

**UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PADOVA**  
**FACOLTA' DI MEDICINA E CHIRURGIA**



**DIPARTIMENTO DI SCIENZE MEDICHE, CLINICHE E  
SPERIMENTALI**

Scuola di dottorato di ricerca in: Scienze Mediche, Cliniche e  
Sperimentali

Indirizzo: Scienze Nefrologiche

Ciclo: XXI

**Innovazioni tecnologiche di interesse clinico-pratico dei  
trattamenti depurativi continui in pazienti settici**

Direttore della Scuola: Ch.mo Prof. Gaetano Thiene

Coordinatore d'indirizzo: Ch.mo Prof.ssa Angela D'Angelo

Dottorando: Dott. Giuseppe Puma

## INDICE

Riassunto/Summary .....	pag. 2
Introduzione .....	pag. 8
Cenni di Fisiopatologia.....	pag. 10
Terapia convenzionale e terapia sostitutiva.....	pag. 15
Scopo dello studio .....	pag. 20
Materiali e Metodi .....	pag. 21
Risultati .....	pag. 25
Discussione .....	pag. 37
Conclusioni .....	pag. 44
Bibliografia .....	pag. 46

## RIASSUNTO

Nonostante il progresso delle conoscenze scientifiche e nonostante un sempre più adeguato supporto rianimatorio e farmacologico, la SIRS-SEPSI rimane una delle più temibili complicanze dei pazienti critici ricoverati nei Reparti di Terapia Intensiva.

La disregolazione del sistema immunitario e l'attivazione endoteliale, sono associate all'esagerata e ridondante produzione di mediatori pro e antinfiammatori, identificati come citochine circolanti che conducono ad una alterata compliance cardio-circolatoria ed allo shock settico.

Il tentativo empirico di bloccare con anticorpi monoclonali l'uno o l'altro dei mediatori, si è dimostrato inefficace. E' noto che tali citochine presentano due caratteristiche peculiari: hanno un peso molecolare compreso tra 100 e 60000 Dalton e sono idrosolubili. E' pertanto possibile che tali mediatori citochinici, possano essere eliminati con tecniche depurative convettive e mediante l'adsorbimento su membrane specifiche.

Le tecniche continue di sostituzione renale, oltre ad essersi dimostrate efficaci nella depurazione diffusiva/convettiva di tossine uremiche e nel garantire l'omeostasi idro-elettrolitica ed acido-base se utilizzate con scambi di acqua plasmatica pari a 20 ml/kg/h, hanno dimostrato elevata capacità di eliminazione convettiva e/o adsorbitiva per le citochine. Inoltre, dai dati desunti dalla letteratura, si dimostrava una riduzione della mortalità e della posologia dei farmaci vasoattivi se si aumentava lo scambio di acqua plasmatica da 20 ml/kg/h (definita dose renale di depurazione) a 35-45 ml/kg/h (definita dose settica di depurazione).

La prima tecnica veniva indicata come CVVH standard (Continuous venous venous hemofiltration), la seconda come HVHF (High Volume Hemo Filtration).

Tuttavia, nonostante i vantaggi registrati per i pazienti settici con tale ultima tecnica, tale metodologia depurativa ha avuto solo una relativa diffusione.

La limitazione della HVHF è infatti essenzialmente legata ai limiti tecnico-gestionali della metodica stessa. Non esiste a tutt'oggi una tecnologia in grado di supportare elevati scambi per periodi prolungati di tempo; l'impegno gestionale del personale infermieristico è limitato poi, dagli eccessivi carichi di lavoro che la metodica stessa impone. Si registrano inoltre frequenti interruzioni e/o sostituzioni dei circuiti extracorporei per "clotting" o per malfunzionamento, indotti dagli elevati e talvolta irregolari flussi ematici non supportati dal sistema.

Tutte queste difficoltà ci hanno indotto ad esplorare nuove strategie, basate sulla sostituzione del concetto di "elevato scambio di acqua plasmatica" con il concetto di "elevate superfici efficienti" che si realizzava nella tecnica CVVHDF (Continuous Venous Venous Hemo DiaFiltration) utilizzando il trisodio citrato come anticoagulante citrato .

Abbiamo ritenuto possibile attuare tale nuovo approccio, sostituendo la sodio eparina con il trisodio citrato come anticoagulante del circuito extracorporeo.

Il trisodio citrato potrebbe prevenire la coagulazione del solo circuito extracorporeo, mantenendo inalterati i parametri coagulativi del paziente; in particolare il trisodio citrato avrebbe potuto mantenere inalterate le superfici delle membrane dei capillari del dializzatore, inibendo il formarsi del film proteico che limitava notevolmente le superfici utili per la convezione e per l'adsorbimento citochinico.

Abbiamo pertanto valutato 38 pazienti settici suddivisi in 3 gruppi: gruppo 1 di 15 pazienti trattati con CVVH standard per una durata media di 10,9 giorni, gruppo

2 di 15 pazienti trattati con HVHF per 96 h (che successivamente venivano shiftati a CVVH standard) e gruppo 3 di 8 pazienti trattati con CVVHDF con trisodio citrato con una durata media di 10,4 giorni. I dati relativi al gruppo 2 si riferiscono al solo trattamento con HVHF.

Anche se i trattamenti continui registrano in generale il miglioramento di tutti i parametri di compliance cardiocircolatoria e di scambio polmonare dei gas, solo la HVHF presentava un significativo aumento della PAO con riduzione significativa dei valori della posologia per noradrenalina. Così pure per leucocitosi e PCR, dove la PCR nei pazienti del II gruppo si riduce significativamente.

Il trattamento con CVVHDF con citrato ha dimostrato, a differenza della tecniche depurativa CVVH standard, una migliore compliance cardiopolmonare ed una riduzione, delle amine vasoattive che tuttavia non raggiungeva la significatività statistica, mentre i risultati ottenuti con HVHF hanno evidenziato una significativamente migliore performance dei parametri considerati rispetto alle altre due tecniche.

La CVVHDF con citrato, a differenza della HVHF, ha dimostrato però di essere una tecnica più affidabile e sicura dal punto di vista tecnico-gestionale che permette un utilizzo per periodi più prolungati rispetto ad HVHF.

L'esiguo numero di pazienti trattati non ci permette ancora di poter attuare un adeguato confronto. Riteniamo comunque che con una più adeguata messa a punto tecnico-metodologica della CVVHDF con citrato, magari con l'ausilio di membrane a più elevata superficie e permeabilità e la possibilità di un suo utilizzo per un tempo più prolungato, si possano ottenere risultati almeno sovrapponibili a quelli ottenuti con la tecniche ad elevato scambio di volume come HVHF con il vantaggio rispetto a quest'ultima di una maggiore sicurezza ed affidabilità anche gestionale rispetto a HVHF.



## SUMMARY

Although the pharmacologic and intensive care supports for patients in intensive care units has been highly improved, the Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS)-SEPSY still remains one of the more dangerous complication for these patients. They face, in fact, an alteration of the immunologic system and endothelial dysfunction due to massive pro and anti-inflammatory cytokine production and their increased plasma concentration. This leads to a dysregulated cardiovascular compliance, which finally leads to septic shock.

With the failure to block the production of these mediators using monoclonal antibodies and knowing their low molecular weight and hydrosolubility, the convective depurative techniques have been developed in the attempt to clear these cytokines from the circulatory stream via their absorption on specific membranes.

Continuous renal replacement treatment in addition to be effective in the depuration from uremic toxins, preservation of hydro-electrolytic and acid base homeostases, when used with high volume plasmatic water exchanges have been able to reduce mortality and dose of vasoactive drugs compared with lower volume exchanges.

The available techniques for these critical patients' continuous renal replacement treatment are: Continous Venous Venous Hemofiltration (CVVH), which however exchanges low volumes of plasmatic water (20 ml/kg/h), High Volume Hemo Filtration (HVHF), which exchanges high volume of plasmatic water (35-45 ml/kg/h). However, notwithstanding the advantages in terms of results obtained with this latter technique, it gained only a relative diffusion. The limitation of HVHF is, in fact, essentially due to difficult management and techical problems linked with the high fluxes exchanged, which cannot be supported for longer

periods of time such as the need of strict assistance by technical personnel and the frequent need of extracorporeal circuit changes due to clotting or malfunctioning. In consideration of these difficulties linked with HVHF we have sought to explore alternative strategies based on the change of the concept of “high plasma water exchange” with the concept of “highly efficient exchange surfaces), which we have translated into the Continuous Venous Venous Hemo DiaFiltration (CVVHDF), using trisodium citrate as anticoagulant of the extracorporeal circuit. This anticoagulant used instead of heparin could be able to prevent the coagulation in the extracorporeal circuit leaving unchanged the coagulative parameters of the patient. In particular trisodium citrate could keep unaltered the capillary membrane surfaces of the dialyzer, avoiding the formation of a proteic film on the membrane surfaces that could limit the availability of surfaces needed both for the convective process and cytokine adsorption.

In this study we have evaluated 38 septic patients divided into 3 groups: Group 1: 15 patients treated with standard CVVH (mean duration of the treatment 10.9 days); Group 2: 15 patients treated with HVHF (mean duration of the treatment for 4 days), who were subsequently shifted to standard CVVH and Group 3: 8 patients treated with CVVHDF with trisodium citrate as anticoagulant (mean duration of the treatment 10.4 days). Data from Group 2 are however derived only from the treatment with HVHF.

In general all continuous treatments registered an improvement of all the parameters related with the cardiovascular compliance and pulmonary gases exchanges. HVHF resulted in a significant improvement of blood pressure and a significant reduction of the amount of vasoactive amines (noradrenaline) administered compared both to CVVH and CVVHDF with citrate, as well as for the reduction of CRP.

The treatment with CVVHDF with citrate showed, compared with standard CVVH, a better cardio-pulmonary compliance and a reduction of the amount of noradrenaline administration, which however did not reach statistical significance. CVVHDF with citrate has, however, shown to be a more reliable and safe technique in terms of management and technical application, allowing an use for longer period of time compared with HVHF.

The small cohort of patients treated with CVVHDF with citrate of this study, however, does not allow a reliable comparison with HVHF. We think, however, that with a due technical improving using membranes with higher surface permeability, with a optimal management and the chance of use for a longer period of time, CVVHDF with citrate treatment might give results which at least overlap those obtained with HVHF, but with the advantage of a better management compared with HVHF.

## INTRODUZIONE

Nonostante il progresso delle conoscenze scientifiche in campo medico e nonostante l'evoluzione continua delle tecniche chirurgico-rianimatorie, un numero elevato di pazienti ricoverati presso i reparti di terapia intensiva (I.C.U.) sviluppa Insufficienza renale acuta (A.R.F.).

L'incremento di ARF potrebbe essere, in parte, giustificato dal fatto che un maggior numero di pazienti anziani affetti frequentemente da patologie croniche, proprio grazie alle nuove acquisizioni scientifiche, sono sottoposti ad interventi e/o procedure a rischio elevato di IRA che insorge spesso nell'ambito di una disfunzione multiorgano (MOF).

Accanto a tale ineludibile considerazione, bisognerebbe riflettere sul ruolo di Alta Specializzazione che la nostra Azienda Ospedale-Università ha sempre più assunto in questi ultimi anni.

Mentre in passato ARF era in buona parte riconducibile a insufficienza funzionale o, nella peggiore delle ipotesi, a necrosi tubulare tossico/ischemica da ipotensione severa, ipovolemia efficace, sindrome da bassa gittata, farmaci, mezzi di contrasto iodati ecc, l'anzidetta 'mutazione non spontanea' di indirizzo intrapresa dalla nostra Azienda ci ha indotto ad interagire con quadri clinici di ARF nell'ambito di disfunzione multiorgano (MODS).

E appunto, nell'ambito di tale contesto, il quotidiano confronto con questi pazienti sottoposti a chirurgia addominale complessa, ad interventi di cardiocirurgia, di trapianto di fegato, di cuore, di polmone e recentemente la gestione delle ARF nei pazienti sottoposti ad impianto di cuore meccanico o a sostituzione artificiale con macchina cuore-polmone-rene (ECMO-CRRT) ha

indirizzato la nostra attenzione verso un utilizzo sempre più attento e mirato delle tecniche extracorporee.

