



UNIVERSITÀ  
DEGLI STUDI  
FIRENZE

## **DOTTORATO DI RICERCA IN SCIENZE CLINICHE**

CICLO XXVII

COORDINATORE Prof. Giacomo Laffi

**IL RUOLO DELLA TERAPIA RENALE  
SOSTITUTIVA CON MEMBRANE AD ALTO CUT-  
OFF IN PAZIENTI CRITICI CON SEPSI  
GRAVE/SHOCK SETTICO ASSOCIATI AD  
INSUFFICIENZA RENALE ACUTA.**

Settore Scientifico Disciplinare med/41

**Dottorando**

Dott.ssa Lucia Zamidei

**Tutore**

Prof. Angelo Raffaele De Gaudio

**Coordinatore**

Prof. Giacomo Laffi

Anni 2012/2014

*Al mio Maestro,  
fonte inesauribile di consigli ed insegnamenti,  
che da sempre arricchiscono il mio percorso formativo.*

*Un sentito ringraziamento al Professor De Gaudio,  
alla Dottoressa Bettocchi, al Dottor Michelagnoli,  
ed a tutto il personale della Terapia Intensiva dell'Ospedale di  
Prato diretta dal Dottor Consales,  
per la collaborazione ricevuta nella realizzazione di questo studio.*

*Un abbraccio ai miei genitori.*

# INDICE

INDICE.....	3
INTRODUZIONE E SCOPO DELLA TESI.....	3
SEPSI E DANNO RENALE ACUTO .....	4
<i>EPIDEMIOLOGIA</i> .....	5
<i>DEFINIZIONI</i> .....	5
<i>CONSIDERAZIONI MICROBIOLOGICHE</i> .....	15
<i>FISIOPATOLOGIA</i> .....	16
TERAPIA RENALE SOSTITUTIVA .....	24
<i>DEFINIZIONE</i> .....	24
<i>INDICAZIONI</i> .....	25
<i>TIMING</i> .....	26
<i>DOSE</i> .....	28
<i>PRINCIPI FISICI E MODALITA' DI TRATTAMENTO</i> .....	30
<i>CRRT NEL PAZIENTE SETTICO</i> .....	36
METODO.....	46
PIANO STATISTICO.....	59
RISULTATI.....	60
DISCUSSIONE.....	77
CONCLUSIONI.....	87
BIBLIOGRAFIA.....	88

## **INTRODUZIONE E SCOPO DELLA TESI**

Il danno renale acuto è una delle più frequenti complicanze associate alla sepsi e determina un incremento significativo di mortalità e morbilità nei pazienti critici.

Oltre ad avere una funzione di supporto d'organo, le varie tecniche di sostituzione continua della funzione renale sono state proposte per modulare la risposta infiammatoria ed immunitaria in corso di sepsi, attraverso la rimozione di citochine e tossine batteriche.

In particolare, l'impiego di membrane ad elevato cut-off permette una più efficace rimozione di mediatori con peso molecolare elevato ( $> 45$  kDa) rispetto a quello ottenuto con un emofiltro standard.

L'ipotesi dello studio è che l'emodialisi veno-venosa continua con membrane ad alto cut-off, aumentando la clearance dei mediatori flogistici, possa ridurre la disfunzione multi-organo migliorando quindi l'outcome di pazienti settici affetti da insufficienza renale acuta e ricoverati in Terapia Intensiva.

# **SEPSI E DANNO RENALE ACUTO**

## **EPIDEMIOLOGIA**

La sepsi rappresenta il 2-11% delle cause di ammissione in Terapia Intensiva (TI) e si associa ad una mortalità compresa tra il 20 ed il 30% per la sepsi grave, raggiungendo valori superiori al 50% per lo shock settico [1,2].

La sepsi rappresenta una delle principali cause di danno renale acuto (AKI) nel paziente critico, infatti l'AKI si sviluppa in circa il 19% dei pazienti con sepsi, nel 23% dei pazienti con sepsi grave e nel 51% dei pazienti con shock settico [3,4].

Nonostante i progressi effettuati negli ultimi decenni nel campo del trattamento, l'insorgenza di AKI sepsi-correlata resta un fattore di rischio indipendente per mortalità e morbilità nei pazienti ricoverati in TI [5].

La combinazione di sepsi ed AKI è associata, infatti, ad una mortalità superiore al 70% [4].

## **DEFINIZIONI**

### *Sepsi, sepsi grave e shock settico*

In accordo con la “Consensus Conference” della Surviving Sepsis Campaign [6], la sepsi è definita come la presenza di infezione (probabile o documentata) associata ad almeno uno tra i criteri mostrati in Tabella 1 [7].

La sepsi grave è invece definita da un quadro di sepsi complicata da ipoperfusione tissutale o disfunzione d'organo (Tabella 2), mentre lo shock settico si riferisce ad un quadro di sepsi associata ad insufficienza cardiovascolare acuta, definita da una pressione arteriosa sistemica (PAS)  $< 90$  mmHg o di almeno 40 mmHg inferiore rispetto ai valori basali nei pazienti ipertesi oppure da un valore della pressione arteriosa media (PAM)  $< 70$  mmHg, refrattaria alla fluidoterapia con necessità di supporto con vasopressori [6,7].

<b>Parametri generali</b>
Febbre > 38°C Ipotermia < 36°C Fc > 90/min o 2 DS sopra il valore normale per l'età Tachipnea Alterazione stato di coscienza Edema o bilancio idrico positivo (>20 ml/kg nelle 24h) Iperglicemia >140 mg/dl in assenza di diabete
<b>Parametri emodinamici</b>
Ipotensione arteriosa (PAS < 90 mmHg, PAM < 70 mmHg o riduzione della PAS > 40 mmHg)
<b>Parametri infiammatori</b>
Leucocitosi > 12000 µl Leucopenia < 4000 µl > 10% di GB immaturi Proteina C reattiva > 2 DS sopra valore normale Procalcitonina > 2 DS sopra valore normale
<b>Parametri di disfunzione d'organo</b>
Ipossiemia arteriosa (PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub> < 300) Oliguria (output urinario < 0,5 ml/kg/h per almeno 2h nonostante adeguata fluidoterapia) Aumento della creatinina > 0,5 mg/dl Anomalie della coagulazione (INR > 1,5 o aPTT > 60 sec) Ileo paralitico Trombocitopenia (Ptl < 100000 µl) Iperbilirubinemia (bilirubina totale > 4 mg/dl)
<b>Parametri di ipoperfusione tissutale</b>
Iperlattatemia (> 1 mmol/L) Ridotto refill capillare

**Tabella 1**

Criteri diagnostici per la definizione di sepsi, modificata da [7].



<b>Sepsi grave: ipoperfusione indotta da sepsi o disfunzione d'organo (qualsiasi tra le seguenti)</b>
<p>Ipotensione indotta da sepsi</p> <p>Iperlattatemia (<math>&gt; 1</math> mmol/L)</p> <p>Oliguria (output urinario <math>&lt; 0,5</math> ml/kg/h per almeno 2h nonostante adeguata fluidoterapia)</p> <p>Danno polmonare acuto con (<math>\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 &lt; 200</math>) in presenza di focolai infettivi polmonari</p> <p>Danno polmonare acuto con (<math>\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 &lt; 250</math>) in assenza di focolai infettivi polmonari</p> <p>Creatinina <math>&gt; 2</math> mg/dl</p> <p>Bilirubina <math>&gt; 2</math> mg/dl</p> <p>Trombocitopenia (<math>\text{Ptl} &lt; 100000 \mu\text{l}</math>)</p> <p>Anomalie della coagulazione (<math>\text{INR} &gt; 1,5</math> o <math>\text{aPTT} &gt; 60</math> sec)</p>

## **Tabella 2**

Criteri diagnostici per la definizione di sepsi grave, modificata da [7].

### *Danno renale acuto*

Clinicamente l'AKI può essere definita come una rapida riduzione della filtrazione glomerulare, che si verifica nel giro di qualche ora o giorno, associata a ritenzione dei prodotti terminali del catabolismo proteico, ad alterazioni elettrolitiche, dell'equilibrio acido base e del bilancio dei fluidi; l'oliguria è frequente ma non costante.

Al fine di standardizzare ed uniformare la definizione di AKI, identificare precocemente i pazienti con disfunzione renale e quindi attuare prontamente interventi volti a trattarne e prevenirne la progressione, sono state recentemente proposte una serie di classificazioni.

Il gruppo di lavoro ADQI (Acute Dialysis Quality Initiative) ha introdotto nel 2004 i criteri RIFLE (Risk-Injury-Failure-Loss of kidney function-End Stage Renal Disease), Tabella 3 [8].

Il sistema RIFLE identifica tre classi di gravità (Risk, Injury e Failure) in funzione delle modificazioni della creatinemia e dell'output urinario e due classi prognostiche (Loss of kidney function ed End Stage Renal Disease) in funzione della durata della perdita della funzione renale.

Nel 2007 è stata pubblicata una versione modificata della classificazione RIFLE, conosciuta come AKIN (Acute Kidney Injury Network), Tabella 4 [9].

Rispetto alla classificazione RIFLE sono state apportate alcune variazioni importanti [10]:

- ◆ le classi Risk, Injury e Failure sono state sostituite dagli stadi 1, 2 e 3 rispettivamente
- ◆ l'aumento assoluto della creatinina di almeno 0.3 mg/dl è stato aggiunto come criterio aggiuntivo nello stadio 1
- ◆ i pazienti che iniziano la RRT sono automaticamente classificati come stadio 3, indipendentemente dai livelli di creatinina e dall'output urinario
- ◆ le categorie come Loss ed End stage renal disease sono state eliminate
- ◆ sono stati eliminati il GFR e la creatinina di base tra i criteri diagnostici

Sebbene sia la classificazione RIFLE che la AKIN presentino una simile elevata accuratezza sia in termini diagnostici che prognostici nei pazienti critici [11-12], sono da segnalarsi alcune incoerenze tra le due classificazioni.

Le più recenti Linee Guida internazionali KDIGO (Kidney Disease: Improving Global Outcomes) conciliano queste definizioni, utilizzando per la caratterizzazione della prima classe di severità un aumento documentato di creatininemia  $\geq 0.3$  mg/dl nelle 48h oppure un aumento  $\geq 50\%$  rispetto al basale documentato o presunto in un arco di 7 giorni [13], Tabella 5.

Caratteristica comune a tutte e tre le recenti classificazioni di AKI (RIFLE, AKIN, KDIGO) è il fatto che esse siano basate su criteri funzionali quali creatininemia e diuresi, due fattori che possono alterarsi anche tardivamente in caso di AKI.

Al fine di definire il danno renale sub clinico che si realizza anche in assenza di alterata funzione, il gruppo di consenso ADQI (Acute Dialysis Quality Initiative), ha prospettato di integrare le precedenti classificazioni con dei criteri di danno strutturale, basati sulla positività di biomarcatori di danno renale precoce, Tabella 6 [14].

## RIFLE

Creatinina e GFR	Diuresi	
Aumento Cr x 1,5 o GFR ridotta > 25%	< 0,5 ml/kg/h x 6h	<b>RISK</b>
Aumento Cr x 2 o GFR ridotta > 50%	< 0,5 ml/kg/h x 12h	<b>INJURY</b>
Aumento Cr x 3 o GFR ridotta > 75% o Cr > 4 mg/dl (con rapido aumento > 0,5 mg/dl)	< 0,3 ml/kg/h x 24h o anuria x 12h	<b>FAILURE</b>
IRA persistente= completa perdita della funzionalità renale per > 4 sett		<b>LOSS</b>
End Stage Renal Disease		<b>ESDR</b>

**Tabella 3**

Classificazione AKI secondo criteri RIFLE, modificata da [10].

## AKIN

Creatinina e GFR	Output Urinario	
Aumento Cr x 1,5 o > 0,3 mg/dl	< 0,5 ml/kg/h x 6h	<b>STADIO 1</b>
Aumento Cr x 2	< 0,5 ml/kg/h x 12h	<b>STADIO 2</b>
Aumento Cr x 3 o Cr > 4 mg/dl (con rapido aumento > 0,5 mg/dl)	< 0,3 ml/kg/h x 24h o anuria x 12h	<b>STADIO 3</b>

I pazienti in trattamento con RRT sono considerati come stadio 3 a prescindere dallo stadio di appartenenza al momento dell'inizio della RRT.

### Tabella 4

Classificazione AKI secondo criteri AKIN, modificata da [10].

## KDIGO

AKI è definita come una delle seguenti:  
- aumento Cr >0,3 mg/dl in 48h  
- aumento della creatininemia > 1,5 volte il valore basale nei 7 giorni precedenti  
- diuresi < 0,5 ml/kg/h per 6 h

STADIO	Cr	Diuresi
1	1,5-1,9 volte il valore basale o incremento > 0,3 mg/dl	< 0,5 ml/kg/h per 6-12h
2	2-2,9 volte il valore basale	< 0,5 ml/kg/h per >12h
3	3 volte il valore basale o incremento > 0,4 mg/dl o inizio di RRT o in pazienti con età < 18 anni riduzione del GFR < 35ml/min per 1,73 m <sup>2</sup>	< 0,3 ml/kg/h per >24h o anuria per > 12h

### Tabella 5

Classificazione AKI secondo criteri KDIGO, modificata da [13].

Criteri funzionali	Criteri di danno
RIFLE R O AKIN 1	Biomarkers positivi (+)
RIFLE I O AKIN 2	Biomarkers positivi (++)
RIFLE F O AKIN 3	Biomarkers positivi (+++)

**Tabella 6**

Definizione di AKI secondo criteri funzionali e di danno strutturale, modificata da [14].



## **CONSIDERAZIONI MICROBIOLOGICHE**

La sepsi può essere causata dall'estensione sistemica di un'infezione sia comunitaria che nosocomiale.

Nel paziente non post-chirurgico la sepsi polmonare è quella associata a più elevati tassi di incidenza e mortalità [16].

Altri comuni siti di infezione sono il tratto genitourinario, intraddominale (paziente post-chirurgico), cute e tessuti molli, “device-related”, sistema nervoso centrale ed endocardio [15, 16].

L'eziologia microbica della sepsi è soggetta a variazioni temporali, in parte correlate con la pressione selettiva che si genera con l'utilizzo di farmaci antibiotici, sia in ambito ospedaliero che comunitario [19].

Ad oggi i batteri gram negativi risultano essere causa di sepsi grave nel 62% dei pazienti critici, mentre quelli gram positivi nel 47% ed i funghi nel 19% [20].

## **FISIOPATOLOGIA**

### *Fisiopatologia generale della sepsi*

La sepsi grave rappresenta l'espressione clinica di un'incontrollata risposta immunitaria avviata dal riconoscimento di alcuni "pattern molecolari associati a patogeni" (PAMP) rappresentati da componenti di batteri gram negativi (Lipopolisaccaride, Lipide A, Flagellina, Peptidoglicano), gram positivi (Acido Teicoico, Lipoteicoico, Peptidoglicano) e funghi (Mannanoproteine) [21].

I PAMP attivano le cellule del sistema immunitario interagendo con recettori monocitari (CD 14) e con co-recettori ("Toll-like Receptors") [22].

Da ciò deriva l'attivazione della SIRS (Systemic Inflammatory Response Syndrome), caratterizzata da una cascata di eventi intracellulari che portano al rilascio di citochine con proprietà infiammatorie (Tumor Necrosis Factor (TNF)- $\alpha$ , Interleuchine (IL)-1, IL-2, IL-6) [23].

La prolungata e persistente stimolazione infiammatoria determina, inoltre, l'attivazione di una risposta immunitaria compensatoria atta a modulare la stessa SIRS.

Tale risposta, definita CARS (Compensatory Anti-inflammatory Response Syndrome), si estrinseca attraverso la produzione di un pattern citochinico anti-infiammatorio (IL-4, IL-10, IL-11, IL-13, antagonisti del recettore IL-1 e recettori solubili per il TNF) [24].

Dalla risultante complessiva delle risposte SIRS e CARS derivano le manifestazioni cliniche della sepsi, definite secondo l'acronimo **CHAOS** [25]:

**C:** “Cardivascular compromise” (shock settico, dominanza SIRS)

**H:** “Homeostasis” (bilancio SIRS/CARS)

**A:** “Apoptosis” (dominanza SIRS)

**O:** “Organ dysfunction” (MODS, dominanza SIRS)

**S:** “Suppression of immune system” (anergia, dominanza CARS)

Quindi, in generale, mentre le reazioni pro-infiammatorie (dirette all'eliminazione dei patogeni invasivi) sono ritenute responsabili del danno e delle insufficienze d'organo nella sepsi grave e nello shock settico, la risposta anti-infiammatoria (importante per limitare l'estensione del danno tissutale localizzato e sistemico) è implicata nel determinare uno stato di immunosoppressione che si caratterizza per l'incapacità di eradicare l'infezione primaria e per lo sviluppo di possibili infezioni secondarie [18].

