

Alma Mater Studiorum – Università di Bologna

DOTTORATO DI RICERCA

Clinica e Terapia d'Urgenza Veterinaria

Ciclo XX

Settore/i scientifico disciplinari di afferenza: Clinica Ostetrica e Ginecologia Veterinaria

TITOLO TESI

La lattatemia nel puledro neonato sottoposto a terapia intensiva

Presentata da: Dott.ssa Jole Mariella

Coordinatore Dottorato

Relatore

Prof. Lorenzo Masetti

Dott.ssa Carolina Castagnetti

Esame finale anno 2008

INTRODUZIONE

Il lattato ematico è considerato un parametro di grande utilità in medicina umana che ha acquistato grande importanza negli ultimi anni, anche grazie all'avvento di strumenti d'analisi portatili che rendono la rilevazione veloce ed economica. Negli ultimi anni, l'andamento della lattatemia è stato studiato in numerose patologie nell'uomo, rilevando la sua validità prognostica e la rapidità di cambiamento in relazione alle condizioni cliniche del paziente.

Anche in medicina veterinaria, negli ultimi anni lo studio di questo parametro ha suscitato un interesse crescente in molte specie animali.

A causa delle particolarità fisiologiche che caratterizzano il puledro nei primi giorni di vita, è spesso difficile per il veterinario valutare la gravità del quadro clinico e impostare correttamente una terapia solo in base ai segni clinici o ai parametri utilizzati nell'adulto.

Il lattato ematico può fornire indicazioni sullo stato emodinamico del neonato e sulla necessità di un supporto intensivo senza richiedere l'utilizzo di tecniche invasive. L'avvento di analizzatori portatili ha reso questa valutazione attuabile anche in campo con risultati ottenibili in pochi minuti.

Dal momento che in bibliografia sono assenti dati riguardanti l'utilizzo di analizzatori portatili nel puledro neonato, sia sano che malato, uno degli scopi di questo lavoro sarà quello di validare l'analizzatore portatile "Lactate Scout".

In seguito, dopo aver stabilito l'andamento fisiologico della lattatemia nel puledro sano nelle prime 72 ore di vita, ne verrà valutato l'andamento in quello malato nelle prime 72 ore di ricovero o fino al decesso, in relazione alle diverse patologie. Inoltre verranno indagate eventuali correlazioni tra la lattatemia e altri parametri clinico-patologici, per determinarne l'utilità nel monitoraggio del puledro ricoverato in terapia intensiva e l'eventuale valore prognostico.

Capitolo 1

1.1 IL MONITORAGGIO DEL PULEDRO NEONATO RICOVERATO IN TERAPIA INTENSIVA

Il monitoraggio del paziente in terapia intensiva consiste nella continua e ripetitiva misurazione delle variabili omeostatiche ad esempio, il monitoraggio dei marker dello stato circolatorio è utile per assicurare tramite una terapia adeguata una efficace ossigenazione del sangue polmonare, una adeguata distribuzione di ossigeno ai tessuti e una buona funzionalità degli organi. Le tecniche di monitoraggio devono cercare non solo di identificare deficit fisiologici, ma anche di aiutare il clinico nell'impostazione di una terapia del paziente critico. Lo scopo di un monitoraggio intensivo è quello di rilevare precocemente le alterazioni metaboliche o fisiologiche del paziente, in modo da migliorare la sopravvivenza all'interno dell'unità di terapia intensiva (Magdesian, 2004).

I neonati possono migliorare o peggiorare rapidamente e, per poterli assistere in modo appropriato, è necessario un monitoraggio particolarmente attento e continuo (Russell e Wilkins, 2006).

Un buon marker deve possedere quindi alcune caratteristiche come: elevata accuratezza (valori predittivi positivi e negativi), facilità e rapidità di acquisizione, buona riproducibilità, rapidità di cambiamento in relazione alle condizioni cliniche e alla risposta alle terapie. Una volta selezionati, questi parametri dovrebbero essere controllati ad intervalli regolari, in modo da poterne valutare l'andamento per permettere al clinico di correggere la terapia tempestivamente al variare delle condizioni dell'animale (Magdesian, 2004).

Nel neonato i segni clinici sono molto aspecifici rispetto all'adulto ed è quindi molto importante partire da una buona anamnesi, seguita da una rapida valutazione clinica del puledro con particolare attenzione per l'apparato respiratorio e cardiocircolatorio (Corley 2002a; Corley e Axon 2005).

1.2 MONITORAGGIO DELL'APPARATO RESPIRATORIO

Il monitoraggio dell'apparato respiratorio è fondamentale per comprendere la necessità di un supporto respiratorio, come la somministrazione di ossigeno intranasale, stimolazione della ventilazione mediante farmaci e ventilazione meccanica. Oltre ad un approfondito esame clinico che include il rilievo della frequenza respiratoria, dei caratteri del respiro, l'auscultazione toracica, la valutazione del colore delle mucose e dello stato mentale, le tecniche di monitoraggio includono l'emogasanalisi arteriosa, la pulsiossimetria e la capnografia.

Valutazione dei caratteri del respiro

Nel puledro normale, durante la prima settimana di vita, si registrano frequenze respiratorie comprese fra 20 e 40 atti respiratori al minuto, con punte di 60-80 durante la prima ora di vita (Bernard e Reimer, 1994).

I dati relativi alla frequenza ed al carattere del respiro sono molto significativi. In particolare, il riscontro di una dilatazione eccessiva delle narici, associata a retrazione delle coste durante l'inspirazione, deve essere sempre considerato un reperto di grave pneumopatia diffusa. La frequenza respiratoria del neonato equino è elevata rispetto a quella dell'adulto e si pensa che abbia lo scopo di mantenere un volume residuo elevato, per impedire il collasso del polmone. Quando la frequenza respiratoria diminuisce, il polmone può diventare atelettasico, con conseguente shunting ematico da destra a sinistra e conseguente ritorno alla circolazione fetale. Si viene a creare così un circolo vizioso molto difficile da interrompere anche in condizioni ospedaliere, senza l'aiuto della ventilazione meccanica (Bucca, 2001).

Nonostante la frequenza respiratoria possa variare in seguito a vari fattori non correlati all'apparato respiratorio, un suo aumento può indicare un peggioramento della condizione polmonare e non va ignorato. Nel puledro in

stazione è normale rilevare una ridotta componente addominale alla fine della espirazione, ma un suo aumento deve essere considerato anormale. Nel puledro sano e sveglio il respiro è regolare, mentre nel puledro in fase REM del sonno si può notare un respiro estremamente irregolare. In puledri prematuri o affetti da Sindrome da Asfissia Perinatale (PAS) è stato osservato un respiro irregolare, spesso caratterizzato da periodi di tachipnea o di respirazione normale, alternato ad apnee di 10-30 secondi (Koterba, 1990).

