

Sepsi, insufficienza renale acuta e “*multiple organ dysfunction syndrome*”

G. Graziani¹, M. Buskermolen¹, S. Oldani¹, G. Brambilla²

¹ Dipartimento di Medicina d'Urgenza, U.O. di Nefrologia e Dialisi, ² U.O. di Radiologia, Istituto Clinico Humanitas IRCCS, Rozzano (MI)

Sepsis, acute renal failure and multiple organ dysfunction syndrome

The so-called systemic inflammatory response syndrome (SIRS) represents the cellular inflammatory and neuroendocrine systemic reaction in response to many adverse events. Sepsis is defined as SIRS induced by bacterial, mycotic or viral toxins. The circulating toxins deriving from the bacterial wall can activate the septic cascade that induces many systemic reactions involving the activation of the cellular immunity, complement and coagulation system. The endothelial cell is the target of the systemic phlogistic reaction; its stimulation is followed by the production of many vasoactive paracrine and systemic agents. In this context, local and systemic cytokine production plays a major role in inducing the septic cascade, which although meant to be a phlogistic defense reaction, can often become an uncontrolled and dangerous inflammatory reaction. The sepsis-derived lesions can involve many organs and apparatus leading to the picture of sepsis syndrome. Sepsis syndrome often induces severe pulmonary lesions with a picture of acute respiratory distress syndrome (ARDS). The combination of acute renal failure and sepsis is associated with a high mortality rate, namely in patients with a nitric oxide-induced systemic reduction in peripheral vascular resistances and septic shock. The toxinemia can also induce myocardial damage with a reduction in cardiac performance. Therefore, septic patients who have a combination of pulmonary, cardiovascular, renal and cerebral lesions present with the picture of multiple organ dysfunction syndrome, that can increase mortality to >80%. (*G Ital Nefrol* 2006; 23 (suppl 36): S13-21)

KEY WORDS: Sepsis, Acute renal failure, Acute respiratory distress syndrome, Multiorgan failure

PAROLE CHIAVE: Sepsis, Insufficienza renale acuta, ARDS, Insufficienza multiorgano

Definizione della sepsi e delle sindromi correlate

Nel 2003 una *Consensus Conference* della *Society of Critical Care Medicine* e di altre società scientifiche ha elaborato una serie di definizioni per rendere univoca la terminologia della sepsi (1).

È stato rilevato che le alterazioni fisiologiche e le disfunzioni organiche evidenziate durante le infezioni batteriche sono comuni ad insulti di diversa eziologia. Pertanto, tale condizione clinica, indicata convenzionalmente con il termine di SIRS (*Systemic Inflammatory Response Syndrome*), è stata definita dalla presenza di almeno due variazioni dei seguenti 4 parametri: Temperatura corporea > 38° o < 36°C, Frequenza cardiaca > 90 puls/min, Frequenza respiratoria > 20/min (pCO₂ < 32 mmHg),

Conta Leucocitaria > 12.000 o < 4.000/mm³. La sepsi è stata definita come la risposta infiammatoria sistemica (SIRS) conseguente ad un'infezione documentata, di natura batterica, virale o micotica. La sepsi grave è stata definita come sepsi associata ad alterazioni funzionali di organi o di apparati dovute a fenomeni di ipoperfusione, mentre lo *shock* settico è stato definito come sepsi con ipotensione arteriosa persistente nonostante adeguato apporto di fluidi, associato a segni di disfunzione poliorganica.

È utile precisare che, nonostante la SIRS, la sepsi e lo *shock* settico siano comunemente associati all'infezione batterica, la batteriemia (presenza di batteri vivi nel sangue) può non sempre essere dimostrabile. Nelle casistiche riportate sono frequenti i casi di sepsi con emocultura negativa in misura variabile in ordine decrescente dalla sepsi, alla sepsi grave fino allo *shock* settico.

Epidemiologia

Gli studi epidemiologici riportati sono estremamente eterogenei, si riferiscono prevalentemente alla realtà nosografica degli Stati Uniti e comprendono valutazioni retrospettive incentrate sulle diagnosi di dimissione ospedaliera e valutazioni prospettive basate su indagini osservazionali.

Le proiezioni sul territorio nazionale delle diagnosi di dimissione ospedaliera negli USA, riportate da Angus et al. hanno evidenziato nel 1995 circa 750.000 casi di sepsi grave corrispondenti ad un tasso di ospedalizzazione medio del 2.5% (2).

L'analisi retrospettiva sulla prevalenza della sepsi negli USA nel periodo 1979-2000 ha evidenziato un tasso complessivo di ospedalizzazioni pari all'1.3% con un incremento dell'incidenza da 164.072 casi nel 1979 a 659.935 nel 2000 (3). Sono anche emersi i seguenti rilievi: a) aumento dell'età media dei pazienti incidenti (55-60 anni); b) i pazienti anziani sono più predisposti a patologie sistemiche (diabete e neoplasie) e più spesso necessitano di chirurgia invasiva; c) maggiore incidenza della sepsi nella popolazione non caucasica, presumibilmente correlata a diverso trattamento sanitario o a differenze genetiche; d) maggiore incidenza nel sesso maschile.

Parallelamente alla maggior frequenza diagnostica è riportato anche un incremento dei decessi. Infatti, sebbene il tasso di mortalità assoluto sia ridotto dal 27.8% (1979-1984) al 17.9% (1995-2000), l'incremento dell'incidenza della sepsi ha triplicato la mortalità intraospedaliera da 43.759 decessi (21.9/100.000 soggetti) nel 1979 a 120.491 decessi nel 2000 (43.9/100.000 soggetti). Questo dato indica la sepsi come seconda causa di morte fra i pazienti ricoverati in unità di Terapia Intensiva e come decima causa di morte nella popolazione ospedaliera.

La mortalità appare correlata alla gravità del quadro settico e aumenta progressivamente passando dalla sepsi allo *shock* settico. La mortalità, infatti, varia dal 7 al 17% nella sepsi, mentre sale al 60% nello *shock* settico.

Fisiopatologia della sepsi

La sepsi rappresenta la risposta infiammatoria sistemica secondaria ad infezione batterica, fungina o virale. L'ingresso di un agente infettivo nell'organismo induce una serie di risposte sistemiche che rappresentano la reazione fisiologica alle endotossine, Lipopolisaccaridi (LPS) derivanti dalla capsula batterica dei Gram-negativi, o alle esotossine (Acido Lipoteicoico-Peptidoglicani) dei Gram-positivi, o ad antigeni micotici o virali. La risposta dell'organismo all'ingresso di microrganismi patogeni è molto complessa e coinvolge il sistema immunitario in toto sia nella sua componente naturale che acquisita.