### *Fisiopatologia del danno renale acuto sepsi-correlato*

Per lungo tempo l'AKI in corso di sepsi è stata attribuita all'ipoperfusione renale causata dall'ipovolemia funzionale tipica dello shock distributivo [4].

Studi recenti, al contrario, hanno dimostrato che il rene va incontro ad uno stato di iperperfusione e che quindi la riduzione della filtrazione glomerulare è da ascriversi principalmente alla riduzione della pressione capillare glomerulare determinata da alterazioni del tono vasomotorio dell'arteriola afferente ed efferente, Figura 1 [26-28].

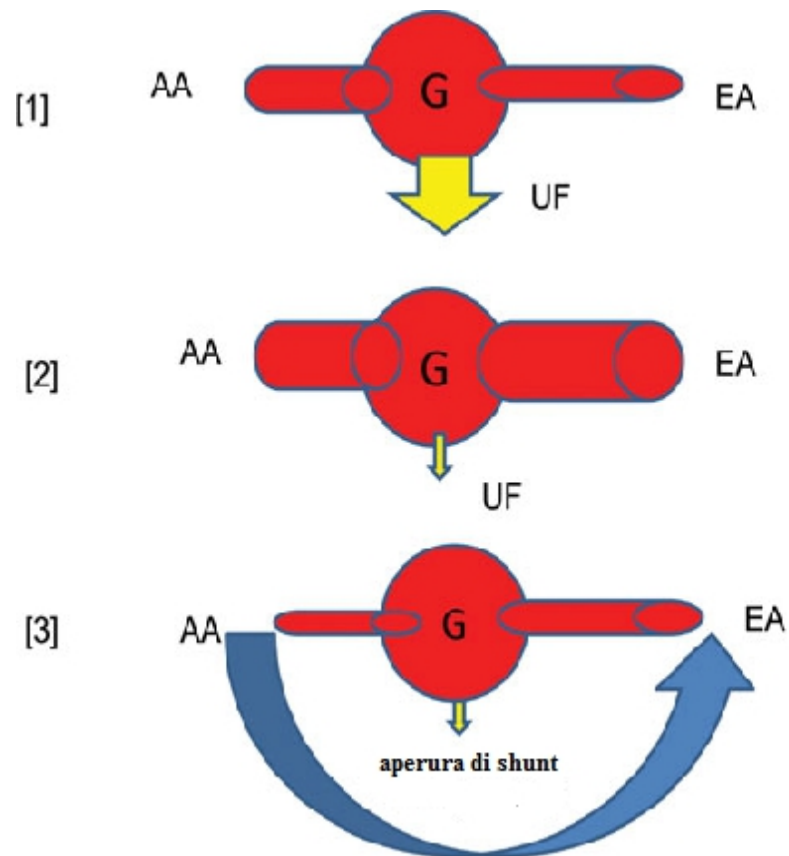
Nuove teorie, inoltre, focalizzano il ruolo fondamentale dei mediatori circolanti prodotti sia a livello locale che sistemico (citochine, PAMP, prodotti di degradazione tissutale e specie reattive dell'ossigeno) nel determinismo dell'AKI sepsi correlata [18, 26-28].

In particolare, i mediatori circolanti sarebbero i responsabili diretti sia del danno necrotico ed apoptotico a livello delle cellule tubulari, sia delle disfunzioni mitocondriali e delle alterazioni microcircolatorie cui fanno seguito alterazioni del trasporto e

dell'utilizzo tissutale di ossigeno con conseguente disfunzione renale, Figura 2 [2].

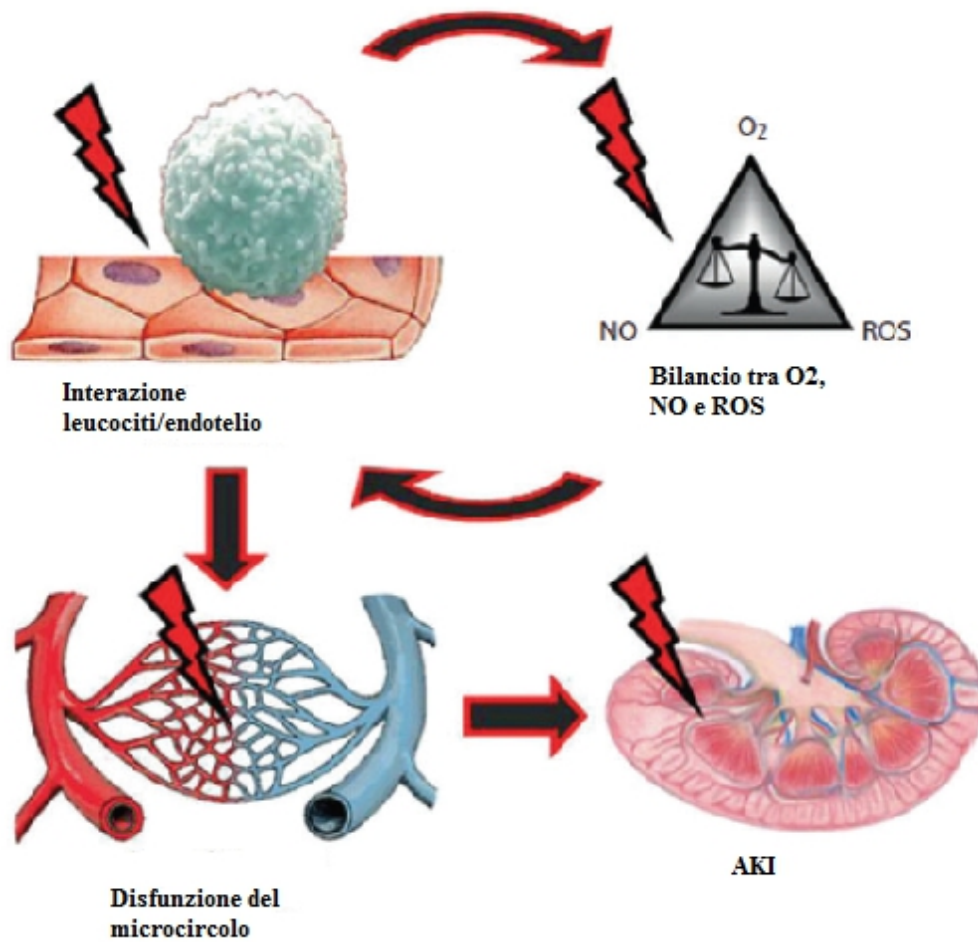
I mediatori circolanti, inoltre, sono gli elementi centrali delle vie di segnalazione molecolare tra rene, polmone, sistema nervoso centrale, sistema gastro-intestinale (definite con il concetto di “organ cross-talk”), Figura 3 [30].

Come in un circolo vizioso queste vie hanno carattere bidirezionale, causando, una volta iniziate, un ulteriore peggioramento dell'AKI ed un significativo incremento della mortalità del paziente critico [31].



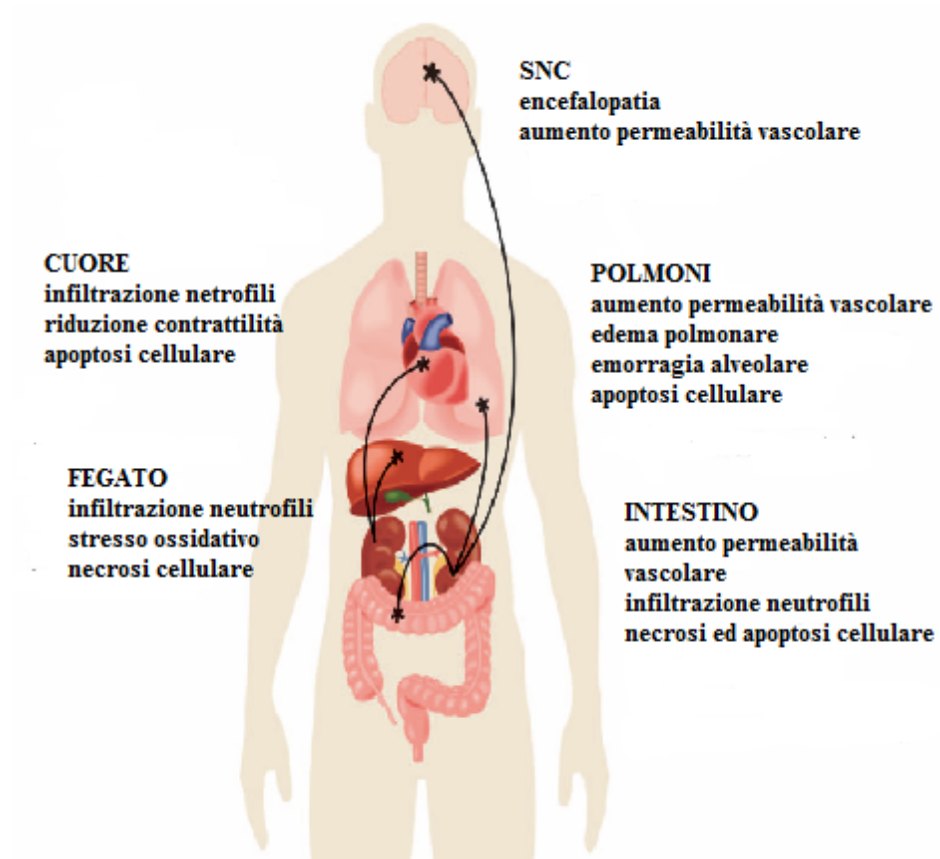
**Figura 1**

Rappresentazione schematica della circolazione microvascolare renale in corso di normalità (1) ed in corso di AKI (2) e (3). In particolare: (2) vasodilatazione arteriola efferente (EA) > arteriola afferente (AE) con riduzione della pressione di filtrazione glomerulare; (3) apertura di shunt con ipoperfusione dei glomeruli renali; modificata da [28].



**Figura 2**

Ipotesi integrata di fisiopatologia dell'AKI sepsi-correlata, modificata da [29].



**Figura 3**

“Organ cross-talk” nell'AKI sepsi-correlata, modificata da [30].



## **TERAPIA RENALE SOSTITUTIVA**

### **DEFINIZIONE**

La terapia renale sostitutiva (RRT, Renal Replacement Therapy) è un'insieme di metodiche di purificazione ematica extracorporea che hanno lo scopo di sostituire la funzione renale quando questa risulta essere compromessa.

Sebbene numerosi studi non riportino differenze significative in termini di mortalità tra metodiche intermittenti (IRRT, Intermittent Renal Replacement Therapy) e metodiche continue (CRRT, Continuous Renal Replacement Therapy), la CRRT è sicuramente preferibile nel paziente critico in quanto associata ad una migliore tolleranza emodinamica e ad una migliore efficacia nella correzione dei disturbi dell'equilibrio idro-elettrolitico [6, 32].

## INDICAZIONI

Le classiche indicazioni “renali” che codificano la necessità di inizio della CRRT per pazienti critici con AKI sono [5]:

- ◆ azotemia  $> 30$  mmol/L o complicanze uremiche
- ◆ kaliemia  $> 6$  mmol/L e/o alterazioni ECG
- ◆ acidosi grave ( $\text{pH} < 7.15$ )
- ◆ oliguria (diuresi  $< 200$  ml/12h) o anuria
- ◆ sovraccarico volémico refrattario al trattamento diuretico

Altre indicazioni non strettamente “renali” comprendono [5]:

- ◆ overdose di farmaci o tossine dializzabili
- ◆ sepsi
- ◆ insufficienza cardiaca
- ◆ ARDS (Acute Respiratory Distress Syndrome)
- ◆ sindrome da lisi tumorale

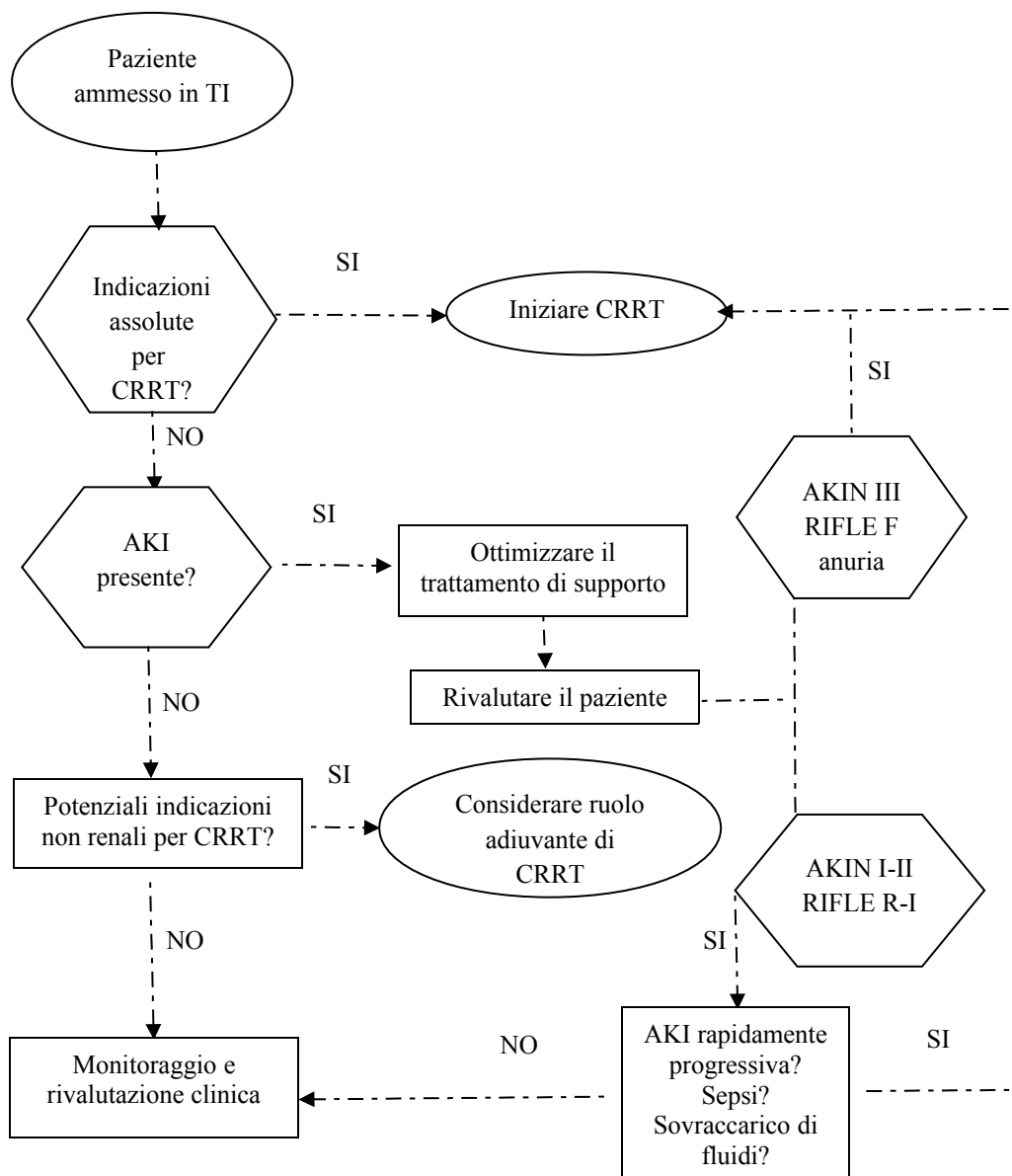
Il razionale alla base delle indicazioni extra-renali è l'eliminazione di soluti tossici esogeni o endogeni (mediatori infiammatori, prodotti della citolisi, farmaci) ed il potenziamento del controllo dell'equilibrio idro-elettrolitico ed acido-base.

## **TIMING**

Ad oggi non esistono studi randomizzati e controllati che definiscono il timing ottimale a cui iniziare la CRRT.

E' ragionevole, tuttavia, così come dimostrato da alcuni studi osservazionali, iniziarla precocemente al fine di prevenire e trattare le complicanze associate all'AKI e migliorare la sopravvivenza dei pazienti critici [33].

Un approccio particolarmente pragmatico e proattivo per guidare nella pratica clinica l'inizio della CRRT, è rappresentato dall'algoritmo rappresentato in Figura 4 [5].



**Figura 4**

Algoritmo per l'inizio della CRRT nel paziente critico, modificata da [5].