La PAS può alterare il tipo di respirazione attraverso i suoi effetti sul centro della respirazione o mediante una globale soppressione dell'attività riflessa durante una grave encefalopatia ipossico-ischemica (HIE) (Sasidharan, 1992). Qualsiasi rumore associato alla respirazione deve essere preso in considerazione. I rumori inspiratori sono più comunemente associati ad ostruzione delle vie aeree superiori, ma se l'ostruzione è grave, i rumori possono essere presenti durante tutto il ciclo respiratorio. Deviazione del setto nasale, stenosi delle narici, atresia delle coane, presenza di masse nelle prime vie, o malformazioni di faringe, laringe e palato molle possono essere associati a segni di ostruzione delle vie aeree superiori.

Qualsiasi problema che interferisce con la deglutizione (botulismo, palatoschisi, timpanismo della tasca gutturale e lesioni del sistema nervoso centrale) predispone il puledro a polmoniti da aspirazione.

I rumori espiratori ("grunting") sono stati associati al tentativo di diminuire il lavoro respiratorio. Questo sistema è particolarmente vantaggioso per i neonati affetti da atelettasia, polmonite o edema polmonare. Il "grunting" è associato anche a dolore e stress.

La presenza di uno sforzo respiratorio include il rilievo della retrazione delle coste, della presenza dell'attività della muscolatura addominale e dei movimenti alternati del torace e dell'addome.

Colore delle mucose

Il colore delle mucose può essere estremamente fuorviante nella valutazione dell'apparato respiratorio. La cianosi non è un indicatore attendibile del grado di ossigenazione nel neonato, dato che la pressione parziale di ossigeno (pO_2) deve raggiungere valori molto bassi ($< 35-40$ mmHg) prima che si possa osservare la cianosi. Se si osserva cianosi bisogna sempre distinguere tra cause polmonari e cardiache (Koterba, 1990; Bernard e Reimer, 1994).

Auscultazione del polmone

Subito dopo il parto, all'auscultazione è facile rilevare la presenza di crepitii (Bernard e Reimer, 1994).

Quando la frequenza respiratoria è elevata, il murmure può diventare rinforzato e aspro. Nel puledro normale, in decubito laterale, sono state riscontrate significative differenze tra il murmure della parte superiore e di quella inferiore del polmone. Lo spostamento dal decubito laterale a quello sternale può provocare crepitii che si possono facilmente sentire nel polmone sul quale il puledro era prima appoggiato. Ciò può essere dovuto al fatto che il polmone immaturo ha tendenza a collassare (Koterba, 1990) e si riscontra in puledri senza alterazioni respiratorie (Bernard e Reimer, 1994).

Per questi motivi, l'auscultazione del polmone non è attendibile nel rilevare la presenza di patologie polmonari e spesso si possono rilevare solo delle piccole anomalie, anche in presenza di alterazioni polmonari molto gravi (Bernard e Reimer, 1994). I dati ottenuti con l'auscultazione vanno sempre interpretati insieme ad altri dati (Koterba, 1990).

Gasanalisi del sangue arterioso

L'emogasanalisi arteriosa è un esame che può avere degli svantaggi, come il non facile prelievo del campione di sangue, il costo elevato dell'analisi. Questo esame è utile per:

- ✓ determinare la gravità della disfunzione respiratoria
- ✓ stabilire il tipo di terapia da effettuare

- ✓ valutare la risposta alla terapia

E' molto difficile e rischioso effettuare un supporto respiratorio ad un neonato senza monitorare la pressione parziale arteriosa di ossigeno (PaO_2) e di anidride carbonica (PaCO_2). Anche la semplice insufflazione di ossigeno può essere potenzialmente pericolosa; infatti, se viene mantenuta una elevata PaO_2 che non è necessaria si potrà manifestare tossicità polmonare da ossigeno (Koterba, 1990).

Tecniche di prelievo del campione di sangue arterioso

Se la qualità del polso è normale, il sito migliore per il prelievo è l'arteria grande metatarsale. La probabilità di prelevare un campione venoso per sbaglio in questa zona è piuttosto bassa, perché nella maggior parte dei puledri, le vene che scorrono vicine alle arterie sono molto piccole. L'arteria brachiale, quando attraversa la parte mediale dell'arto anteriore, è di solito facile da palpare anche quando il polso è piccolo nelle arterie periferiche. Tuttavia può essere inavvertitamente prelevato sangue dalla vena poiché questa scorre adesa all'arteria ed è difficile separare le due strutture. L'arteria carotide è facilmente palpabile nel solco giugulare, ma di solito, dopo la raccolta di pochi campioni si formano degli ematomi e l'arteria diventa sempre più difficile da localizzare. Altri siti di prelievo possono essere l'arteria facciale e la femorale. Il campione viene di solito raccolto con il puledro contenuto in decubito laterale o sternale. La posizione deve essere annotata dato che la PaO_2 è più bassa nel decubito laterale rispetto a quello sternale. Prima del prelievo bisogna accertarsi della qualità del polso, poi rasare la zona e detergerla. Un piccolo bottone di anestetico locale (lidocaina al 2%, senza epinefrina) effettuato sottocute vicino all'arteria, può facilitare la raccolta di sangue e minimizzare i dibattimenti del puledro e la conseguente iperventilazione. Per il prelievo viene utilizzato un ago piccolo (25 gauge) inserito su una siringa da 1 o 3 cc, precedentemente lavata con eparina. Sarebbe meglio sostituire l'ago del lavaggio con eparina con un ago sterile per il campione di sangue arterioso. Durante il prelievo il sangue deve arrivare

nella siringa lentamente, facendo attenzione ad introdurre la minor quantità di aria possibile. Subito dopo l'estrazione dell'ago, deve essere effettuata una compressione sul vaso per almeno 1-2 minuti per evitare la formazione di ematomi e così poter utilizzare nuovamente il vaso. Dopo aver eliminato eventuali bolle d'aria, la siringa deve essere sigillata con un tappo e se l'analisi non può essere effettuata immediatamente, va conservata nel ghiaccio tritato dove può restare fino a sei ore dopo il prelievo senza che si verifichino alterazioni della PaO₂ (Koterba, 1990).

Interpretazione dell'emogasanalisi arteriosa

E' necessario innanzitutto prendere in considerazione quei fattori che possono influenzare l'interpretazione del campione. Il più comune artefatto è l'introduzione di aria nel campione che provoca un aumento di PaO₂, una diminuzione della PaCO₂ e un pH più alto. Altri errori possono riguardare la misurazione dei valori e tra questi si può includere una errata calibrazione della macchina e l'introduzione di aria quando la macchina aspira il campione. Anche la posizione del puledro può influenzare i dati, infatti, in molti puledri neonati e soprattutto in quelli con polmoni immaturi o malati, ma anche nei puledri normali e a termine, una significativa riduzione della PaO₂ può risultare dal cambiamento di posizione, da quella sternale o dalla stazione, al decubito laterale (Kosch, 1984; Koterba, 1990).

Anche un eccessivo dibattimento del puledro durante il prelievo può provocare una transitoria diminuzione della PaCO₂ e un pH più alcalino. Nei puledri che ricevono un supporto respiratorio tramite insufflazione di ossigeno, la PaO₂ dovrebbe aumentare in maniera variabile a seconda dell'età del puledro, della concentrazione di O₂ inspirato, dell'estensione della patologia e della posizione del puledro (Stewart et al., 1984).