In particolare abbiamo posto la nostra attenzione verso una delle più temibili complicanze che spesso si associa alle patologie complesse prima menzionate: la SIRS-SEPSI.<sup>1-5</sup>

Le moderne tecniche chirurgiche, rianimatorie, trapiantologiche, insieme ad un sempre più mirato supporto farmacologico, hanno permesso una maggiore sopravvivenza in quei pazienti critici che non avrebbero avuto alcuna possibilità di sopravvivere alla loro patologia di base. Accanto a questo approccio combinato farmacologico, chirurgico-rianimatorio, si è affermato negli ultimi anni il concetto della depurazione extracorporea, mirata certamente alla depurazione delle tossine uremiche e all'omeostasi acido-base e idro-elettrolitica, ma anche all'eliminazione più o meno selettiva delle molecole implicate nel processo fisiopatologico della stessa SIRS-SEPSI.

L'esperienza maturata in questi ultimi anni grazie al contributo di affermati gruppi di studio che operano nell'ambito dell'Alta Specialità nella nostra Azienda ci ha permesso di interagire con i processi clinici prima menzionati consentendoci di affinare le nostre tecniche extracorporee o addirittura di introdurre modifiche oltre che supporti metodologici, tali da garantire maggiore efficienza e sicurezza alle metodiche depurative utilizzate.

## CENNI DI FISIOPATOLOGIA

La sepsi è stata descritta come un quadro di infiammazione maligna sistemica indotta dalla presenza in circolo di un'esuberante precoce presenza di mediatori pro-infiammatori prodotti da cellule mononucleari attivate.<sup>6</sup>

In caso di sepsi l'eccessiva produzione di mediatori sia pro che anti-infiammatori, conduce ad un'elevata risposta cellulomediata, al danno endoteliale generalizzato, alla completa alterazione dell'omeostasi immunologia e alla disfunzione multiorganica.

In particolare, l'elevata mortalità in caso di SIRS-SEPSI sembra essere correlata con persistenti elevati valori di citochine proinfiammatorie e quindi con ridotta risposta immunitaria cellulomediata associata ad elevati valori di citochine antiinfiammatorie.

Nella nostra casistica, solo il 73% di tutti i pazienti settici presentava emocolture positive per batteri Gram positivi o Gram negativi, il 18% presentava emocolture miste (miceti e batteri), mentre nel 9% dei casi le emocolture sono risultate negative.

Nei pazienti ricoverati presso i reparti di Terapia Intensiva le emocolture positive da batteri Gram negativi erano di più frequente riscontro tra i diabetici, tra i soggetti affetti da malattie linfoproliferative, cirrosi epatica, ustioni estese o sottoposti a manovre strumentali invasive e/o a farmaci che indurrebbero neutropenia; mentre la positività per batteri Gram positivi, seppur in costante aumento, era correlata all'uso di cateteri vascolari e a dispositivi meccanicopermanenti (Berliner-Hart cath, Jarvik-Hart, ECMO ecc..).<sup>7</sup>

Anche se il modello più studiato è quello endotossinico indotto sperimentalmente da batteri Gram-negativi, anche i batteri Gram-positivi sono

produttori di tossine, come l'enterotossina stafilococcica, definita anche Superantigene per la spiccata capacità di sovrastimolare i linfociti T-helper produttori di IL2.<sup>7-8</sup>

Nella sepsi sperimentale da Gram-negativi, l'endotossina che innesca la risposta sistemica è il Lipopolisaccaride (LPS), componente della capsula esterna del microrganismo.

In circolo l'endotossina si lega al LPB (Lipopolysaccaride Binding Protein). Il complesso LPS-LPB si lega poi ad un recettore di membrana dei monociti-macrofagi, denominato mCD14. Tale recettore è aspecifico poiché non lega solo le endotossine ma tutti gli antigeni di superficie di altri patogeni.<sup>9</sup>

Il mCD14 è di per sé incapace di tradurre il segnale all'interno della cellula; tale complesso viene, infatti, svolto dalla molecola TLR-4, appartenente ad una famiglia di recettori transmembrana denominati Toll-like receptor (TLR).

Tale famiglia di recettori cellulari ha il compito di riconoscere e identificare i diversi costituenti batterici, micotici e virali e, contrariamente al recettore aspecifico di membrana mCD14, esprime un recettore specifico per ogni tipo di tossina; infatti, il recettore TLR-4 è specifico per i LPS dei batteri Gram-negativi, il TLR-2 in combinazione con TLR-6 per l'acido lipoteicoico ed i proteoglicani dei batteri Gram-positivi, il TLR-6 per le tossine micotiche, il TLR-3 per l'RNA virale.

Il sistema del TLR entra nella cellula e stimola una serie di molecole, chinasi proteiche e composti fitogeni, che inducono l'attivazione del fattore di trascrizione NF-kB, che entra nel nucleo e stimola l'espressione genica delle proteine mediatrici della flogosi sistemica; ne risulta la sintesi di citochine di natura proinfiammatoria (IL-1, IL-2, TNF alfa, etc) ed antinfiammatoria (IL-10, IL-12, IL-4, etc) e l'attivazione dei fattori della coagulazione ( ad esempio PAF e Tissue Factor).

Anche la frazione circolante del CD 14 (sCD14) è in grado di legare le tossine batteriche presenti nel plasma e trasferirle alle cellule dell'endotelio vascolare, prive di mCD14, per cui tale molecola circolante agirebbe da amplificatore della risposta flogistica a livello sistemico e favorirebbe l'estensione del danno d'organo nella sindrome settica.

Il complesso sCD14-LPS stimola le cellule endoteliali e quelle epiteliali a produrre non solo citochine e fattori attivanti la coagulazione, ma anche una complessa serie di fattori di chemiotassi leucocitaria e adesione endoteliale (quali VCAM e ICAM).

Attrazione e adesione dei monociti-macrofagi e dei polimorfonucleati all'endotelio che ne consegue, danno l'avvio ad una serie di alterazioni che portano allo shock.

Nella risposta immunitaria della sepsi sono poi coinvolti i linfociti T-CD4, attivati dalle citochine prodotte dai macrofagi e dalle cellule dendritiche, il cui ruolo è diverso a seconda del tipo di linfocita attivato: i linfociti CD4-Th1, infatti, amplificano la flogosi attraverso la sintesi di citochine proinfiammatorie, i CD4-Th2, invece, hanno azione anti-flogistica poichè promuovono la sintesi di citochine antinfiammatorie.

In quest'ultimo caso la prevalente azione antiflogistica può provocare l'inibizione dell'azione fagocitaria dei macrofagi e con conseguente perdita dell'efficacia immunitaria.

Un ruolo essenziale nel processo della sepsi è svolto poi dai neutrofili, richiamati nel focolaio infettivo dai fattori chemiotattici, anche se una loro eccessiva attivazione può essere dannosa a causa della liberazione di endoperossidi ed enzimi proteasici che amplificano il segnale ed aumentano il danno tissutale.

In tutto questo complesso quadro, il rilascio di citochine e mediatori chimici aumentati in modo esponenziale: di questi, alcune citochine quali TNF-alfa, IL-1, IL-6, IL-8, IL-10, sono quelle su cui accentrare l'attenzione.

Al TNF-alfa spetta il ruolo cardine di citochina proinfiammatoria responsabile di quelle alterazioni definite di vasculopatia maligna e disfunzione multiorgano, causa di danno endoteliale e di stimolo dell'attività autocrina intrinseca delle cellule endoteliali con produzione e rilascio di IL-1, IL-6, IL-8, PAF, Tissue Factor, ecc.

Il danno endoteliale promuove a sua volta l'espressione di ossido nitrico sintasi inducibile (iNOS) con conseguente aumentata produzione di Ossido Nitrico (NO), che, attraverso l'importante riduzione delle resistenze arteriolari periferiche, è responsabile dell'ipovolemia relativa con caduta pressoria e shock settico.

Parallelamente alle citochine proinfiammatorie, il complesso network espresso dalla SIRS, induce la produzione di citochine ad azione antinfiammatoria come IL-10 e IL-13 che inibiscono la produzione di TNFalfa ed altre citochine proinfiammatorie con effetto di "down-regulation" sui monoliti circolanti, contribuendo così negativamente all'azione immunomodulatrice esercitata dai monociti stessi; tale effetto è rilevato dalla ridotta espressione dei recettori HLA-DR sulla superficie di membrana dei monociti circolanti, che indica una alterata capacità di presentazione e processazione dell'antigene.

L'attivazione endoteliale induce inoltre la neo-espressione di molecole di adesione quali VCAM-1, ICAM-1, e selectine che insieme a PAF, NO, IL-1, IL-6, IL-8 contribuiscono alla anergia vascolare, alla coagulopatia intravascolare e allo sviluppo della "Adult Respiratory Distress Sindrome" (ARDS).

Come è noto, la liberazione massiva di tali mediatori dell'infiammazione conduce al quadro dello shock settico, che esprime vasodilatazione sistemica, diminuita contrattilità miocardica, diffuse lesioni con attivazione endoteliale, che a

sua volta provoca adesione leucocitaria sistemica e danno ai capillari alveolari polmonari; l'attivazione del sistema coagulativo causa poi discoagulopatia e coagulazione intravascolare disseminata (CID).

L'ipoperfusione risultante dagli effetti combinati di vasodilatazione estesa, deficit di pompa cardiaca e CID può determinare Insufficienza Multiorgano (MOF), con alterazioni sistemiche, particolarmente evidenti a livello del sistema nervoso centrale, cuore, polmoni, fegato, intestino, reni e sistema coagulativo.<sup>10</sup>

## TERAPIA CONVENZIONALE E TERAPIA SOSTITUTIVA

Il ripristino volemico, la terapia antibiotica precoce e mirata, nonché il sostegno inotropo e cronotropo con amine vasoattive, sono a tutt'oggi considerati i pilastri della terapia della SIRS-SEPSI e dello shock settico.<sup>11-12</sup> Recenti studi confermano come una terapia antibiotica precoce e mirata sia preferibile ad una terapia antibiotica empirica, predittore negativo di mortalità intraospedaliera di SIRS-SEPSI.<sup>13-16</sup>

Lo shock che si può instaurare in corso di sepsi è determinato, in genere, da una inadeguata perfusione tissutale.<sup>14</sup> Al fine di ripristinare la volemia e quindi la perfusione tissutale, condizione necessaria per contrastare la disfunzione pluriorganica, possono essere utilizzati farmaci vasoattivi che, in aggiunta all'infusione di colloid/cristalloidi ed emoderivati, contribuiscono a garantire l'equilibrio emodinamico e a mantenere una soddisfacente omeostasi volemica.<sup>17</sup>

A tutt'oggi non esiste in letteratura evidenza che i cristalloidi siano da preferire o meno ai colloid nel tutelare la volemia, anche se i cristalloidi sembrano associarsi a minori effetti collaterali.<sup>18-19</sup>

I farmaci vasopressori e/o gli inotropi sono anch'essi utilizzati per migliorare il tono vascolare e potenziare la gittata cardiaca quando un adeguato riempimento volemico non sia da solo sufficiente a mantenere la compliance cardio-vascolare.<sup>20</sup> La dopamina, la dobutamina, l'adrenalina e la noradrenalina sono farmaci vasoattivi che vengono utilizzati comunemente a posologia diversificata o in varie combinazioni fra di loro, in base all'effetto clinico ritenuto più adeguato.

Alcuni Autori<sup>21</sup> indicano la dopamina e la noradrenalina come farmaci di prima scelta, mentre ad esempio l'adrenalina viene giudicata un'ammina vasoattiva di seconda scelta. Nonostante l'adrenalina sia considerata come uno dei più potenti

farmaci vasocostrittori e nonostante il potente effetto inotropo e cronotropo, si ritiene che proprio tali effetti siano potenzialmente negativi per l'effetto vasocostrittorio e/o ischemico sul distretto splancnico.

L'osservazione di deficit di vasopressina e di diminuita sensibilità arteriolare alla stessa dopo esposizione all'endotossina, ha indotto alcuni studiosi<sup>22</sup> al suo utilizzo. I risultati ottenuti con tale potente vasocostrittore non si sono dimostrati molto incoraggianti poiché, nonostante l'aumento della gittata cardiaca e della perfusione gastrica, l'effetto vasoattivo della vasopressina si è dimostrato fortemente correlato con l'uso di noradrenalina.<sup>23</sup>

L'uso di un analogo della vasopressina a lunga durata, la terlipressina, ha dato, invece, risultati più incoraggianti in pazienti con shock settico che ricevevano elevati dosaggi di noradrenalina<sup>1</sup>.