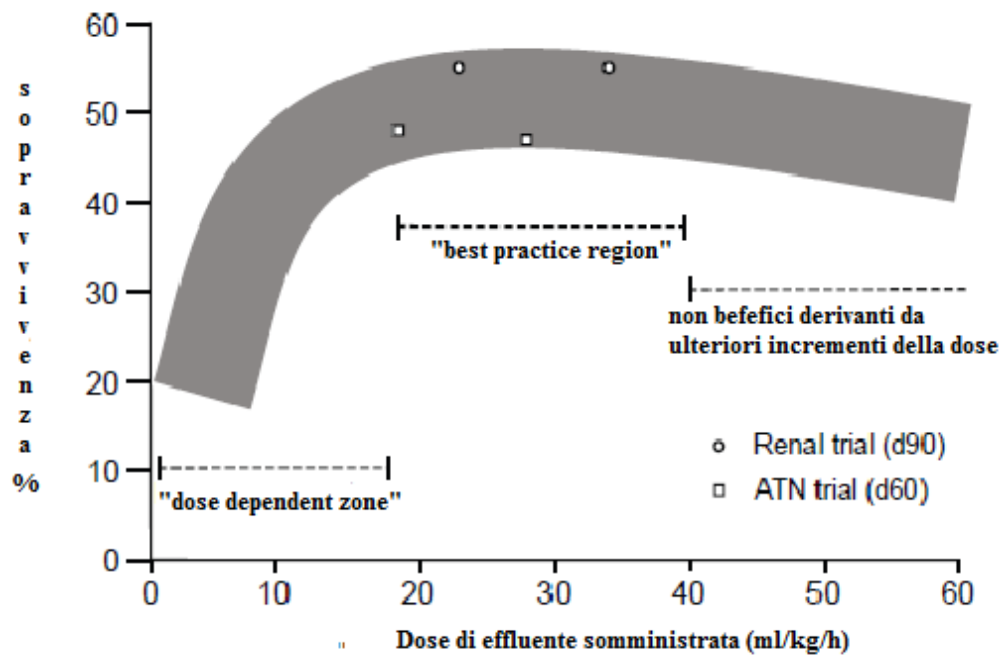
## **DOSE**

La dose ottimale di CRRT, espressa in termini di ultrafiltrazione oraria normalizzata per il peso del paziente (ml/kg/h) [34], è da anni oggetto di studio e di dibattito.

Fino ad un recente passato, molti studi avevano ipotizzato una relazione favorevole tra aumento della dose e la riduzione della mortalità [34-36].

Tali risultati sono stati completamente confutati da più recenti trials, quali RENAL (Randomized Evaluation of Normal versus Augmented Level study) e ATN study (Acute renal failure Trial Network) [37, 38], Figura 5 [39].

Tuttavia nella pratica clinica, così come dimostrato anche dal DoReMi study (Dose Response Multicentre International collaborative Initiative) [40], deve essere considerata la possibilità che la dose prescritta sia inferiore a quella realmente somministrata. Per evitare questo rischio, è consigliabile sovra-stimare di circa il 25% la dose teorica di 20-25 ml/kg/h indicata da RENAL ed ATN study, raggiungendo quindi il target di 30-35 ml/kg/h di dose prescritta [40].



**Figura 5**

Relazione tra dose di effluente somministrata e sopravvivenza, risultati dal RENAL e ATN studies. Questi studi indicano un plateau di beneficio in termini di sopravvivenza nel range delle dosi comprese tra 20 e 40 ml/kg/h (“best practice region”); la riduzione al di sotto di questi valori influenza negativamente la sopravvivenza (“dose dependent zone”); l’incremento al di sopra di questi valori, invece, non modifica ulteriormente la sopravvivenza; modificata da [39].

## **PRINCIPI FISICI E MODALITA' DI TRATTAMENTO**

Le varie modalità di RRT che possono essere applicate alla pratica clinica si differenziano in base a più fattori:

- ♦ principi fisici in base ai quali avviene la rimozione di soluti e/o fluidi
- ♦ modalità e tipo di accesso vascolare
- ♦ tipo di membrana

In tutte le forme di RRT la rimozione di soluti e/o fluidi può essere attuata attraverso i principi fisici di ultrafiltrazione, diffusione, convezione, adsorbimento o una combinazione di essi [41, 42].

L'”**ultrafiltrazione**” è il principio fisico che descrive il passaggio di acqua attraverso una membrana semipermeabile, determinato dall'applicazione di un gradiente di pressione transmembrana, che corrisponde alla differenza tra pressione oncologica del plasma e pressione idrostatica.

I determinanti del volume ultrafiltrato sono: area e permeabilità all'acqua della membrana ed il gradiente di pressione transmembrana.

La tecnica che si fonda su tale principio è definita ultrafiltrazione (SCUF).

Il termine “**diffusione**” definisce il passaggio passivo, secondo gradiente di concentrazione, di soluti attraverso una membrana semipermeabile, senza concomitante passaggio di solvente.

I fattori che influenzano la clearance dei soluti sono: il tipo di membrana (area, spessore, dimensione dei pori, cariche elettrostatiche), gradiente di concentrazione tra i due lati della membrana (mantenuto elevato grazie alla presenza di un fluido di dialisi che scorre ad alta velocità e controcorrente rispetto al sangue), peso molecolare del soluto (clearance molto efficace per soluti a basso peso molecolare, < 300 Da).

La diffusione è il principio fisico alla base della tecnica di emodialisi (CVVHD).

La “**convezione**” è il trasporto attivo di soluti e solvente attraverso una membrana semipermeabile.

Come nell'ultrafiltrazione, il gradiente di pressione transmembrana determina il passaggio di acqua attraverso la membrana, inoltre, per effetto di trascinamento (o “solvent drag”) determina anche il passaggio di soluti attraverso la membrana stessa.



Attraverso questo processo si ottiene un ultrafiltrato che può essere rimpiazzato con una soluzione di reinfusione sterile, la cui composizione può essere variata a seconda delle necessità cliniche, garantendo un adeguato rimpiazzo volémico per il paziente.

La reinfusione può essere effettuata secondo due modalità, prediluizione o postdiluizione, a seconda che sia immessa nel circuito prima o dopo il filtro.

L'infusione pre-filtro si associa al vantaggio teorico del miglior mantenimento del filtro, viceversa l'infusione post-filtro si associa al vantaggio teorico di una migliore efficacia depurativa.

I fattori che influenzano la clearance dei soluti sono: il tipo di membrana (area, spessore, dimensione dei pori, cariche elettrostatiche), gradiente di pressione transmembrana, peso molecolare del soluto (clearance efficace anche per soluti e proteine con medio peso molecolare, 500- 50000 Da).

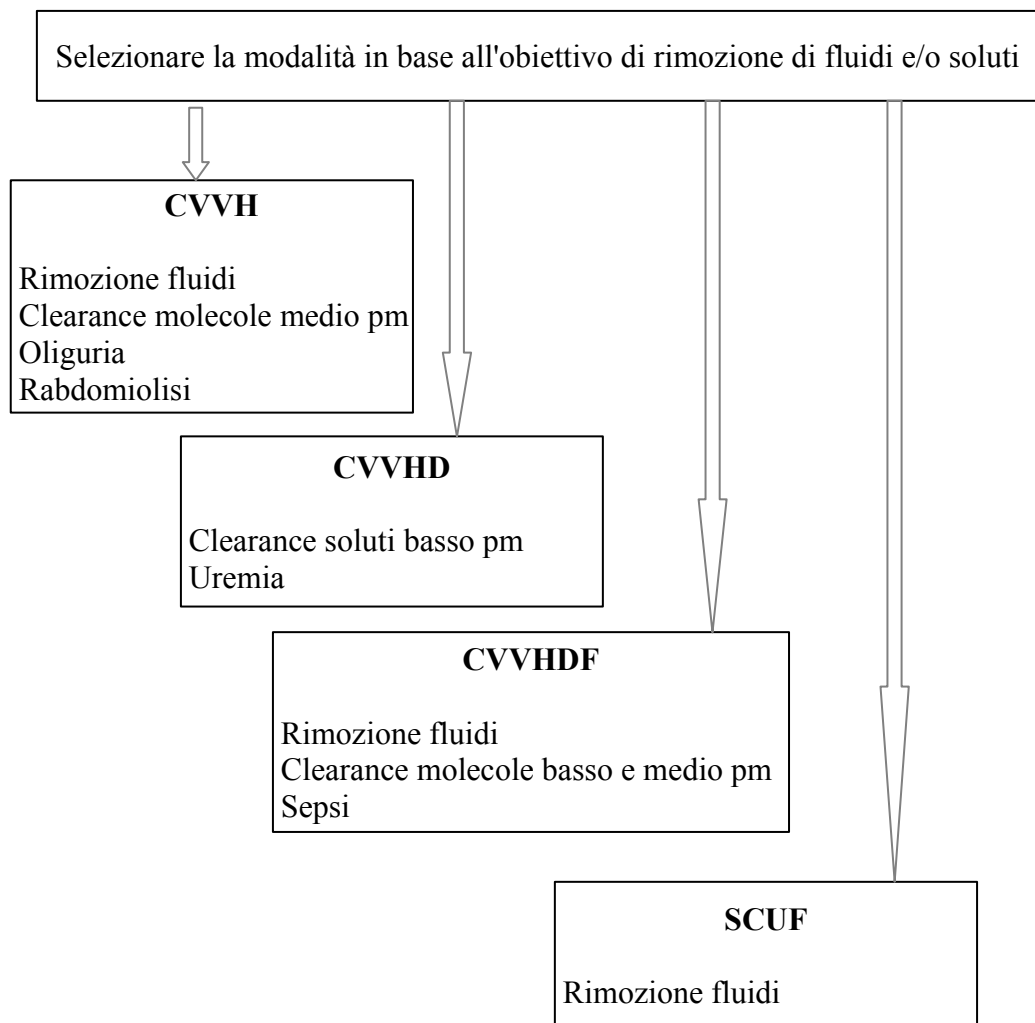
La tecnica basata sul principio di convezione è definita emofiltrazione (CVVH).

La contemporanea associazione dei principi fisici di diffusione e convezione è alla base delle tecniche di emodiafiltrazione (CVVHDF).

L'”**adsorbimento**” è il principio attraverso il quale specifiche membrane di filtrazione attraggono e legano soluti di varie dimensioni molecolari attraverso una varietà di legami non covalenti tra cui interazioni idrofobiche, attrazione ionica, legami ad idrogeno ed interazioni di Van der Waals.

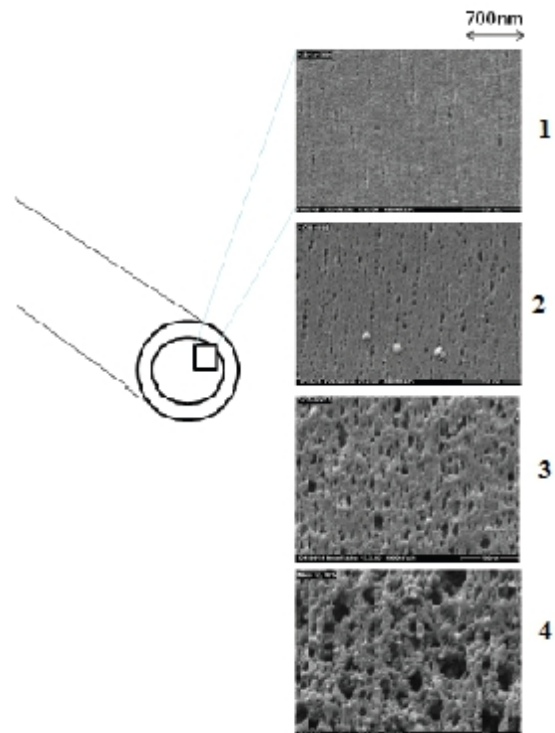
Ad oggi non ci sono chiare indicazioni sulla più adeguata tecnica di RRT nel paziente critico, la scelta della strategia da attuare dipende principalmente dalle indicazioni e dal target di rimozione di soluti e/o fluidi prescelto, che a sua volta può essere modulato scegliendo membrane con specifici cut-off, come indicato in Figura 6 e 7 [39, 43].

Come già argomentato, nel paziente critico sono sicuramente preferibili le tecniche di supporto continuo, effettuate con tecnica veno-venosa per ovviare alle limitazioni ed alle complicanze derivanti dall'incannulamento arterioso [32].



**Figura 6**

Tecniche di RRT, modificata da [39].



### Figura 7

Membrane di filtrazione: (1) Membrana High Flux ( $< 0,01 \mu\text{m}$ ); (2) Membrana High Cut-off ( $< 0,02 \mu\text{m}$ ); (3) Membrana per separazione di proteine ( $< 0,09 \mu\text{m}$ ); (4) Plasmafiltro ( $< 0,3 \mu\text{m}$ ); modificata da [43]

## CRRT NEL PAZIENTE SETTICO

### Razionale clinico

La CRRT nel paziente settico svolge un ruolo chiave non solo come metodica atta al supporto della funzione renale, che assai spesso è compromessa in corso di malattia, ma anche come metodica di depurazione extracorporea più ampiamente rivolta alla rimozione dei mediatori che intervengono nella fisiopatologia della sepsi e che determinano l'immunodisregolazione del paziente [43].

Recentemente sono state proposte diverse teorie per spiegare gli effetti immunomodulanti della purificazione ematica.

Ronco et al. [24] hanno proposto la **teoria del picco di concentrazione**: l'eliminazione del picco di concentrazione delle citochine durante le prime fasi della sepsi potrebbe bloccare la cascata infiammatoria e conseguentemente ridurre il danno d'organo e l'incidenza d'insufficienza multipla d'organo.

Secondo l'ipotesi della **soglia di immunomodulazione**, proposta da Honoré et al. [44], la rimozione delle citochine dal torrente ematico potrebbe favorire la riduzione della loro concentrazione nei tessuti periferici.

Questa ipotesi giustifica il risultato dei numerosi studi che hanno riscontrato un miglioramento dell'outcome dei pazienti in assenza di modificazioni significative della concentrazione ematica delle citochine [43].

Secondo la teoria del **turnover dei mediatori** proposta da Di Carlo e Alexander [45], l'aumentato ricircolo linfatico indotto da filtrazioni ad alto volume, porterebbe ad una mobilitazione di mediatori flogistici tissutali verso il torrente circolatorio rendendoli disponibili per la rimozione.

Peng et al. [46], infine, hanno suggerito un “modello cito-cinetico”: la rimozione dei mediatori dal sangue del paziente favorirebbe anche la clearance dei mediatori nei tessuti infetti, promuovendo il recupero della **funzione immunologica** del sistema linfocito-monocitario sino al ripristino dell'immuno-omeostasi del paziente.

### *Tecniche specifiche: considerazioni generali*

Il recente progresso tecnologico ha ampiamente allargato lo spettro di metodiche disponibili per la depurazione ematica nel contesto della sepsi.

In particolare, risultati promettenti sono stati riportati con alcune metodiche quali: emofiltrazione ad alti volumi, emoadsorbimento, plasmaterapie, emodialisi/emofiltrazione con membrane ad elevato cut-off.

Nonostante i progressi nella comprensione del ruolo di queste tecniche nei processi fisiopatologici di sepsi ed AKI e la loro ampia applicazione nella pratica clinica, non sono stati ancora effettuati studi che dimostrino la superiorità di una tecnica rispetto alle altre. Inoltre, il consenso sul timing, dose ed indicazioni specifiche rimane ancora incerto ed oggetto di molti studi e dibattiti [43].

### Emofiltrazione ad alti volumi

L'emofiltrazione ad alti volumi (HVHF) è stata la prima tecnica messa a punto per la rimozione di mediatori infiammatori dal plasma.

Nonostante ciò, in letteratura termini come “high-volume”, “high intensity”, o “high flow” sono utilizzati in modo eterogeneo e non c'è ancora unanimità nella definizione.

Le caratteristiche del trattamento sono state recentemente ridefinite e modificate da Honoré e al.: si definiscono HVHF quelle metodiche caratterizzate da una velocità di filtrazione compresa tra 50 e 70 ml/kg/h per 24h, oppure, metodiche definite “pulsate” caratterizzate dalla combinazione di periodi di HVHF con velocità di filtrazione di 100-120 ml/kg/h per periodi di 4-8h, intercalati ad una CVVH convenzionale [47].

Poichè la maggior parte dei mediatori prodotti in corso di sepsi sono costituiti da molecole a medio peso molecolare (compreso tra 5 e 60 kDa), idrosolubili e non legati a proteine plasmatiche, il processo fisico della convezione che è alla base di questa tecnica risulta essere molto efficiente per la loro rimozione dal torrente ematico [48-49].



Le restanti molecole con peso molecolare superiore al cut-off della membrana possono essere rimosse grazie alle proprietà adsorbenti di alcune membrane utilizzate per questa metodica [43].

Alcuni studi hanno dimostrato gli effetti benefici della HVHF in termini di riduzione della dose di vasopressori e miglioramento della stabilità emodinamica dei pazienti con shock settico [50, 51].

Tuttavia il recente trial prospettico randomizzato IVOIRE (High Volume in Intensive Care) ha confutato questi risultati, dimostrando al contrario l'assenza di benefici in termini di riduzione della mortalità per la HVHF condotta con una dose di 75 ml/kg/h, se comparata alla filtrazione con dose di 35 ml/kg/h [52].

Alla luce dei risultati di questo studio, pertanto, 35 ml/kg/h resta la dose standard di riferimento per i pazienti settici, soprattutto in caso di instabilità emodinamica.

