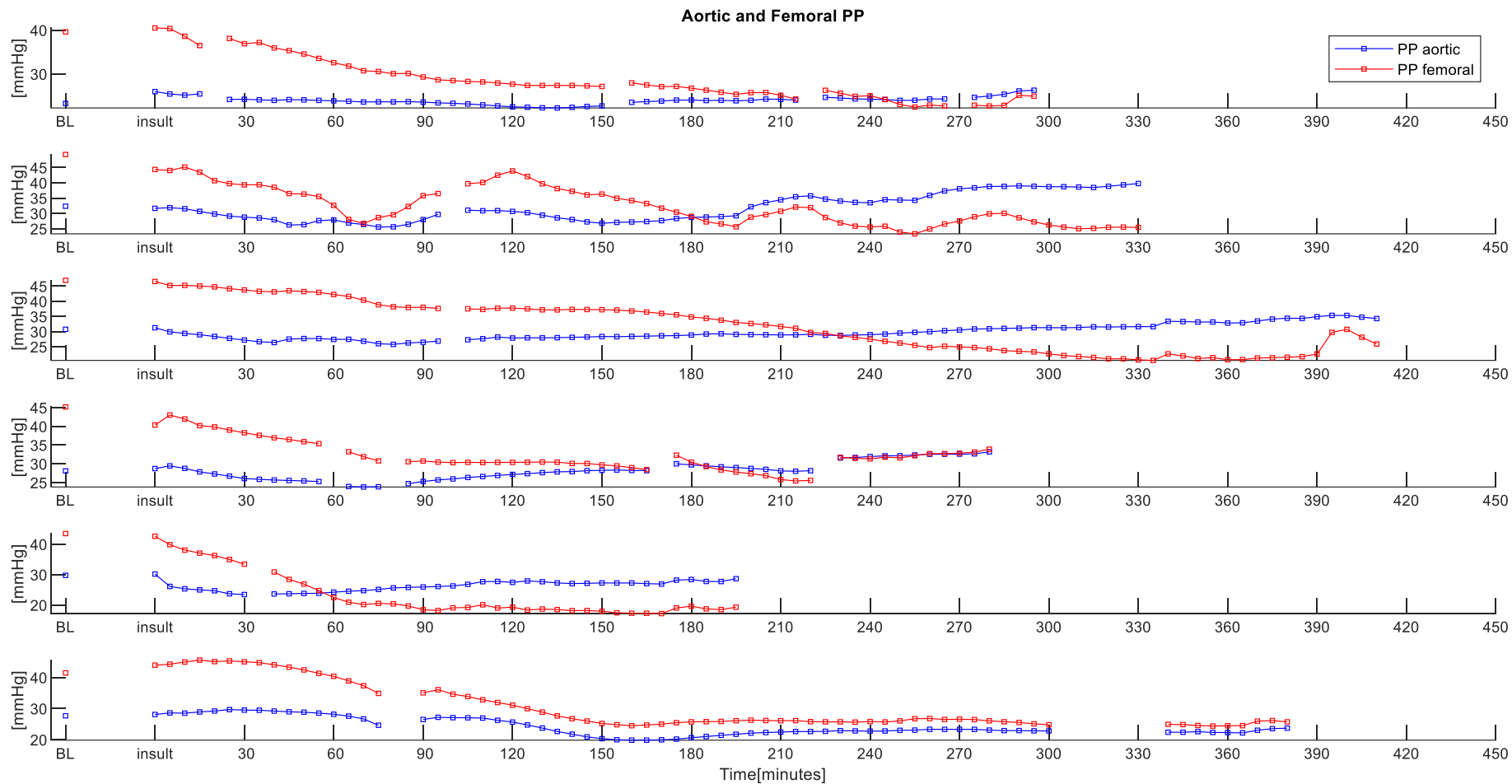


Figura 3.20 Valori di PP aortica e PP femorale per ciascun animale considerato nello studio

3.2 Analisi nel dominio della frequenza

3.2.1 Analisi delle componenti a bassa frequenza

I seguenti grafici mostrano i valori di LF e LF% in termini di mediana, 25° percentile e 75° percentile relativi alle serie pressorie SAP e DAP ottenute dai segnali di ABP aortica, radiale e femorale e ai due time point considerati, T1 (baseline) e T2 (shock). I risultati evidenziano una riduzione tra T1 e T2 delle componenti a basse frequenze LF e LF%.

Non vengono riportati i grafici relativi al parametro HP per cui la condizione di tachicardia va ad inficiare la stima spettrale, in particolare, sono stati ottenuti dei valori estremamente bassi della componente LF. Si noti come risultino significativamente ridotte le componenti spettrali della pressione diastolica (DAP) che è in generale considerata un surrogato della resistenza periferica. Questo potrebbe essere legato al venir meno della fisiologica modulazione del tono vascolare da parte del sistema nervoso simpatico. La non significatività di alcuni indici invece potrebbe essere dovuta alla bassa numerosità della popolazione

		T1	T2	p_value
LF SAP	Aortic	20.9 (12.0, 40.1)	7.2 (5.8, 7.8)	n.s.
	Femoral	43.8 (6.5, 76.5)	8.3 (5.2, 12.9)	n.s.
	Radial	35.6 (17.5, 67.5)	10.6 (8.8, 16.1)	n.s.
LF DAP	Aortic	30.0 (19.4, 67.6)	2.5 (2.3, 3.6)	p<0.05
	Femoral	39.7 (15.0, 68.5)	3.5 (2.0, 6.1)	p<0.05
	Radial	37 (18.0, 102.7)	3.5 (2.7, 5.1)	p<0.05
LF HP	Aortic	0.0504 (0.0090, 0.0824)	1.15e-04(5.10e-05,1.78e-04)	n.s.
	Femoral	0.0454 (0.0094, 0.0700)	1.05e-04(3.82e-05,1.93e-04)	n.s.
	Radial	0.0431 (0.0093, 0.0799)	1.16e-04(5.81e-05,2.00e-04)	n.s.