Sebbene una PaO₂ di 85 mmHg possa essere considerata normale in un puledro che respira aria ambientale, non lo è in un puledro che inspira il 100% di ossigeno. Un flusso di ossigeno di 10 L/min, somministrato tramite insufflazione nasale, fa aumentare la PaO₂ fino a 298 ± 68,7 mmHg in un

puledro normale, a termine, di 4- 11 ore d'età, invece aumenta solo a $110,6 \pm 34,8$ mmHg in un puledro nato prematuro con parto indotto, di 0,5-10 ore di vita (Rose et al., 1983). In un altro studio, è stata notata una maggiore risposta in puledri con qualche giorno di vita a cui veniva somministrato ossigeno al 100% con una mascherina. La PaO_2 media a 48 ore di vita era di $363,8 \pm 36,0$ mmHg, a quattro giorni era di $368,9 \pm 52,6$ mmHg e a sette giorni era di $484,0 \pm 43,2$ mmHg. Durante lo studio tutti i puledri erano in decubito laterale (Steward et al., 1984).

Se la PaO_2 di un puledro ipossiémico rimane bassa (< 200 mmHg) mentre il paziente è sottoposto a somministrazione di ossigeno al 100% può essere presente uno shunt destro - sinistro di vario grado. Le altre cause di ipossiémia (alterazione del rapporto ventilazione-perfusione, ipoventilazione) rispondono maggiormente alla somministrazione di ossigeno al 100% (Koterba, 1990). Anche secondo Furr (1997), i puledri con funzione respiratoria normale, trattati con ossigeno al 100% a 10 L/min mediante insufflazione nasale, devono presentare una PaO_2 di 250-300 mmHg.

Dall'emogasanalisi si possono rilevare due tipi di alterazione:

1) Ipossiémia (< 70 mmHg) con una $PaCO_2$ bassa o normale. L'ipossiémia può risultare da:

- ✓ Alterazione del rapporto ventilazione-perfusione;
- ✓ Shunt vascolare da destra e sinistra (per cause polmonari o extrapolmonari);
- ✓ Inadeguata ventilazione alveolare (ipoventilazione e aumento della $PaCO_2$);
- ✓ Alterazione della diffusione (rara come causa primaria);
- ✓ Bassa concentrazione di ossigeno inspirato (raro).

I puledri ipossiémici di solito hanno una $PaCO_2$ bassa o normale perchè questa viene rigorosamente regolata. Inoltre, se l'ipossiémia è grave, la tendenza del puledro è di solito quella di aumentare la ventilazione alveolare per rendere normale la $PaCO_2$.

2) Ipossiemia con Ipercapnia. Se è presente ipercapnia, questa è sicuramente dovuta a ipoventilazione (inadeguata ventilazione alveolare). L'acidosi respiratoria può o non può essere compensata, a seconda della durata della patologia e della presenza di altri problemi. Nei neonati l'ipoventilazione può verificarsi per varie ragioni. Un problema molto comune è il fallimento della regolazione da parte del centro respiratorio che si verifica molto spesso secondariamente all'asfissia perinatale, ma può essere occasionalmente secondario a depressione da setticemia. Questi puledri non rilevano l'aumento della PaCO₂ e quindi non aumentano la frequenza e lo sforzo respiratorio.

Un altro problema comune è l'incapacità di compiere la ventilazione a causa di una profonda debolezza o di una depressione generalizzata. I puledri con questi problemi percepiscono l'ipercapnia e l'ipossiemia a livello centrale, ma non sono capaci di rispondere adeguatamente. Inizialmente possono presentare tachipnea, con respiri rapidi e superficiali, ma, col passare del tempo, si affaticano. Se i puledri sono recettivi, possono avere una "espressione preoccupata" e mostrare segni di stress come dilatazione delle narici. Quando la debolezza e la depressione progrediscono, l'escursione delle coste diminuisce e il puledro sembrerà meno stressato. Questi potrebbero sembrare segni di risoluzione del problema, ma rappresentano invece una progressione della patologia. Ricordiamo che le principali cause di debolezza sono l'asfissia perinatale, la setticemia e la prematurità o la dismaturità: queste patologie provocano tutte una depressione centrale. Altri puledri possono presentare patologie primarie dell'apparato respiratorio, come polmoniti da aspirazione di meconio o da aspirazione di latte, broncopolmoniti o polmoniti interstiziali. In questo caso i puledri non solo presentano un danno polmonare, che provoca una diminuzione degli scambi di gas, ma hanno una ridotta compliance polmonare che provoca un aumento dello sforzo respiratorio; questo sforzo è la causa dell'affaticamento del puledro. Le aree del polmone interessate dalla patologia sono iperemiche e mal ventilate, e ciò provoca una alterazione del rapporto ventilazione-perfusione che progredisce verso lo shunt ematico. Nei

puledri affetti da PAS frequentemente si ha una combinazione di questi problemi (Palmer, 1994).

E' importante ricordare che un inadeguato scambio di gas a livello polmonare, che provoca una ipossiemia arteriosa è la più comune, ma non l'unica causa di ipossia.

Lo stato di ossigenazione in un individuo dipende da:

- ✓ PaO_2 ;
- ✓ Concentrazione di ossigeno nel sangue arterioso (ml di O_2 /100 ml di sangue) che può essere ridotta da una grave anemia e potenzialmente anche da disfunzioni dell'emoglobina;
- ✓ Portata cardiaca (litri di sangue/minuto). Insieme al contenuto di ossigeno del sangue arterioso, la portata cardiaca determina la quantità di ossigeno distribuita ai tessuti (ml di O_2 /min). Una perdita di sangue o alterazioni della funzionalità cardiaca possono alterare la distribuzione di O_2 ;
- ✓ Utilizzazione dell'ossigeno da parte dei tessuti che può essere ridotta se è presente una alterazione degli enzimi respiratori mitocondriali.

I puledri con una inadeguata ossigenazione causata da una insufficiente distribuzione di O_2 o da una inadeguata utilizzazione di questo da parte dei tessuti non rispondono alle terapie con somministrazione di O_2 , perché l'aumento della PaO_2 non riesce a far aumentare la concentrazione arteriosa dell'ossigeno o la portata cardiaca. Queste condizioni possono essere rilevate con la gasanalisi del sangue venoso (Koterba, 1990).

Metodi alternativi per la misurazione delle pressioni parziali di O_2 e di CO_2 .

I traumi vasali dopo numerose punture sono una seria limitazione ad un adeguato monitoraggio dei gas ematici. Utilizzando una buona tecnica, le arterie possono essere utilizzate per diversi giorni e per la raccolta frequente di campioni. Se il polso è debole, può essere difficile utilizzare la stessa

arteria per più prelievi. Le alternative includono l'inserimento di cateteri arteriosi e l'utilizzo di metodi non invasivi per misurare la PaO₂ e la PaCO₂ (Koterba, 1990).