La HVHF presenta, inoltre, delle importanti limitazioni come la deplezione di molecole a basso peso molecolare (nutrienti, vitamine e farmaci, tra cui gli antibiotici) e il costo elevato [53, 54].

### *Emoadsorbimento*

L'emoadsorbimento è una metodica nella quale uno specifico sorbente è posto a diretto contatto con il sangue mediante un circuito extra-corporeo.

Queste membrane sono in grado di legare, mediante una varietà di forze chimiche, molecole target per le quali sono state specificamente disegnate, permettendone la rimozione dal torrente ematico.

Caratteristica peculiare di questa tecnica è la capacità di adsorbire molecole ad elevato peso molecolare, rappresentate da alcune citochine e dall'LPS originata dalla membrana dei batteri gram negativi, che non risultano essere altrimenti filtrabili neanche con emofiltro ad alto flusso [43].

Per adsorbire specificamente l'LPS è disponibile in commercio un dispositivo in cui la polimixina B (antibiotico battericida, estremamente nefro- e neuro-tossico in caso di somministrazione sistemica) è stata immobilizzata su fibre di polistirene (Toraymyxin; Toray Industries, Inc, Tokyo, Japan).

Lo studio prospettico multicentrico randomizzato controllato EUPHAS (Early Use of Polymyxin B Hemoperfusion in Abdominal

Sepsis) ha dimostrato che l'emoperfusione con polimixina B in aggiunta alla terapia convenzionale ha significativamente migliorato l'emodinamica, la disfunzione d'organo e ridotto la mortalità in una popolazione di pazienti con sepsi grave/shock settico causato da infezione intra-addominale sostenuta da batteri gram negativi [55].

Un'altra metodica basata sul principio dell'adsorbimento è l'emofiltrazione a elevato adsorbimento, esempio di sinergia fra meccanismi diversi di purificazione (HVHF + "high adsorption") [56].

Recentemente sono stati riportati sugli animali gli effetti positivi di questa tecnica, che utilizza membrane di poliacrilonitrile la cui polarità è stata modificata tramite l'aggiunta di un rivestimento di polietilenimina, un polimero carico positivamente, che è in grado di legare le endotossine [57].

### Plasmaterapie

Tra le tecniche depurative extra-corporee capaci di rimuovere molecole a medio-alto peso molecolare coinvolte nella patogenesi della sepsi, si ascrivono anche le plasmaterapie, ovvero la plasmaferesi ed il plasma-adsorbimento.

Nella plasmaferesi il plasma ottenuto dal sangue intero viene rimosso e sostituito con plasma fresco congelato o con una soluzione di albumina.

Nel plasma-adsorbimento il plasma ottenuto dal sangue intero viene depurato selettivamente da molecole target mediante adsorbimento su colonne di resina specifiche per la rimozione di citochine.

Nella “Coupled Plasma Filtration Adsorbition” (CPFA), il meccanismo del plasma-adsorbimento è associato al processo di emofiltrazione, allo scopo di garantire un'ulteriore purificazione ematica ed un supporto alla funzione renale [58].

I risultati di questa metodica sono promettenti, come dimostrato da alcuni studi [58-61].

### Emodialisi/emofiltrazione con membrane ad elevato cut-off

Le membrane ad alto cut-off (HCOM) sono realizzate in poliariletersolfone, polisolfone o cellulosa triacetato ed hanno pori di diametro compresi tra 0.01-0,02  $\mu\text{m}$ , pertanto 2-3 volte maggiori rispetto a quelli delle membrane tradizionali ad alto flusso, che invece hanno dimensioni di 0.003-0.006  $\mu\text{m}$  [62].

Questo garantisce la possibilità di ottenere, anche mediante il processo della diffusione, la rimozione di soluti con peso molecolare compreso tra 15 e 60 kDa [63].

L'impiego di HCOM ha una logica biochimica ampiamente accettata: l'aumentata dimensione dei loro pori dovrebbe garantire una più efficiente eliminazione delle citochine, dato che la maggior parte di esse ha un peso molecolare compreso tra 8 e 60 kDa [64].

Tuttavia, l'assenza di una definizione precisa di HCOM in termini di dimensioni di pori e di cut-off di membrana, la variabilità della dose somministrata e del tipo di metodica utilizzata (convettiva o diffusiva), rendono difficoltoso il reale confronto tra i vari studi riportati in letteratura.

Al fine di valutare la reale efficacia delle HCOM nel determinare la riduzione delle citochine circolanti ed analizzarne gli effetti clinici

correlati, è stata recentemente condotta una revisione sistematica della letteratura [65].

In questa revisione sono stati inclusi un totale di 23 studi (3 su animali da esperimento, 11 in-vitro/ex-vivo, 3 case report, 6 trial randomizzati controllati osservazionali) [56, 63, 64, 66-85].

In tutti gli studi analizzati è stata osservata una riduzione efficace dei livelli di citochine sia infiammatorie che anti-infiammatorie.

Negli studi in cui le HCOM sono impiegate in associazione a modalità di tipo convettivo è stata osservata una significativa perdita di albumina, pari a 15 g in 4h.

La prescrizione di dosi di effluente maggiori e l'utilizzo di HCOM in modalità diffusiva anziché convettiva riduce la perdita di albumina in modo significativo, senza però modificare la clearance totale delle citochine [65].

L'impiego delle HCOM, inoltre, non si associa a modificazioni nelle concentrazioni plasmatiche dei fattori della coagulazione (AT-III, fattore II, VIII, proteina C e proteina S), mentre si associa ad una maggiore stabilità emodinamica e respiratoria, come dimostrato dal miglioramento degli scores di disfunzione d'organo [65].

## METODO

### **Razionale ed ipotesi dello studio**

Alla luce dei concetti espressi nell'introduzione, l'ipotesi dello studio è che l'emodialisi veno-venosa continua con membrane ad alto cut-off (CVVHD con HCOM), aumentando la clearance dei mediatori flogistici, possa ridurre la disfunzione multi-organo e migliorare l'outcome di pazienti critici con sepsi grave-shock settico associati ad AKI.

### **Obiettivi dello studio**

Obiettivo primario: valutare la modificazione a 48h di scores di insufficienza d'organo in pazienti con sepsi grave-shock settico e AKI sottoposti a trattamento di CVVHD con HCOM

Obiettivi secondari:

- ◆ valutare le variazioni dei parametri emodinamici, con particolare riferimento alle variazioni nel dosaggio di inotropi/vasopressori durante la metodica di CVVHD con HCOM

- ◆ valutare le variazioni negli indici di scambio e ventilazione polmonare durante metodica di CVVHD con HCOM
- ◆ valutare il grado di rimozione delle citochine pro ed anti-infiammatorie e la modificazione degli indici di flogosi durante la metodica di CVVHD con HCOM
- ◆ valutare il ripristino della funzionalità renale dei pazienti trattati
- ◆ valutare il possibile impatto della metodica di CVVHD con HCOM sulla sopravvivenza a 28 giorni dei pazienti trattati

### **Disegno dello studio**

Lo studio effettuato è uno studio osservazionale, prospettico, multicentrico, in cui è stata valutata l'efficacia biologica e clinica della CVVHD con HCOM eseguita con sistema Prismaflex eXeed™ System e membrana SepteX™ (Gambro™) in pazienti critici con sepsi grave-shock settico associato ad AKI.

### **Popolazione dello studio**

Lo studio è stato approvato dal Comitato Etico delle varie TI toscane che hanno partecipato all'arruolamento dei pazienti



(Azienda Ospedaliera Universitaria di Careggi, Azienda Sanitaria di Firenze, Ospedale di Prato, Ospedale di Pistoia, Ospedale di Empoli).

Ai fini dello studio sono stati considerati eleggibili tutti i pazienti critici con diagnosi di sepsi grave-shock settico ed AKI, con indicazione ad eseguire CRRT ed inizio del trattamento extracorporeo entro le 12h dalla diagnosi stessa.

#### Criteria di inclusione

1. **età  $\geq$  18 anni**
2. **sepsi grave o shock settico** secondo le definizioni dell'”American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference”, in particolare:

SEPSI: risposta sistemica ad una infezione (accertata o sospetta) con 2 o più delle seguenti:

- ◆ Temperatura corporea  $> 38^{\circ}\text{C}$  o  $< 36^{\circ}\text{C}$
- ◆ Frequenza cardiaca  $> 90$  bpm
- ◆ Frequenza respiratoria  $> 20$  atti/min o  $\text{PaCO}_2 < 35$  mmHg
- ◆ Conta leucocitaria  $> 12000$  cell/mm<sup>3</sup>,  $< 4000$  cell/mm<sup>3</sup>, oppure  $> 10\%$  di forme immature

SEPSI GRAVE: sepsi associata a disfunzione di organo; in particolare alterazioni a carico dei sistemi:

- ◆ nervoso centrale: riduzione della coscienza/encefalopatia (confusione, agitazione e/o sonnolenza); EEG alterato suggestivo di encefalopatia metabolica
- ◆ cardiovascolare: PAS < 90 mmHg e/o riduzione > 40 mmHg rispetto al livello basale; aritmie; edemi da aumento della permeabilità vascolare; riduzione delle resistenze vascolari periferiche e/o; lattatemia > 2 mmol/l; depressione miocardica al monitoraggio emodinamico invasivo
- ◆ respiratorio: desaturazione; ipossiemia (con rapporto  $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 300$ ); cianosi centrale e periferica; necessità di ventilazione meccanica
- ◆ renale: stadio AKIN  $\geq 1$
- ◆ gastrointestinale: ileo e gastroparesi; insufficienza epatica con aumento di bilirubina e indici di colestasi
- ◆ metabolico: ipo o iper glicemia
- ◆ emocoagulativo: alterazioni emocoagulative; CID

- SHOCK SETTICO: ipotensione con segni di ipoperfusione d'organo persistente nonostante adeguata fluidoterapia che costringe all'impiego di amine per sostenere il circolo

**3. danno renale acuto** definito da stadio AKIN  $\geq 1$  (incremento creatinemia  $> 0.3$  mg/dl o  $> 150-200\%$  dal valore basale o volume urinario  $< 0.5$  ml/kg/h per  $> 6$ h)

**4. inizio precoce del trattamento** con CVVHD con HCOM (non successivo alle 12h dalla diagnosi di sepsi grave-shock settico).

#### Criteria di esclusione

1. gravidanza
2. pazienti già sottoposti a CVVHD con HCOM durante lo stesso ricovero ospedaliero
3. Filtro diverso dal SepteX<sup>TM</sup> (Gambro<sup>TM</sup>)
4. stato terminale
5. inizio del trattamento dialitico successivo a 12h dalla diagnosi
6. CVVHD con HCOM e membrana SepteX<sup>TM</sup> (Gambro<sup>TM</sup>)  
secondo le modalità sotto elencate:
  - dose effluente  $< 35$  ml/kg/h o flusso sangue  $< 100$  ml/min
  - durata del trattamento  $< 48$ h

## **Procedure dello studio**

Sono stati arruolati tutti i pazienti consecutivamente ammessi nei reparti di TI coinvolti nello studio che hanno rispettato i criteri di arruolabilità.

L'arruolamento è avvenuto solo dopo aver ottenuto il consenso al trattamento dei dati personali firmato dal paziente stesso o dai suoi familiari.

Al fine di tutelare il diritto alla riservatezza in materia di dati riguardanti la salute, ad ogni paziente è stato attribuito un numero progressivo che lo ha identificato durante lo studio.

Tale numero è stato affiancato al nominativo del paziente unicamente in un "Subject Identification Code List" custodito nel centro in cui è avvenuto l'arruolamento e di cui è responsabile lo sperimentatore principale.

Attraverso il suo codice identificativo il paziente è stato inoltre inserito in forma anonima in un "patient enrollment log"; una copia di tale documento è stato periodicamente inviato al "principal investigator" per l'analisi dell'arruolamento nei vari centri dello studio.

Dei pazienti arruolati, sono stati registrati: dati generali (sesso, età), comorbilità, stato settico (sepsi grave o shock settico) e la sua origine (presunta o accertata).

Prima dell'inizio del trattamento (T0), sono state registrate le condizioni cliniche del paziente espresse tramite parametri laboratoristici, cardiovascolari, respiratori e renali; inoltre è stato calcolato come score prognostico l'APACHE II (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II, [89]) e come score di gravità e disfunzione d'organo il SOFA (Sequential Organ Failure Assessment, [90]).

La CVVHD con HCOM è stata eseguita con sistema Prismaflex eXeed™ System e membrana SepteX™ (Gambro™) e sono stati impostati i seguenti parametri:

- flusso sangue > 130 ml/min
- dose effluente > 35 ml/kg/h
- flusso dialisato 500-8000 ml/h
- reinfusione pre-diluizione (PBP) 50-500 ml/h o post-diluizione 50-500 ml/h
- anticoagulazione standard con eparina

Secondo la tempistica prevista dal protocollo, durante il trattamento dialitico a 6h, 12h, 24h e 48h dal T0 e dopo 24h e 48h dal termine del trattamento stesso, sono stati registrati nuovamente i vari parametri clinici, laboratoristici ed il SOFA.

Tutti i dati raccolti sono stati estrapolati dalle cartelle di reparto, in quanto routinariamente previsti, sia come tipologia che come frequenza, per i pazienti settici sottoposti a CRRT.

Ha fatto eccezione il dosaggio delle citochine pro infiammatorie (IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10, TNF $\alpha$ ) che è stato effettuato dal Laboratorio Generale della AOU Careggi.

Per ciascun paziente, sono state registrate anche la durata effettiva del trattamento CVVHD con HCOM, il numero di set utilizzati nelle prime 24h, l'eventuale causa di cambio del set (coagulazione del filtro, tempo massimo di trattamento, ecc).

Inoltre sono stati valutati, sia al termine del trattamento dialitico che al momento della dimissione dalla TI, lo stadio AKIN, la ripresa di diuresi spontanea, la necessità o meno di supporto farmacologico con diuretici o la necessità di una terapia renale sostitutiva cronica.

Infine è stata registrata la sopravvivenza del paziente al trattamento, alla degenza in TI ed a 28 giorni.

La scheda di arruolamento utilizzata per la raccolta dei dati dello studio è riportata nella Tabella 7.

## **Endpoints**

### Endpoint primario

In ogni paziente il grado di disfunzione d'organo è stato valutato mediante calcolo del SOFA score [90], un punteggio con scala di valori compreso tra 0 e 24 che sintetizza il funzionamento dei sistemi cardiovascolare, respiratorio, epatico, renale, dell'assetto emocoagulativo e dello stato di coscienza.

La sua valutazione effettuata a 48h dall'inizio della terapia dialitica è stata confrontata con il valore basale registrato al T0.

### Endpoints secondari

- ◆ La valutazione delle variazioni dei parametri emodinamici (Pressione Arteriosa Sistolica, PAS; Pressione Arteriosa Media, PAM; Frequenza Cardiaca, Fc; Pressione Venosa Centrale, PVC; Lattati) e del dosaggio di inotropi/vasopressori (noradrenalina ed adrenalina) è stata effettuata confrontando i

dati rilevati alle varie tempistiche previste dallo studio con quelli registrati al T0.

- ◆ La funzione di scambio polmonare è stata studiata in tutti i pazienti tramite la valutazione della variazione del rapporto di  $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$  e della pressione positiva di fine espirazione (PEEP) utilizzata durante ventilazione meccanica misurate ai vari tempi previsti dallo studio.
- ◆ La rimozione delle citochine pro ed antinfiammatorie durante la metodica è stata valutata tramite confronto dei valori sierici di IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10 e TNF $\alpha$  a 24h, 48h di trattamento dialitico ed a 24h dalla fine del trattamento rispetto ai valori basali presentati a T0. Inoltre è stato valutato il grado di modificazione degli indici di flogosi (globuli bianchi; procalcitonina, PCT; proteina C reattiva, PCR), rilevati nei vari tempi previsti dallo studio, rispetto ai valori basali al T0.
- ◆ Il ripristino della funzionalità renale nei pazienti trattati è stato valutato tramite misurazione dell'output urinario e della microalbuminuria al tempo 0, a 6h, 12h, 24h, 48h di trattamento ed a 24h e 48h dalla fine del trattamento; è stata inoltre valutata la creatininemia sierica a 24h e 48h dal termine del trattamento.



- ◆ La variazione di sopravvivenza a 28 giorni dei pazienti trattati è stata valutata confrontando l'effettiva mortalità dei pazienti trattati con la mortalità attesa dall'APACHE II misurata a T0.