Di recente è stato introdotto un nuovo farmaco, la proteina C attivata, potente e fisiologico antagonista della cascata coagulativa, che svolge un'azione inibitoria sui Fattori V e VIII attivati. Diversi studi, randomizzati e controllati, hanno recentemente dimostrato che l'utilizzo di proteina C attivata è in grado di aumentare la sopravvivenza a 28 giorni dei pazienti affetti da sepsi grave, ipotizzando che la riduzione della mortalità possa essere riconducibile agli effetti antinfiammatori, antitrombotici e profibrinolitici determinati dal farmaco. Nonostante i miglioramenti sistemici indotti dalla proteina C attivata, soprattutto a carico del sistema cardiocircolatorio e della compliance polmonare, devono essere tenuti sotto controllo alcuni possibili effetti collaterali che sono correlati alla natura e alla funzione del farmaco, e che si manifestano, sul piano clinico, con un aumentato rischio emorragico.<sup>24</sup>

Riguardo poi la terapia steroidea in corso di sepsi e shock settico non vi è consenso unanime, anche se i fautori di tale condotta terapeutica sostengono che

l'uso di idrocortisone possa correggere il deficit dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene, contribuendo così a ripristinare la risposta recettoriale alle catecolamine e conseguentemente migliorare il profilo emodinamico.<sup>25</sup>

Altri approcci terapeutici, quali l'utilizzo di Immunoglobuline umane ricombinanti specifiche, inibitori del Tissue Factor, fattori di crescita ricombinanti, non si sono mostrati appropriati, per la loro azione specifica e mirata, nel miglioramento della sopravvivenza.<sup>26-27-28-29</sup>

I mediatori dell'infiammazione presenti nel plasma dei pazienti settici presentavano due caratteristiche peculiari, hanno un peso molecolare compreso tra i 100 ed i 60000 Daltons e sono idrosolubili.

Il background culturale dei Nefrologi è storicamente ancorato alla depurazione diffusivo/convettiva e adsorbitiva di molecole di piccolo, medio e medio-alto peso molecolare. Molti dei mediatori ritenuti responsabili di SIRS-SEPSI possono quindi essere ultrafiltrati e/o adsorbiti da membrane permeabili a levata avidità legante.<sup>30-33</sup>

Studi sperimentali di Grandstoort<sup>34</sup> su modello porcino e di Kellum su cani resi settici mediante l'infusione di endotossina batterica, dimostravano come metodiche dialitiche extracorporee continue (CRRT) ad elevata ultrafiltrazione (Qf 60-100 ml/Kg/h), denominata dagli stessi Autori High Volume HemoFiltration (HVHF), era in grado di migliorare l'output cardiaco e la PAO media, oltre che la compliance cardiovascolare.<sup>35-41</sup>

Successivamente Oudemans-Van Stratten<sup>42</sup> dimostrava in pazienti settici un aumento del cardiac-index, della PAO, delle resistenze vascolari periferiche, un incremento del rapporto pO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> e una riduzione della posologia dei farmaci vasoattivi in pazienti critici sottoposti ad HVHF. Lonnemann dimostrava invece l'Immuno-Omeostasi indotta dalla HVHF con rinnovata capacità dei macrofagi a

produrre TNf-alfa nei pazienti trattati rispetto ai controlli sottoposto a CRRT a flussi standard.

In uno studio<sup>43-44</sup> randomizzato, controllato condotto su 425 pazienti, una quota di ultrafiltrazione di 35 ml/kg/h aumentava la sopravvivenza dal 41% al 57% rispetto a una quota di ultrafiltrazione di 20 ml/kg/h. L'aumento della sopravvivenza era ancora più significativo se venivano considerati i pazienti settici trattati con ultrafiltrazioni più spinte fino a 45 ml/kg/h.

Tutte queste osservazioni supportano il concetto che la dose di ultrafiltrazione si correla con la sopravvivenza<sup>45</sup> e che esiste una “dose settica” più alta rispetto alla cosiddetta “dose renale”. Precisamente, l'efficienza dei circuiti extracorporei, il clotting più o meno frequente degli stessi circuiti extracorporei soprattutto in pazienti la cui dose di eparina sodica doveva essere ridotta o soppressa per la frequente concomitanza di discoagulopatia particolarmente grave in caso di sepsi o in pazienti settici sottoposti a trattamenti con proteina C attivata, possono influenzare la “dose” di terapia extracorporea aumentando la formazione del film proteico che si forma sulla superficie ematica delle membrane dializzanti compromettendo l'efficacia della dose settico/renale.

Di contro, l'uso con bassi dosaggi di eparina correla con la coagulazione del circuito extracorporeo e con la ridotta efficienza del dializzatore, che limita le superfici di scambio convettivo/diffusivo e l'adsorbimento delle molecole tossiche e delle citochine circolanti espresse in corso di SIRS/Sepsi.

## **SCOPO DELLO STUDIO**

Abbiamo voluto, dopo aver verificato l'efficacia e soprattutto l'efficienza e la sicurezza dei sistemi operativi ad Alto Flusso, comparare i risultati acquisiti modificando i trattamenti CRRT privilegiando l'integrità e l'efficienza delle superfici di scambio, sostituendo l'eparina sodica con una particolare soluzione di trisodio-citrato al fine di verificare se con tali modifiche sia possibile garantire l'efficacia depurativa, la compliance cardiovascolare e polmonare già verificata con i trattamenti in HVHF.

## MATERIALI E METODI

Abbiamo eseguito uno studio randomizzato e controllato che prevede la valutazione di 38 pazienti settici suddivisi in 3 gruppi: **gruppo I**, 15 pazienti sottoposti a CRRT in CVVH standard; **gruppo II**, 15 pazienti sottoposti a CRRT in HVHF della durata di 96 ore e successiva CVVH standard; **gruppo III**, 8 pazienti sottoposti a CRRT in CVVHDF in citrato.

I pazienti sono stati arruolati in base ai seguenti criteri di inclusione:

1. SIRS/Sepsi (definito dai ben noti criteri ACCP/SCCM)
2. ARF (definita come aumento della creatinina 3 volte il valore basale o come diuresi inferiore a 600 cc in 24 ore o anuria per 12 ore)
3. età maggiore di 18 anni e minore di 75 anni.

Sono stati considerati criteri di esclusione:

1. età minore di 18 anni e/o maggiore di 75 anni
2. malattia neoplastica accertata ed in atto
3. MOF con instabilità emodinamica tale da precludere ogni tipo di trattamento extracorporeo
4. allergie note ai circuiti extracorporei e/o alle membrane utilizzate.

Il gruppo I comprendeva 11 maschi e 4 femmine con età media 58,4 anni; il gruppo II comprendeva 9 maschi e 5 femmine con età media 56,3 anni; il gruppo III comprendeva 6 maschi e 2 femmine di età media 61,4 anni.

Tutti i pazienti dei 3 gruppi sono stati sottoposti a monitoraggio continuo presso le Unità di Terapia Intensiva (ICU) ed i dati sono stati analizzati utilizzando un data base dedicato.

Al momento dell'arruolamento veniva calcolato come criterio di gravità e di predittività di mortalità il SAPS II score.

Sono stati inoltre valutati pressione sistolica e diastolica, pressione arteriosa media, frequenza cardiaca, indici di ritenzione azotata (urea e creatinina), parametri di flogosi, quali leucocitosi e PCR, la lattico deidrogenasi (LDH), la  $\text{PaCO}_2$  ed il rapporto  $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$  ad intervalli regolari di 24 ore.

La variazione della posologia dei farmaci, con particolare riferimento ai farmaci vasoattivi, è stata registrata all'inizio di ciascun trattamento extracorporeo e successivamente ogni 24 ore.

La CVVH a flussi standard è stata attuata mediante l'utilizzo di Prisma Flex (ditta Hospal Spa) con kit dedicati, che prevedono l'utilizzo di un dializzatore in poliacrilonitrile AN69 – Hospal con superficie di  $1.5 \text{ m}^2$ .

Il liquido di sostituzione è costituito da sacche sterili apirogene a doppia camera, con un pH finale stabile compreso tra 7.0-8.5 e una osmolarità teorica di 294,8 mOsm/L (Bi-Intensive 32 – Hospal).

L'HVHF può essere considerata come una emofiltrazione ad alto volume che viene eseguita per 96 ore consecutive, seguita poi dal classico trattamento di emofiltrazione CVVH finché le condizioni cliniche del paziente lo richiedono.

La High Volume Haemo Filtration (HVHF) è stata attuata mediante il modulo Prisma Flex (ditta Hospal) e con l'utilizzo di un kit dedicato in pre e post diluizione (rispettivamente del 75% e del 25%) identificato dalla sigla Prismaflex HF1400 Set dotato di un filtro di poliacrilonitrile modificato (AN69ST - Hospal) della superficie di  $1.4 \text{ m}^2$ . Il liquido di sostituzione aveva le stesse caratteristiche di quello sopra descritto

I fluidi di sostituzione presentavano formulazione standard (come precedentemente indicato) e la miscelazione tra la componente acida e la componente basica avveniva pochi minuti prima del loro utilizzo.

La temperatura del circuito extracorporeo veniva regolata e mantenuta stabile a 37.5 °C mediante un termostato dedicato (Hospal).

Il calo ponderale è stato stabilito empiricamente in base ai valori di PVC, oppure a indici rilevati mediante cateterizzazione arteriosa polmonare secondo Swan-Ganz (se tale valutazione era possibile) oppure a indici rilevati mediante PiCCO, PAO, Rx Torace ed obiettività clinica a seconda dei casi e delle circostanze.

Durante il trattamento nei pazienti dei primi due gruppi è stato necessario effettuare terapia anticoagulante con sodio-eparina e la posologia utilizzata era pari a 6-8 U.I./Kg/h.

I pazienti del gruppo 1 sono stati trattati con CVVH standard in pre-diluizione con valori di  $Q_f < 35 \text{ ml/Kg/h}$ .

I pazienti del gruppo 2 sono stati trattati con HVHF per un periodo non superiore alle 96 ore, con valori di  $Q_f$  medi compresi tra 38-42 ml/kg/h, seguita poi da CVVH standard, se e fino a quando le condizioni cliniche del paziente lo richiedevano.

I pazienti del gruppo 3 sono stati trattati in CVVHDF con una innovativa metodica depurativa che utilizzava come anticoagulante il tri-sodio-citrato.

La metodica veniva attuata mediante l'utilizzo della PrismaFlex (ditta Hospal) di un dializzatore ST-150 di m. 1,5 in poliacrilonitrile AM69-Hospal, mentre si utilizzavano in prediluizione una soluzione sostitutiva contenente tri-sodio citrato (PRISMOCITRATE 10/2), una soluzione dializzante priva di Ca (PRISMOCAL) e una soluzione in postdiluizione a concentrazione variabile di K da 2 a 4 mEq/L (PRISMASOL 2/4).

Al fine di garantire la calcemia del paziente, veniva infusa in post-diluizione direttamente nel CVC o in vena periferica una soluzione di Cloruro di Calcio al 10%. Il flusso sangue dal paziente ( $Q_b$ ) modificava in automatico la dose

convettiva del Prismocitrate e le variazioni della posologia oraria di Calcio-cloruro infuso.

Le variazioni venivano eseguite dopo aver sperimentato un “software” specifico le cui curve di funzione erano state adottate in riferimento a precedenti dati sperimentali.

## **ANALISI STATISTICA**

I valori di ciascun parametro sono stati riportati come media  $\pm$  deviazione standard (Tabella I).

L'analisi statistica è stata condotta con il test t-Student.

Sono stati considerati significativi valori di  $p < 0.05$ .

## RISULTATI

In questo studio sono stati trattati 38 pazienti. Per tutti era stata posta diagnosi di SIRS/sepsi; il 70% di essi al momento dell'arruolamento era oligoanurico, il 30% presentava diuresi ancora conservata. Il trattamento sostitutivo (in CVVH, HVHF o CVVHDF con citrato) è stato iniziato subito dopo la diagnosi di SIRS/sepsi, quanto più precocemente possibile e con modalità random.

Nella Tabella I sono riportati i valori medi dei parametri presi in considerazione su tutti e tre i gruppi in esame prima dell'inizio dei trattamenti.