Tabella 3.7 Valori riportati come mediana (25°, 75° percentile) della potenza alle basse frequenze (LF) di SAP, DAP e HP a livello aortico, femorale e radiale in T1 (baseline) e T2 (shock). p-value calcolato con il test accoppiato Wilcoxon Signed Rank.

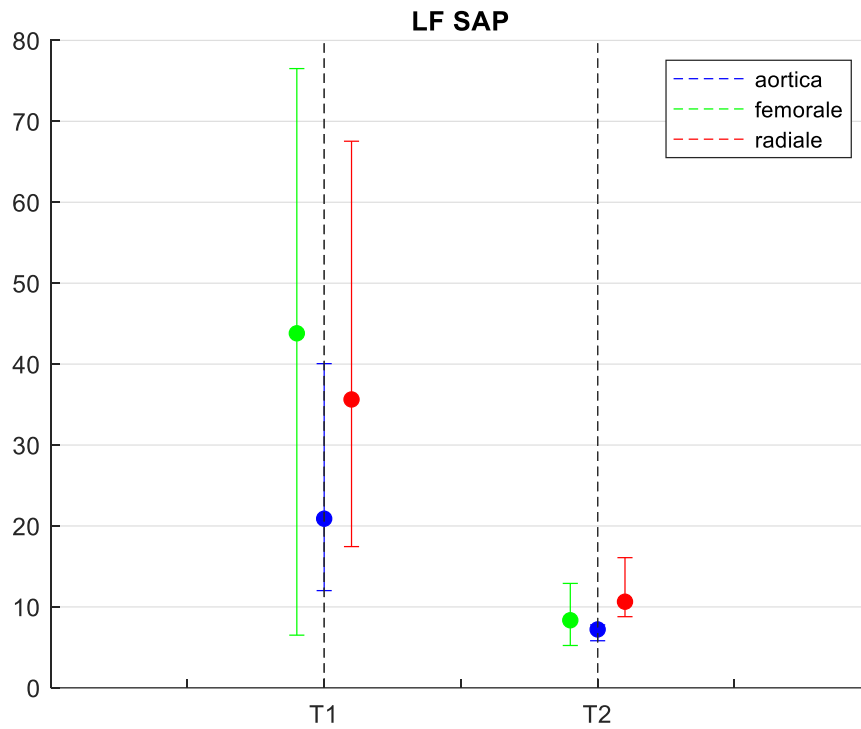


Figura 3.21 Distribuzione (mediana [25°, 75° percentile]) dei valori di potenza alle basse frequenze (LF) di SAP calcolati a livello aortico, radiale e femorale ai due time point T1 e T2

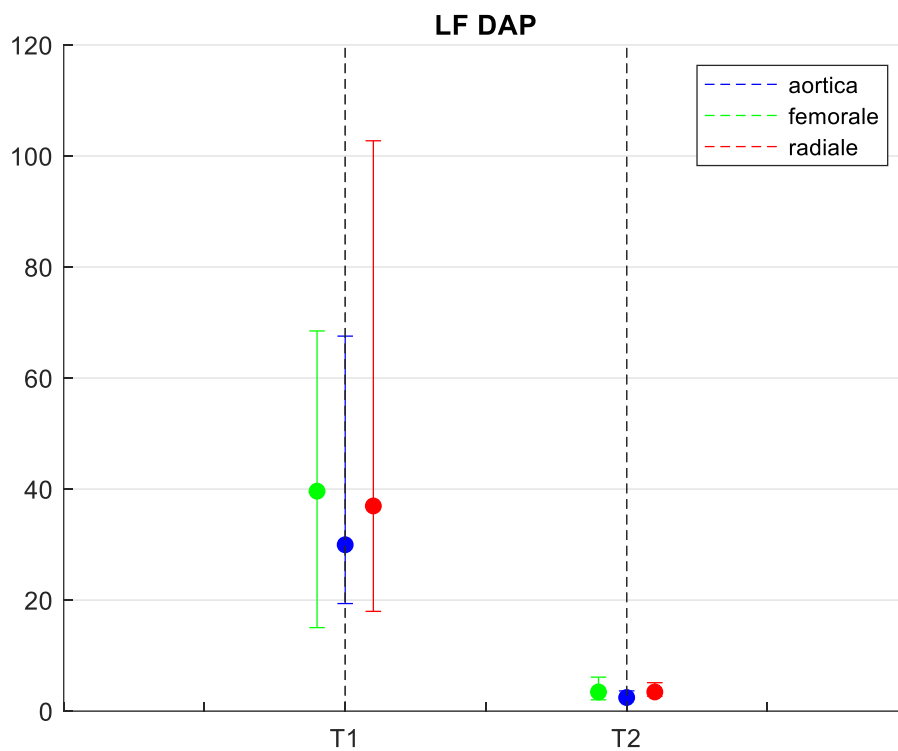


Figura 3.22 Distribuzione (mediana [25°, 75° percentile]) dei valori di potenza alle basse frequenze (LF) di DAP calcolati a livello aortico, radiale e femorale ai due time point T1 e T2.