Nella sepsi da batteri Gram Negativi, l'Endotossina che innesca la risposta sistemica è il lipopolisaccaride (LPS)

componente della capsula esterna del microrganismo. La molecola del LPS ha 3 componenti: una frazione lipidica, denominata Lipide A, un nucleo formato da oligosaccaridi di cui sono legate catene di polisaccaridi (abituamente 6) che sono sulla superficie esterna del microrganismo. Questa frazione del patogeno presenta una composizione diversa a seconda dei ceppi batterici. Le catene poste sulla superficie esterna del microrganismo rappresentano la componente della molecola del LPS che attiva il sistema dell'immunità cellulare innata (monociti-macrofagi, granulociti, *natural killer*) innescando quella serie di reazioni che costituiscono la "cascata settica". La presenza di elevate concentrazioni di endotossina nel sangue del paziente è un fattore prognostico negativo; infatti, è stata dimostrata una correlazione diretta fra la concentrazione plasmatica del LPS, il rischio di *shock* settico e la mortalità del paziente (3).

La sepsi da Gram positivi ha un'incidenza analoga a quella da Gram-negativi. In questo caso l'Esotossina responsabile della sindrome è l'Acido Lipoteicoico legato a Peptidoglicani liberati dalla capsula batterica. L'infezione prodotta da questi microrganismi diversi presenta differenze fisiopatologiche e cliniche.

Differenza fra sepsi da batteri Gram-negativi e Gram-positivi

La diagnosi differenziale tra sepsi da batteri Gram-negativi e Gram-positivi può essere difficile senza il supporto dell'isolamento batterico, tuttavia vi sono situazioni cliniche in cui è possibile fare una previsione attendibile sulla natura del microrganismo. Lesioni cutanee, mirositi, ascessi, flemmoni muscolari, spondiliti o spondilodisciti, *rash* cutanei sono patognomonici di infezione da Gram-positivi (*Stafilococcus Aureus* o *Piogenes*). Al contrario, infezioni dell'apparato urinario o derivanti da lesioni gastroenteriche sono quasi sempre indotte da Gram-negativi. Il sistema di difesa dell'organismo presenta alcune diversità nei due casi; infatti, nelle esotossinemie da Gram-positivi sono attivati soprattutto i neutrofili con attività fagocitaria superiore a quella indotta dall'endotossina dei Gram-negativi. Inoltre la produzione citochinica, ed in particolare la sintesi di TNF, è superiore nell'endotossinemia da Gram-negativi e modesta nelle infezioni da Gram-positivi.

La composizione chimica delle tossine è diversa nei due tipi di infezione, tuttavia la reazione flogistica sistemica, fatte salve le differenze sopraesposte, si esplica in modo analogo attraverso la chemiotassi dei neutrofili, l'attivazione del complemento e della coagulazione, la produzione di ossido nitrico (NO) e delle citochine proflogistiche (TNF, IL-1, IL-6), la produzione di enzimi proteolitici e di endoperoxidi. Questo complesso di reazioni può indurre *shock* settico e insufficienza multiorgano, con meccanismo analogo nei due tipi di infezione (4).

Risposta infiammatoria sistemica alle tossine batteriche, micotiche, virali

La reazione dell'organismo all'ingresso di una tossina esogena derivante da qualsiasi tipo di agente patogeno inizia con il legame della tossina presente sulla capsula batterica ad una proteina circolante LBP (*Lipopolysaccharide Binding Protein*). Il complesso LPS-LBP si lega ad un recettore di membrana dei monociti-macrofagi denominato mCD14 (recettore endotossinico). Tale recettore è aspecifico; infatti, non lega solo le endotossine, ma anche tutti gli antigeni di superficie degli altri patogeni (Gram-positivi, miceti, micobatteri, virus), pertanto la proteina di superficie mCD14 è considerato il sistema cellulare di riconoscimento dell'antigene ancorato sulla membrana cellulare. Esso è di per sé incapace di trasdurre il segnale all'interno della cellula. Le molecole responsabili della trasduzione del segnale all'interno della cellula sono state recentemente individuate e rappresentano una famiglia di recettori transmembrana denominati TLR (*Toll-like receptors*) (5). Il contatto del complesso LPS-LBP con il recettore di membrana mCD14 induce l'attivazione di un gruppo di proteine, costituite dal complesso CD14, MD2 (proteina di adattamento strutturale) e TLR-4, che si raggruppano a grappolo sulla superficie cellulare costituendo il sistema di trasduzione del segnale attraverso la membrana all'interno della cellula ("*Raft-like arrays*" - sistema a zattera) (6). La famiglia dei recettori cellulari TLRs ha il compito di riconoscere ed identificare i costituenti batterici, micotici e virali diversi 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 peptidoglicani dei batteri Gram-positivi, il TLR-2 per il lipoarabinomannan dei micobatteri, 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 mitogeni, che inducono l'attivazione del fattore di trascrizione NF- κ B che entra nel nucleo e stimola l'espressione genica delle proteine mediatrici della flogosi sistemica. Ne risulta la sintesi delle citochine di natura proinfiammatoria (IL-1, IL-6, IL-8, TNF, IL-12) ed antinfiammatorie (IL-1RA, IL-4, IL-10, sTNFR) e l'attivazione dei fattori della coagulazione (*tissue factor* e PAF).

Un'altra proteina che ha un ruolo importante nella patogenesi del danno d'organo nella sepsi è la frazione circolante del CD14 (sCD14). Si ritiene che questa molecola favorisca la risposta alle tossine batteriche delle cellule endoteliali che non esprimono il recettore di superficie mCD14. La frazione sCD14 sarebbe quindi un fattore di stimolazione delle citochine e degli altri mediatori della flogosi da parte delle cellule endoteliali e delle cellule epiteliali in genere, comprese le cellule dell'epitelio tubulare renale. Questa molecola circolante sarebbe quindi un

amplificatore della risposta flogistica a livello sistemico e favorirebbe l'estensione del danno d'organo nella sindrome settica (Fig. 1). È stata dimostrata, infatti, una correlazione diretta fra la concentrazione plasmatica del sCD14 e la mortalità dei pazienti settici (7).