Site Location and No.:	
Patient Study ID number	
Date of enrolment	ICU admission

Sesso	M	F
Età	anni	

Comorbidità	Iperensione arteriosa
	BPCO
	Diabete Mellito
	Insufficienza renale cronica
	Cardiopatia (NYHA I-II o NYHA III-IV)
	Vasculopatia (Coronarica o Periferica)
	Neoplasia (Metastatica o Non metastatica) - Malattie ematologiche maligne

#### DATI RELATIVI AL MOMENTO DELL'ARRUOLAMENTO

Stato settico	Sepsi grave Shock settico
Origine presunta o accertata della sepsi	Respiratorio Addominale Urinaria Ematica SNC

#### PARAMETRI ED INDICI DI DISFUNZIONE MULTIORGANO AL TEMPO 0

APACHE II	
SOFA	

Parametri cardiovascolari	PAS _____ mmHg
	PAM _____ mmHg
	FC _____ bpm
	PVC _____ mmHg
	noradrenalina _____ mcg/kg/min
	adrenalina _____ mcg/kg/min
Parametri Respiratori	PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub> _____
	PEEP _____ cmH <sub>2</sub> O
Parametri renali	Output urinario _____ ml/h
	Creatininemia _____ mg/dl
	AKIN
Parametri laboratoristici	Lattati _____ mmol/L
	GB _____ x10 <sup>9</sup> /L
	PCT _____ ng/ml
	PCR _____ mg/dl
	IL 6 _____ pg/dl
	IL 1β _____ pg/dl
	TNF α _____ pg/dl
	IL 10 _____ pg/dl

MONITORAGGIO DEI PARAMETRI DURANTE IL TRATTAMENTO ED AL SUO TERMINE

Parametri	Durante il trattamento				Dal termine del trattamento	
	6h	12h	24h	48h	24h	48h
SOFA score						
PAS mmHg						
PAM mmHg						
FC bpm						
PVC mmHg						
PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub>						
PEEP cmH <sub>2</sub> O						
Output urinario ml/h						
Creatinina mg/dl						
Microalbuminuria mg/l						
GB x10 <sup>9</sup> /L						
PCT ng/ml						
PCR mg/dl						
Lattati mEq/L						
IL 6 pg/dl						
IL 1β pg/dl						
TNF α pg/dl						
IL 10 pg/dl						

Durata effettiva del trattamento emodialitico	hr
Numero di filtri utilizzati nelle prime 24h (Cause del cambio set)	

INDICI DI OUTCOME

Al termine del trattamento	Stadio AKIN il paziente necessita di RRT diuresi mantenuta con stimolo diuretico ripresa della diuresi spontanea
Alla dimissione dalla TI	Stadio AKIN il paziente necessita di RRT diuresi mantenuta con stimolo diuretico ripresa della diuresi spontanea
Mortalità	Paziente deceduto durante il trattamento Paziente deceduto in TI Mortalità a 28 giorni

**Tabella 7**

Scheda raccolta dati pazienti arruolati nello studio.

## PIANO STATISTICO

I dati qualitativi sono stati espressi come percentuale.

I dati quantitativi sono stati espressi come mediana  $\pm$  range interquartile.

La normalità delle distribuzioni campionarie è stata valutata con il test di Kolmogorov-Smirnov.

La differenza rispetto al T0 dei vari parametri clinici e dei dati laboratoristici rilevati secondo le diverse tempistiche previste dallo studio è stata valutata tramite il test di Wilcoxon dei ranghi con segno (campioni non normalmente distribuiti) o tramite test t di Student (campioni normalmente distribuiti), eseguendo test bilaterali ad un livello di significatività  $\alpha = 0,05$ .

## RISULTATI

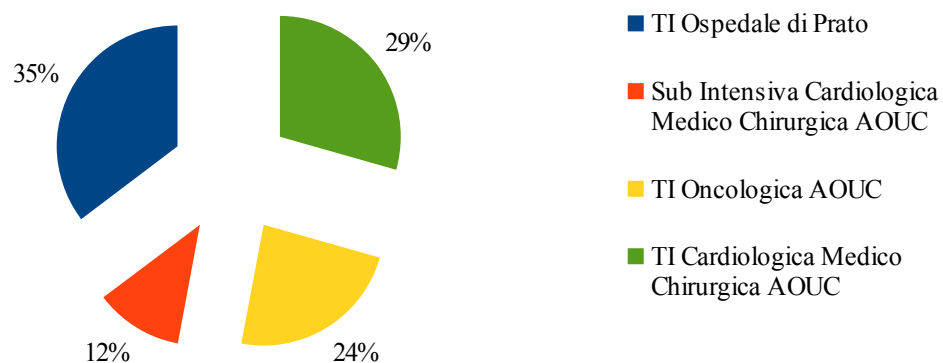
Nel periodo compreso tra il 1 Febbraio 2013 ed il 1 Giugno 2014, nelle TI partecipanti allo studio sono stati arruolati un totale di 17 pazienti (Grafico 1).

Le caratteristiche cliniche e le comorbilità presentate dai pazienti arruolati sono riportate in Tabella 8.

Al momento dell'inizio del trattamento di purificazione ematica, l'88% dei pazienti era in stato di shock settico (Grafico 2).

L'origine dell'infezione è risultata essere di natura polmonare nella maggior parte dei casi (Grafico 3).

Gli agenti infettivi più frequentemente riscontrati sono stati batteri gram negativi (Escherichia coli 5 casi, Klebsiella pneumoniae 3 casi, Pseudomonas aeruginosa 3 casi, Serratia marcescens 1 caso); meno frequenti le infezioni sostenute da gram positivi (Streptococcus epidermidis 3 casi, Streptococcus pneumoniae 2 casi, Staphylococcus aureus 2 casi) e da miceti (Candida spp. 3 casi).



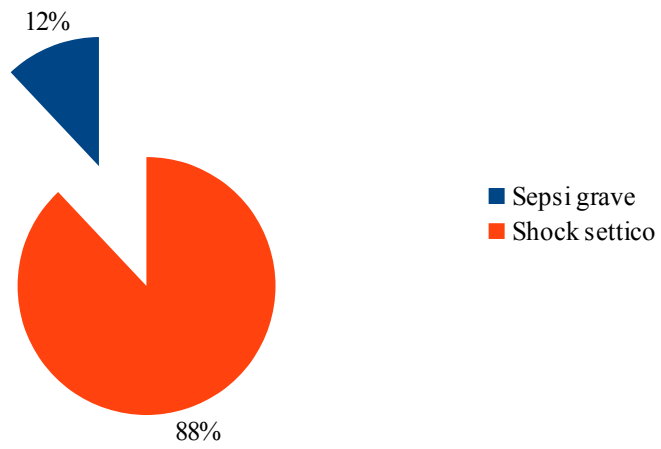
**Grafico 1**

Provenienza dei pazienti arruolati nello studio.

Età (anni)	78 ± 13
Sesso	65% donne 35% uomini
Comorbilità	Iperensione arteriosa 65% BPCO 82,6% Diabete Mellito 76,5% Insufficienza Renale Cronica 11,8% Cardiopatia NYHA I-II 17,7% Cardiopatia NYHA III-IV 23,5% Coronaropatia 41,2% Vasculopatia periferica 17,7 % Neoplasia non metastatica 17,6% Malattie ematologiche maligne 5,8%
APACHE II	22 ± 10
AKIN al T0	Stadio I 47% Stadio II 29,4% Stadio III 23,6%

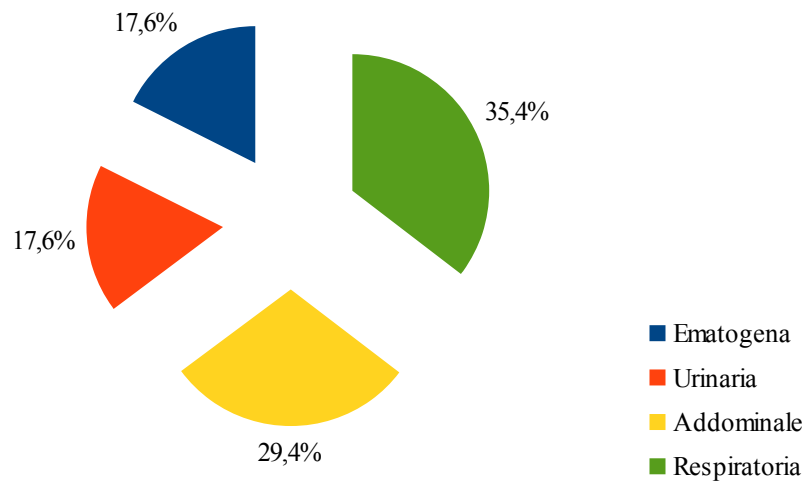
**Tabella 8**

Comorbilità e caratteristiche cliniche al T0.



### Grafico 2

Stato settico al momento dell'arruolamento (T0).



### Grafico 3

Origine della sepsi nella popolazione in studio.

I parametri clinico-laboratoristici e gli indici di disfunzione d'organo evidenziati nei pazienti arruolati ai diversi intervalli di tempo previsti del protocollo di studio sono espressi in Tabella 9.

In particolare, nella popolazione esaminata è stata osservata una riduzione del SOFA score mediano nell'ordine del 38,5%, da 13 [ $\pm$  3] a 8 [ $\pm$ 3] (Grafico 4).

Il confronto tra i SOFA score calcolati negli intervalli di tempo previsti dallo studio ed il SOFA score basale al T0, ha evidenziato differenze statisticamente significative con punteggi pari a 12 [ $\pm$  3] ( $p < 0,001$ ), 11 [ $\pm$  3] ( $p = 0.003$ ), 8 [ $\pm$  3] ( $p < 0,001$ ) e 8 [ $\pm$  3] ( $p = 0.002$ ), osservati rispettivamente a 6h, 12h, 24h e 48h dall'inizio del trattamento.

Inoltre la riduzione del SOFA score si è mantenuta anche 24h e 48h dopo il termine del trattamento, con valori rispettivamente di 7 [ $\pm$  1] ( $p < 0,001$ ) e 7 [ $\pm$  3] ( $p = 0.001$ ).

Durante il trattamento è stata osservata una sostanziale stabilità di tutti i parametri emodinamici ed una riduzione statisticamente significativa nel dosaggio di noradrenalina a 12h ( $p = 0.02$ ), a 24h ( $p = 0.005$ ), a 48h dall'inizio del trattamento ( $p = 0.004$ ) ed a 24h dopo il termine del trattamento ( $p = 0,001$ ), Grafico 5 e 6.

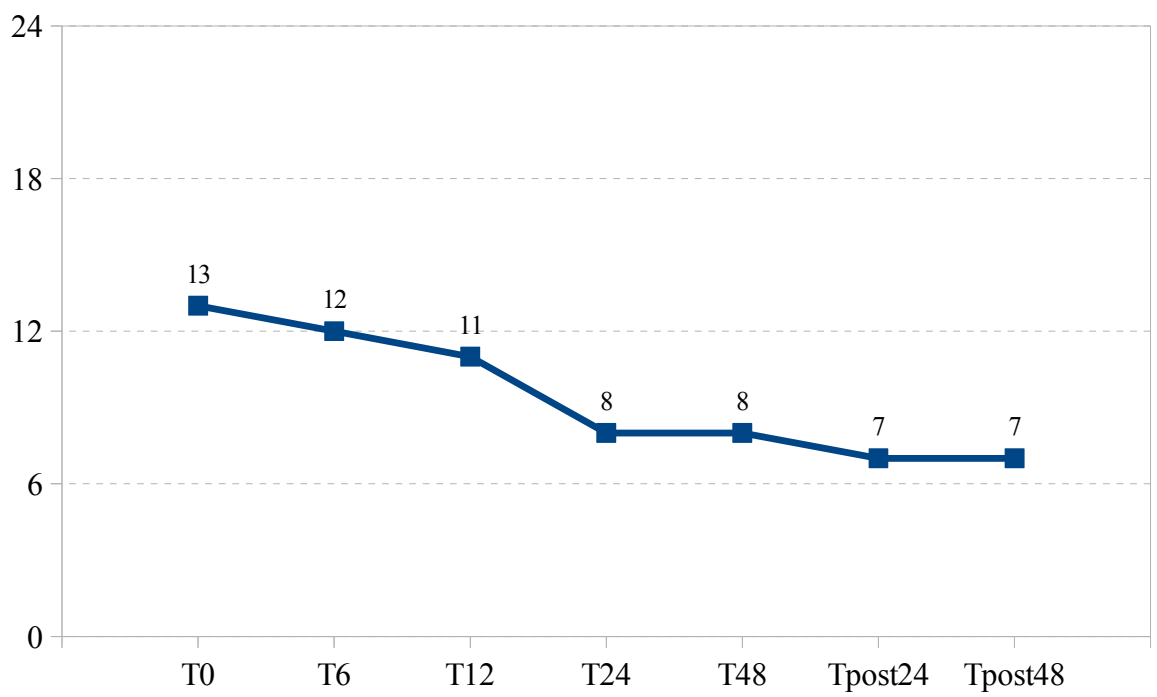


Parametri	T0	T6	T 12	T 24	T48	T24p	T 48p
SOFA	13±3	12±3*	11±4*	8±3*	8±3*	7±1*	7±3*
PAS	100±53	107±20	110±27	110±19	120±60	111±59	122±30
PAM	30±23	70±15	70±10	70±15	75±16	70±20	70±15
FC	80±15	85±14	80±14	80±16	80±21	82±23	84±20
PVC	10±3,5	12±4,5	11±7	13±8,5*	14±8*	11±4	11±4
Lattati	2,3±2,2	2±2,3	2±1,6	1,4±1,4	1,5±1	1,5±8	1±0,8
Noradren	0,2±0,2	0,2±0,2	0,2±0,1*	0,1±0,2*	0,06±0,1*	0,04±0,1*	0
Adren	0,05±0,1	0,05±0,05	0	0	0	0	0
PaO2/FiO2	164±100	240±99*	227±97*	235±164*	238±160*	281±60*	267±100*
PEEP	6±4	8±5	8±5	7±3	6±5	6±2	5±6
Output ur	40±60	18±60	30±60	20±60	20±100	95±50*	100±50*
Microalbum	-----	35,9±76,4	15,2±33,7*	57,5±103,7	49,3±79,4	15,6±41,3	25,6±12,8
Creatinina	1,85±3,25	1,52±2,47*	1,14±2,01*	0,97±1,5*	0,67±0,39*	0,89±1,13*	0,80±1,11*
Gl bianchi	17,3±24	17,1±24*	13,1±19,5	10,3±15,1	11,1±9,4	9,6±7,7	9,8±10
PCT	6±22,5	5,8±17*	5±22,1	5,1±16,2*	2,5±16,5*	1,6±3,9*	1,2±1,6*
PCR	104±125,1	105±237,8*	116±266,5*	102±289,4*	80,4±136,9	34,5±51,9*	27±55,8*
TNF $\alpha$	45,7±36,2	-----	-----	39,13±31,67	33,5±19,8	26,1±8,81*	-----
IL 6	3185,3±10562	-----	-----	665,9±1633*	172,5±254,5*	139,5±269,7*	-----
IL 1 $\beta$	33,7±109,2	-----	-----	9,3±12,1	5,9±3,8*	5,2±0,7	-----
IL 10	132±215,9	-----	-----	68,6±130,7	36,7±51,8	30,3±48,2	-----

## Tabella 9

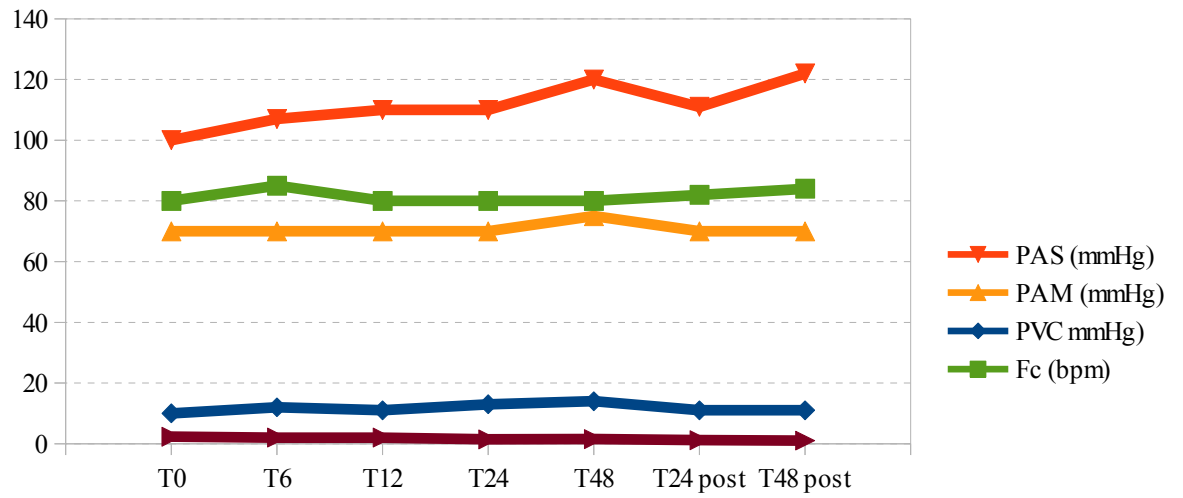
Parametri clinici, indici di disfunzione d'organo e parametri laboratoristici dei pazienti arruolati ai diversi intervalli di tempo previsti dallo studio.