		T1	T2	p_value
LF% SAP	Aortic	3.8142 (3.1612, 6.4864)	1.2839 (0.5472, 2.1705)	n.s.
	Femoral	3.8950 (1.6684, 6.1156)	1.2944 (0.9870, 1.9604)	n.s.
	Radial	3.9659 (2.7019, 8.4667)	1.4591 (0.9080, 2.8828)	p<0.05
LF% DAP	Aortic	13.0621 (8.2860, 16.9236)	2.4500 (1.6552, 5.1242)	p<0.05
	Femoral	13.9451 (9.9798, 18.8270)	3.4208 (1.1247, 3.8821)	p<0.05
	Radial	14.7280 (8.2281, 18.8270)	3.4477 (2.6692, 3.7827)	n.s.
LF% HP	Aortic	13.3475 (11.3078, 15.9403)	3.2585 (1.9948, 9.2417)	n.s.
	Femoral	11.6467 (11.1661, 13.1296)	2.2600 (1.1131, 4.8579)	n.s.
	Radial	11.9332 (10.2311, 15.3186)	3.9869 (1.6592, 7.5023)	n.s.

Tabella 3.8 Valori riportati come mediana (25°, 75° percentile) di LF percentuale di SAP, DAP e HP a livello aortico, femorale e radiale in T1 (baseline) e T2 (shock). p-value calcolato con il test accoppiato Wilcoxon Signed Rank.

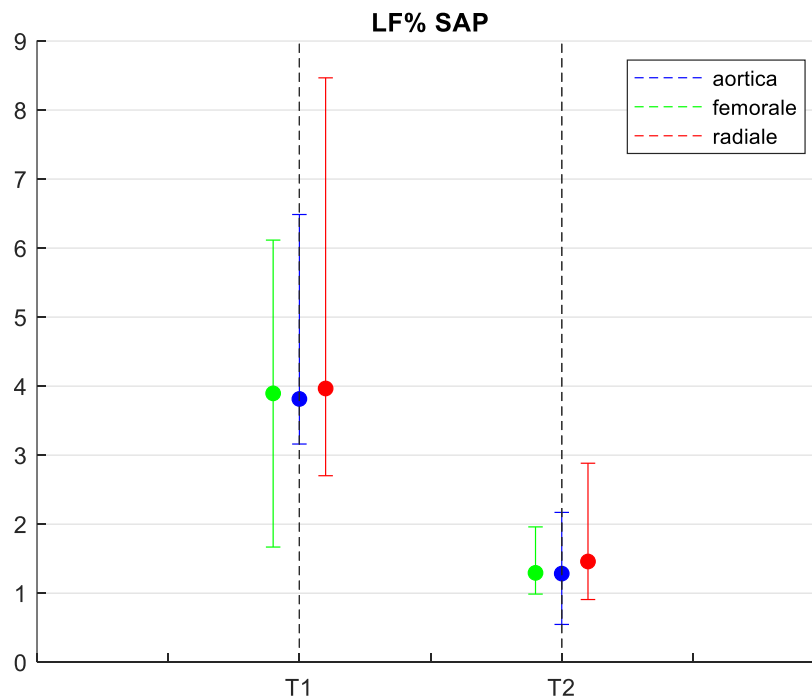


Figura 3.23 Distribuzione (mediana [25°, 75° percentile]) dei valori di potenza alle basse frequenze percentuale (LF%) di SAP calcolati a livello aortico, radiale e femorale ai due time point T1 e T2.