Il complesso circolante sCD14-LPS stimola le cellule endoteliali e le epiteliali (comprese le cellule tubulari renali) a produrre non solo citochine e fattori attivanti la coagulazione ma anche una complessa serie di fattori di chemiotassi leucocitaria e adesione endoteliale (VCAM, ICAM). La sepsi, infatti, è associata ad aumentata produzione midollare di leucociti immessi in circolo ed alla loro attivazione e migrazione verso i tessuti sede di flogosi. L'attrazione e l'adesione dei monociti-macrofagi e dei polimorfonucleati all'endotelio inducono una serie di danni d'organo attraverso l'aumento delle permeabilità endoteliali che favorisce l'edema interstiziale (polmone, rene, miocardio, fegato) e la contrazione del volume extracellulare provocando una ipovolemia relativa e favorendo la comparsa di shock (8).

La risposta immune nella sepsi

Ruolo dei Linfociti

L'azione dei leucociti è complessa e non ancora perfettamente chiarita; in parte, infatti, essi hanno effetto protettivo attraverso la fagocitosi dei batteri, tuttavia l'entità e l'efficacia della risposta immunitaria all'aggressione batterica varia molto da un soggetto all'altro. In questo contesto un ruolo chiave sembrano avere i T-linfociti (CD4 T Cell) che, attivati dalle citochine prodotte dai macrofagi e dalle cellule dendritiche possono avere un ruolo flogistico diverso a seconda del tipo di linfociti attivati. L'attivazione dei linfociti CD4-Th1 amplifica la flogosi attraverso la sintesi di citochine proinfiammatorie; alternativamente, i CD4-Th2 hanno un'azione antiflogistica promuovendo la sintesi di citochine antiinfiammatorie. In questo caso la prevalente azione antiflogistica può provocare una inibizione dell'azione fagocitaria dei macrofagi ed anergia immunitaria. Il tipo di risposta pro o anti-flogistica sembra essere regolata da fattori locali, quali il tipo di patogeno e sua carica batterica o il sito di infezione, oppure da fattori genetici e raziali (9, 10).

Ruolo dei Polimorfonucleati

Nel corso della sepsi l'azione dei neutrofili è considerata essenziale per la eradicazione dei batteri patogeni. La loro migrazione verso il o i focolai infettivi è promossa dall'attività dei fattori chemiotattici (VCAM, ICAM) che richiamano leucociti. Una eccessiva attivazione locale dei neutrofili può tuttavia rivelarsi dannosa per gli organi infetti. I neutrofili, infatti, possono liberare localmente endoperossi-

di o proteasi che inducono danno d'organo. Un particolare rilievo in questo senso sembra avere l'azione enzimatica delle proteasi e delle elastasi. Questo effetto sembra particolarmente rilevante a carico del polmone, dove avviene un cospicuo sequestro di neutrofili nel corso della sepsi. Il fenomeno sembra rilevante nella patogenesi dell'ARDS (*Acute Respiratory Distress Syndrome*) che rappresenta una delle espressioni più temibili nel quadro della lesione d'organo nel settico (11).

I mediatori della sepsi

Citochine proinfiammatorie

All'esordio della sepsi, l'attivazione dei monociti-macrofagi e la risposta dei T linfociti tipo 1 helper (Th1) induce la sintesi delle citochine proflogistiche. Le citochine sono microproteine con peso molecolare variabile da 15 a 25 kDa che vengono liberate localmente nella sede dell'infezione ed hanno caratteristiche pro o antiflogistiche. Queste molecole hanno effetto lesivo sistemico avendo come bersaglio le cellule endoteliali dei diversi organi. La sepsi può quindi essere considerata una "endotelite" sistemica con danno al microcircolo degli organi colpiti. Secondo la teoria della sintesi sequenziale, nelle prime ore della sepsi si verifica un picco di citochine proinfiammatorie: IL-1 beta, TNF-alfa, IL-6, IL-8, IL-12, IL-18, Interferon beta e gamma ed altre ad attività stimolante la produzione dei granulociti e di inibizione della migrazione dei macrofagi. Le citochine hanno un effetto paracrino ed una emivita molto breve per cui solo quelle prodotte in eccesso sono misurabili nel sangue circolante. La frazione circolante può quindi essere considerata come il picco di un "iceberg" essendo la maggior parte delle microproteine legate alle cellule endoteliali, quindi non dimostrabili in circolo. Dopo 24-48 ore si ha una "down regulation" delle citochine proinfiammatorie ed inizia la sintesi delle antiflogistiche: IL-2, IL-4, IL-10. Nelle giornate successive vi è un continuo equilibrio dinamico fra queste molecole diverse, la cui sintesi è condizionata da fattori diversi quali la terapia antibiotica e altre terapie antiflogistiche. Vi sono anche altri fattori meno noti che modulano la sintesi delle citochine: questi fattori sono genetici, razziali per cui la risposta dell'organismo alla infezione è strettamente correlata alla reattività individuale. Un ruolo importante sembra giocare anche l'attivazione del complemento, in particolare delle frazioni C3a e C5a (anafilatossine). L'effetto dell'attivazione complementare si esplica attraverso un aumento della sintesi delle citochine proflogistiche, in particolare del TNF, un aumento della permeabilità capillare ed un effetto chemiotattico sui leucociti.

Le citochine proflogistiche inducono la sintesi della fosfolipasi A2, della cicloossigenasi e della aciltransferasi con stimolazione della sintesi delle prostaglandine e dei

leucotrieni e del *Platelet Activating Factor* (PAF) che attiva la cascata coagulativa. Un altro importante effetto delle citochine è la riduzione del tono vasomotorio indotta dalla stimolazione della frazione inducibile della NO sintetasi che aumenta la sintesi di NO, responsabile della grave riduzione delle resistenze vascolari periferiche e del danno endoteliale dell'ischemia d'organo che si associa all'insorgenza dello shock settico (12).

Citochine antinfiammatorie

Nel corso della sepsi vengono prodotte anche citochine ad azione antiflogistica. Queste sono sintetizzate dai T linfociti tipo 2 (Th2). A questa categoria appartengono le citochine IL-4, IL-10, IL-13, Interferon alfa ed i recettori solubili dell'IL-1 e TNF. L'azione di questo gruppo di microproteine si esplica attraverso l'inibizione della sintesi delle citochine proflogistiche e si ritiene che proteggano l'organismo dall'azione dannosa delle sepsi sul danno d'organo e dallo shock settico.