\*  $p < 0,05$  vs T0



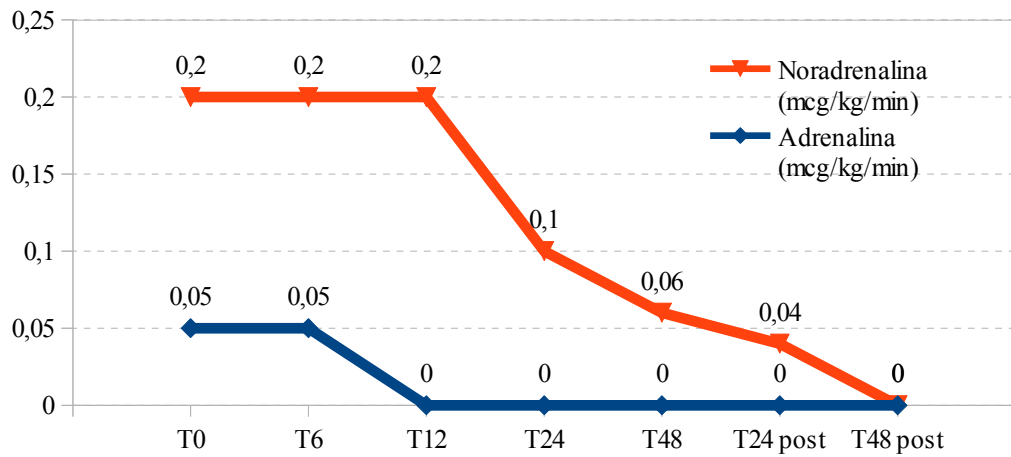
**Grafico 4**

SOFA score mediano nella popolazione in studio.



**Grafico 5**

Parametri emodinamici della popolazione in studio.



**Grafico 6**

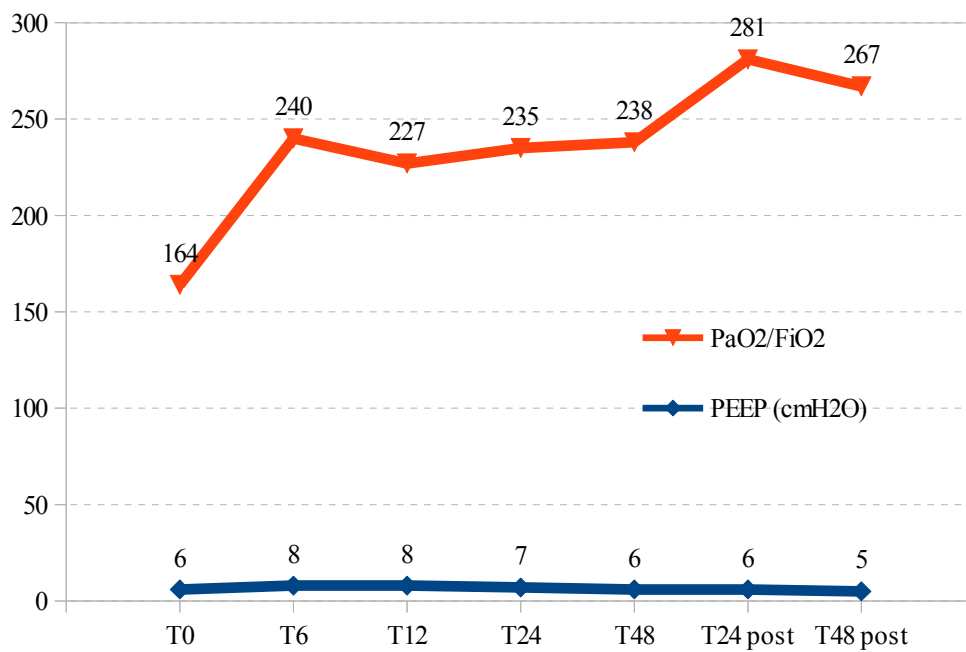
Dosaggio di inotropi/vasopressori nel tempo.

Sia durante il trattamento CVVHD con HCOM che a 24h e 48h dal suo termine, è stato osservato un progressivo miglioramento della funzione di scambio polmonare.

In particolare, è stato osservato un incremento statisticamente significativo del rapporto  $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$  a 6h ( $p = 0,007$ ), a 12h ( $p = 0,01$ ), a 24h ( $p = 0,01$ ) ed a 48h di trattamento ( $p = 0,04$ ).

Tale miglioramento è stato mantenuto anche a 24h ( $p = 0,05$ ) ed a 48 h dal termine del trattamento ( $p = 0,03$ ).

Inoltre, pur non raggiungendo valori di significatività statistica, il miglioramento del rapporto  $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$  è risultato essere associato anche ad una riduzione del livello di PEEP utilizzato durante la ventilazione meccanica dei pazienti in studio (Grafico 7).



**Grafico 7**

Funzioni di scambio polmonare della popolazione in studio.

Riguardo alla concentrazione delle citochine ematiche circolanti, è stata osservata una riduzione statisticamente significativa per i valori di IL-6 a 24h e 48h dopo l'inizio del trattamento rispetto ai valori basali ( $665.9 \pm 1633$  pg/dl  $p = 0.04$  e  $172.5 \pm 254.5$  pg/dl  $p = 0.03$ , rispettivamente).

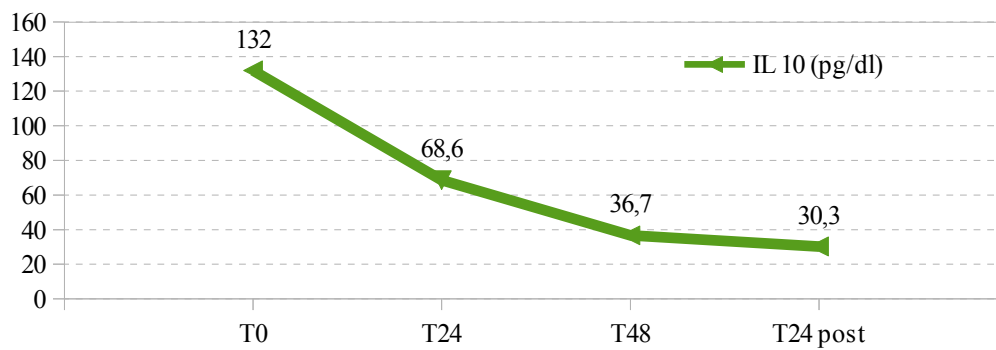
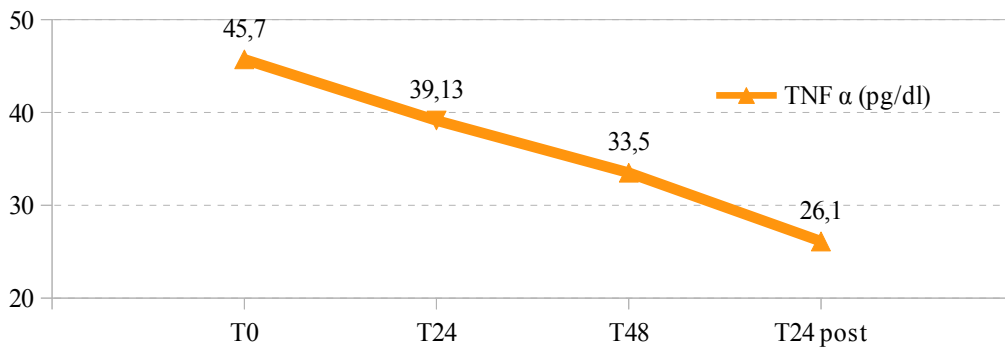
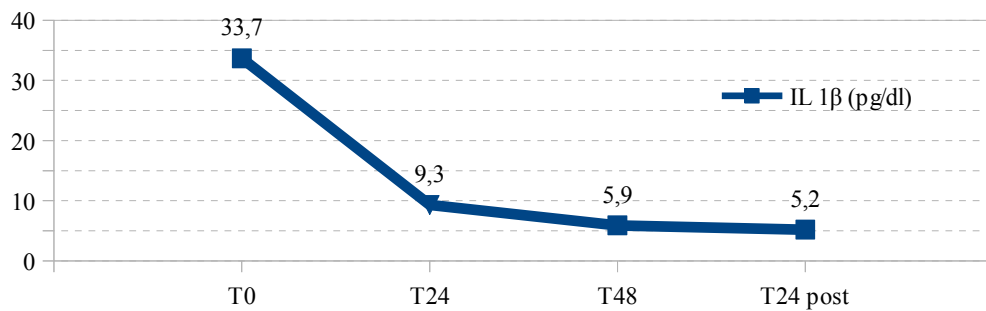
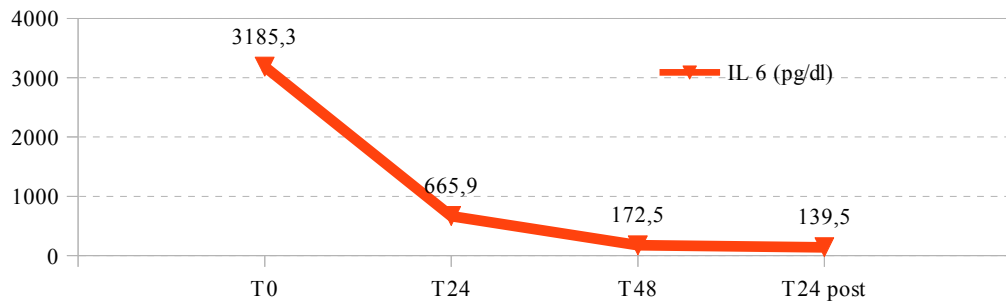
Una minore significatività statistica è stata evidenziata per la variazione della concentrazione di IL-1 $\beta$  a 48 ore dall'inizio del trattamento ( $5.9$  pg/dl [ $\pm 3.8$ ]  $p = 0.02$ ); analoghi risultati sono stati osservati sia per il valore di TNF $\alpha$  ( $26.1 \pm 8.81$  pg/dl  $p = 0.02$ ) sia di IL-6 ( $139.5 \pm 269.7$  pg/dl  $p = 0.02$ ) a 24h dal termine del trattamento.

Differenze statisticamente significative rispetto a T0 sono state osservate anche nei valori di procalcitonina (PCT) registrati a 6h ( $p = 0,01$ ), a 24h ( $p < 0,001$ ) e 48h ( $p = 0.01$ ) durante il trattamento; tali condizioni si sono mantenute anche a 24h ( $p < 0,001$ ) ed a 48h ( $p < 0,001$ ) dal termine del trattamento.

Risultati diversi sono stati osservati invece per la proteina C reattiva (PCR), per la quale è stato osservato un incremento significativo di concentrazione a 6h ( $p = 0,03$ ) ed a 12h ( $p = 0,04$ ) dall'inizio del trattamento.

Una riduzione statisticamente significativa è stata invece riscontrata a 24h ( $p = 0,02$ ) ed a 48h dal termine del trattamento ( $p < 0.001$ ).

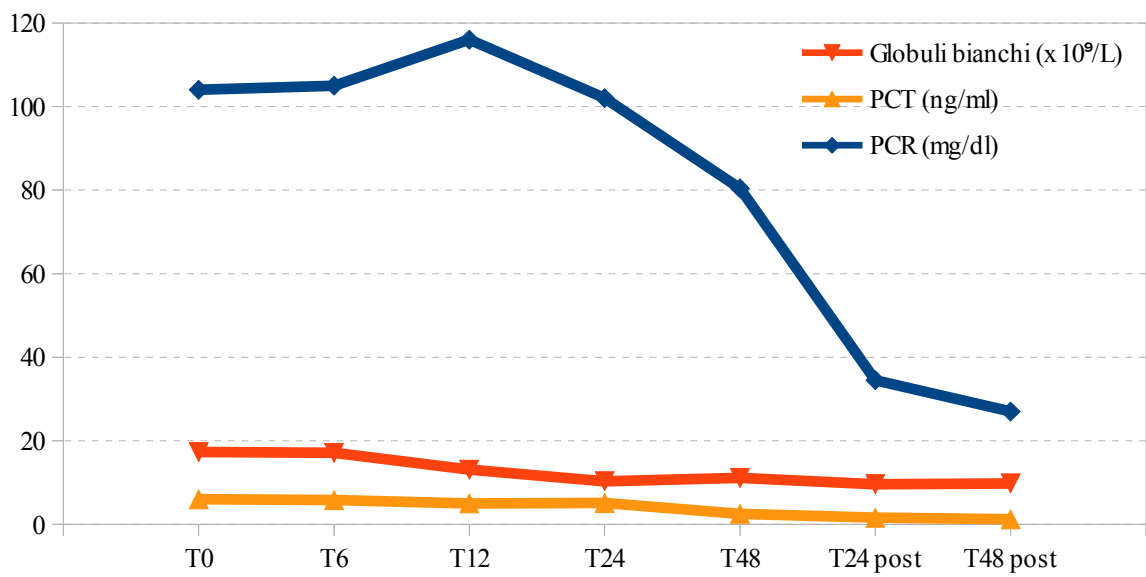
Le modificazioni delle concentrazione delle citochine e degli altri indici di flogosi è rappresentato in Grafico 8 e 9.



## Grafico 8

Concentrazioni ematiche delle citochine nel tempo.





**Grafico 9**

Indici di flogosi durante il periodo dello studio.

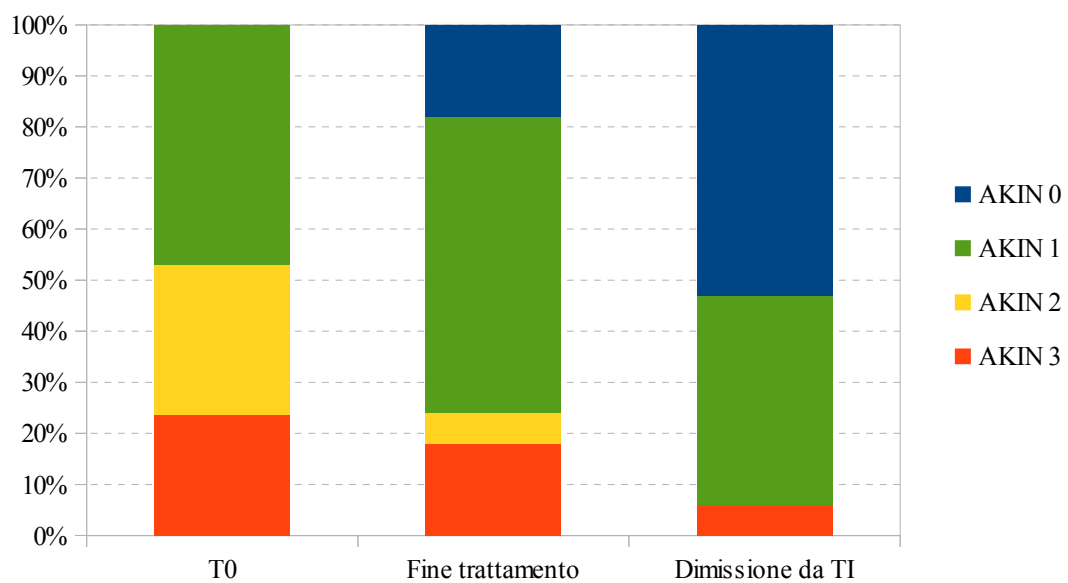
La durata effettiva del trattamento CVVHD con HCOM nella popolazione in studio è stata di  $72 \pm 65$ h; la durata temporale del primo filtro è stata in media di  $71 \pm 32$ h e la causa più frequente del cambio del set nelle prime 24h di trattamento è stata la coagulazione del filtro stesso.

Il trattamento CVVHD con HCOM è stato associato ad un sostanziale miglioramento degli indici di funzionalità renale, che si è mantenuto anche alla dimissione dei pazienti dalla TI, come illustrato in Grafico 10, 11 e 12.

Rispetto al T0 sono state osservate variazioni significative di creatininemia a 24h ( $p = 0,003$ ) ed a 48h ( $p = 0,0053$ ) dal termine del trattamento.

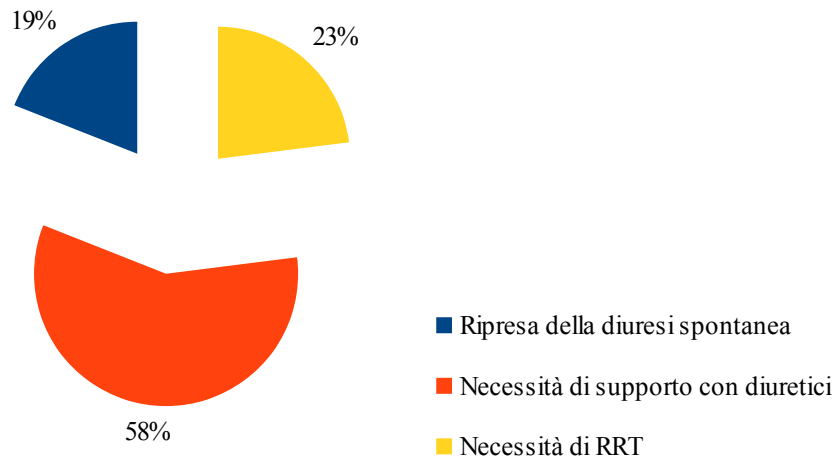
Analogo miglioramento, è stato osservato per l'output urinario a 24h ( $p = 0,04$ ) ed a 48h ( $p = 0,01$ ) dal termine del supporto CVVHD con HCOM.