	Pre CVVH	Pre HVHF	Pre CVVHDF con citrato
ETA'	58,4 ± 11	56,3 ± 13	61,4 ± 8
SAPS II score	59,7 ± 14	53,5 ± 15	56,4 ± 13
PRESSIONE ARTERIOSA MEDIA (mmHg)	78,9 ± 15	73,1 ± 17	77,6 ± 15
FREQUENZA CARDIACA (bpm)	95,1 ± 20	98,2 ± 16	96,3 ± 16
TEMPERATURA (C)	36,48 ± 1	36,45 ± 0,5	36,47 ± 0,8
GLOBULI BIANCHI (mm <sup>3</sup> )	15180 ± 9	19700 ± 14	16400 ± 22
UREA (mmol/L)	28,5 ± 7	19,3 ± 7	20,9 ± 12
CREATININA (µmol/L)	296,1 ± 83	289,2 ± 84	265 ± 78
SODIO (mEq/L)	141,1 ± 1	142,5 ± 1	141,3 ± 2
POTASSIO (mEq/L)	4,4 ± 1	3,9 ± 0,5	4,6 ± 0,8
BICARBONATI (mEq/L)	26,3 ± 1	26,2 ± 1	23,6 ± 2
OSMOLARITA' (mOsm/L)	308 ± 6	304 ± 4	306 ± 3
PaCO <sub>2</sub> (mmHg)	39,6 ± 6	41,3 ± 6	38,2 ± 3
PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub> (mmHg)	102,7 ± 95	108 ± 136	89 ± 95

***Tabella I*** – Parametri clinico-biumorali dei tre gruppi all'arruolamento (medie ± ds)

Il gruppo I era costituito da 15 pazienti (11 di sesso maschile e 4 di sesso femminile, età media 58,4 anni. Di questi 10 sono deceduti, mentre 5 sono andati incontro a recupero totale della funzione renale.

Il gruppo II era invece costituito da 14 pazienti (9 di sesso maschile e 5 di sesso femminile, età media di 56,3 anni). Di questi 8 sono deceduti, mentre 6 sono sopravvissuti con successivo recupero totale della funzione renale.

Il gruppo III era costituito da 8 pazienti (6 di sesso maschile e 2 di sesso femminile, età media di 61,4 anni). Di questi, 6 sono sopravvissuti con recupero parziale o totale della funzione renale, intendendo per recupero parziale o totale, il recupero di valori di funzionalità renale registrati prima dell'evento clinico acuto.

I trattamenti effettuati con CVVH standard e i trattamenti in CVVHDF con citrato hanno avuto una durata media di 10,8 giorni con una ultrafiltrazione media di 60 ml/h.

I trattamenti effettuati con HVHF hanno avuto una durata di 96 ore, con un'ultrafiltrazione media di 80,4 ml/h. e successivo "switch" in CVVH standard per una durata media di 4,5 giorni con una ultrafiltrazione media di 59,5 ml/h.

I trattamenti sono stati eseguiti in tutti i gruppi previo posizionamento di un catetere centrale in vena giugulare (o succlavia), con flusso sangue (Qb) compreso tra 120-220 ml/min.

Nel gruppo I e II è stata usata un'adeguata anticoagulazione mediante l'utilizzo di Na-eparina mentre nel gruppo III l'anticoagulazione era attuata mediante l'infusione di base trisodio-citrato.

Analizzando i valori registrati in pre/post trattamento dei parametri presi in considerazione, si nota nel gruppo HVHF un miglioramento della pressione

arteriosa media (mmHg) che raggiunge la significatività statistica ( $p < 0.035$ ) e un abbassamento della frequenza cardiaca (bpm) con una riduzione dei dosaggi delle ammine vasoattive ( $\gamma/\text{Kg}/\text{min}$ ) statisticamente significativo solo per la noradrenalina ( $p < 0.024$ ). (Figure 1-2-3-4)

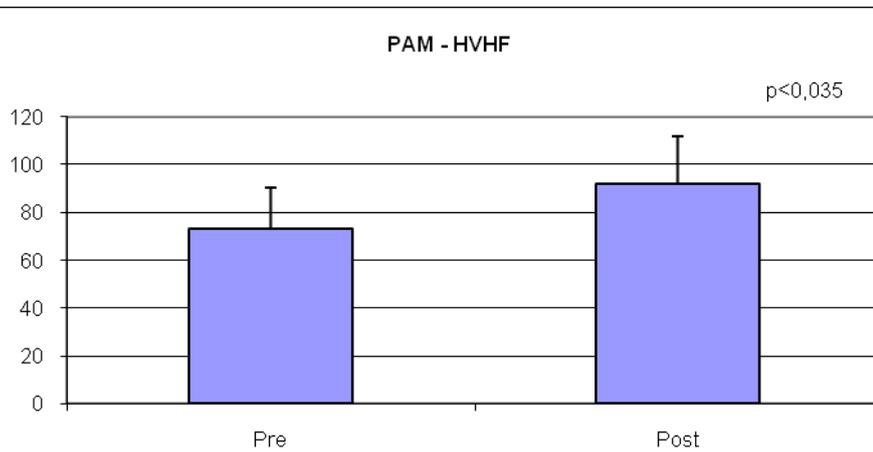


Figura 1

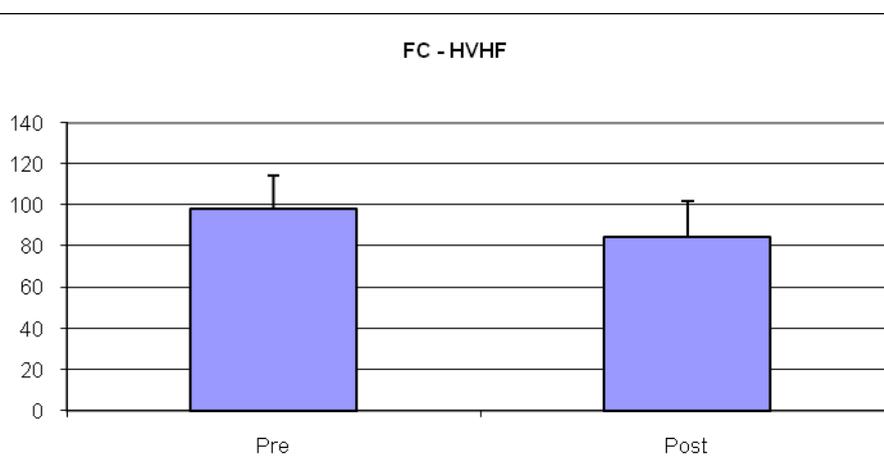


Figura 2

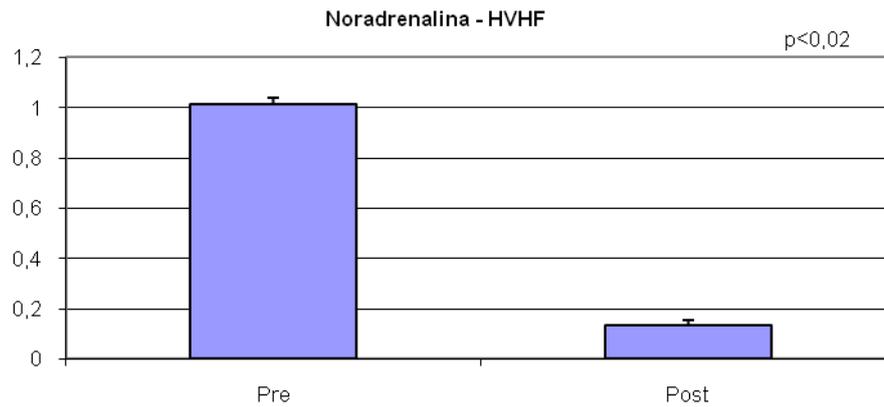


Figura 3

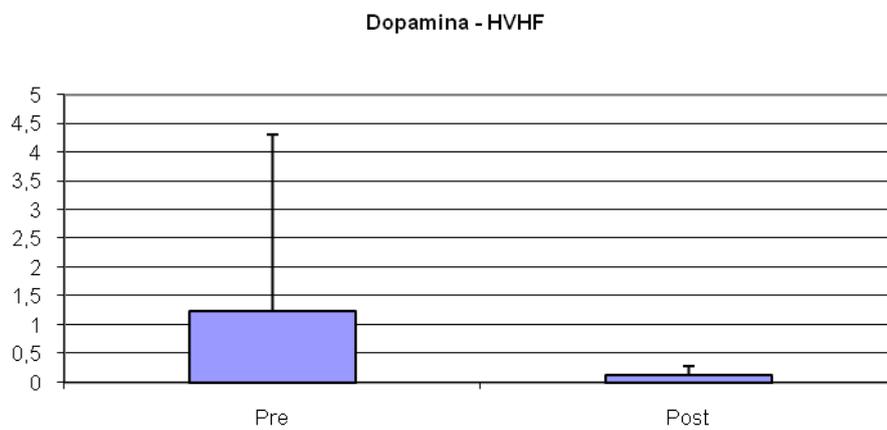


Figura 4

Nel gruppo I, pazienti trattati in CVVH standard, l'aumento della PAM e la riduzione della Fc sono stati modesti (Figure 5-6), mentre si è registrato un aumento della posologia delle ammine vasoattive (Figure 7-8) in post-trattamento.