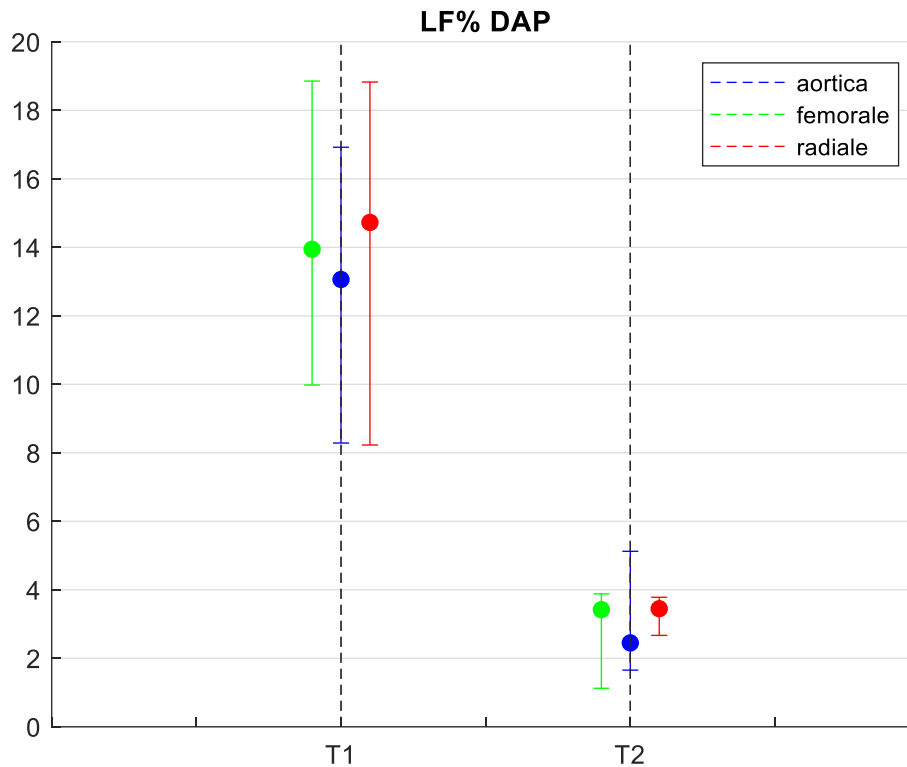


Figura 3.24 Distribuzione (mediana [25°, 75° percentile]) dei valori di potenza alle basse frequenze percentuale (LF%) di DAP calcolati a livello aortico, radiale e femorale ai due time point T1 e T2.

3.2.2 Analisi della potenza spettrale

I seguenti grafici mostrano in termini di mediana, 25° percentile e 75% percentile i valori della potenza spettrale totale associata alle serie pressorie SAP e DAP ottenute dai segnali di ABP aortica, radiale e femorale e ai due time point considerati, T1 (baseline) e T2 (shock). Non sono presenti cambiamenti statisticamente significativi di tale parametro legati alla condizione di shock settico nel caso di SAP e DAP. Si evidenzia, in particolare, un valore in shock di PTOT relativo al parametro cardiaco HP prossimo allo zero. Questo risultato è indicativo del fatto che in condizione di tachicardia la variabilità del segnale potrebbe essere ridotta al minimo, pertanto viene completamente meno la modulazione della frequenza nel segnale.

		T1	T2	p_value
PTOT SAP	Aortic	796 (557, 1.0634e+03)	1.0165e+03(527, 1.4081e+03)	n.s.
	Femoral	1.2997e+03(928, 1.5390e+03)	1.0606e+03(917, 1.2454e+03)	p<0.05
	Radial	1.3317e+03(911, 1.4054e+03)	1.3394e+03(808, 3.3806e+03)	n.s.
PTOT DAP	Aortic	484 (250, 574)	340 (297, 435)	n.s.
	Femoral	507 (190, 553)	348 (247, 452)	n.s.
	Radial	584 (215, 702)	338 (284, 422)	n.s.
PTOT HP	Aortic	0.1439 (0.1148, 0.3457)	0.0044 (0.0030, 0.0231)	n.s.
	Femoral	0.1261 (0.1072, 0.2806)	0.0049 (0.0045, 0.0227)	n.s.
	Radial	0.1185 (0.1039, 0.3036)	0.0043 (0.0030, 0.0227)	n.s.

Tabella 3.9 Valori riportati come mediana (25°, 75° percentile) della potenza totale (PTOT) di SAP, DAP e HP a livello aortico, femorale e radiale in T1 (baseline) e T2 (shock). p-value calcolato con il test accoppiato Wilcoxon Signed Rank.

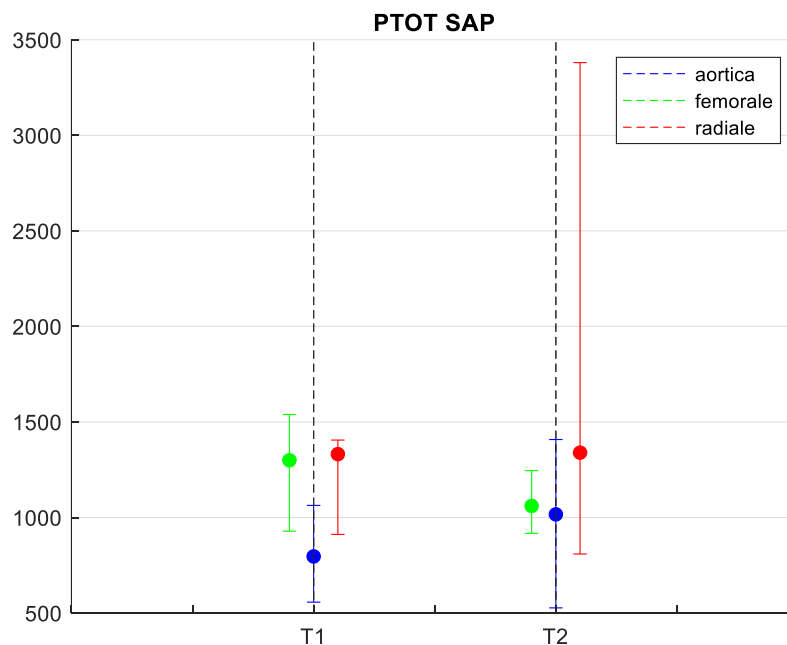


Figura 3.25 Distribuzione (mediana [25°, 75° percentile]) dei valori di potenza totale (PTOT) di SAP calcolati a livello aortico, radiale e femorale ai due time point T1 e T2.