La mortalità a 28 giorni dei pazienti trattati con CVVHD con HCOM è stata pari al 25% (12% durante il trattamento, 23% durante la degenza in TI); il confronto rispetto alla mortalità predetta dal calcolo dell'APACE II score al T0 è illustrata in Grafico 13.



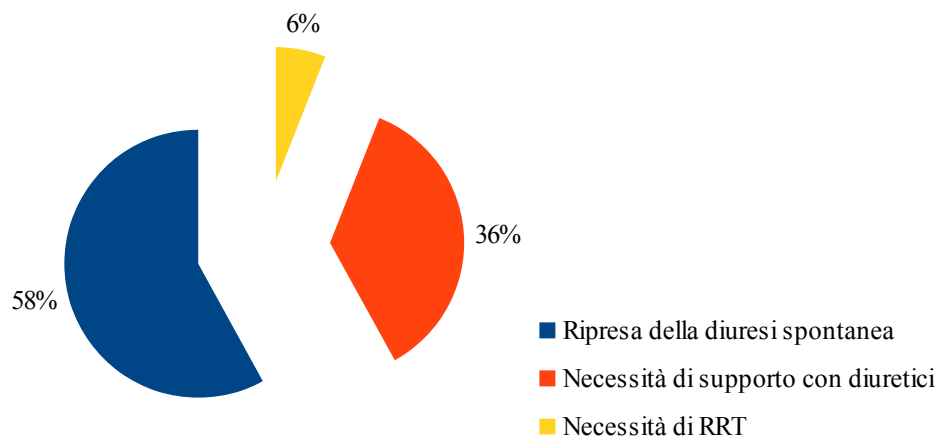
### Grafico 10

Evoluzione AKI (espressa come classe AKIN) al T0, alla fine del trattamento ed alla dimissione dalla TI.



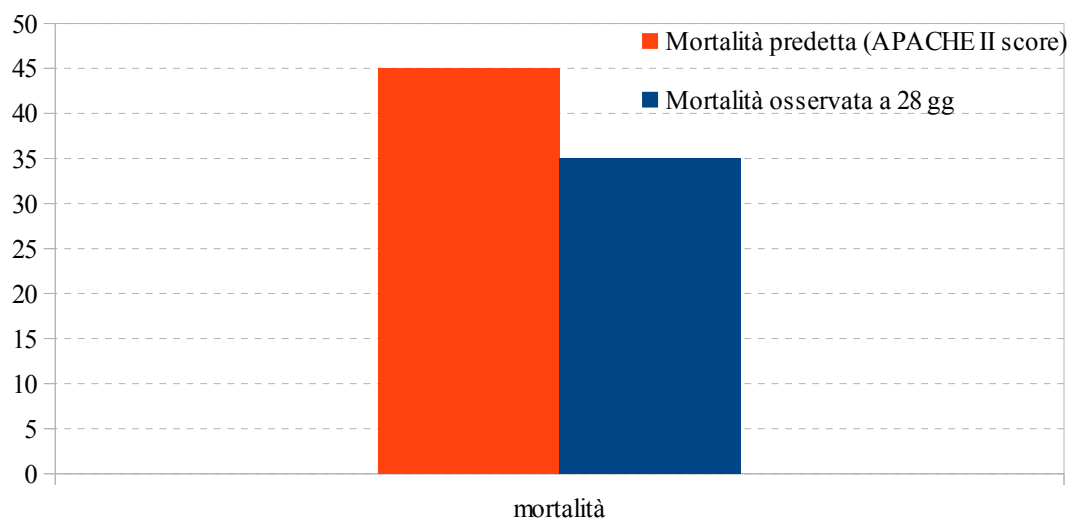
**Grafico 11**

Funzionalità renale al termine del trattamento CVVHD con HCOM.



**Grafico 12**

Funzionalità renale al momento della dimissione dalla TI.



### Grafico 13

Mortalità predetta al T0 e mortalità osservata a 28 giorni.

## **DISCUSSIONE**

L'insorgenza di AKI-sepsi correlata rappresenta un fattore di rischio indipendente di mortalità e morbilità per i pazienti critici ricoverati in TI [5, 70].

In questo contesto, è ormai ampiamente noto il ruolo fisiopatologico delle citochine quali elementi centrali delle vie di segnalazione molecolare alla base delle disfunzioni multiple d'organo e del quadro di immunodisregolazione tipicamente riscontrato nei pazienti settici [30, 25].

Queste evidenze sono alla base del crescente impiego della CRRT come metodica atta non solo al supporto della funzionalità renale, ma anche come strategia di trattamento adiuvante per l'eliminazione delle citochine dal circolo ematico al fine di ripristinare l'immuno-omeostasi [24, 43-46].

Tra le numerose tecniche depurative extra-corporee descritte in letteratura, l'utilizzo di HCOM rappresenta un nuovo promettente approccio terapeutico.

Ciò nonostante, sono ancora scarsi gli studi clinici effettuati per dimostrarne un chiaro e significativo ruolo in termini di variazione

dei livelli ematici di citochine circolanti e dell'impatto clinico attraverso la riduzione della disfunzione multipla d'organo ed il miglioramento dell'outcome.

Alla luce di queste premesse, abbiamo pertanto ritenuto utile effettuare il presente studio osservazionale prospettico multicentrico, in cui è stata valutata l'efficacia biologica e clinica della CVVHD con HCOM eseguita con sistema PrismafleX eXeed™ System e membrana SepteX™ (Gambro™) in pazienti critici con sepsi grave-shock settico associato ad AKI.

Nello studio effettuato sono stati arruolati 17 pazienti, nella maggior parte di essi (88%) la diagnosi clinica è stata quella di shock settico.

La diagnosi infettiva di più frequente riscontro è stata quella di origine respiratoria sostenuta da batteri quali *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Pseudomonas* spp.

Questi risultati sono in linea con quanto riportato in letteratura in diversi studi osservazionali che riportano l'epidemiologia delle infezioni in TI [20].

Le condizioni cliniche osservate al momento dell'arruolamento nello studio (T0) sono simili a quanto riportato da Morgera in uno

studio osservazionale prospettico condotto su pazienti settici trattati con HCOM-CVVHD [88].

Con particolare riferimento all'obiettivo primario del nostro studio, è stata osservata una riduzione statisticamente significativa nei valori di SOFA score durante il trattamento ed in particolare a 48 ore dal T0 ( $p < 0.002$ ).

Tali risultati sono del tutto sovrapponibili a quelli derivanti da uno studio prospettico ideato per confrontare la tecnica diffusiva e quella convettiva in trattamenti di sostituzione renale con HCOM in pazienti con AKI-sepsi correlata [82].

Gli Autori hanno descritto una riduzione significativa sia dello score APACHE II che del MODS (score ripetitivo per la disfunzione d'organo utilizzato in alcuni studi in alternativa al SOFA).

Nel nostro studio la riduzione negli indici di disfunzione d'organo è stata accompagnata da una riduzione nei dosaggi di vasopressori ed inotropi utilizzati per mantenere adeguate pressioni di perfusione tissutale e da un incremento negli indici di ossigenazione e scambio polmonare.



In particolare, partendo da un dosaggio mediano di noradrenalina di 0,2  $\mu\text{g}/\text{Kg}/\text{min}$  al momento dell'inizio del trattamento, è stata osservata una diminuzione a 0,1  $\mu\text{g}/\text{Kg}/\text{min}$  dopo 24h, a 0,06  $\mu\text{g}/\text{Kg}/\text{min}$  dopo 48h e 0,04  $\mu\text{g}/\text{Kg}/\text{min}$  a 24h dalla fine del trattamento emodialitico fino ad arrivare ad una completa sospensione dell'infusione entro le 48h dalla fine del trattamento. Un trend simile è stato individuato analizzando i dosaggi di adrenalina nel tempo: da un dosaggio mediano di 0,05  $\mu\text{g}/\text{Kg}/\text{min}$  al momento dell'inizio della terapia dialitica, infatti, è stata osservata una sospensione dell'infusione della stessa già dopo 12h di trattamento.

La riduzione del dosaggio di inotropi/vasopressori non è stata associata a variazione dei parametri emodinamici e degli altri indici di perfusione periferica.

Tali risultati sono in linea con quanto osservato in letteratura; in particolare, in un trial clinico prospettico randomizzato, Morgera ha evidenziato una netta riduzione dei dosaggi di noradrenalina necessari per mantenere adeguate pressioni arteriose medie in pazienti assegnati al trattamento con HCOM rispetto a quelli trattati con membrane high-flux [81].

Secondo i dati di questo studio, infatti, i pazienti sottoposti al trattamento con HCOM presentavano un dosaggio mediano di noradrenalina pari a 0,3  $\mu\text{g}/\text{Kg}/\text{min}$  al momento d'inizio del trattamento e pari a 0,13  $\mu\text{g}/\text{Kg}/\text{min}$  alla fine del trattamento, avvenuto dopo 48h; la riduzione del dosaggio di noradrenalina nel gruppo di pazienti sottoposto al trattamento emopurificativo ad alto flusso non è risultata essere altrettanto significativa [81].

Il trend in diminuzione dei dosaggi di noradrenalina nei pazienti sottoposti a CVVHD con HCOM mostrato da quest'ultimo trial si è rivelato simile a quello osservato nel nostro studio, in cui, partendo da un dosaggio iniziale di 0,2  $\mu\text{g}/\text{Kg}/\text{min}$ , dopo 48h di trattamento è stata riscontrata una riduzione del dosaggio di 0,14  $\mu\text{g}/\text{Kg}/\text{min}$  fino ad arrivare a 0,06  $\mu\text{g}/\text{Kg}/\text{min}$ .

Nel nostro studio abbiamo osservato anche un miglioramento della funzionalità polmonare, che è iniziata durante il trattamento e che si è mantenuta anche dopo la sua sospensione.

Sebbene l'incremento dei valori di  $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$  possano essere correlati ad una riduzione della disfunzione della barriera endoteliale indotta dal calo di peso imposta dalla metodica di

CRRT, un effetto antiinfiammatorio diretto non può essere escluso.

Non esistono tuttavia dati in letteratura a riguardo.

Numerose evidenze suggeriscono come il miglioramento delle condizioni cliniche sia strettamente associato alla rimozione extracorporea effettuata dalla metodica di CVVHD con HCOM nei confronti delle citochine ematiche circolanti.

Come già ampiamente argomentato, il razionale fisiopatologico dell'utilizzo delle HCOM è la più efficace rimozione dei mediatori infiammatori con elevato peso molecolare, ottenibile tramite aumento della grandezza dei pori della membrana, elemento costruttivo che le caratterizza rispetto a quelle tradizionalmente utilizzate.

In particolare, nella nostra casistica è stata osservata una riduzione significativa per l'IL-6.

Sebbene non registrata durante il trattamento, una differenza statisticamente significativa è stata riscontrata anche nei valori di TNF $\alpha$  a 24h dalla fine del supporto extra-corporeo (26,1 pg/dl) rispetto al T0 (45,7 pg/dl).

Questi risultati sono in linea con quanto dimostrato da numerosi studi in letteratura.

In particolare, in un trial controllato, cross-over, con randomizzazione in doppio cieco, Haase et al. [80] hanno osservato una differenza significativa nelle capacità depurative fra le HCOM e le membrane standard ad alti flussi.

In questo studio gli autori hanno registrato una notevole e costante diminuzione della concentrazione di IL-6 già dopo 4h di trattamento nei pazienti sottoposti alla metodica con HCOM; gli stessi risultati sono stati osservati anche per altre citochine, quali IL-8, IL-10 [80].

In letteratura l'efficacia delle HCOM nella rimozione delle citochine è stato descritto anche per condizioni cliniche particolari: Kade et al. [67] hanno riportato una riduzione di IL-4, IL-6, IL-10 e IL-12 in pazienti con disfunzione multi organo dovuta a sepsi e in seguito ad arresto cardiaco; Chelazzi et al. [89] hanno studiato l'effetto della terapia con CVVHD con HCOM in casi di pancreatite acuta grave (SAP), osservando una netta riduzione della concentrazione ematica delle citochine, ed in particolare dell'IL-6, riconosciuta come una delle più importanti molecole implicate nella fisiopatologia della SAP stessa.

Al contrario nello studio prospettico condotto da Yaroustovsky et al. [90] in una popolazione di pazienti cardiocirurgici in shock settico, non sono state osservate variazioni in termini di concentrazioni di citochine ematiche circolanti tra l'inizio ed il termine del trattamento con HCOM ed emoadsorbimento per LPS.

A differenza del trattamento eseguito nel nostro studio, Yaroustovsky et al. hanno effettuato un trattamento di emodialisi intermittente: questo potrebbe spiegare la riduzione di efficacia clinica ottenuta in una popolazione di pazienti sottoposti ad un trattamento depurativo più aggressivo e con un'efficienza ridotta per la riduzione dei tempi di trattamento.

Per quanto riguarda gli altri indici di flogosi, nel nostro studio è stata osservata una riduzione significativa e costante per la PCT.

Come ipotizzato in studio condotto da Caldini et al. [91], le variazioni della concentrazione di PCT durante il trattamento CVVHD con HCOM sono sicuramente determinate da diversi fattori fra i quali, da una parte l'attenuazione della risposta infiammatoria dovuta alla rimozione citochimica diretta, dall'altra l'aumentata rimozione ematica della PCT stessa per filtrazione.

Questo ultimo punto è facilmente spiegabile considerando il suo peso molecolare (13 kDa), ben al di sotto del cut-off della membrana (60 kDa).

Sebbene questo fenomeno riduca la possibilità di utilizzare la PCT quale biomarkers di sepsi utile nel guidare il trattamento ed il follow up, tale effetto può essere interpretato in maniera positiva considerando il ruolo fisiopatologico della PCT in corso di infezione [91].

Considerate le limitazioni della PCT come biomarkers in pazienti settici sottoposti a CVVHD con HCOM, diversi autori propongono l'utilizzo della PCR [91].

Considerando infatti il suo maggiore peso molecolare (115 kDa), è pressoché escludibile un'eliminazione diretta tramite i pori della membrana.

Nel nostro studio l'iniziale incremento dei valori di PCR potrebbe in parte essere spiegato tramite l'effetto di emoconcentrazione secondario alla rimozione di fluidi ed al calo di peso imposto dalla metodica di CRRT, ma anche dall'effetto infiammatorio diretto indotto dal contatto del sangue con una superficie non self (tubi, filtro ecc).

Tale effetto è comunque risultato limitato nel tempo ed i valori osservati dopo 24h e 48h dall'interruzione del trattamento (34,5 mg/dl e 27 mg/dl) sono comunque risultati inferiori rispetto i valori basali (104 mg/dl).

Riguardo gli altri endopoint secondari del nostro studio, abbiamo osservato un progressivo miglioramento degli indici di funzionalità renali sia durante trattamento con CVVDH e HCOM, sia al suo termine, con necessità di RRT cronica solo nel 6% dei malati alla dimissione dalla TI.

Rispetto inoltre ad una mortalità attesa secondo APACHE score del 45%, la mortalità osservata a 28 giorni è stata del 35%.

## CONCLUSIONI

Pur considerando le limitazioni derivanti dall'analisi di una casistica limitata, riteniamo che il nostro studio sia riuscito a dimostrare che la CVVHD con HCOM, aumentando la clearance dei mediatori flogistici, riduca le disfunzioni multiorgano (sia cardiovascolare che polmonare e renale), migliorando quindi l'outcome dei pazienti con AKI-sepsi grave/shock settico correlata.

Per una definitiva conferma dei nostri dati saranno necessari studi con casistiche più ampie e possibilmente con procedura di randomizzazione e gruppo di controllo.



## BIBLIOGRAFIA

1. Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, et al. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med* 2001; 29:1303-1310.
2. Mayr FB, Yende S, Angus DC. Epidemiology of severe sepsis. *Virulence* 2014; 5:4-11.
3. Schefold JC, Hasper D, Jörres A. Organ crosstalk in critically ill patients: hemofiltration and immunomodulation in sepsis. *Blood Purif* 2009; 28:116-23.
4. Schrier RW, Wang W. Acute renal failure and sepsis. *N Engl J Med* 2004; 8:351:159-169.
5. Bagshaw SM, Bellomo R, Devarajan P, et al. Review article : Renal support in critical illness. *Can J Anaesth* 2010; 57:999-1013.