Equilibrio fra mediatori pro ed anti-infiammatori

All'esordio della sepsi, si ha una prevalente sintesi delle citochine proinfiammatorie, la persistenza della sindrome può indurre la prevalente sintesi dei mediatori antiinfiammatori con inibizione dell'attività difensiva dei macrofagi. Persistendo la malattia, l'evoluzione dinamica della risposta immunitaria linfocito-dipendente è imprevedibile e l'equilibrio fra l'attività pro ed antiflogistica può variare essendo sotto l'influenza di fattori diversi non completamente noti. Tuttavia, la netta prevalenza della sintesi di questo gruppo di mediatori o l'inibizione della proliferazione dei T-linfociti in risposta all'antigene, con difettosa sintesi delle citochine, è indice di fallimento dell'attività difensiva del sistema immunitario ed è un evento prognostico negativo essendo espressione di anergia immunitaria. Il tipo di morte cellulare sembra essere fattore modulante l'attività immunitaria: la necrosi cellulare, infatti, provoca stimolazione dei linfociti Th1 con vivace risposta immunitaria, stimolazione delle cellule dendritiche dei macrofagi ed attivazione della produzione anticorpale. Al contrario, la morte dei linfociti, delle cellule dendritiche e delle cellule dell'apparato gastrointestinale per apoptosi stimola la proliferazione dei Th2 linfociti che inducono la sintesi di citochine antiflogistiche, linfocitopenia, ridotta attività macrofagica, ridotta presentazione dell'antigene e produzione anticorpale, espressione di anergia immunitaria.

Oltre all'azione antibatterica degli antibiotici e dei presidi antiflogistici, influenzano questo bilancio immunitario altri fattori quali il tipo e la carica del patogeno, la sede di infezione, il polimorfismo genetico nella sintesi delle citochine pro o antiflogistiche; pertanto, la risposta dell'organi-

simo alla sepsi è strettamente correlata alla reattività immunitaria individuale (11).

Sepsi e coagulazione intravascolare disseminata

Le tossine batteriche, attraverso l'azione dei linfociti, dei monociti e dei polimorfonucleati, attivano le piastrine che aggregano, aderiscono all'endotelio ed inducono la formazione di trombi nel microcircolo degli organi. L'effetto di attivazione della coagulazione è mediato dagli endoperossidi e dall'attività del *Platelet Activating Factor*. La piastrina attivata espone sulla sua superficie la P-selettina, molecola che promuove l'adesione delle piastrine sulle cellule endoteliali. Un'altra azione della P-selettina è l'interazione con i recettori di superficie dei leucociti che esprimono il *Tissue Factor* ad attività procoagulante.

Il danno d'organo si realizza attraverso 3 meccanismi fisiopatologici:

- 1) Attivazione piastrinica, loro aggregazione, ostruzione dei microvasi, lesione del microcircolo, ipoperfusione ed ischemia d'organo.
- 2) Attivazione piastrinica, espressione del *Tissue Factor*, formazione di trombina, trombosi del microvaso, ischemia dell'organo.
- 3) Attivazione piastrinica, formazione di aggregati piastrine-leucociti, adesione dei leucociti sull'endotelio. Il fenomeno avviene attraverso l'attivazione della lectina e del complemento, che promuovono l'adesione dei leucociti all'endotelio inducendo flogosi endoteliale e danno d'organo. Il complesso di reazioni è rilevante soprattutto a livello polmonare dove si verifica un sequestro di leucociti e piastrine attivate, responsabili del danno cellulare endoteliale ed alveolare e dello sviluppo dell'ARDS.

L'attivazione della cascata coagulatoria provoca quindi danno d'organo sia attraverso la coagulazione intravascolare disseminata (DIC), con microtrombosi sistemica, sia attraverso il meccanismo flogistico indotto dall'adesione dei leucociti all'endotelio (13).

Sepsi ed insufficienza multiorgano (MOF)

Patogenesi delle lesioni di organi ed apparati

1) Disfunzione Cardiovascolare e shock settico

Nella sepsi la compromissione cardiovascolare è un evento precoce e rappresenta un fattore prognostico sfavorevole: nel 40% dei pazienti che sviluppano un coinvolgimento cardiovascolare la mortalità sale dal 20% al 70-90% nonostante l'evoluzione delle misure di supporto. Due sono i meccanismi principali coinvolti in questo fenomeno e sono rappresentati dalla vasodilatazione arteriosa e dalla

disfunzione inotropica cardiaca (14).

Per quanto riguarda la vasodilatazione arteriosa, durante la sepsi vengono prodotte in grandi quantità sostanze ad azione vasodilatante e vasocostrittrice ma nell'organismo si verifica una resistenza all'azione delle sostanze vasocostrittrici.

Fra le sostanze vasodilatanti il maggior ruolo è rivestito dall'ossido nitrico la cui produzione è incrementata dalle citochine liberate durante l'episodio settico. L'ossido nitrico viene prodotto da una sintetasi di membrana dall'aminoacido L-arginina in presenza di alcuni cofattori; 3 diverse sintetasi sono state identificate e si possono dividere in due gruppi: la forma costitutiva (cNOS) e la forma neuronale (nNOS), dipendenti dal calcio e dalla calmodulina, e la forma inducibile (iNOS) indipendente dal calcio. L'ossido nitrico che deriva dall'enzima inducibile ha la caratteristica di essere prodotto in quantità maggiori e con un'emivita prolungata e pertanto causa un'importante vasodilatazione arteriosa, resistente all'azione di potenti agenti vasocostrittori come la norepinefrina e l'angiotensina II. Inoltre, la progressione della sepsi verso la forma severa e lo shock settico provoca l'intervento di altri meccanismi che mantengono la vasodilatazione. Questi sono rappresentati dall'aumentata concentrazione plasmatica di ioni idrogeno e di lattati e dalla diminuzione dell'ATP nelle cellule della tonaca muscolare vasale con l'attivazione dei canali del potassio sensibili all'ATP (K_{ATP} channels). Ne segue che il continuo ingresso di potassio all'interno della cellula causa un'iperpolarizzazione delle cellule della tonaca muscolare arteriolare con chiusura dei canali del calcio. Questa serie di eventi inibisce l'azione vasocostrittrice della noradrenalina e dell'angiotensina II che sono strettamente dipendenti dall'apertura dei canali del calcio. La grave riduzione delle resistenze vascolari periferiche provoca una severa discrepanza fra l'abnorme capacitanza vascolare e la diminuzione del riempimento arterioso (teoria dell'*underfilling*) (15). La caduta della pressione arteriosa viene avvertita dai barocettori del ventricolo sinistro, del seno carotideo, dell'arco aortico e delle arteriole renali afferenti. La stimolazione barorecettoriale attiva il sistema simpatico, l'asse renina-angiotensina-aldosterone ed induce la liberazione non osmotica della vasopressina. Tutti questi sistemi attivati agiscono a livello del tubulo renale stimolando il riassorbimento prossimale (sistema simpatico) e distale (aldosterone e vasopressina) di acqua e sodio nel tentativo di ripristinare il volume circolante. Per mantenere la pressione arteriosa il cuore incrementa la gittata cardiaca ma in modo sub-ottimale nonostante l'aumento della frequenza cardiaca. Infatti, nonostante l'aumento del riempimento telediastolico ventricolare per la legge di Starling dovrebbe consentire una miglior *performance* cardiaca, nei settici la compromissione miocardica tossino-dipendente provoca una riduzione della gittata sistolica e della frazione d'eiezione. Tali alterazioni sono di rapida insorgenza, si risolvono in circa 7-10 giorni dall'avvenuta guarigione e sono