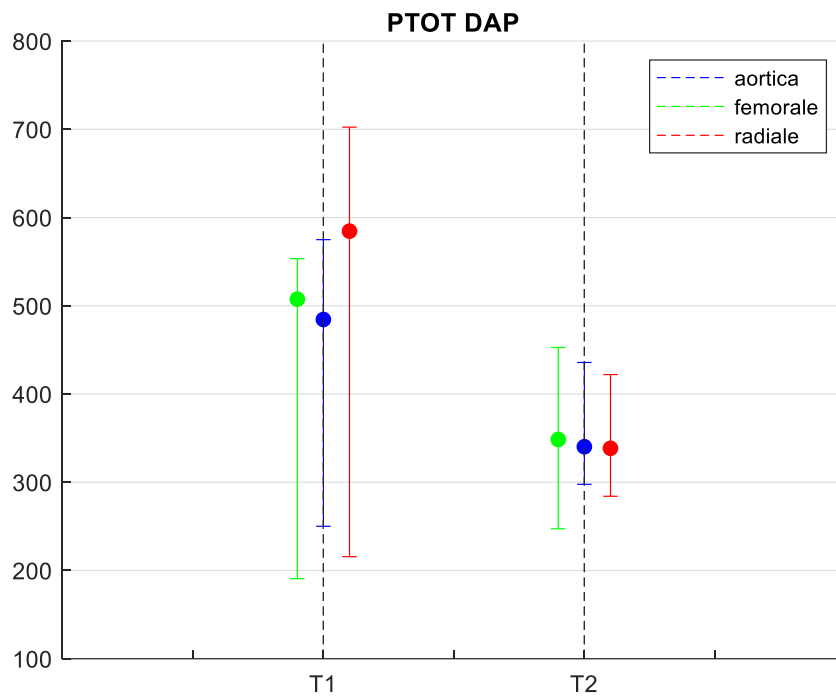


Figura 3.26 Distribuzione (mediana [25°, 75° percentile]) dei valori di potenza totale (PTOT) di DAP calcolati a livello aortico, radiale e femorale ai due time point T1 e T2.

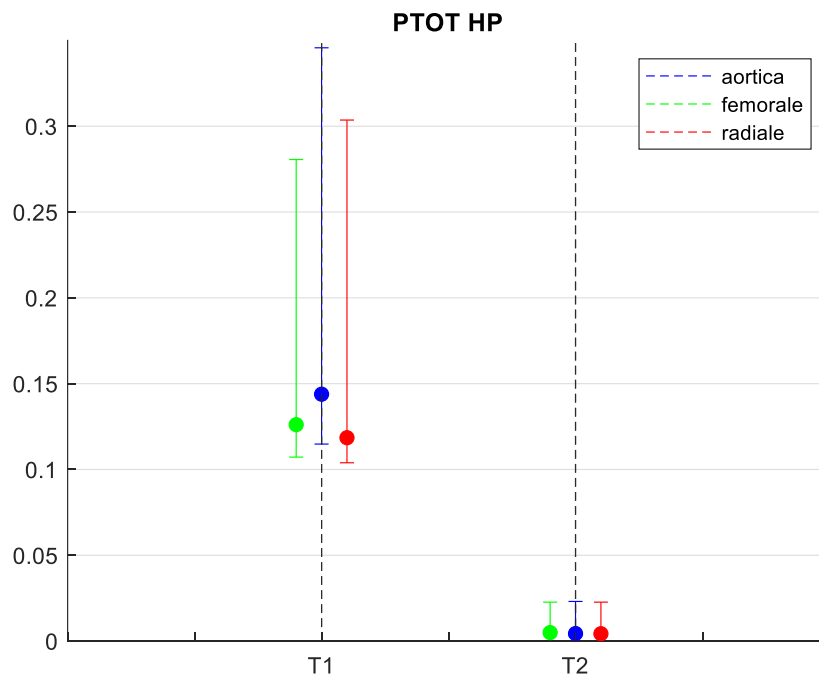


Figura 3.27 Distribuzione (mediana [25°, 75° percentile]) dei valori di potenza totale (PTOT) di HP calcolati a livello aortico, radiale e femorale ai due time point T1 e T2.

4 DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

Sepsi e shock settico rappresentano ad oggi un'importante sfida clinica, trattandosi di condizioni patologiche associate ad un alto tasso di mortalità e di comorbidità nel lungo periodo, quali la cardiomiopatia settica, disfunzioni cognitive, etc.. Tra i primi sistemi colpiti da tale condizione patologica vi è il sistema cardiocircolatorio, a sua volta centrale nel consentire la funzionalità dei vari organi. Pertanto sono moltissimi gli studi che si concentrano nell'analisi degli effetti di sepsi e shock settico volti a capire e studiare il sistema cardiovascolare.

In fase di esordio dello shock settico si assiste ad un rilascio massivo di citochine e di altri agenti anti-infiammatori che alterano la funzionalità dei vasi e causano un diffuso '*capillary leakage*', ovvero un travaso dei fluidi intravascolari nello spazio extravascolare. Questo porta ad una riduzione di volemia, estesa ipotensione, un ridotto ritorno venoso e ad una riduzione del precarico delle cellule miocardiche e quindi a una riduzione della gittata cardiaca (CO). A seguito del delinearsi della condizione di ipovolemia e ipotensione arteriosa, l'organismo agisce aumentando la frequenza cardiaca e con un esteso stimolo adrenergico a livello dei vasi che induce vasocostrizione.