6. Dellinger PR, Levy MM, Rhodes A et al. Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Severe Sepsis and Septic Shock: 2012. *Crit Care Med* 2013; 41:80-637.
7. Jones AE, Puskarich MA. The Surviving Sepsis Campaign guidelines 2012: update for emergency physicians. *Ann Emerg Med* 2014 ;63:35-47.
8. Bellomo R, Ronco C, Kellum JA et al. Acute renal failure: definition, outcomes measures, animal models, fluid therapy and information technology needs. The Second International Consensus Conference of the Acute Dialysis Qualitative Initiative (ADQI) Group. *Crit Care* 2004; 8:R2904-12.
9. Mehta RL, Kellum JA, Shah SV, et al. Acute Kidney Injury Network: report of an initiative to improve outcomes in acute kidney injury. *Crit Care* 2007; 11:R31.
10. Cruz DN, Ricci Z, Ronco C. Clinical review: RIFLE and AKIN--time for reappraisal. *Crit Care* 2009; 13:211.

11. Englberger L, Suri RM, Li Z, et al. Clinical accuracy of RIFLE and Acute Kidney Injury Network (AKIN) criteria for acute kidney injury in patients undergoing cardiac surgery. *Crit Care* 2011; 15:R16.
12. Robert AM, Kramer RS, Dacey LI et al. Cardiac surgery-associated acute kidney injury: a comparison of two consensus criteria. *Ann Thorac Surg* 2010; 90:1939-1943.
13. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Acute Kidney Injury Work Group. KDIGO Clinical Practice Guideline for Acute Kidney Injury. *Kidney Inter, Suppl* 2012; 2:1-138.
14. Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI), [www.ADQI.org](http://www.ADQI.org), accessed on 22 December 2014.
15. McCullough PA, Kellum JA, Mehta RL, et al. ADQI Consensus on AKI Biomarkers and Cardiorenal Syndromes. *Contrib Nephrol Basel, Karger* 2013; 182:5-12.

16. Esper AM, Moss M, Lewis CA, et al. The role of infection and comorbidity: factors that influence disparities in sepsis. *Crit Care Med* 2006; 34:2576-2582.
17. Mayr FB, Yende S, Linde-Zwirble WT, et al. Infection rate and acute organ dysfunction risk as explanations for racial differences in severe sepsis. *JAMA* 2010; 303:2495-2503.
18. Angus DC, van der Poll T. Severe sepsis and septic shock. *N Engl J Med* 2013; 369:840-51.
19. Bouchud PY, Glauser MP, Calandra T. Antibiotics in sepsis. *Intensive Care Med* 2001; 27:S33-48.
20. Vincent JL, Rello J, Marshall J, et al. International Study of the Prevalence and Outcomes of Infection in Intensive Care Units. *JAMA* 2009; 302:2323-2329.
21. Peters K. Molecular basis of endothelial dysfunction in sepsis. *Cardiovasc Res* 2003; 60:49-57.

22. Cunha AB. Bacterial Sepsis. *Sepsis* 2012; 5-9.
23. Glauser MP. Pathophysiologic basis of sepsis: considerations for future strategies of intervention. *Crit Care Med* 2000; 28:S4-8.
24. Ronco C, Tetta C, Mariano F, et al. Interpreting the Mechanisms of Continuous Renal Replacement Therapy in Sepsis: The Peak Concentration Hypothesis. *Artif Organs* 2003; 27:792-801.
25. Bone RC, Grodzin CJ, Balk RA. Sepsis: A New Hypothesis for Pathogenesis of the Disease Process. *Chest* 1997; 112:235-43.
26. Zarbock A, Gomez H, Kellum JA. Sepsis-induced acute kidney injury revisited: pathophysiology, prevention and future therapies. *Crit Care* 2014; 20:588-595.
27. Gomez H, Ince C, De Backer D, et al. A unified theory of sepsis-induced acute kidney injury: inflammation,

microcirculatory dysfunction, bioenergetics, and the tubular cell adaptation to injury. *Shock* 2014; 41:3-11.

28. Calzavacca P, May CN, Bellomo R. Glomerular haemodynamics, the renal sympathetic nervous system and sepsis-induced acute kidney injury. *Nephrol Dial Transplant* 2014; 29:2178-2184.

29. Ergin B, Kapucu A, Demirci-Tansel C, et al. The renal microcirculation in sepsis. *Nephrol Dial Transplant* 2014; 0: 1-9.

30. Yap SC, Lee HT. Acute kidney injury and extrarenal organ dysfunction: new concepts and experimental evidence. *Anaesth* 2012; 116:1139-48.

31. White LE, Chaudhary R, Moore LJ, et al. Surgical Sepsis and Organ Crosstalk the Role of the Kidney. *J Surg Res* 2011; 167: 306-315.

32. Kellum JA, Mehta RL, Angus DC, et al. The first international consensus conference on continuous renal replacement therapy. *Kidney Int* 2002; 62:1855-63.
33. Ricci Z, Romagnoli S, Ronco C. Renal support. *Minerva Anestesiol* 2011; 77:1-12.
34. 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.
35. Paganini EP, Tapolyai M, Goormastic M, et al. Establishing a dialysis therapy/patient outcome link in intensive care unit acute dialysis for patients with acute renal failure. *Am J Kidney Dis* 1996; 28:S81-9.
36. Saudan P, Niederberger M, De Seigneux S, et al. Adding a dialysis dose to continuous hemofiltration increases survival in patients with acute renal failure. *Kidney Int* 2006; 70:1312-7.

37. RENAL Replacement Therapy Study Investigators. Intensity of continuous renal-replacement therapy in critically ill patients. *N Engl J Med* 2009; 361:1627-38.
38. VA/NIH Acute Renal Failure Trial Network. Intensity of renal support in critically ill patients with acute kidney injury. *N Eng J Med* 2008; 359:7-20.
39. Prowle JR, Schneider A, Bellomo R. Clinical review: Optimal dose of continuous renal replacement therapy in acute kidney injury. *Crit Care* 2011; 15:207.
40. Vesconi S, Cruz DN, Fumagalli R, et al. DOse REsponse Multicentre International collaborative initiative (DO-RE-MI Study Group). Delivered dose of renal replacement therapy and mortality in critically ill patients with acute kidney injury. *Crit Care* 2009; 13:R57.
41. Galvagno SM, Hong CM, Lissauer ME, et al. Practical consideration for the dosing and adjustment of continuous



- renal replacement therapy in the intensive care unit. *J Crit Care* 2013; 28:1019-1026.
42. Tolwani A. Continuous Renal-Replacement Therapy for Acute Kidney Injury. *N Engl J Med* 2012; 367:2505-14.
43. Rimmelé T, Kellum JA. Clinical review : blood purification for sepsis. *Crit Care* 2011; 15:205.
44. Honoré PM, Matson JR. Extracorporeal removal for sepsis: Acting at the tissue level-the beginning of a new era for this treatment modality in septic shock. *Crit Care Med* 2004; 32:896-7.
45. Di Carlo JV, Alexander SR. Hemofiltration for cytokine-driven illnesses: The mediator delivery hypothesis. *Int J Artif Organs* 2005; 28:777-786.
46. Peng Z, Singbartl K, Simon P, et al. Blood purification in sepsis: A new paradigm. *Contrib Nephrol* 2010; 165:322-328.

47. Honoré PM, Joannes-Boyau OKT. Report of the working party on high volume hemofiltration including definitions and classification. In: *Proc 2<sup>nd</sup> Czech Conference on Critical Care Nephrology, Pardubice, Czech Republic*; 2007.
48. De Vriese AS, Vanholder RC, Pascual M, et al. Can inflammatory cytokines be removed efficiently by continuous renal replacement therapies? *Int Care Med*. 1999; 25:903-10.
49. Kellum JA, Johnson JP, Kramer D, et al. Diffusive vs Convective Therapy: Effects on Mediators of Inflammation in Patient with Severe Systemic Inflammatory Response Syndrome. *Crit Care* 1998; 26:1995-2000.
50. Cole L, Bellomo R, Journois D, et al. High-volume haemofiltration in human septic shock. *Int Care Med* 2001; 27:978-986.
51. Boussekey N, Chiche A, Faure K, et al. A pilot randomized study comparing high and low volume hemofiltration on

- vasopressor use in septic shock. *Int Care Med* 2008; 34:1646-1653.
52. Joannes-Boyau O, Honorè PM, Perez P, et al. High-volume versus standard-volume haemofiltration for septic shock patients with acute kidney injury (IVOIRE study): a multicentre randomized controlled trial. *Int Care Med* 2013; 39:1535-1546.
53. Bellomo R, Tan HK, Bhonagiri S, et al. High protein intake during continuous hemodiafiltration: Impact on amino acids and nitrogen balance. *Int J Artif Organs* 2002; 25:261-268.
54. Uchino S, Bellomo R, Morimatsu H, et al. Continuous renal replacement therapy: A worldwide practice survey: The Beginning and Ending Supportive Therapy for the Kidney (B.E.S.T. Kidney) Investigators. *Int Care Med* 2007; 33:1563-1570.
55. Cruz DN, Antonelli M, Fumagalli R, et al. Early use of polymyxin B hemoperfusion in abdominal septic shock: the

EUPHAS randomized controlled trial. *JAMA* 2009; 301:2445-2452.

56. Uchino S, Bellomo R, Goldsmith D, et al. Super high flux hemofiltration: a new technique for cytokine removal. *Int Care Med* 2002; 28:651-655.

57. Rimmelé T, Assadi A, Cattenoz M, et al. High-volume haemofiltration with a new haemofiltration membrane having enhanced adsorption properties in septic pigs. *Nephrol Dial Transplant* 2009; 24:421-7.

58. Ronco C, Brendolan A, d'Intini V, et al. Coupled plasma filtration adsorption: rationale, technical development and early clinical experience. *Blood Purif* 2003; 21:409-416.

59. Ronco C, Brendolan A, Lonnemann G, et al. A pilot study of coupled plasma filtration with adsorption in septic shock. *Crit Care Med* 2002; 30:1250-1255.

60. Sykora R, Chvojka J, Krouzecky A, et al. Coupled plasma filtration adsorption in experimental peritonitis-induced septic shock. *Shock* 2009; 31:473-480.
61. Cole L, Bellomo R, Davenport P, et al. The effect of coupled haemofiltration and adsorption on inflammatory cytokines in an ex vivo model. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17:1950-1956.
62. Haase M, Bellomo R, Morgera S, et al. High cut-off point membranes in septic acute renal failure: a systematic review. *Int J Artif Organs* 2007; 30:1031-41.
63. Uchino S, Bellomo R, Morimatsu H, et al. Cytokine dialysis: an ex vivo study. *ASAIO J* 2003; 48:650-3.
64. Morgera S, Klonower D, Rocktäschel J, et al. TNF-alpha elimination with high cut-off haemofilters: a feasible clinical modality for septic patients? *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18:1361-1369.

65. Villa G, Zaragoza J, Sharma A, et al. Cytokine Removal with High Cut-Off Membrane: Review of Literature. *Blood Purif* 2014; 38:167-173.
66. Madelaine T, Page M, Prothet J, et al. Super high-flux continuous hemodialysis in septic shock: a case report. *Nephrol Ther* 2013; 9:497-500.
67. Kade G, Wiśniewska M, Lubas A, et al. The treatment of septic shock with continuous venovenous hemodialysis using high cut-off dialyzer in patient after immediate circulatory arrest. *Przegl Lek* 2013; 70:698-700.
68. Gong D, Ji D, Zhang K, et al. Endotoxemia after high cutoff hemodialysis for treatment of patient with multiple myeloma can be prevented by using ultrapure dialysate: a case report. *Hemodial Int* 2013; 17:618-623.
69. Kline J, Gordon BE, Williams C, et al. Large-pore hemodialysis in acute endotoxin shock. *Crit Care Med* 1999; 27:588-596.

70. Detry O, Janssen N, Cheramy-Bien JP, et al. Effects of large-pore hemofiltration in a swine model of fulminant hepatic failure. *Artif Organs* 2012; 36:981-987.
71. Lambermont B, Delanaye P, Dogne JM, et al. Large-pore membrane hemofiltration increases cytokine clearance and improves right ventricular-vascular coupling during endotoxic shock in pigs. *Artif Organs* 2006; 30:560-564.
72. Yumoto M, Nishida O, Moriyama K, et al. In vitro evaluation of high mobility group box 1 protein removal with various membranes for continuous hemofiltration. *Ther Apher Dial* 2011; 15:385-393.
73. Haase M, Bellomo R, Baldwin I, et al. The effect of three different miniaturized blood purification devices on plasma cytokine concentration in an ex vivo model of endotoxemia. *Int J Artif Organs* 2008; 31:722-729.
74. Delanaye P, Lambermont B, Dogne JM, et al. Confirmation of high cytokine clearance by hemofiltration with a cellulose

triacetate membrane with large pores: an in vivo study. *Int J Artif Organs* 2006; 29: 944-948.

75. Lee WC, Uchino S, Fealy N, et al. Super high flux hemodialysis at high dialysate flows: an ex vivo assessment. *Int J Artif Organs* 2004; 27:24-28.

76. Uchino S, Bellomo R, Goldsmith D, et al. Cytokine removal with a large pore cellulose triacetate filter: an ex vivo study. *Int J Artif Organs* 2002; 25:27-32.

77. Bordoni V, Bolgan I, Brendolan A, et al. Caspase-3 and -8 activation and cytokine removal with a novel cellulose triacetate super-permeable membrane in an in vitro sepsis model. *Int J Artif Organs* 2003; 26:897-905.

78. Dominik A, Stange J, Pfensig C, et al. Reduction of elevated cytokine levels in acute/acute-on-chronic liver failure using super-large pore albumin dialysis treatment: an in vitro study. *Ther Apher Dial* 2014; 18: 347-352.



79. Mariano F, Fonsato V, Lanfranco G, et al. Tailoring high cut-off membranes and feasible application in sepsis-associated acute renal failure: in vitro studies. *Nephrol Dial Transplant* 2005; 20:1116-1126.
80. Haase M, Bellomo R, Baldwin I, et al. Hemodialysis membrane with a high-molecular-weight cutoff and cytokine levels in sepsis complicated by acute renal failure: a phase 1 randomized trial. *Am J Kidney Dis* 2007; 50:296-304.
81. Morgera S, Haase M, Kuss T, et al. Pilot study on the effects of high cutoff hemofiltration on the need for norepinephrine in septic patients with acute renal failure. *Crit Care Med* 2006; 34: 2099-2104.
82. Morgera S, Slowinski T, Melzer C, et al. Renal replacement therapy with high-cutoff hemofilters: impact of convection and diffusion on cytokine clearances and protein status. *Am J Kidney Dis* 2004; 43:444-453.

83. Morgera S, Haase M, Rocktaschel J, et al. High permeability haemofiltration improves peripheral blood mononuclear cell proliferation in septic patients with acute renal failure. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18: 2570-2576.
84. Morgera S, Rocktaschel J, Haase M, et al. Intermittent high permeability hemofiltration in septic patients with acute renal failure. *Int Care Med* 2003; 29:1989-1995.
85. Morgera S, Haase M, Rocktaschel J, et al: Intermittent high-permeability hemofiltration modulates inflammatory response in septic patients with multiorgan failure. *Nephron Clin Pract* 2003; 94:c75–c80.
86. Giamarellos-Bourboulis EJ, Norrby-Teglund A, Mylona V, et al. Risk assessment in sepsis: a new prognostication rule by APACHE II score and serum soluble urokinase plasminogen activator receptor. *Crit Care* 2012; 16:R149.
87. Vincent JL, Moreno R, Takala J, et al. The SOFA (Sepsis related Organ Failure Assessment) score to describe organ

dysfunction / failure On behalf of the Working Group on Sepsis - Related Problems of the European Society of Intensive Care Medicine. *Int Care Med* 1996; 22:707-710.

88. Morgera S, Scholle C, Voss G, et al. Metabolic complications during regional citrate anticoagulation in continuous venovenous hemodialysis: Single-center experience. *Nephron - Clin Pract* 2004;97.

89. Chelazzi C, Giugni D, Giannoni C, et al. Use of Continuous Venovenous Hemodiafiltration with a High Cutoff Membrane in a Patient with Severe Acute Pancreatitis. *Open J Nephrol* 2012;2:78-81.

90. Yaroustovsky M, Abramyan M, Krotenko N, et al. Combined extracorporeal therapy for severe sepsis in patients after cardiac surgery. *Blood Purif* 2014; 37:39-46.

91. Caldini A, Chelazzi C, Terreni A, et al. Is procalcitonin a reliable marker of sepsis in critically ill septic patients undergoing continuous veno-venous hemodiafiltration with

“high cut-off” membranes (HCO-CVVHDF)? *Clin Chem Lab Med* 2013; 51:261-3.

92. Matera G, Quirino A, Giancotti A, et al. Procalcitonin neutralizes bacterial LPS and reduces LPS-induced cytokine release in human peripheral blood mononuclear cells. *BMC Microbiol* 2012;12:68.