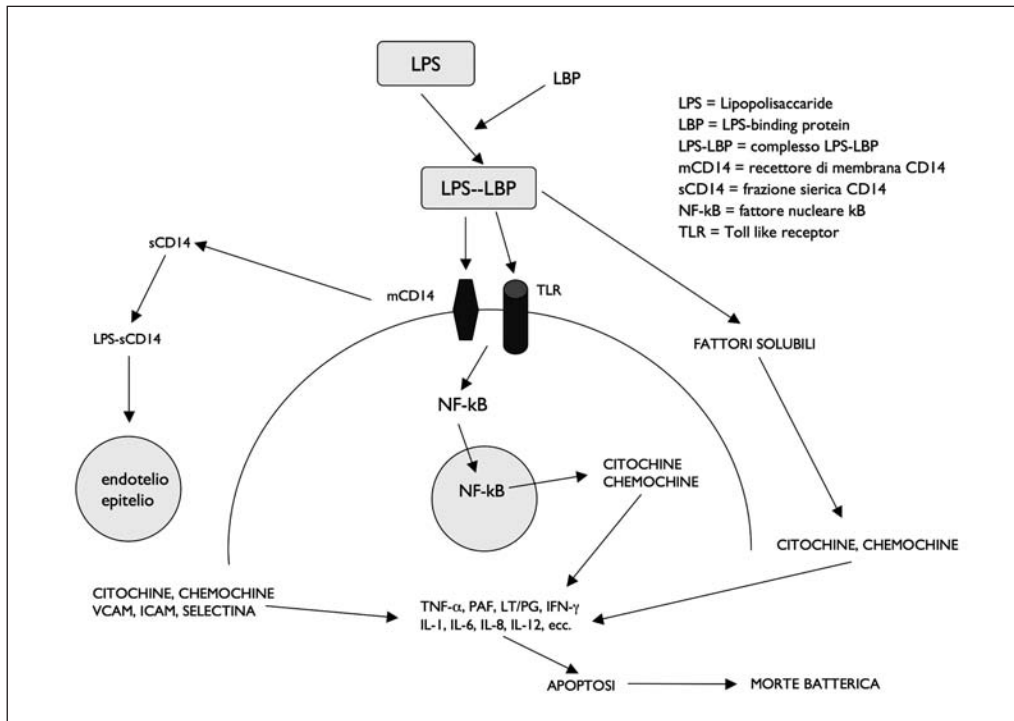


Fig. 1 - Rappresentazione schematica dei meccanismi di attivazione dei principali mediatori cellulari e plasmatici indotta dalla endotossina (LPS) circolante nella sepsi.

dipendenti da una disfunzione intrinseca del miocardio, in assenza di una cardiopatia ischemica pre-esistente, poiché è stato riscontrato che nei pazienti con sepsi il circolo coronarico può essere integro (16).

La depressione miocardica nei settici può essere riferita all'azione di citochine pro-infiammatorie, soprattutto TNF-alfa ed IL-1 beta; infatti, è stato dimostrato un miglioramento della funzione miocardica mediante impiego di anticorpi diretti contro il TNF-alfa. L'effetto miocardio-depressivo sembra potenziato anche da altri mediatori di cui il più importante sembra essere l'ossido nitrico.

L'ossido nitrico agisce sia direttamente sia attraverso l'azione di altre sostanze intermedie come i peroxinitrati che riducono la risposta contrattile delle miofibrille agli ioni calcio e alterano la produzione di energia da parte dei mitocondri. Altri studi hanno dimostrato l'importanza di molecole di produzione endoteliale quali i metaboliti dell'acido arachidonico ed i radicali liberi dell'O₂ (17).

2) Insufficienza Renale Acuta (IRA)

Patogenesi

La patogenesi dell'IRA nella sepsi è multifattoriale, la serie di eventi sistemici che caratterizzano la cascata settica coinvolgono anche il circolo renale. Meccanismi flogistici citochino-indotti e fattori emodinamici neuroendocrini provocano il quadro dell'IRA da necrosi tubulare acuta (ATN) reversibile. Nei casi più gravi, specie in presenza di una DIC severa, si può produrre la necrosi corticale che può essere focale e quindi almeno parzialmente reversibile o completa con oligo-anuria irreversibile.

L'IRA è quindi provocata dall'azione emodinamica e flogistica delle citochine di provenienza sistemica, ma anche sintetizzate a livello renale. La tossinemia induce, infatti, la sintesi endorenale del TNF, prodotto soprattutto a livello mesangiale e responsabile della apoptosi delle cellule endoteliali del glomerulo. Il TNF e la IL-1 possono anche esercitare effetto protettivo dal danno ischemico; questo si realizza attraverso l'attivazione della frazione inducibile della NO sintetasi che, mediante la vasodilatazione arteriolare NO indotta, contrasta l'azione dei diversi agenti vasocostrittori.

Un altro mediatore del danno renale nella sepsi è il PAF, prodotto dalle cellule endoteliali del glomerulo e dal mesangio. Il PAF è un vasocostrittore che aumenta le resistenze arteriolari afferenti ed efferenti cui segue la riduzione del flusso plasmatico glomerulare, della pressione di perfusione cui si associa una riduzione delle permeabilità glomerulare (Kf).