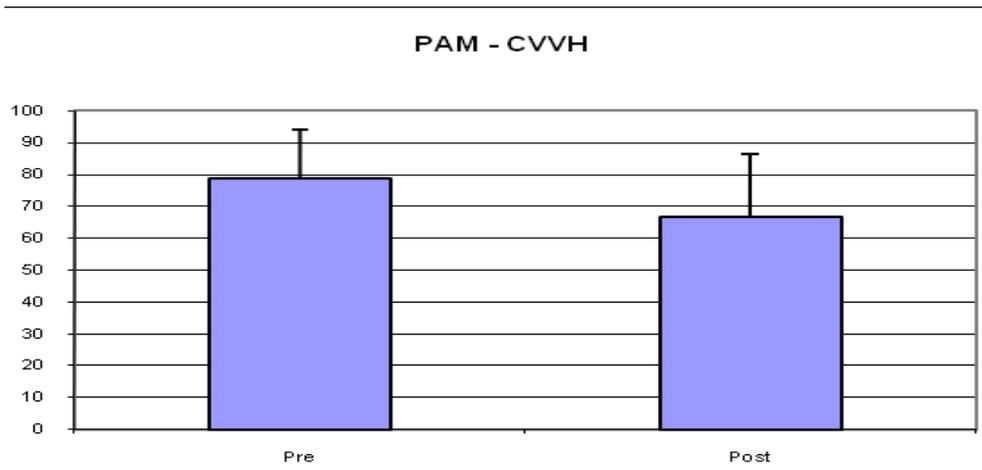


Figura 5

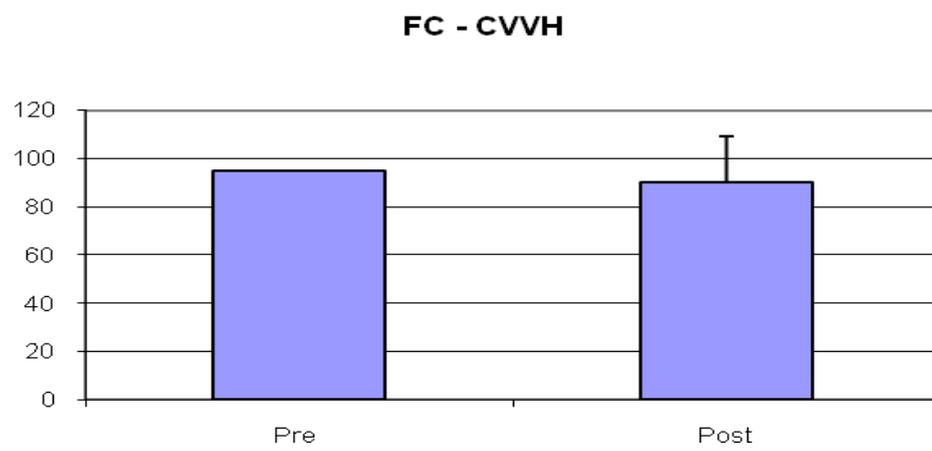


Figura 6

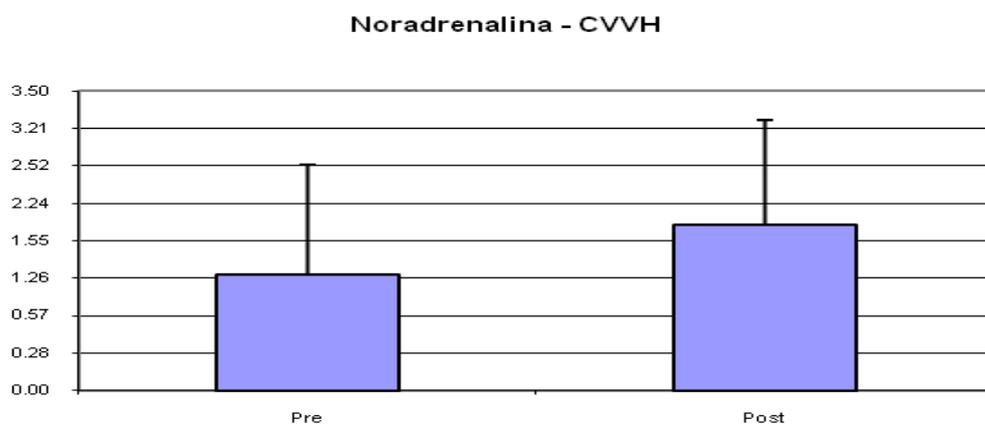


Figura 7

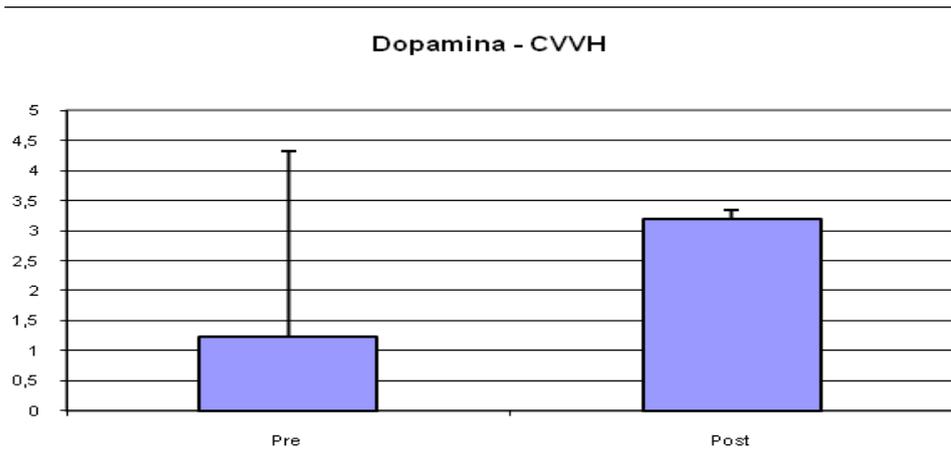


Figura 8

Nel gruppo III si è registrato un sovrapponibile aumento della PAM e della riduzione della Fc rispetto ai pazienti del gruppo 1, e una riduzione non significativa dei dosaggi delle ammine vasoattive pre/post trattamento (Figure 9a e 9b -10a e 10b).

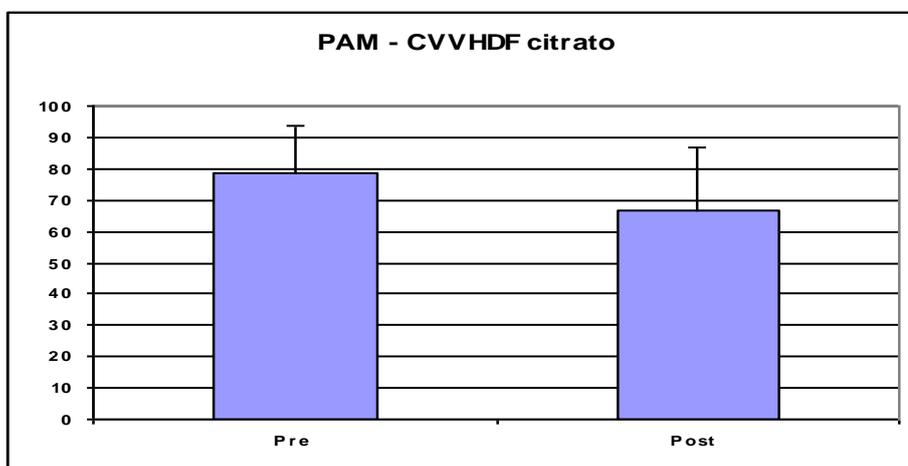


Figura 9a

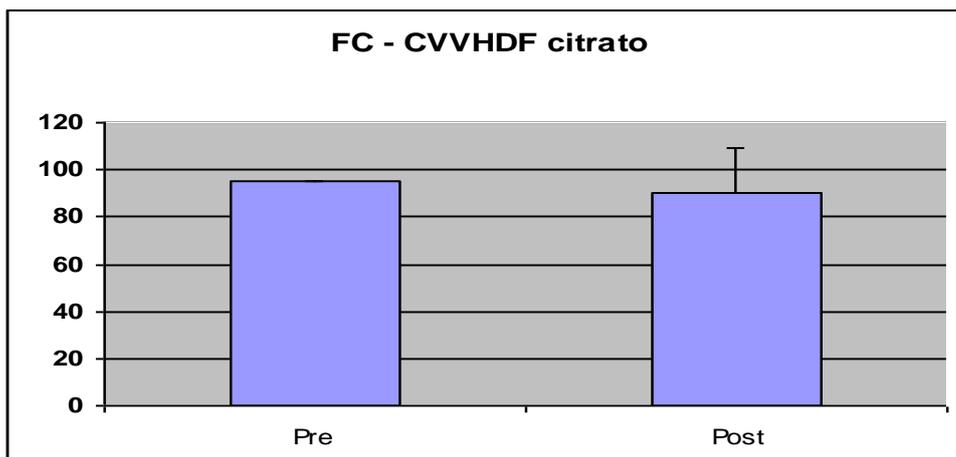


Figura 9b

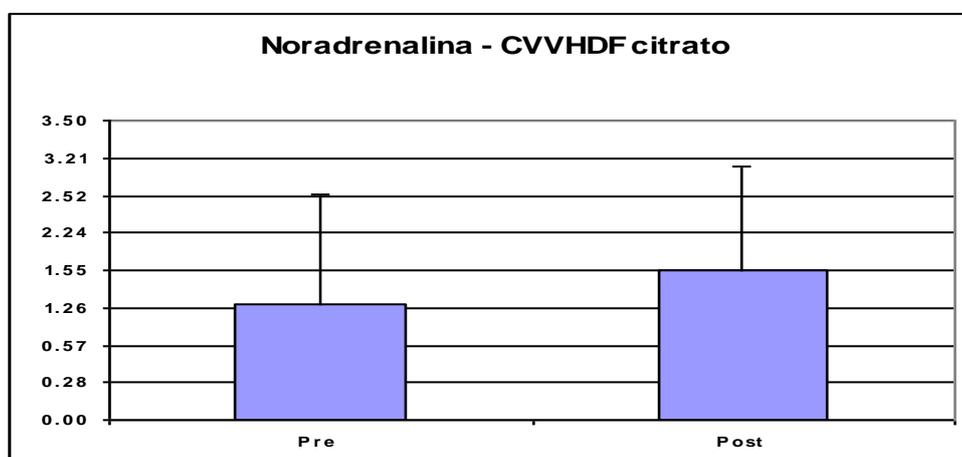


Figura 10a

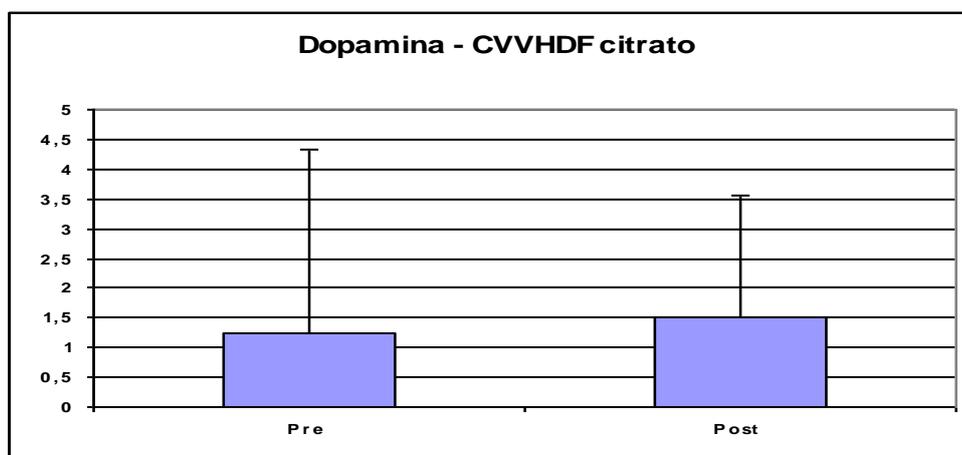


Figura 10b

Confrontando i valori registrati in post-trattamento nei tre gruppi, il miglioramento della PAM e la riduzione della dose di noradrenalina sono risultati statisticamente significativi nel gruppo HVHF ( $p < 0.01$  e  $p < 0.001$ ). (Fig. 11-12)

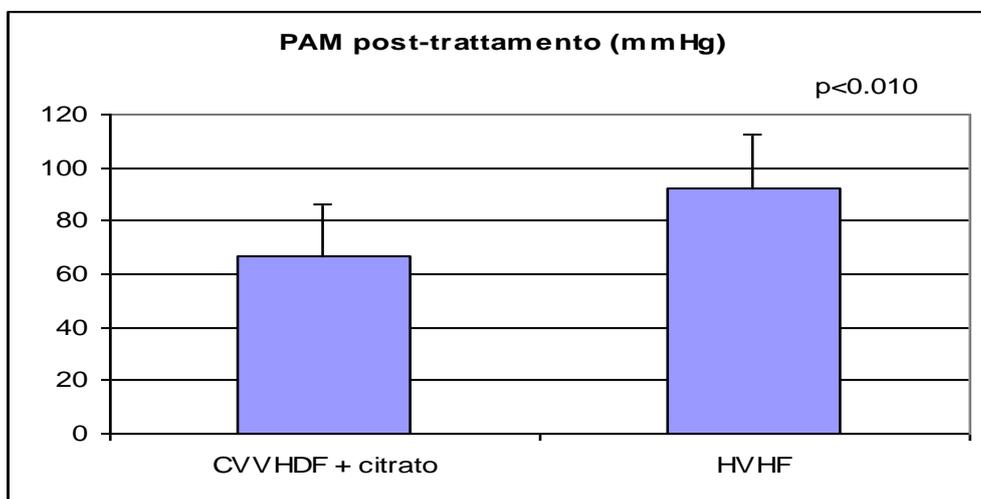


Figura 11

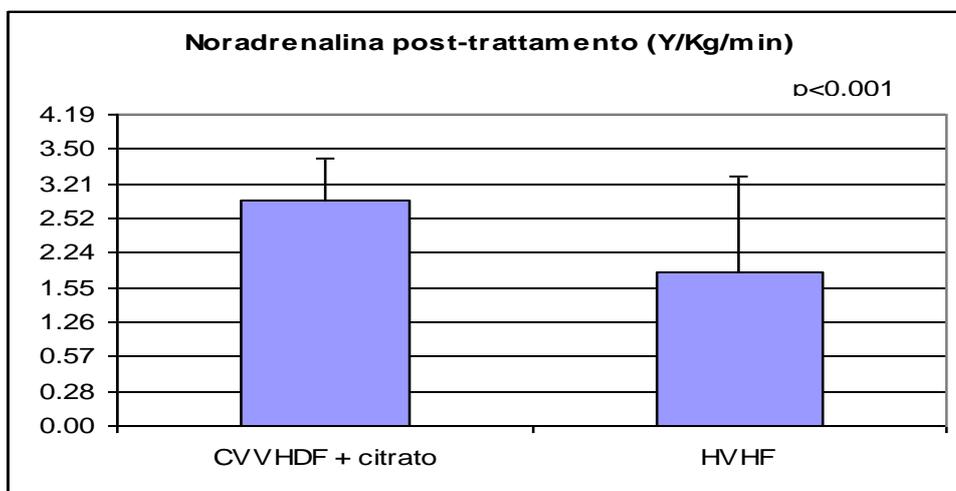


Figura 12

Comparando poi i valori post trattamento dei tre gruppi, si osserva nel gruppo HVHF una maggiore diminuzione dei livelli sia dell'urea che della creatinina, come pure una migliore ripresa funzionale senza però mai raggiungere la significatività statistica. (Figure 13-14-15)