Il posizionamento del catetere arterioso non è difficile, ma mantenerlo pervio e in posizione può risultare piuttosto complicato. Per evitare il rischio di trombosi, nelle arterie periferiche di puledri neonati si utilizzano cateteri di 20 o 22 gauge. L'arteria da cateterizzare deve avere precise caratteristiche; deve essere facilmente accessibile e deve essere localizzata in un'area protetta o parzialmente immobilizzata, per prevenire la fuoriuscita del catetere durante i normali movimenti o la manipolazione del puledro. Inoltre la zona deve ricevere un adeguato apporto di sangue da arterie collaterali, in modo che la possibile trombosi dell'arteria cateterizzata non risulti in un'ischemia completa della regione corporea. Le arterie utilizzate sono: l'a.facciale, l'a. radiale, l'a. metatarsale dorsale e occasionalmente l'a.auricolare caudale. Le arterie più grandi come la femorale o la mediana sono accessibili, ma mantenere il catetere fermo in queste arterie e in un puledro cosciente di solito è molto difficile. Il sito migliore è l'arteria metatarsale dorsale sia nei puledri svegli che in quelli in decubito. Il posizionamento del catetere deve avvenire in maniera assolutamente sterile; la cute deve essere rasata con attenzione poi lavata con soluzione antisettica, irrigata con alcool e di nuovo con una soluzione antisettica. Devono essere indossati guanti sterili. Nel sito prescelto si deve effettuare una iniezione di una piccola quantità di lidocaina al 2%. Si inserisce prima un ago di almeno 19 gauge in modo che il passaggio attraverso la cute non danneggi la punta del catetere. Il catetere con l'ago inserito viene fatto avanzare nell'arteria per 1 cm. Poi, tenendo assolutamente fermo l'ago, il catetere viene fatto scivolare dentro l'arteria. E' importante che il passaggio avvenga senza resistenza. L'ago viene tolto quando il catetere è ben inserito e a questo punto bisogna suturare il catetere alla cute utilizzando un filo sterile. Se il polso è debole, può essere utile effettuare un piccolo taglio lungo l'arteria per localizzare il vaso. Per mantenere pervio il catetere si

può connettere tramite una prolunga ad un sistema di lavaggio continuo o può essere lavato ogni ora usando una soluzione salina eparinizzata (0,5-2 unità di eparina/ml).

Le complicazioni associate alla cateterizzazione arteriosa includono:

- ✓ Formazione di ematomi: se comincia a formarsi bisogna applicare una pressione sulla zona per 5 minuti;
- ✓ Emorragia, dovuta a fuoriuscita del catetere, si può evitare con un continuo monitoraggio del paziente;
- ✓ Trombosi, a seconda delle dimensioni del catetere, del vaso e del tempo in cui viene lasciato nel vaso. Tutti i cateteri arteriosi devono essere cambiati al massimo ogni 72 ore;
- ✓ Embolizzazioni di coaguli o di aria possono causare ischemia delle parti distali all'arresto del coagulo, quindi bisogna monitorare le estremità per rilevare eventuali segni di ridotta perfusione (riduzione del polso, aumento del tempo di riempimento capillare, temperatura cutanea, perdita della funzione motoria/sensoria dei nervi). Tutte le infusioni devono essere fatte molto lentamente per impedire il rischio di embolizzazioni retrograde;
- ✓ Infezioni, il cui rischio può essere ridotto inserendo il catetere in maniera asettica, e facendo attenzione alla presenza di segni di infiammazione intorno al catetere;
- ✓ Questo catetere può allo stesso tempo essere utilizzato per misurare la pressione arteriosa.

(Vaala e Webb, 1990)

Per misurare la concentrazione ematica dell'ossigeno in maniera non invasiva si può utilizzare il pulsiossimetro; questo apparecchio può essere facilmente applicato (alla lingua o meglio all'orecchio) e permette la misurazione della percentuale di saturazione arteriosa dell'ossigeno. Il problema è che se la perfusione periferica è scarsa, il risultato non rispecchia la saturazione sistemica arteriosa dell'ossigeno. Inoltre non è di facile utilizzo in un puledro

che è in stazione ed ha una normale attività fisica (Koterba, 1990; Bernard e Reimer, 1994).

Un ulteriore metodo è dato dall'utilizzo di un rilevatore di ossigeno transcongiuntivale che fornisce valori accurati in puledri anestetizzati, ma difficilmente utilizzabile in puledri svegli (Webb et al., 1985).

Anche i rilevatori transcutanei di ossigeno che sono ampiamente usati nella neonatologia umana non risultano attendibili se utilizzati nel puledro (Warren et al., 1984).

La rilevazione della PaO_2 con metodi non invasivi non rimpiazza l'uso dell'emogasanalisi, ma è utile per ridurre significativamente la frequenza con cui vengono prelevati i campioni di sangue arterioso (Koterba, 1990).

La misurazione della $PaCO_2$ con metodo non invasivo si può effettuare con il capnografo che rileva la concentrazione di anidride carbonica nell'aria espirata. La CO_2 relativa al volume tidalico rappresenta la pressione parziale di CO_2 nell'aria alveolare e viene considerata uguale alla pressione parziale di CO_2 nel sangue venoso polmonare e così, approssimativamente, può essere considerata uguale alla $PaCO_2$. La misurazione della CO_2 espirata avviene tramite uno spettroscopio ad infrarossi e le misurazioni possono essere effettuate sia continuamente, sia durante diversi cicli respiratori. Le applicazioni cliniche del capnografo includono il monitoraggio dei pazienti in ventilazione meccanica e il monitoraggio di quelli che respirano spontaneamente, ma sono affetti da gravi disfunzioni polmonari. Nel caso sia presente una ventilazione irregolare, la CO_2 tidalica può non rispecchiare accuratamente la $PaCO_2$ (Koterba, 1990; Bernard e Reimer, 1994).

Gasanalisi del sangue venoso.

Deve riguardare esclusivamente la valutazione delle condizioni periferiche (non lo scambio dei gas polmonari) e la sua interpretazione può essere ingannevole. Inoltre il sangue venoso è molto utile per valutare lo stato acido-base di molti pazienti, a meno che il sangue non venga prelevato da vasi di arti scarsamente perfusi.

Questo esame può essere utile anche nelle seguenti circostanze:

1. ipossia tissutale dovuta ad insufficiente distribuzione di ossigeno, spesso a causa di una alterata funzionalità cardiaca. A questo scopo il prelievo di sangue può essere effettuato dalla vena giugulare, in quanto lo stato metabolico della testa è di solito stabile;
2. ipossia tissutale dovuta ad ipossiemia arteriosa. Quando non è possibile effettuare un prelievo di sangue arterioso, si può utilizzare un campione di sangue venoso della giugulare, che insieme alla valutazione clinica può essere utile per stimare lo stato del paziente. Se la PCO_2 del sangue venoso della giugulare è $>$ di 60 mmHg dovrebbe essere presente una ipercapnia arteriosa, e se la PO_2 venosa è $<$ 20 mmHg, si deve sospettare una ipossiemia arteriosa o una alterazione cardiaca. Una PO_2 venosa normale non esclude gravi anomalie nello scambio dei gas e la presenza di ipossiemia arteriosa (Koterba, 1990).

1.3 MONITORAGGIO DELL'APPARATO CARDIOCIRCOLATORIO

Le tecniche di monitoraggio dei parametri emodinamici nel puledro neonato dipendono dallo stato clinico del paziente. In puledri che mantengono autonomamente la stazione può essere sufficiente monitorare i parametri clinici e la frequenza della minzione, mentre i puledri con gravi alterazioni cardiocircolatorie spesso presentano uno stato di depressione e ottundimento del sensorio.