Un altro fattore responsabile del danno ischemico parenchimale è l'endotelina, potente vasocostrittore dell'arteriola glomerulare afferente ed efferente. L'Endotelina è prodotta dalle cellule endoteliali, per effetto di mediatori diversi: il TNF, la Vasopressina, l'Angiotensina II ed il PAF. Nel danno renale da sepsi, la vasocostrizione è indotta dall'endotelina circolante sistemica cui si aggiunge una frazione di origine renale prodotta dalle cellule mesangiali ed endoteliali.

La tossinemia è responsabile dell'attivazione di numerosi altri mediatori neuroendocrini ad attività vasocostrittrice intraparenchimale: il Trombossano A2, i Leucotrieni, il Sistema Renina-Angiotensina II (18).

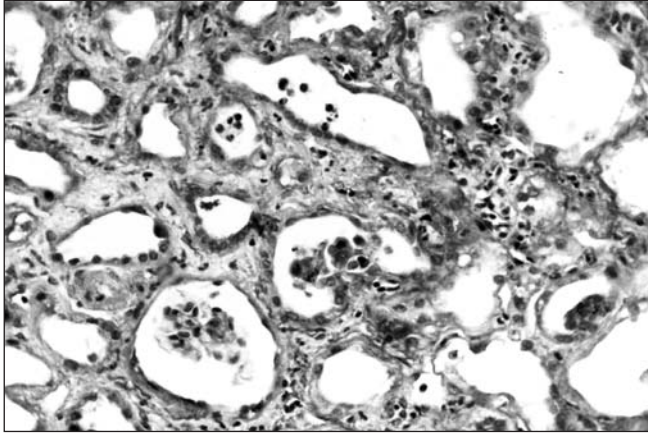


Fig. 2 - Reperto biotico di paziente settico con Insufficienza Renale Acuta e necrosi tubulare. I lumi tubulari sono dilatati con cilindri di materiale cellulare necrotico distaccatosi dalla membrana basale caduto nel lume. Ampi segmenti di membrana basale sono privi del rivestimento cellulare. Ciò consente il passaggio del liquido dal lume tubulare all'interstizio che appare edematoso. L'edema interstiziale è dimostrato dalla sua imbibizione liquida e dall'allargamento degli spazi intertubulari.

Nello *shock* settico si verifica anche un'aumentata attivazione del sistema simpatico cui segue la sintesi sistemica di Catecolamine. Il fenomeno è secondario alla ipovolemia relativa provocata dalla discrepanza fra la caduta delle resistenze vascolari periferiche NO-indotta, con abnorme aumento della capacitanza del letto vascolare, e la presenza di insufficiente riempimento plasmatico.

Il danno cellulare è aggravato dalla produzione di endoperossidi, prodotti localmente specie nella fase di riperfusione post-ischemica (19).

L'IRA nella sepsi è quindi secondaria all'interazione di una complessa serie di mediatori di origine sistemica e locale derivanti dall'attivazione delle cellule dell'endotelio glomerulare e del mesangio. A livello sistemico l'organo è coinvolto dal complesso di reazioni flogistiche indotte dall'attivazione dei monociti-macrofagi, dei polimorfonucleati e dei linfociti. Un ruolo importante riveste anche l'attivazione dei mediatori neuroendocrini di cui sono prevalenti gli agenti vasoconstrictori. Aggravano il danno d'organo le lesioni microtrombotiche secondarie alla cascata coagulativa.

Lesioni Anatomopatologiche

Le lesioni più rilevanti sono a livello glomerulare, interstiziale, tubulare e microvascolare. I glomeruli si presentano retratti nella camera glomerulare, ipoperfusi per effetto della vasoconstrizione arteriolare afferente ed efferente indotta dai numerosi agenti vasoconstrictori che sopravanzano l'effetto vasodilatante dei fattori omeostatici, segnatamente del sistema delle Prostaglandine e dell'NO.

Coesistono fenomeni trombotici dei capillari glomerulari secondari alla DIC e apoptosi TNF indotta per cui la funzione di filtrazione glomerulare risulta gravemente compromessa.

Molto gravi sono anche le lesioni ischemiche delle cellu-

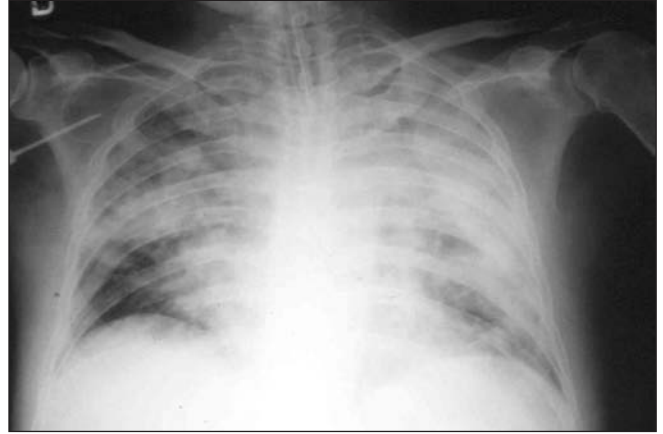


Fig. 3 - Quadro radiologico polmonare di ARDS in paziente settico. Sono presenti aree di addensamento parenchimale disomogeneo prevalenti nelle regioni parailari medie, simmetriche, a limiti sfumati, senza evidenza di significativa cardiomegalia né versamento pleurico. I rilievi sono indicativi di edema polmonare non cardiogeno.

le tubulari che si configurano con una progressione del danno cellulare. La cellula tubulare perde la sua polarità funzionale, si altera il "brush border" e si verifica lo spostamento delle attività enzimatiche (integrine e Na-K ATPasi) dalla zona basale alla zona apicale della cellula. I Ca ioni ed i radicali dell'O₂ libero contribuiscono ad aggravare la lesione cellulare. Segue la morte cellulare per necrosi o apoptosi con distacco delle cellule dalla membrana basale e loro caduta nel lume tubulare insieme a residui di cellule necrotiche. Si producono cilindri endoluminali formati da detriti cellulari con ostruzione dei lumi tubulari e loro dilatazione a monte. Il fluido endoluminale viene richiamato nell'interstizio iperosmotico attraverso la membrana basale denudata (retrodiffusione del liquido tubulare) con formazione di edema dell'interstizio renale (Fig. 2). Il rene si presenta gonfio, edematoso, pallido per l'ischemia e l'edema dell'interstizio. Il paziente diventa oligoanurico (18).