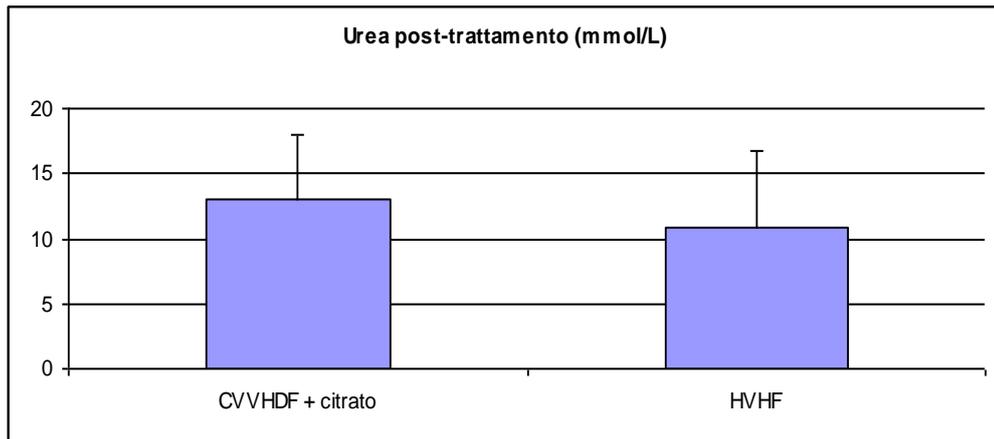


Figura 13

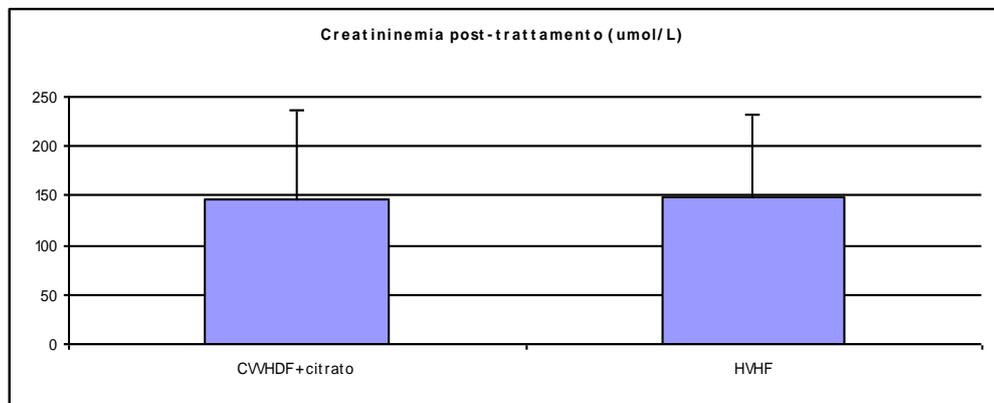


Figura 14

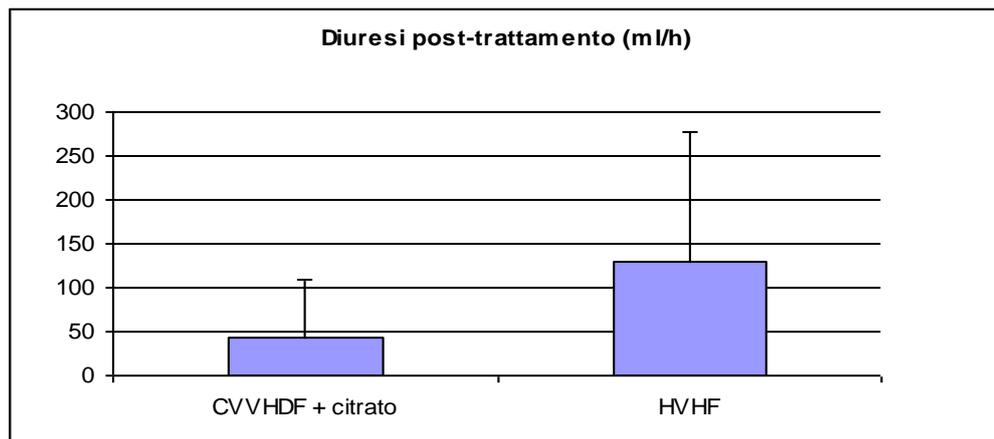


Figura 15

Per quanto riguarda la fosforemia (mmol/L), il nostro studio ha messo in evidenza una riduzione di tale parametro statisticamente significativa ( $p=0.001$ ) nel gruppo HVHF rispetto ai gruppi trattati in CVVH o CVVHDF + citrato (Figure 16-17)

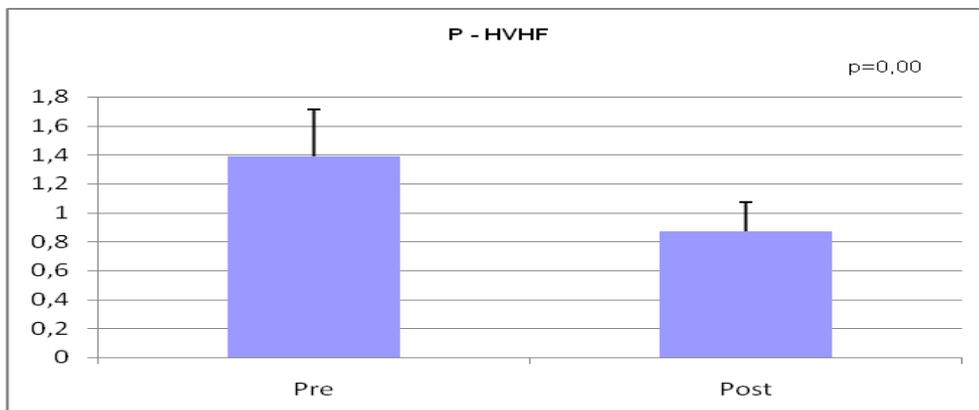


Figura 16

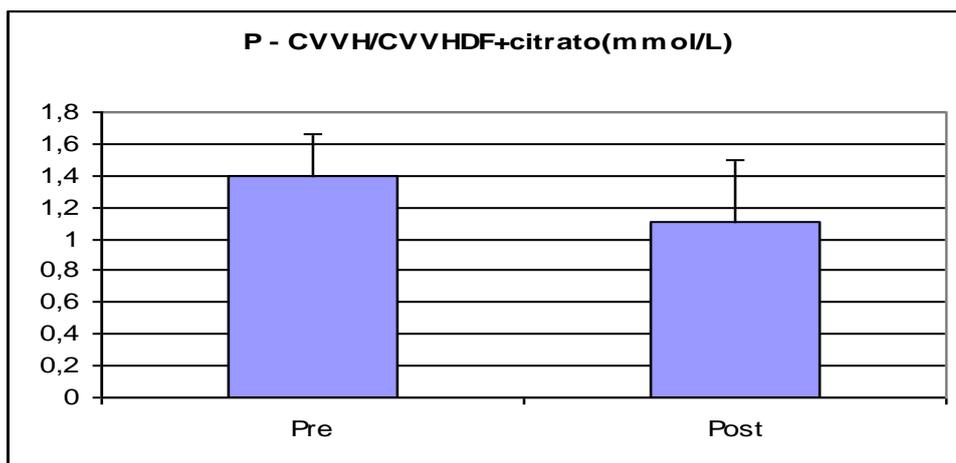


Figura 17

I pazienti di tutti e 3 i gruppi presentavano un importante quadro infettivo/infiammatorio pre-trattamento, come mostrano i dati della leucocitosi ( $\times 1000/\text{mm}^3$ ) e della PCR (mg/L). In tutti i gruppi trattati vi era una riduzione statisticamente significativa dei parametri in post trattamento ( $p < 0.02$  e  $p < 0.006$  nel gruppo I;  $p < 0.02$  e  $p = 0.001$  nel gruppo II;  $p < 0.04$  e  $p < 0.016$  nel gruppo III).

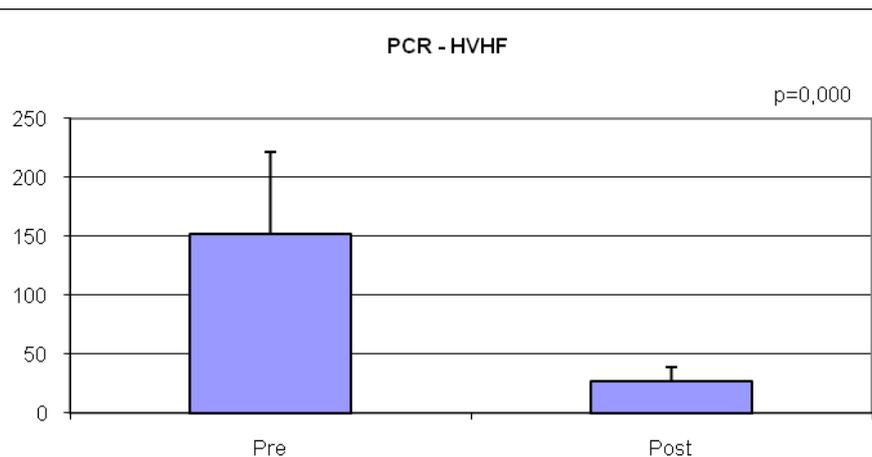


Figura 18

L'analisi dei valori di leucocitosi e di PCR in post trattamento dei tre gruppi, evidenziava, come nei pazienti del gruppo HVHF, una riduzione maggiore degli stessi che risulta statisticamente significativa solamente per la PCR (Figura 18-19).

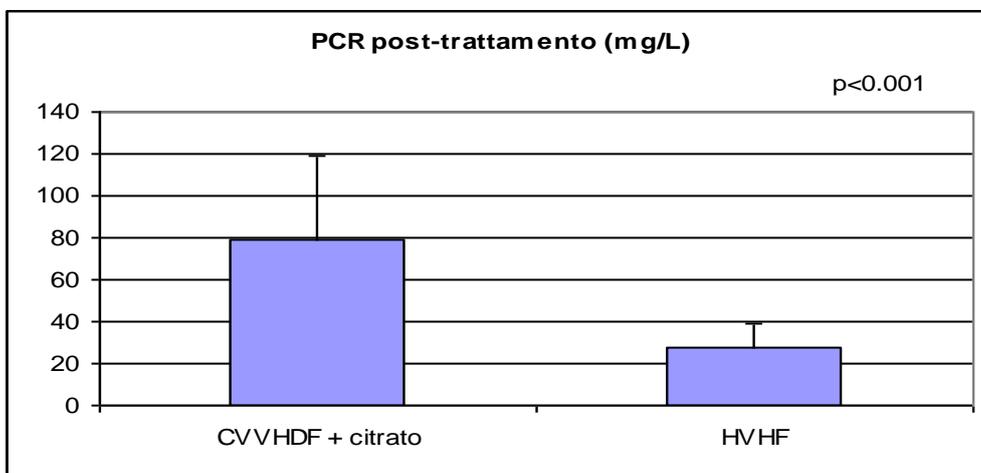


Figura 19

Per quanto concerne i parametri di funzionalità respiratoria, abbiamo preso in considerazione la  $\text{PaCO}_2$  (mmHg) ed il rapporto  $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$  (mmHg) che registrava un miglioramento in tutti e 3 i gruppi, anche se la riduzione dei valori medi in

assoluto risultava significativa per PaCO<sub>2</sub> ( $p < 0.01$ ) solo per i pazienti trattati in HVHF (Figure 20-21).

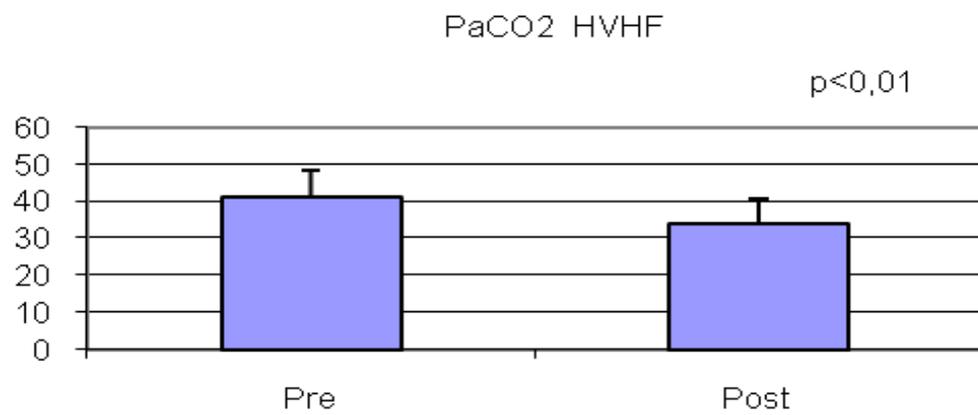


Figura 20

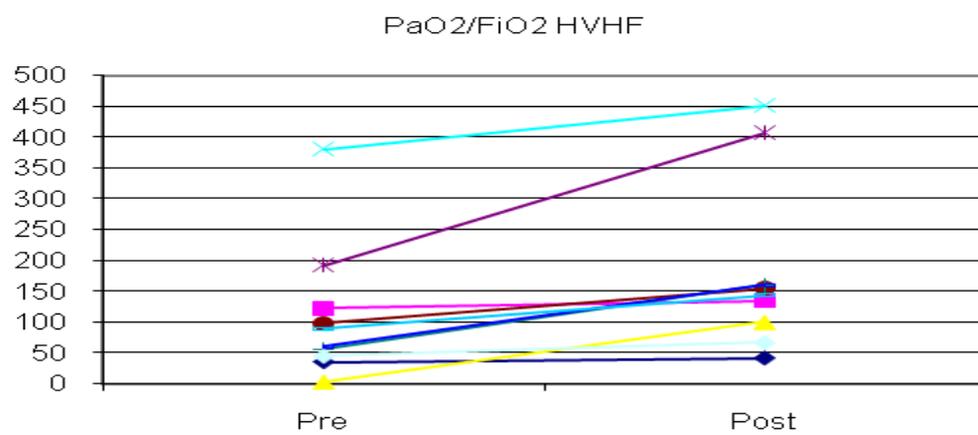


Figura 21

## DISCUSSIONE

La sepsi nonostante le continue acquisizioni scientifiche e l'evoluzione clinico-tecnologica rimane la patologia a più elevata mortalità.