La frequenza cardiaca normale nel puledro neonato è di 70-105 bpm e può arrivare fino a 130 bpm nei momenti di attività o di agitazione. Nei casi di shock settico, shock ipovolemico, grave anemia ci si potrebbe aspettare un aumento della frequenza cardiaca, ma ciò non sempre avviene e si può riscontrare una frequenza normale o inferiore a 60 bpm, quest'ultima spesso associata ad ipotermia.

La presenza di un polso piccolo è indicativa di ipotensione, anche se nei casi in cui la pressione diastolica diminuisce, ma il volume d'eiezione si mantiene a livelli normali, il polso può essere normale.

Mucose rosa carico con un tempo di riempimento capillare (TRC) diminuito possono essere associate a vasodilatazione accompagnata da un normale output cardiaco; mucose pallide sono invece associate a vasocostrizione periferica o anemia; mucose congeste con aumento del TRC indicano una diminuzione dell'output cardiaco o una scarsa perfusione periferica. Un aumento del TRC indica ipovolemia, ma il mancato riscontro non la esclude. La secchezza delle mucose può essere un segno di disidratazione.

Altri segni importanti da valutare sono la temperatura delle estremità che diventano fredde in caso di shock cardiocircolatorio. Può dare indicazioni anche la valutazione della plica cutanea, segno di disidratazione e non di ipovolemia, che tuttavia sono spesso associate nel puledro neonato (Corley, 2002a; Magdesian, 2004).

Nel puledro gravemente compromesso è necessario monitorare anche altri parametri. I più utilizzati nella pratica clinica sono la misurazione della pressione arteriosa e l'output urinario.

Altri metodi di monitoraggio sono la misurazione della pressione venosa centrale, dell'output cardiaco, e di altre variabili emodinamiche derivate come il volume d'eiezione, le resistenze vascolari sistemiche, il consumo e la distribuzione d'ossigeno.

Pressione arteriosa

La pressione arteriosa è il prodotto dell'output cardiaco (OC) e delle resistenze vascolari sistemiche (RVS): l'OC è dipendente dalla frequenza cardiaca e dal volume d'eiezione, mentre le RVS riflettono la capacità vascolare e sono quindi indice del tono vasomotorio. In realtà è il flusso ematico piuttosto che la pressione arteriosa a fornire indicazioni sulla perfusione tissutale, ma la sua misurazione non è possibile nella pratica. Generalmente questi due parametri sono strettamente collegati, ad eccezione dei casi in cui risultano alterate le resistenze vascolari.

Una pressione arteriosa media (MAP) normale viene considerata più importante della pressione sistolica o della diastolica nel mantenere la perfusione d'organo (Hollenberg et al., 1999).

La pressione arteriosa può essere misurata con tecnica invasiva o meno. La tecnica invasiva comprende l'uso di un catetere arterioso (20 gauge; 3,8 cm), inserito nell'arteria metatarsale dorsale o in alternativa nella a. facciale, radiale o auricolare caudale (Vaala e Webb., 1990). Come già detto, questa tecnica richiede particolare attenzione per il catetere, soprattutto durante il contenimento o il riposizionamento del puledro in decubito, perché può essere un potenziale sito di infezione e di formazione di trombi.

La tecnica di misurazione indiretta viene effettuata con monitor oscillometrici che rilevano anche la frequenza cardiaca. La tecnica indiretta consiste nell'applicazione di un manicotto a ridosso di un'arteria che misura le

oscillazioni dell'onda pressoria. Quella più usata è la a. coccigea, ma possono essere utilizzate anche la a. metatarsale dorsale, la mediana o le a. digitali palmari. Giguere et al. (2005) hanno valutato due tipi di monitor oscillometrici ed hanno dimostrato che la misurazione della MAP con il monitor Dinamap® Pro Series 300 (Critikon Company LLC, Tampa, FL, USA) non solo è comparabile alla misurazione con tecnica diretta, ma che non c'è differenza tra i vari siti di misurazione presi in considerazione (a. metatarsale dorsale, a. coccigea media e a. mediana).

Questo metodo viene usato comunemente e con una buona attendibilità nel neonato equino critico. L'accuratezza della misurazione si verifica valutando la frequenza cardiaca reale che deve corrispondere a quella misurata dalla macchina; in caso contrario, la pressione rilevata non è attendibile. La misurazione viene inoltre ripetuta almeno tre volte. Il manicotto da applicare alla coda deve avere una camera d'aria all'interno con un'ampiezza di 52 mm, per misurare con accuratezza la pressione diastolica e media, in un puledro del peso di 44,0-68,6 Kg. La misurazione della pressione sistolica è comunque meno attendibile (Nout et al., 2002). Il manicotto non solo deve essere adeguato alla taglia del puledro, ma deve anche essere posizionato con accuratezza, perché un manicotto poco stretto può dare valori di pressioni più bassi di quelli reali e un manicotto troppo stretto può dare valori di pressione più alti.

La MAP normale in puledri neonati di razza Thoroughbred è di 69-111 mmHg (Franco et al., 1986) e può variare con l'età gestazionale, la taglia e la razza. I livelli di MAP misurati in puledri pony sono più bassi di quelli misurati nei Thoroughbred e lo stesso vale per gli Standardbred e i cavalli da tiro, che avranno pressione più bassa rispetto ai cavalli da corsa (Parry et al., 1984).

I valori di MAP riportati in bibliografia sono variabili (Franco et al., 1986; Thomas et al., 1987; Holdstock et al. 1998) ma in genere si ritiene normale una MAP da 65-120 mmHg valutata sempre in associazione con altri

parametri indici di perfusione, quali il tempo di riempimento capillare, la temperatura delle estremità, la frequenza cardiaca, i caratteri del polso.

I valori di pressione nei puledri prematuri non sono attualmente conosciuti, ma in base a studi in medicina umana potrebbero essere più bassi di quelli dei neonati a termine, a causa della presenza di vasi a più bassa resistenza (Gregory, 2000).

Con valori di MAP <60 mmHg cessa l'autoregolazione del flusso ematico in cuore, cervello e rene e la perfusione degli organi comincia ad essere pressione dipendente (Robertson et al., 1972; Johnson, 1986; Hollenberg et al. 1999).

Insieme alla pressione, un altro utile parametro da considerare per valutare la perfusione degli organi e lo stato cardiocircolatorio è l'output urinario.

Output urinario

L'output urinario è un indicatore del flusso ematico a livello renale. L'ipovolemia, l'inadeguata perfusione e le patologie renali con anuria o oliguria esitano in una diminuzione dell'output urinario, che può essere evidenziato monitorando l' "input" (fluidi somministrati/assunti) e l' "output" (output urinario). Il bilancio idrico viene calcolato come la differenza tra il volume dei fluidi somministrati in un ora e la produzione di urina. L'output urinario può essere monitorato con un sistema di raccolta chiuso dell'urina connesso ad un catetere urinario.