La regressione dello *shock* ed il ripristino della circolazione renale è seguito dall'attivazione dei fattori di crescita per cui si ha la riepitelizzazione dei tubuli e la regressione delle lesioni anatomofunzionali descritte, con ripresa della diuresi e della funzione renale. Nei casi di grave ed estesa necrosi corticale, indotta dalla DIC e dalla microtrombosi glomerulare, la funzione renale non riprende e persistono segni di insufficienza renale irreversibile più o meno grave a seconda dell'estensione delle lesioni necrotiche indotte dall'ischemia glomerulare.

3) Lesioni polmonari - Adult Respiratory Distress Syndrome (ARDS)

L'evento principale dell'ARDS è l'aumentata permeabilità della membrana alveolo-capillare derivante dall'altera-

zione di barriera dell'endotelio e dell'epitelio alveolare che consentono il passaggio di fluido, emazie e polinucleati nell'interstizio ed all'interno degli alveoli polmonari. La lesione cellulare endoteliale e delle cellule dell'epitelio alveolare attiva la produzione di citochine proflogistiche e l'espressione di molecole di adesione, con chemiotassi dei neutrofili e loro diapedesi nell'interstizio. Anche nel polmone si produce l'attivazione del complemento, della coagulazione con embolizzazione del microcircolo, la degranolazione dei neutrofili con liberazione di enzimi proteolitici e la produzione locale di endoperossidi. Tutti questi fenomeni sono responsabili dell'edema interstiziale e del passaggio di liquido negli alveoli (20).

L'edema alveolare e l'attività degli enzimi proteolitici dei neutrofili danneggiano le cellule dell'epitelio alveolare di tipo 1 con secondaria riduzione del surfattante alveolare presente, con sua difettosa neoproduzione, cui si associa alterazione della sua composizione chimica. Anche i radicali dell'O₂ libero sono responsabili dell'inattivazione del surfattante alveolare cui segue aumento della tensione superficiale a livello dell'interfaccia liquido alveolare-aria, aumento del passaggio di liquido dall'interstizio polmonare agli alveoli ed aggravamento dell'edema polmonare. Questa serie di eventi induce gravi alterazioni dello scambio di O₂ (ipossia ed ipercapnia) con il quadro clinico dell'insufficienza respiratoria grave, necessità di intubazione e ventilazione meccanica assistita. Il quadro radiografico polmonare evidenzia edema con distribuzione simmetrica in tutte le zone parenchimali, aree di consolidamento parenchimale focale, in assenza di versamento pleurico o cardiomegalia (Fig. 3). La TAC evidenzia zone di parenchima normalmente ventilato alternate ad altre con opacità "a vetro smerigliato" con normale disegno bronchiale e vascolare. Le lesioni sono soprattutto evidenti nelle regioni medio-polmonari dove coesistono aree di consolidamento parenchimale con disegno bronchiale sfumato nelle zone maggiormente colpite (21).

4) Alterazioni Intestinali e Traslocazione Endotossinica

L'intestino presenta una grande superficie di riassorbimento ed una elevata concentrazione di linfociti che rivestono una grande importanza nel determinismo della risposta immunitaria nel corso di sepsi. Anche le cellule endoteliali del microcircolo intestinale sono coinvolte nel complesso delle reazioni indotte dalla flogosi sistemica. La conseguenza clinicamente più rilevante è la lesione delle cellule dell'epitelio intestinale con estesi fenomeni di apoptosi e necrosi cellulare, cui segue perdita dello strato di mucina che le rende impermeabili alle tossine presenti nel lume enterico (22). Il conseguente aumento della permeabilità intestinale alle endotossine favorisce la loro traslocazione dal lume intestinale al circolo portale e quindi al fegato dove si attiva la sintesi di citochine proflogistiche e delle "proteine della fase acuta". Il fenomeno sembra particolarmente rilevante nello *shock* settico a causa dell'ipoperfu-

sione intestinale da ipotensione sistemica, ma è anche presente nella fase di riperfusione post-ischemica in cui si attivano mediatori proflogistici. Anche nell'intestino avvengono quei complessi fenomeni di attivazione e chemiotassi dei neutrofili con liberazione di enzimi proteolitici e diapedesi interstiziale, danno endoteliale e microtrombosi capillare che aggravano la lesione epiteliale (23). L'ipoperfusione intestinale, inoltre, induce ileo dinamico gastrico e del piccolo intestino che diventano un "reservoir" batterico ed endotossinico e possono essere responsabili del mantenimento dell'endotossinemia grave e della comparsa di MOF tardiva.

Cause di morte del paziente settico

L'anergia del sistema immune, primitiva o che compare in seguito all'esaurimento delle difese immunitarie nel corso dell'infezione prolungata, è ritenuta la più frequente causa di morte del paziente settico. Il numero degli organi contemporaneamente insufficienti nel quadro della MOF è un indice prognostico severo. Tuttavia, spesso la causa di morte rimane inspiegata. Infatti, lo *shock* settico spiega il decesso solo in una minoranza di casi e la depressione miocardica è controbilanciata dalla tachicardia e dalla comparsa di circolo ipercinetico che mantiene l'indice cardiaco. La comparsa di ARDS è frequente ma raramente i pazienti decedono per ipossia o ipercapnia. L'insufficienza renale è efficacemente contrastata dalle tecniche depurative continue o intermittenti, raramente l'epatopatia provoca una encefalopatia. Spesso il paziente decede perché il medico o i familiari ritengono inutile il proseguimento delle cure.

I risultati degli studi istologici su autopsie precoci hanno dimostrato abnormi focolai di apoptosi di linfociti e di cellule della mucosa enterica; tuttavia, la sepsi sembra solo accelerare il fisiologico "turnover" di queste popolazioni cellulari. A livello epatico è stata riscontrata elevata incidenza di focolai di necrosi centrolobulare epatica, così come sono descritti focolai infartuali a livello miocardico. Rilevante soprattutto la discrepanza fra l'oligoanuria e la presenza di lesioni necrotiche solo zonali nel parenchima renale (24).

In sintesi: dai rilievi istologici autoptici precoci emerge una discrepanza fra la grave disfunzione multiorganica (cuore, circolo, polmone, rene, fegato) ed il reperto istologico autoptico di lesioni solo focali a carico di questi organi. Questo ha fatto avanzare l'ipotesi che nel corso della sepsi grave si producano, all'interno delle cellule, alterazioni biochimiche che riducono il consumo di O₂ provocando una "ibernazione cellulare" con disturbi di tipo funzionale piuttosto che lesioni organiche istologicamente rilevanti (25).