La sindrome settica esprime il paradosso secondo il quale una combinazione di esagerata esponenziale attivazione seguita da un'altrettanto, inauspicabile depressione del sistema immunitario conduce all'immunodeficienza acquisita responsabile poi della disfunzione multiorgano.<sup>46</sup>

La sproporzionata attivazione della risposta infiammatoria è documentata dall'eccesso in circolo di citochine pro-infiammatorie, dall'inevitabile attivazione endoteliale e dalla sovraespressione della sintasi inducibile dell'ossido nitrico cui si associa l'attivazione linfomonocitaria. La coesistenza della risposta pro-infiammatoria e della risposta antinfiammatoria con "timing" ancora tutto da esplorare, culmina in una sorta di "down-regulation" della risposta immunitaria con inabilità alla processazione dell'antigene in risposta a stimoli esterni.

Terapie mirate a bloccare un singolo mediatore o citochina in corso di sepsi hanno avuto dubbi risultati.<sup>47</sup> La risposta terapeutica adeguata sembra dover avere le caratteristiche della non selettività ovvero un intervento che sia in grado di attutire, se non arrestare, la cascata citochinica attivata dall'LPS (lipopolisaccaride) o dall'esotossina.

Sembra quindi più razionale pensare ad un intervento aspecifico, ma prolungato e precoce, in grado di interferire con tutti i mediatori responsabili dello stato settico.

Se ormai accertata e riconosciuta è la capacità della CVVH di rimuovere le tossine uremiche in corso di Insufficienza Renale Acuta (IRA), è di recente acquisizione la capacità della stessa di depurare l'acqua plasmatica dalle citochine ed altri mediatori dell'infiammazione.<sup>48</sup>

Tale effetto viene ottenuto sia mediante convezione che tramite adsorbimento su membrana: si ritiene che l'aumento della superficie e della quota di ultrafiltrazione possa incrementare tale depurazione.

Un importante studio ha dimostrato l'esistenza di una "dose" renale di ultrafiltrazione per l'IRA, individuando nella quota di 35 ml/kg/h il limite per incrementare la sopravvivenza; lo stesso studio dava risultati meno univoci, ma comunque incoraggianti, nell'ipotizzare l'esistenza di una dose "settica" di ultrafiltrazione.<sup>49</sup>

Fino ad oggi non è stato possibile asserire che HVHF riduca nel plasma i livelli di citochine, ma è stato dimostrato come l'ultrafiltrato prodotto da animali in shock settico sia in grado di indurre, se inoculato in animali sani, un quadro di sepsi.<sup>50</sup>

Pur essendoci dati contrastanti riguardanti la valutazione quantitativa e qualitativa delle citochine in grado di essere rimosse dal trattamento HVHF, vi sono alcune evidenze cliniche che fanno propendere per una sua efficacia terapeutica prospettando la possibilità del suo impiego nel paziente critico.

In riferimento ai dati attualmente in nostro possesso possiamo senza dubbio affermare che con le metodiche extracorporee da noi applicate si è ottenuto in tutti i pazienti un sensibile e significativo miglioramento degli indici di funzionalità renale e della diuresi nei pazienti sopravvissuti. In particolare nei pazienti del gruppo I sottoposti a sola CVVH standard, si è osservato una buona correlazione tra

la stabilità pressoria e la compliance cardiovascolare con miglioramento della leucocitosi e della PCR. I pazienti del gruppo II, cioè quelli sottoposti ad HVHF continua per 96 ore e successivamente a CVVH nelle modalità già espresse in precedenza, pur partendo da livelli di urea e creatininemia simili a quelli dei pazienti del gruppo I, alla fine del trattamento presentavano una maggiore riduzione di tali parametri fino alla significatività statistica mentre si registravano miglioramenti della perfusione cardiopolmonare e una riduzione significativa della posologia delle ammine vasoattive in pre/post trattamento.

L'efficienza depurativa delle tecniche ad elevato scambio di volumi esponeva i pazienti trattati a iposfoforemia che abbiamo necessariamente corretto con tempestività e con dosi adeguate di fosfato ione al fine di scongiurare potenziali e gravi danni di miolisi muscolare.

Valutando inoltre gli scambi gassosi transalveolari, abbiamo osservato un miglioramento dei livelli sia della  $\text{PaCO}_2$  che del rapporto  $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$  che passavano rispettivamente da 41,3 a 34,1 e da 108 a 181. I pazienti del gruppo III presentavano un relativo aumento della pressione arteriosa e una riduzione della frequenza cardiaca compatibile a quella registrata per i pazienti del gruppo I.

La posologia dei farmaci vasoattivi registrava invece una progressiva riduzione non significativa. I livelli di urea e creatininemia erano anch'essi compatibili con i valori registrati in CVVH standard, anche se tale dato era inficiato dal peso corporeo e dalla superficie corporea differente, dati non presi in considerazione in tale studio.

Gli indici di flogosi, i parametri relativi alla funzionalità respiratoria ( $\text{PaCO}_2$ , rapporto  $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ ) registravano un miglioramento sovrapponibile ai pazienti del

gruppo I anche se non raggiungevano i valori e la significatività statistica registrati nei pazienti del gruppo II.

L'attenzione posta nei pazienti del gruppo III era indirizzata soprattutto al fatto che si utilizzava una metodica diffusiva/convettiva, la CVVHDF, e che si utilizzava un anticoagulante diverso dall'eparina, il trisodio-citrato, in grado di garantire la perfetta efficienza delle superfici dei capillari del dializzatore e dei circuiti extracorporei.

Abbiamo cercato di sostituire il concetto degli "elevati scambi di acqua plasmatica" con il concetto di "elevate superfici efficienti per lo scambio diffusivo/convettivo e per l'adsorbimento". L'eparina sodica alla posologia indicata è certamente in grado di attivare l'antitrombina III (AT III) e inibire la trombina garantendo la circolazione extracorporea; tale inibizione non è in grado però di impedire il formarsi del film proteico che ricopre totalmente le superfici esposte, compromettendone la funzionalità.

L'utilizzo poi di elevati scambi di acqua plasmatica di 4-6 litri/ora per periodi prolungati (96 ore), quali quelli da noi utilizzati in HVHF, determinava, a carico del personale infermieristico in servizio nelle ICU, carichi di lavoro difficilmente sostenibili. Inoltre, la HVHF può essere garantita solo con flussi ematici ( $Q_b$ ) elevati che finiscono con lo stressare con il tempo l'efficienza del CVC ed i circuiti extracorporei. E' probabile che se HVHF dovesse dimostrarsi la tecnica extracorporea indispensabile nella SIRS/Sepsi, un adeguamento della tecnologia potrebbe superare i limiti attuali.

In ultimo, poco si conosce sulla depurazione, eluizione delle medie molecole ad azione paracrina e/o dei frammenti attivi degli ormoni che, con la tecnica ad alto volume, verrebbero comunque sottratti al circolo. Nella nostra esperienza, non

abbiamo notato variazioni della cortisolemia, tiroxinemia, triiodotiramina, a differenza di quanto osservato per PTH e Mg che mostravano significative riduzioni.

Nonostante i bassi dosaggi di eparina sodica, le complicanze emorragiche sono eventi possibili e in alcuni casi temibili quando si utilizza terapia sostitutiva extracorporea. Nei pazienti settici, discoagulopatici, o trattati con Proteina C attivata, tali eventi sono più evidenti e tali determinare la riduzione o la sospensione dell'eparina sodica per evitare il conseguente "clotting" dei circuiti.

La frequente sostituzione dei circuiti stessi (ogni 4-6 ore) non è soltanto un problema di "costi", ma è anche un problema di inefficienza terapeutica.

Per tutte queste ragioni abbiamo ritenuto opportuno, nel tentativo di raggiungere il "target" delle elevate superfici efficienti, sostituire l'eparina sodica con il trisodio-citrato.

Il confronto con la CVVH standard e la CVVHDF con citrato in corso di sepsi, rende le due metodiche abbastanza sovrapponibili in termini di depurazione e outcome clinici. La CVVHDF con citrato a differenza della CVVH standard migliora l'efficienza del sistema annulla il "clotting" dei circuiti e le complicanze emorragiche prima menzionate. La CVVHDF con citrato, a differenza della HVHF, ripropone i vantaggi espressi in precedenza nei confronti della CVVH ma, a differenza della HVHF, non raggiunge la significatività statistica per quanto riguarda i parametri di compliance cardio-polmonare.

Accanto ai vantaggi e relativi svantaggi che la CVVHDF ha evidenziato bisogna, per onestà intellettuale, indicare alcuni problemi che si sono evidenziati nel corso dei trattamenti eseguiti. E' noto che il trisodio-citrato è stato da sempre considerato come uno degli anticoagulanti nelle tecniche extracorporee, soprattutto

nelle tecniche dialitiche intermittenti. Il trisodio-citrato utilizzato in passato doveva essere in grado di chelare tutti gli ioni calcio presenti nei circuiti extracorporei. Una dose di calcio in infusione continua era necessaria per garantire una normale calcemia al paziente; era però l'elevata posologia del trisodio-citrato a limitare l'uso di tale anticoagulante. L'elevata quantità di sodio determinava infatti al paziente un aumento progressivo dell'osmolarità plasmatica mentre le elevati dosi di citrato inducevano alcalosi metabolica spinta ed acidosi liquorale.

La novità della nostra metodica consiste infatti nell'utilizzare dosi minime di trisodiocitrato, grazie alla completa assenza di ioni calcio nelle soluzioni di sostituzione o di scambio.

Abbiamo contribuito ad elaborare un software che consente, in base al flusso sangue impostato ( $Q_b$ ), l'infusione di una soluzione di citrato (PRISMOCITRATE) in grado di chelare il sale di calcio presente nell'acqua plasmatica del paziente fino a valori di 0,2-0,3 mmol/L di calcio. Lo stesso software è in grado con buona approssimazione, di infondere in post-circuito calcio-cloruro al 10% in grado di garantire una normale calcemia al paziente.

Il risultato finale è che il circuito extracorporeo risulta completamente scoagulato e con superfici capillari completamente integre e perfettamente efficienti per la diffusione/convezione/adsorbimento medio molecolare delle citochine, mentre contemporaneamente il paziente presenta un assetto coagulativo normale o non modificato da interferenze esterne. La quota di citrato in circolo risulta essere minima. Il complesso citrato-calcio viene infatti in parte ultrafiltrato in corso della stessa CVVHDF stessa e in parte metabolizzato a livello di fegato, muscoli, cuore e reni, generando per ogni mole di citrato tre moli di bicarbonato.

Nel corso del nostro studio nonostante la sindrome settica, si associ spesso ad acidosi metabolica normocloremica, sostenuta oltre che dall'insulto renale, anche dalla componente riconducibile all'acidosi lattica non abbiamo registrato alcalosi metabolica. In 4 casi abbiamo di contro rilevato lieve acidosi metabolica ( $\text{HCO}_3^-$  21 mEq/L) probabilmente legata al ridotto metabolismo dello stesso citrato.

## CONCLUSIONI

La sindrome settica rimane a tutt'oggi un evento clinico grave e ad elevata mortalità. La HVHF è considerata la metodica di scelta nell'ambito dei trattamenti extracorporei nei pazienti con shock settico e MODS.