In un puledro normale la produzione urinaria è di 6 ml/Kg/h (Brewer et al., 1990) e a differenza dell'equino adulto il peso specifico delle urine è di solito < 1008 (urine ipostenuriche), con un range compreso tra 1001 e 1027 (Brewer et al., 1991; Knottenbelt, 2003).

Oltre alle alterazioni del sistema cardiocircolatorio, sono altre le cause che possono far diminuire la produzione di urina nel puledro neonato. Le cause di un ridotto output urinario possono essere pre-renali, renali o post-renali. L'insufficienza renale acuta può provocare oliguria, anuria o, più raramente,

poliuria. Quindi misurare il peso specifico può aiutare a distinguere un'insufficienza renale pre-renale da un danno renale.

Nei puledri ricoverati, l'input (che include tutti i fluidi somministrati per via endovenosa e quelli somministrati per via enterale) è leggermente più elevato dell'output urinario, a causa della ritenzione di acqua dovuta alla crescita, alla produzione di feci e alle perdite insensibili; quando però si riscontra una maggiore differenza tra il volume di input e di output (> di 1-2 ml/Kg/h o produzione di urina <66% rispetto all'input) sono necessarie ulteriori indagini sullo stato cardiocircolatorio del paziente (Corley, 2002a; Magdesian, 2004).

Pressione venosa centrale

La pressione venosa centrale (PVC) nel puledro neonato è di 2-9 mmHg (Thomas et al., 1987).

La PVC può essere monitorata utilizzando i normali cateteri endovenosi inseriti nella vena giugulare per la somministrazione dei fluidi; cateteri della lunghezza di 20 cm infatti arrivano a livello intratoracico e la pressione venosa intratoracica è con buona approssimazione simile a quella che si riscontra a livello di atrio destro e di vena cava craniale. E' utile utilizzare un catetere a due lumi, in modo che la misurazione della PVC e la somministrazione di fluidi possano avvenire contemporaneamente. Il catetere viene poi collegato ad un manometro che viene posizionato e azzerato a livello del manubrio dello sterno. La PVC dipende dalla pressione intratoracica e varia con essa, motivo per cui una corretta determinazione della PCV richiede l'esecuzione di un ECG. Nell'uomo una diminuzione della pressione venosa centrale indica uno scarso volume circolante e la necessità di una terapia fluida (Daily and Schroeder, 1994).

In uno studio effettuato su puledri neonati gravemente compromessi la PVC e il volume d'eiezione cardiaco sono scarsamente correlati (Corley 2002) e ciò accade anche nel paziente umano pediatrico (Tibby et al., 2001).

Output cardiaco

L'output cardiaco (OC) nel puledro sano di 50 Kg è di 7,5-12,5 l/min (Thomas et al., 1987).

L'unica tecnica validata e utilizzabile nel neonato equino è quella della "diluizione al litio" che richiede solo la cateterizzazione venosa e arteriosa e non quella cardiaca (Corle, 2002a).

I valori normali di OC misurati in puledri di 50 Kg, dalle 4 ore fino a 5 giorni di vita, sono 200 ± 25 ml/Kg/min o da 7,5 fino a 12,5 l/min (Thomas et al., 1987; Lavoie et al., 1990).

All'età di 6-14 giorni, l'output cardiaco è di 225 ± 30 ml/Kg/min (Thomas et al., 1987).

L'OC permette inoltre la misurazione di altri parametri emodinamici che sono illustrati nel paragrafo successivo.

Parametri emodinamici derivati

Altri parametri emodinamici possono essere calcolati a partire da OC, frequenza cardiaca, MAP e dai livelli dei gas ematici. Questi parametri includono: volume d'eiezione (VE), resistenze vascolari sistemiche (RVS), grado di estrazione dell'ossigeno (O_2ER), consumo d'ossigeno (VO_2) e distribuzione d'ossigeno (DO_2).

Il **volume d'eiezione** è un diretto indicatore dell'attività contrattile cardiaca. Quando si riscontra un basso volume d'eiezione nonostante una alta PVC o una adeguata somministrazione di fluidi, si deve sospettare una insufficienza cardiaca. E' calcolato in base alla formula:

$$VE \text{ (ml)} = [OC \text{ (l/min)} \times 1000] / \text{frequenza cardiaca}$$

Le **resistenze vascolari sistemiche** (SVR) indicano la presenza di vasodilatazione o vasocostrizione. La formula è:

$$RVS \text{ (dyne/cm}^5\text{)} = [(MAP-CVP) \times 80] / OC$$

La **distribuzione d'ossigeno** (DO_2) è una misura della quantità di ossigeno portata dalla circolazione sistemica al minuto ed è un indice sia della funzionalità cardiovascolare che di quella respiratoria. Descrive la quantità di

ossigeno che entra nella circolazione sistemica, ma non la sua distribuzione ai tessuti. Per calcolare la DO_2 è necessario conoscere l'indice cardiaco (IC),

$$IC \text{ (ml/kg/min)} = [OC \text{ (l/min)} \times 1000] / \text{peso (Kg)}$$

e la concentrazione arteriosa (CaO_2) e venosa (CvO_2) di ossigeno:

$$CaO_2 \text{ (ml/L)} = 1,34 \times [Hb] \times SaO_2 + 0,0031 PaO_2$$

$$CvO_2 \text{ (ml/L)} = 1,34 \times [Hb] \times SaO_2 + 0,0031 PvO_2$$

La formula finale è:

$$DO_2 \text{ (mlO}_2\text{/kg/min)} = [CaO_2 \times IC] / 1000$$

Il **consumo d'ossigeno** (VO_2) indica la quantità di ossigeno rimossa dalla circolazione sistemica e quindi la totale quantità di ossigeno utilizzata dai tessuti. In condizioni fisiologiche, il consumo d'ossigeno riflette la normale richiesta per il metabolismo ed un aumento della distribuzione non fa aumentare il consumo d'ossigeno poiché non c'è un aumento della richiesta da parte dei tessuti. Si calcola con la formula:

$$VO_2 \text{ (mlO}_2\text{/kg/min)} = [(CaO_2 - CvO_2) \times IC] / 1000$$

Negli animali affetti da patologie in genere trattamenti che contrastano una riduzione della VO_2 sono positivi. Ma esistono due condizioni patologiche in cui nonostante un aumento della DO_2 non si riesce a contrastare la riduzione della VO_2 . La prima si ha quando il flusso ematico viene deviato bypassando alcuni organi: se alcuni organi sono adeguatamente perfusi, ma una vasodilatazione o vasocostrizione locale impedisce una adeguata perfusione in altri organi, provocare un aumento dell'output cardiaco può far aumentare il flusso ematico solo verso quegli organi che sono già normalmente perfusi. La seconda condizione patologica è la sepsi, dove alterazioni biochimiche all'interno della cellula fanno ridurre la VO_2 nonostante una adeguata DO_2 .