Riassunto

La risposta infiammatoria sistemica (SIRS) è caratterizzata da una serie di reazioni che coinvolgono organi ed apparati in risposta ad eventi lesivi diversi. Nel caso in cui la SIRS sia prodotta da agenti infettivi si delinea il quadro della sepsi. Il passaggio in circolo di tossine batteriche, micotiche o virali provoca una serie di reazioni flogistiche sistemiche derivanti dall'attivazione dell'immunità cellulare, del complemento e della cascata coagulativa. Il bersaglio di questa reazione flogistica sistemica è l'endotelio che, stimolato dai mediatori della flogosi, in particolare dalle citochine proinfiammatorie, produce una serie di agenti vasoattivi ad effetto paracrino e sistemico. Particolarmente rilevante è la produzione di ossido nitrico (NO) che, attraverso la grave riduzione delle resistenze arteriolarie periferiche, è responsabile della ipovolemia relativa con caduta pressoria e *shock* settico. Le reazioni cellulari e vascolari sopradette in risposta a tossine batteriche coinvolgono tutti gli organi ed apparati per cui si realizza il quadro della sindrome settica. La lesione polmonare più grave è l'ARDS (*Acute Respiratory Distress Syndrome*). Le lesioni

flogistiche ed emodinamiche indotte dalla sepsi spesso coinvolgono il rene e sono responsabili dell'insufficienza renale acuta. A livello cerebrale si verificano alterazioni dello stato di coscienza da edema cerebrale. L'endotossinemia provoca anche un danno miocardico diretto con riduzione della performance cardiaca che contribuisce allo sviluppo dello *shock* settico a prognosi severa. Si delinea quindi il quadro della insufficienza multiorgano (MOF) che richiede l'impiego di organi artificiali per mantenere in vita il paziente. La mortalità del malato settico con MOF è direttamente correlata al numero degli organi contemporaneamente insufficienti.

Indirizzo degli Autori:

Prof. G. Graziani

Dipartimento di Medicina dell'Urgenza

U.O. di Nefrologia e Dialisi

Istituto Clinico Humanitas

Via Manzoni, 56

20089 Rozzano (MI)

e-mail: giorgio.graziani@humanitas.it

Bibliografia

1. Levy MM, Fink MP, Marshall, et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit Care Med* 2003; 3: 1250-56.
2. Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, et al. Epidemiology of sepsis in United States: analysis of incidence, outcome and associated costs of care. *Crit Care Med* 2001; 29 (7): 1303-10.
3. 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: 1546-54.
4. Sriskandan S, Cohen J. Gram positive sepsis. Mechanism and differences from gram-negative sepsis. *Infec Dis Clin North America* 1999; 13: 397-412.
5. Opal SM, Gluck T. Endotoxin as a drug target. *Crit Care Med* 2003; 31 (Suppl 1): S57-63.
6. Pfeiffer A, Bottcher A, Orso E, et al. Lipopolysaccharide and ceramide docking to CD14 provokes ligand specific receptors clustering in rats. *Eur J Immunol* 2001; 31: 3153-64.
7. Wang Y, Rangan GK, Goodwin B et al. Lipopolysaccharide-induced MCP-1 gene expression in rat tubular epithelial cells is nuclear factor kappa dependent. *Kidney Int* 2000; 57: 2011-22.
8. Annane D, Bellissant E, Cavaillon JM. Septic shock. *Lancet* 2005; 365: 63-78.
9. van Deventer SJ, Cytokine and cytokine receptor polymorphisms in infectious disease. *Intensive Care Med* 2000; 26 (Suppl 1): S98-102.
10. Freeman BD, Buchman TG. Gene in a haystack: tumor necrosis factor polymorphism and outcome in sepsis. *Crit Care Med* 2000; 28: 3090-1.
11. Hotchkiss RS, Karl IE. The pathophysiology and treatment of sepsis. *N Engl J Med* 2003; 348: 138-50.
12. Annane D, Sanquer S, Sebille V, et al. Compartmentalised inducible nitric-oxide synthase activity in septic shock. *Lancet* 2000; 355: 1143-8.
13. Levi M, Ten Cate H. Disseminated intravascular coagulation. *N Engl J Med* 1999; 341: 586-92.
14. Parrillo JE, Parker MM, Natanson C, et al. Septic shock in humans. Advances in the understanding of pathogenesis, cardiovascular dysfunction, and therapy. *Ann Intern Med* 1990; 113: 227-42.
15. Schrier RW, Abraham WT. Hormones and hemodynamics in heart failure. *N Engl J Med* 1999; 341: 577-85.
16. Kumar A, Haery C, Parrillo JE. Myocardial dysfunction in septic shock. *Crit Care Clin* 2000; 16: 251-87.
17. Sessa WC. The nitric oxide synthase family of proteins. *J Vasc Res* 1994; 31: 131-43.
18. Schor N. Acute renal failure and the sepsis syndrome. *Kidney Int* 2002; 61: 764-76.
19. Schrier RW, Wang W. Acute renal failure and sepsis. *N Engl J Med* 2004; 351: 159-69.
20. Fink MP, Delude RL. Epithelial barrier dysfunction: a unifying theme to explain the pathogenesis of multiple organ dysfunction at the cellular level. *Crit Care Clin* 2005; 21: 177-96.
21. Gattinoni L, Chiumello D, Cressoni M, Valenza F. Pulmonary computed tomography and adult respiratory distress syndrome. *Swiss Med Wkly* 2005; 135: 169-74.
22. Han X, Fink MP, Yang R, Delude RL. Increased iNOS activity is essential for intestinal epithelial tight junction dysfunction in endotoxemic mice. *Shock* 2004; 21: 261-70.
23. Bruewer M, Luegering A, Kucharzik T, et al. Proinflammatory cytokines disrupt epithelial barrier function by apoptosis-independent mechanism. *J Immunol* 2003; 171: 6164-72.
24. Hotchkiss RS, Swanson PE, Freeman BD, et al. Apoptotic cells death in patients with sepsis, shock, and multiple organ dysfunction syndrome. *Crit Care Med* 1999; 27: 1230-51.
25. Sawyer DB, Loscalzo J. Myocardial hibernation: restorative or preterminal sleep? *Circulation* 2002; 105: 1517-9.