Nello studio condotto, in cui è stata usato un modello animale in cui lo shock settico è stato indotto con un infezione polimicrobica nel peritoneo, si è andati a studiare l'andamento dei parametri emodinamici, in particolare, durante la fase di sviluppo dello shock settico, dopo l'instillazione delle feci.

I risultati ottenuti hanno confermato, attraverso l'analisi dei parametri emodinamici, quanto sopra riportato. In tutti i soggetti considerati è stato visto un trend decrescente degli andamenti di pressione sistolica e diastolica sia in aorta che nei distretti periferici quali l'arteria femorale e radiale (si considerino le Figure da 3.1 a 3.6). I valori di pressione mostrano un trend di decrescita continuo fino alla condizione di shock e all'iniziale fase di rianimazione. Analogamente si osserva un trend decrescente del periodo cardiaco (HP), che raggiunge ad un plateau con un valore significativamente minore rispetto a quello di baseline. La riduzione di HP, ovvero un aumento della frequenza cardiaca, evidenzia una condizione persistente di tachicardia (si vedano le figure da 3.7 a 3.8), che rappresenta un fondamentale meccanismo compensatorio in una condizione di stress cardiovascolare, quale appunto sepsi e shock settico (M. Carrara et al., 2019).

Sepsi e shock settico hanno effetti differenti lungo l'albero arterioso. Vari studi hanno evidenziato come tale condizione patologica porti ad uno sbilanciamento dell'equilibrio di vasodilatazione e vasocostrizione, che ha come conseguenza una perfusione non fisiologica di organi vitali (C. Ince et al., 2016). Come già descritto nel paragrafo 1.4, studi precedenti (Hatib et al., 2011; Carrara et al. 2020) hanno evidenziato un'inversione in quella che è la fisiologica propagazione dell'ampiezza di pressione pulsatoria (PP) dalle arterie centrali a quelle periferiche sia in condizioni di shock sia ore dopo la somministrazione di terapie a base di fluidi e noradrenalina (F. Hatib et al., 2011; M. Carrara et al., 2020). È stato altresì sottolineato come questo fenomeno, noto come vascular decoupling, potrebbe essere legato alla diversa composizione dei vasi nell'albero arterioso e alla diversa risposta alle sostanze rilasciate durante lo stato infiammatorio, come l'ossido nitrico (NO).

Nell'ambito del presente studio è stato evidenziato in fase di ingresso e sviluppo di shock come effettivamente si abbia una risposta di tipo compartimentale alla condizione patologica di shock, evidenziando un comportamento a livello centrale e periferico completamente diverso.

L'analisi dei grafici relativi ai trend di PP ha confermato il fenomeno di decoupling vascolare (si considerino le Figure 3.10, 3.11 e 3.12 e le Figure 3.19 e 3.20). Ciò che viene riportato è un'inversione del suo andamento rispetto alla situazione fisiologica. Se inizialmente, in condizione di baseline, i valori di PP a livello radiale e femorale è superiore rispetto ai valori in aorta, è possibile vedere che dopo l'insulto inizia un processo di progressiva riduzione dei valori di PP femorale e radiale, a fronte di un trend all'incirca costante dei valori di PP a livello aortico, sino ad arrivare ad un'inversione in cui i valori di PP periferici diminuiscono rispetto a quelli centrali.

L'analisi del trend dei valori del parametro τ (si vedano le Figure 3.13, 3.14 e 3.15), seppur con una certa variabilità a seconda del maiale considerato, mostra un trend più o meno marcatamente decrescente in tutti i segnali di pressione considerati (aorta, arteria radiale e femorale). Questo parametro rappresenta le proprietà meccaniche dei vasi secondo la rappresentazione del modello di Windkessel della circolazione, tuttavia la diminuzione dei valori di τ a livello aortico, potrebbe riflettere meccanismi di base differenti e risposte differenti da parte dei vasi all'infiammazione.

A livello aortico, infatti, le grosse arterie elastiche, in cui nella definizione di τ predomina la compliance (C), si assiste ad un irrigidimento (*arterial stiffness*). Il fenomeno d'irrigidimento delle grosse arterie centrali, sebbene evidenziato in diversi studi su animali in stato di shock, non è stato ancora completamente spiegato, si pensa alla sua base vi sia una riduzione nella concentrazione e produzione endoteliale di NO (F. Hatib et al., 2016; J. Leclerc et al., 2000). La riduzione di elasticità, in particolare se avviene a livello centrale comporta un maggiore post-carico a livello del ventricolo sinistro, con conseguente maggiore richiesta di ossigeno da parte del miocardio, ridotta perfusione coronarica, affaticamento meccanico delle pareti arteriose.

Mentre per quanto concerne i vasi a livello femorale e radiale, quindi arterie più resistive, in cui il comportamento di τ si pensa sia principalmente dovuto alla riduzione della resistenza R, che si instaura a seguito della risposta infiammatoria. Gli studi evidenziano in maniera certa che in shock la produzione di NO a livello periferico aumenta portando ad una condizione di vasodilatazione persistente, meno certa è la sorgente cellulare responsabile di tale produzione, che ha portato a ipotizzare sia a livello della muscolatura liscia dei vasi, presente soprattutto in quelli periferici.