Il **grado di estrazione dell'ossigeno** (O_2ER) indica la percentuale di DO_2 che viene utilizzata dai tessuti. Il vantaggio di questo parametro è che per la sua misurazione non richiede l'utilizzo di tecniche altamente invasive, perché non richiede la misurazione dell'output cardiaco. Lo svantaggio rispetto alla VO_2 e alla DO_2 è che non dà indicazioni su quale delle due componenti sia

implicata in una alterazione della O₂ER. Una diminuzione della O₂ER può risultare da una diminuita VO₂ senza alcuna alterazione nella DO₂ o da un aumento della DO₂ senza alterazioni nella VO₂. Al contrario, una elevata O₂ER può rappresentare una diminuzione relativa della DO₂ o un aumento relativo della VO₂. La formula è:

$$O_2ER (\%) = [(CaO_2 - CvO_2) \times 100] / CaO_2$$

(Corley, 2002a).

La conoscenza di questi parametri può aiutare nel comprendere la patogenesi dell'ipotensione e nell'effettuare un corretto trattamento. Quando l'ipotensione deriva da una diminuzione del volume d'eiezione, dovrebbe essere trattata con la somministrazione di terapia fluida, in caso invece di ipotensione refrattaria, è necessaria la somministrazione di agenti inotropi che stimolano la contrattilità cardiaca. Al contrario, se sono basse le RVS, si deve sospettare una alterazione del tono vasomotore ed è più indicata la somministrazione di un agente vasomotore.

Altro importante parametro di monitoraggio che sta guadagnando sempre più consensi non solo nella specie equina e di cui si parlerà in maniera più approfondita nei prossimi capitoli è il **lattato ematico**.

Capitolo 2

2.1 IL METABOLISMO DEL LATTATO

Il lattato è il prodotto finale del metabolismo aerobio e anaerobio del glucosio ed esiste in due forme: l'isomero L, prodotto dai mammiferi e l'isomero D, prodotto in prevalenza dagli organismi procarioti. Per poter meglio comprendere il metabolismo del lattato occorre, aver chiari i processi metabolici che, direttamente o indirettamente, influenzano l'equilibrio del lattato. Tali processi sono costituiti dalla glicolisi anaerobia, dal Ciclo di Krebs e fosforilazione ossidativa, e dal ciclo di Cori.

Nel citoplasma delle cellule, attraverso una prima serie di reazioni enzimatiche, 1 molecola di glucosio viene trasformata in 2 molecole di piruvato, generando 2 molecole di ATP (adenosin tri-fosfato). Questo è il principale processo di produzione di energia per le cellule e avviene in un ambiente povero di ossigeno. Il piruvato, rappresenta un punto di incrocio particolarmente rilevante nel metabolismo dei carboidrati. In condizioni aerobiche il piruvato viene ossidato ad acetato che entra nel Ciclo dell'acido citrico o Ciclo di Krebs ed è ossidato in CO_2 e H_2O .

In condizioni anaerobiche il NADH (nicotinamide adenin dinucleotide ridotto) generato dalla glicolisi non può essere riossidato dall' O_2 . La mancata rigenerazione del NAD^+ può lasciare la cellula priva di un accettore per gli elettroni necessario per la glicolisi. Il NAD^+ viene quindi rigenerato dal NADH mediante la riduzione del piruvato in lattato catalizzata dall'enzima piruvato deidrogenasi.

Solo quando l'ossigeno sarà nuovamente disponibile, a patto che la funzione mitocondriale sia preservata, il lattato accumulato verrà riconvertito a piruvato in modo che possa nuovamente accedere al ciclo di Krebs

Il piruvato può inoltre essere utilizzato nel fegato e in minor misura nella corticale renale, dove viene carbossilato in ossalacetato e successivamente

trasformato in glucosio attraverso la gluconeogenesi. (De Backer, 2003; Nelson e Cox, 2002a).

2.2 GLICOLISI

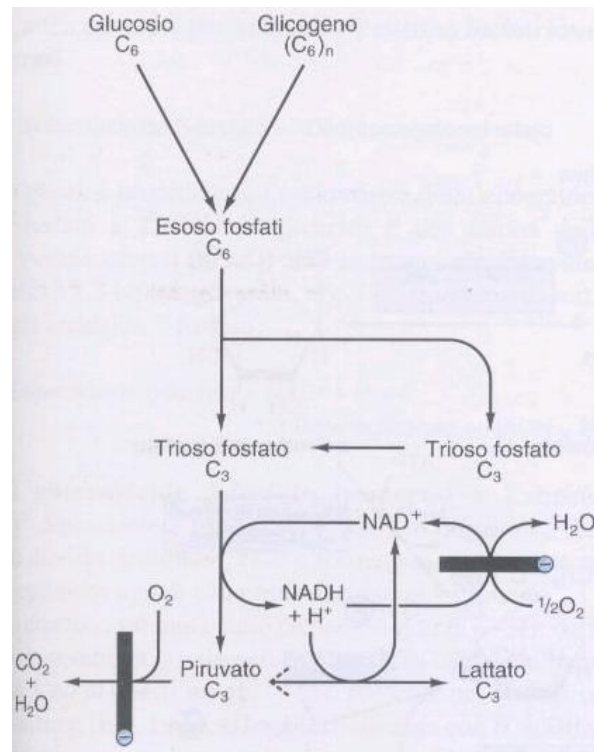


Fig. 2.1: Glicolisi (Mayes, 2000a).

Nella **glicolisi** una molecola di glucosio viene degradata in 2 molecole di piruvato e una parte di energia libera rilasciata dal glucosio viene convertita in ATP e NADH.

Per ogni molecola di glucosio vengono consumate due molecole di ATP e ne vengono prodotte quattro, con una resa netta di due molecole di ATP per ogni molecola di glucosio che viene convertita in piruvato. Si formano inoltre due molecole di NADH per molecola di glucosio.

Le reazioni che avvengono nella glicolisi sono le stesse sia in condizioni di aerobiosi che di anaerobiosi, ma cambiano tempi e prodotti finali.

Nello studio della fermentazione del glucosio operata dal lievito, Louis Pasteur, scoprì che sia la velocità che la quantità totale di glucosio consumato dal lievito erano molte volte più elevate in condizioni anaerobiche che in quelle aerobiche. La stessa differenza nel consumo di glucosio si osserva nel muscolo. Questo fenomeno è stato poi identificato con il nome di “effetto Pasteur” ed è dovuto al fatto che la quantità di ATP prodotta nella glicolisi in condizioni anaerobiche (2 ATP per ogni molecola di glucosio) è molto più piccola di quella che si ottiene dall’ossidazione completa del glucosio a CO₂ in condizioni aerobiche (30 o 32 molecole di ATP per molecola di glucosio). Quindi per produrre la stessa quantità di ATP in condizioni anaerobiche, è necessario un consumo 18 volte maggiore di glucosio rispetto a quelle aerobiche. Il flusso di glucosio attraverso la via glicolitica è regolato in modo da mantenere costante il livello di ATP. La velocità della reazione viene regolata mediante due enzimi glucolitici: la fosfofruttochinasi-1 e la piruvato chinasi.

(Nelson e Cox, 2002b).