Il nostro studio ha confermato i dati acquisiti della letteratura internazionale sul miglioramento della frequenza cardiaca, pressione arteriosa media, PaCO<sub>2</sub>, rapporto OaO<sub>2</sub>/F iO<sub>2</sub> e degli indici di flogosi.

La terapia extracorporea è da considerarsi un trattamento salvavita per gli effetti sulla omeostasi idroelettrolitica ed acido-base e sulla gestione dei volumi in corso di sepsi e shock settico. Tutti i trattamenti CRRT hanno dimostrato efficienza depurativa per le piccole e per le medie molecole, tanto da soddisfare il criterio di "dose renale".

L'aumento dei volumi di scambio ha dimostrato di correlarsi ad una aumentata sopravvivenza, ma nonostante tali dati, le tecniche ad elevato scambio di volume hanno avuto relativa diffusione nei reparti di terapia intensiva. La dose "settica" risulta essere paradossalmente ridimensionata dai limiti che tuttora impone la tecnologia e l'organizzazione operativa nei reparti di terapia intensiva.

La sostituzione del concetto di elevati volumi di scambio con le elevate superfici efficienti potrebbe essere la nuova strategia depurativa per le sindromi settiche, magari con l'ausilio di una nuova generazione di membrane ad elevata superficie e ad elevata permeabilità.

La CVVHDF con citrato, a differenza della HVHF, ha dimostrato però di essere una tecnica più affidabile e sicura. L'esiguo numero di pazienti trattati non ci

permette ancora di poter attuare un adeguato confronto. Riteniamo comunque che una migliore messa a punto della tecnica stessa, magari con l'ausilio di membrane a più elevata superficie e permeabilità, possano raggiungere gli obiettivi già espressi con le tecniche ad elevato scambio di volume.

---

## BIBLIOGRAFIA

- 1 Erik A..J. Hoste, Norbert H. Lameire, Raymond C. Vanholder, Dominique D. Benoit, Johan M.A. Decruyenaere, and Francis A.. Colardyn. (2003) Acute Renal Failure in Patient with Sepsis in a Surgical ICU: predictive factors, incidence, comorbidity, and outcome. *J Am Soc Nephrol* 14:1022-1030.
- 2 Martin GS, Mannino DM, Eaton S et al. The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. *N Engl J Med* 2003, 348:1546-1554.
- 3 Brun-Buisson C, Meshaka P, Pinton P et al. EPISEPSIS : a reappraisal of the epidemiology and outcome of severe sepsis in French intensive care units. *Intensive Care Med* 2004, 30:580-588.
- 4 Angus DC, Linde-Zwirble WT, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR (2001) Epidemiology of severe sepsis in the United States : analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med* 29:1303-1310.  
outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med* 29:1303-1310.
- 5 Robert W. Schrier and Wei Wang (2004) Acute Renal Failure and Sepsis. *N. Engl J Med* 351:159-169.
- 6 American Coll. of Chest Physician/Society of Critical Care Medicine (1992) Consensus Conference. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Crit Care Med* 20:864-874.
- 7 R.S.Munford: Sepsi e Shock settico. In: Harrison. *Principi di medicina interna* (quattordicesima edizione). A.S.Fauci, E.Braunwald, K.J.Isselbacher, J.D.Wilson, J.B.Martin, D.L.Kasper, S.L.Hauser, D.L.Longo eds, Mc Graw-Hill Publ , 1998, pp 894-899.

- 
- 8 G. Graziani, M. Buskermolen, S. Oldani, G. Brambilla (2006). Sepsis, insufficienza renale acuta e “multiple organ dysfunction syndrome”. *Giornale Italiano di Nefrologia*, 36: S13-S21.
- 9 Struttura e biosintesi dei principali componenti della parete batterica. In: *Microbiologia*. Murray, Rosenthal, Kobayashi, Pfaller eds, edises Publ, 2000, pp 20-21.
- 10 R.N. Mitchell: Patogenesi dello shock settico. In: Robins e Cotran. *Le basi patologiche delle malattie* (settima edizione). Kumar, Abbas, Fausto eds, Elsevier Publ, 2005, pp 139-143.
- 11 H.R. Brady, B.M. Brenner: Insufficienza Renale Acuta. In: Harrison. *Principi di medicina interna* (quattordicesima edizione). A.S. Fauci, E. Braunwald, K.J. Isselbacher, J.D. Wilson, J.B. Martin, D.L. Kasper, S.L. Hauser, D.L. Longo eds, Mc Graw-Hill Publ, 1998, p 1722.
- 12 Dellinger RP, Carlet JM, Masur H et al. Surviving sepsis campaign guidelines for management of severe sepsis and septic shock. *Crit Care Med* 2004, 32:858-873.
- 13 Kollef MH. Appropriate antibiotic therapy for ventilator-associated pneumonia and sepsis: a necessity, not an issue for debate. *Intensive Care Med* 2003, 29:147-149.
- 14 Yu DT, Black E, Sands KE et al. Severe sepsis: variation in resource and therapeutic modalità use among academic centers. *Crit Care* 2003, 7:R24-R34.
- 15 Garnacho-Montero J, Garcia-Garmendi JL, et al. Impact of adequate empirical antibiotic therapy on the outcome of patients admitted to the intensive care unit with sepsis. *Crit Care Med* 2003, 31:2742-2751.

- 
- 16 Chastre J, Wolff M, Fagon YJ et al. Comparison of 8 vs. 15 days of antibiotic therapy for ventilator associated pneumonia in adults: a randomised trial. *JAMA* 2003, 290:2588-2598.
- 17 Landry DW, Oliver JA. Insights into shock. *Sci Am* 2004, 290:36-41.
- 18 Pinsky MR. Hemodynamic monitoring in the intensive care unit. *Clin Chest Med* 2003, 24:549-560.
- 19 Haynes GR, Navickis RJ, Wilkes MM. Albumin administration – what is the evidence of clinical benefit? A systematic review of randomised controlled trials. *Eur J Anaesthesiol* 2003, 20:771-793.
- 20 Dellinger RP. Cardiovascular management of septic shock. *Crit Care Med* 2003, 31:946-955.
- 21 De Backer J, Creteur J, Silva E et al. Effects of dopamine, norepinephrine and epinephrine on the splanchnic circulation in septic shock: which is best? *Crit Care Med* 2003, 31:1659-1667.
- 22 Klinzing S, Simon M, Reinhart K et al. High-dose vasopressin is not superior to norepinephrine in septic shock. *Crit Care Med* 2003, 31:2646-2650.
- 23 Morelli A, Rocco M, Conti G et al. Effects of terlipressin on systemic and regional haemodynamics in catecholamine-treated hyperkinetic septic shock. *Intensive Care Med* 2004, 30:597-604.
- 24 Vincent JL, Angus DC, et al. Effects of drotrecogin alfa (activated) on organ dysfunction in the PROWESS trial. *Crit Care Med* 2003, 31:834-840.
- 25 Annane D, Bellissant E, Sibille V et al. Impaired pressor sensitività to noradrenaline in septic shock patients with and without impaired adrenal function reserve. *Br J Clin Pharmacol* 1998, 46:589-597.

- 
- 26 Root RK, Lodato RF, Patrick W et al. Multicenter, double-blind, placebo-controlled study of the use of filgrastin in patients hospitalized with pneumonia and severe sepsis. *Crit Care Med* 2003, 31:367-373.
- 27 Albertson TE, Panacek EA, MacArthur RD et al. Multicenter evaluation of a human monoclonal antibody to Enterobacteriaceae common antigen in patients with Gram-negative sepsis. *Crit Care Med* 2003, 31:419-427.
- 28 Abraham E, Reinhart K, Opal S et al. Efficacy and safety of tifacogin (recombinant tissue factor pathway inhibitor) in severe sepsis: a randomised controlled trial. *JAMA* 2003, 290:238-247.
- 29 Abraham E, Naum C, et al. Efficacy and safety of LY315920Na/S-5920, a selective inhibitor of 14-kDa group IIA secretory phospholipase A2, in patients with suspected sepsis and organ failure. *Crit Care Med* 2003, 31:718-728.
- 30 Hladik M, Tymonová J, Zaoral T, Kadlcik M, Treatment by continuous renal replacement therapy in patients with burn injuries. *Acta* 2000; 43.
- 31 Gueugniaud PY. Apport de l'hémodiafiltration continue au traitement des brûles graves. In: Journois D, editor. *Hémodiafiltration continue*. Amsterdam: Elsevier, 1993. p. 209.
- 32 Bellomo R, Tipping P, Boyce N. Interleukin-6 and Interleukin-8 extraction during continuous venovenous hemo-diafiltration in septic acute renal failure. *Renal Failure* 1995;17(4):457±66.
- 33 Tonnesen E, Hansen MB, Hoehndorg K et al. Cytokines in plasma and ultrafiltrate during continuous arteriovenous hemo-filtration. *Anaesth Intensive Care* 1993;21:752±8.

- 
- 34 Grootendorst AF, van Bommel EFH, van der Hoven B, van Leengoed LAM, van Osta ALM. High volume hemofiltration improves right ventricular function of endotoxin-induced shock in the pig. *Intensive Care Med* 1992;18:235-240.
- 35 Grootendorst AF, van Bommel EFH, van der Hoven B. et al. High volume hemofiltration improves hemodynamics of endotoxin-induced shock in the pig. *J Crit Care* 1992;7:67-75.
- 36 Grootendorst AF, van Bommel EFH, van Leengoed LAM et al. High volume hemofiltration improves hemodynamics and survival of pigs exposed to gut ischemia and reperfusion. *Shock* 1994;2:72-78.
- 37 Grootendorst AF, van Bommel EFH, van Leengoed LAM et al. Infusion of ultrafiltrate from endotoxemic pigs depresses myocardial performance in normal pigs. *J Crit. Care* 1993;8:161-169.
- 38 Nagashima M, Shin'oka T, Nollert G et al. High-volume continuous hemofiltration during cardiopulmonary bypass attenuates pulmonary dysfunction in neonatal lambs after deep hypothermic circulatory arrest. *Circulation* 1998;98(Suppl 19):II378-384.
- 39 Lee PA, Matson JR, Pryor RW, Hinshaw LB. Continuous arteriovenous hemofiltration therapy for staphylococcus aureus-induced septicemia in immature swine. *Crit Care Med* 1993;21:914-924.
- 40 Rogiers P, Zhang H, Smail N et al. Continuous venovenous hemofiltration improves cardiac performance by mechanism other than tumor necrosis factor-alpha attenuation during endotoxic shock. *Crit Care Med* 1999;27:1848-1855.
- 41 Yakebas EF, Eisenberger CF, Ohnesorge et al. Attenuation of sepsis-related immunoparalysis by continuous veno-venous hemofiltration in experimental porcine pancreatitis. *Crit Care Med* 2001;29:1423-1430

- 
- 42 Cohen J. The immunopathogenesis of sepsis. *Nature* 2002;420(6917):885-891.
- 43 Hotchkiss RE, Karl IE: The pathophysiology and treatment of sepsis. *2003;348:138-150.*
- 44 Volk HD, Reinke P, Krausch D, et al. Monocyte deactivation: rationale for a new therapeutic strategy in sepsis. *Intensive Care Med* 1996;Suppl 4:S474-S481.
- 45 Tetta C, De Nitti Cm, Wratten ML et al. Do circulating cytokines really matter in sepsis? *Kidney Int Suppl* 203;84:S69-71.
- 46 Pinsky MR. Sepsis: a pro- and anti-inflammatory disequilibrium syndrome. *Contrib Nephrol* 2001;132:354-366.
- 47 Cavailon JM, Adib-Conquy M, Cloez-Tayarani I, Fitting C. Immunodepression in sepsis and SIRS assessed by ex vivo cytokine production is not a generalized phenomenon: a review. *J Endotoxin Res* 2001;7(2):85-93.
- 48 Ronco C, Bellomo R, Homel P et al. Effects of different doses in continuous veno-venous haemofiltration on outcomes of acute renal failure: a prospective randomised trial. *Lancet* 2000;356:26-30.
- 49 Ronco C, Bellomo R, Ricci Z. Importance of increased ultrafiltration volume and impact on mortality: sepsis and cytokine story and the role of continuous veno-venous haemofiltration. *Cur Opin Nephrol Hypertn* 2001;10:755-761.
- 50 Oudemans-van Straaten HM, Bosman RJ et al. Outcome of critically ill patients treated with intermittent high-volume hemofiltration: a prospective cohort analysis. *Intensive Care Med* 1999;25:814-821.