Si sottolinea che la condizione di shock settico (M. Carrara et al., 2020) è spesso associata a segni di disfunzione a livello del sistema nervoso autonomo (ANS). Sia il sistema vascolare sia ASN vanno incontro a malfunzionamenti in shock e si influenzano reciprocamente, in una condizione di compromissione non risolvibile con le terapie standard, quali somministrazione di fluidi e di noradrenalina. È ampiamente accettato che le oscillazioni alle basse frequenze (LF) della pressione arteriosa possono essere legate a cambiamenti nell'attività del sistema autonomo simpatico, che innerva la maggior parte dei vasi, e pertanto l'analisi spettrale della pressione si rivela un potente strumento per l'identificazione dei diversi meccanismi che regolano la pressione arteriosa (H. Stauss et al, 1998; Pinto et al.). La potenza alle basse frequenze LF rappresenta una stima indiretta dell'attività simpatica a livello dei vasi, in particolare, nelle serie di pressione diastolica.

Nell'ambito di questo studio è possibile vedere come la condizione di shock porti rispetto ai valori di baseline ad una riduzione della potenza associata alle basse frequenze. Questo risultato si dimostra statisticamente significativo, in particolare, in relazione alla serie della pressione diastolica (Figure 3.22 e 3.25). Questo potrebbe essere interpretato come una riduzione in fase di shock dell'attività del simpatico sui vasi o ancora come saturazione dell'attività del sistema stesso o come inabilità dei recettori adrenergici a rispondere a stimoli ulteriori. La riduzione della potenza alle LF

e di LF% delle serie DAP e SAP radiale e femorale, mostra come nello svilupparsi dello shock si abbia una soppressione di quella che è la fisiologica modulazione del tono vascolare periferico da parte del simpatico, condizione che si traduce nella persistente vasodilatazione periferica e condizione di ipotensione. Inoltre, si nota una riduzione della potenza alle basse frequenze anche a livello aortico e quindi una riduzione anche qui dell'effetto del simpatico. Sono molteplici gli studi che hanno dimostrato la correlazione tra la riduzione dell'attività del sistema simpatico e l'incremento di rigidità dei grossi vasi (R. Bruno et al., 2012), in accordo con quanto precedentemente esposto.

4.1 Limiti dello studio e sviluppi futuri

Il limite principale del presente studio è rappresentato dalla dimensione molto ridotta del numero di soggetti presi in esame. Tale dimensione potrebbe infatti aver inficiato la significatività dei test statistici effettuati. Tuttavia i valori ottenuti mostrano chiaramente degli andamenti che possono dare indicazioni importanti, sebbene non statisticamente significativi. Possibili studi futuri potrebbero, pertanto, considerare un dataset di partenza molto più ampio, prendendo in esame un maggior numero di soggetti in modo tale da validare i risultati. Inoltre, studi futuri potrebbe prendere in considerazione un maggior numero di parametri e misure, ad esempio misure dirette delle scariche simpatiche neuronali per valutare l'attività del sistema nervoso autonomo a livello dei vasi e del cuore, al fine di ampliare lo studio dei cambiamenti dell'albero arterioso durante l'instaurarsi dello shock, permettendo di poter così pensare e studiare terapie mirate al ripristino della condizione fisiologica in questa stessa fase. Inoltre indagini immunoistochimiche potrebbero dare indicazioni utili al fine di capire le variazioni nei tessuti dei vasi e andare in qualche modo a correlare gli effetti macroscopici, quali il *PP reversal*, con modifiche strutturali dei vasi e indagare possibili associazioni con l'alterazione del sistema di controllo arterioso, ad esempio andando ad esaminare l'espressione di vari recettori adrenergici nei vasi.

4.2 Conclusioni

I risultati ottenuti nel presente lavoro di tesi hanno permesso di confermare la presenza di importanti alterazioni nel sistema cardiovascolare già nelle prime fase di induzioni dello shock. In particolare, viene confermato il fenomeno della '*PP reversal*', ovvero una alterazione delle proprietà meccaniche delle arterie tali da modificare la fisiologica propagazione delle onde pressorie lungo l'albero arterioso.

In particolare appare evidente come questo fenomeno non sia conseguente a una condizione consolidata di shock, ma sia concomitante allo svilupparsi dello shock stesso. Quindi sono fenomeni legati alle alterazioni vascolari indotte dalla risposta del sistema vascolare all'infiammazione attraverso meccanismi anche molecolari tuttora da chiarire in studi futuri.

BIBLIOGRAFIA

Bourgeois MJ, Gilbert BK, Donald DE, Wood EH. (1974), Characteristics of aortic diastolic pressure decay with application to the continuous monitoring of changes in peripheral vascular resistance. *Circ Res* 35: 56–66.

Bruno, R. M., Ghiadoni, L., Seravalle, G., Dell’Oro, R., Taddei, S., and Grassi, G. (2012). Sympathetic regulation of vascular function in health and disease. *Front. Physiol.* 3:284.

Carrara M., Herpain A., Baselli G., Ferrario M. (2019), A mathematical model of dP/dt max for the evaluation of the dynamic control of heart contractility in septic shock. *IEEE TRANSACTIONS ON BIOMEDICAL ENGINEERING*, vol 66, no 10.

Carrara M., Herpain A., Baselli G., Ferrario M. (2020), Vascular Decoupling in Septic Shock: The Combined Role of Autonomic Nervous System, Arterial Stiffness, and Peripheral Vascular Tone. *Frontiers in Physiology*.

Carrara M., Pinto B. B., Baselli G., Bendjelid K, Ferrario M. (2018), Baroreflex sensitivity and blood pressure variability can help in understanding the different response to therapy during acute phase of septic shock. *Shock*, Vol. xx, No. x, pp. 1-9.

Deitch EA (1998). Animal models of sepsis and shock: a review and lessons learned. *Shock* 9:1–11.

Di Maggio P. (2020). Sepsi e shock settico. <https://www.msmanuals.com/it-it/professionale/medicina-di-terapia-intensiva//sepsi-e-shock-settico/>

Freise H. (2001). Animal models of sepsis. *J Invest Surg* 14:195Y212, 2001.

Goldfarb R. D., Dellinger R. P, Parillo J. E. (2005). Porcine models of severe sepsis: emphasis on porcine peritonise. *SHOCK*, Vol. 24, Suppl. 1, pp 75-81.

Hatib F, Jansen J. R. C., Pinsky M. R. (2011), Peripheral vascular decoupling in porcine endotoxic shock, *Journal of Applied Physiology* 111: 853-860.

Hubbard W. J., Choudhry M., Schwacha M. G., Kerby J. D., et al. (2005). Cecal ligation and puncture. *SHOCK*, Vol 24, pp. 52-57.

Ince, C., Mayeux, P. R., Nguyen, T., Gomez, H., Kellum, J. A., Ospina-Tascón, G. A., et al. (2016). The endothelium in sepsis. *Shock* 45, 259–270.

Leclerc, J., Pu, Q., Corseaux, D., Haddad, E., Decoene, C., Bordet, R., et al. (2000). A single endotoxin injection in the rabbit causes prolonged blood vessel dysfunction and a procoagulant state. *Crit. Care Med.* 28, 3672–3678.

Liu C. Y., Mueller M. H., Grundy D., Kreis M.E. (2007), Vagal modulation of intestinal afferent sensitivity to systemic LPS in the rat. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* 292; G1213-G1220.

Lush, C. W., and Kvietys, P. R. (2000). Microvascular dysfunction in sepsis. *Microcirculation* 7, 83-101.

Malliani A., Lombardi F., Pagani M. (1994), Power spectrum analysis of heart rate variability: a tool to explore neural regulatory mechanisms. *British Heart Journal*, 71: 1-2.

Merx M. W., Weber C. (2007), Sepsis and the Heart, Cardiovascular Involvement in General Medical Conditions. *Circulation* 116: 793-802.

Mukkamala R., Xu D. Continuous and less invasive central hemodynamic monitoring by blood pressure waveform analysis (2010). *American Journal of Physiology-Heart Circulation Physiology*, 299: 584–599.

Mukkamala R., Reisner A.T., Hojman H. M., Mark R.G. and Cohen R.J. (2006). Continuous Cardiac Output Monitoring by Peripheral Blood Pressure Waveform Analysis. *IEEE Transactions On Biomedical Engineering*, Vol. 53, No. 3.

Ramchandra R., Wan L., Hood S. G., Frithiof R., Bellomo R., May C. N. (2009), Septic shock induces distinct changes in sympathetic nerve activity to the heart and kidney in conscious sheep. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 297: R1247- R1253.

Reisner A. T., Xu D., Ryan K. L., Convertino V. A., Rickards C. A. and Mukkamala R. (2011). Monitoring non-invasive cardiac output and stroke volume during experimental human hypovolaemia and resuscitation. *British Journal of Anaesthesia*, 106 (1): 23–30.

Singer M., Deutschman C.S., Seymour C.W., (2016). The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (sepsis-3). *JAMA* 315:801–810;

Stauss, H. M., Anderson, E. A., Haynes, W. G., and Kregel, K. C. (1998). Frequency response characteristics of sympathetically mediated vasomotor waves in humans. *Am. J. Physiol.* 274, H1277—83.

Sun J. X., Cardiac Output Estimation using Arterial Blood Pressure Waveforms, Bachelor of Science in Electrical Engineering and Computer Science, Massachusetts Institute of Technology, 2005.

Sun J. X, Reisner Andrew, Saeed T., Mohammed, Heldt Thomas, Mark Roger G. (2009) The cardiac output from blood pressure algorithms trial. *Critical Care Medicine*, 37(1): 72–80.

Swindle M. M., Makin A., Herron A. J., Clubb F. J., Frazier K.S. (2012). Swine as models in biomedical research and toxicology testing. *The American college of veterinary pathologists*, 49(2) 344-356.

Thompson K., Venkatesh B., Finfer S. (2019). Sepsis and septic shock: current approaches to management. *Internal medicine journal*, Volume 49, Issue 2.

Zhang G. and Mukkamala R. (2012), Continuous and minimally invasive cardiac output monitoring by long time interval analysis of a radial arterial pressure waveform: assessment using a large, public intensive care unit patient database. *British Journal of Anaesthesia*, 109 (3): 339–44.

Zong W., Heldt T., Moody G.B., Mark R.G. (2003), An open-source algorithm to detect onset of arterial blood pressure pulses. *Computers in Cardiology*, 30: 259-262.