2.3 CICLO DI KREBS E FOSFORILAZIONE OSSIDATIVA

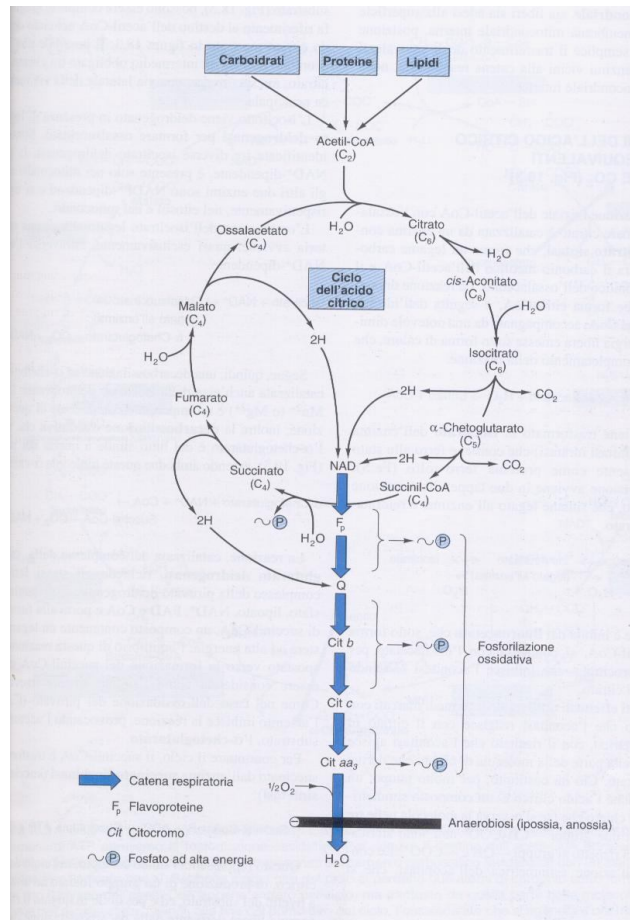


Fig. 2.2: Ciclo di Krebs (Mayes, 2000b).

Il piruvato derivato dal glucosio viene ossidato formando acetil-CoA e CO₂ (reazione di decarbossilazione ossidativa) per azione di un gruppo di 3 enzimi organizzati nel complesso della piruvato deidrogenasi, localizzato nei mitocondri delle cellule eucariote.

Il ciclo di Krebs rappresenta la principale via catabolica dell'acetilCoA (prodotto comune del catabolismo di proteine, lipidi e glucidi) ed è parte integrante del processo attraverso il quale è resa disponibile la maggior parte dell'energia libera. Per permettere la corretta funzionalità del Ciclo di Krebs, sono necessarie una corretta funzionalità della piruvato deidrogenasi (PDH), ampia disponibilità di substrato (glucosio) e di ossigeno e mitocondri funzionanti. Il NADH che si forma durante la reazione viene riossidato a NAD⁺ mediante il passaggio dei suoi elettroni all'ossigeno nel processo della

respirazione mitocondriale. All'interno di questo ciclo, l'ossidazione di NADH e FADH₂ (flavin adenin dinucleotide ridotto) nella catena respiratoria (che si svolge nella membrana mitocondriale interna), attraverso la fosforilazione ossidativa, produce grandi quantità di ATP. Il NADH formato in questa reazione porta uno ione idruro con i suoi due elettroni (:H⁻) alla catena respiratoria, che li trasporta poi all'ossigeno. Il trasferimento degli elettroni all'ossigeno produce 2,5 molecole di ATP per coppia di elettroni, mentre il passaggio di due elettroni dal FADH₂ all'O₂ ne forma circa 1,5. Le due molecole di piruvato sono ossidate completamente a 6 molecole di CO₂ dalle reazioni del complesso della piruvato deidrogenasi e del ciclo dell'acido citrico e gli elettroni vengono trasferiti all'O₂ dalla catena respiratoria, con formazione di acqua. Tramite la fosforilazione ossidativa si ottengono quindi ben 32 molecole di ATP per molecola di glucosio (Mayes, 2000b; Nelson e Cox, 2002).

2.4 CICLO DI CORI

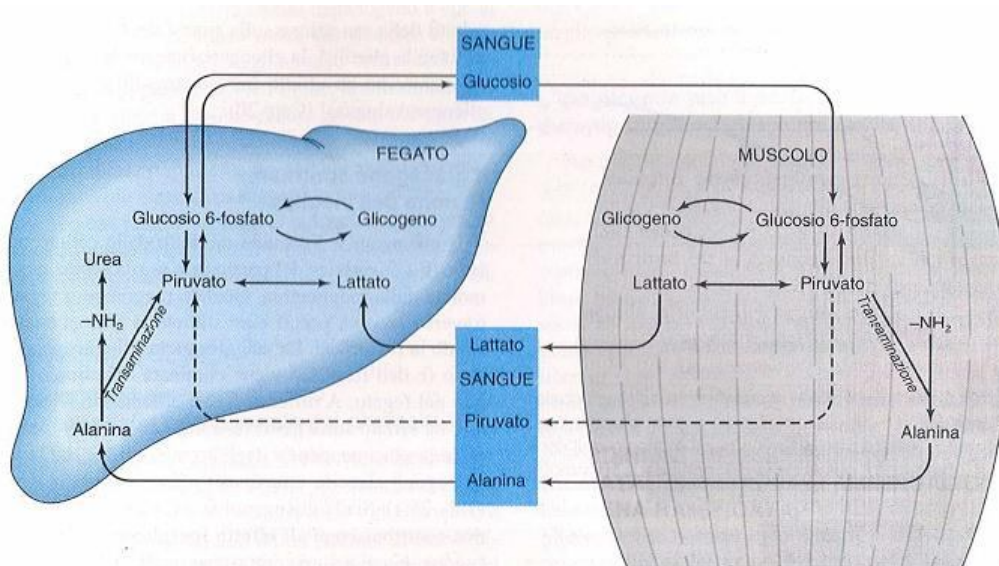


Fig. 2.3: Ciclo di Cori (Mayes, 2000c).

Il ciclo di reazioni che parte dalla conversione del glucosio a lattato nel muscolo e prosegue con la formazione del lattato a glucosio nel fegato viene detto Ciclo di Cori.

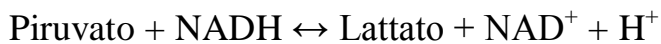
Esso costituisce la principale via metabolica deputata al riciclo del lattato, dove questo (accumulato durante la glicolisi anaerobia) viene riconvertito a piruvato non appena è disponibile ossigeno.

Durante il digiuno, il glucosio, oltre che essere ottenuto dal glicogeno epatico, può essere ottenuto dal Ciclo glucosio-alanina: dal piruvato prodotto a livello muscolare si può formare alanina che viene trasportata attraverso il circolo ematico al fegato, dove viene riconvertita a piruvato e dove può essere utilizzata per la gluconeogenesi ed essere convertita a glucosio. L'energia per la sintesi epatica del glucosio è ottenuta dall'ossidazione degli acidi grassi (Mayes 2000c).

2.5 EQUILIBRIO DELLA LATTETEMIA

Il lattato è fisiologicamente prodotto durante i normali processi metabolici e durante gli sforzi atletici, ma i livelli ematici non crescono finché la produzione non eccede la clearance. È interessante notare che, grazie all'accumulo di lattato, è possibile ricavare energia durante lo sforzo prolungato e che l'esercizio fisico non può portare all'acidosi se i sistemi di compensazione dell'organismo funzionano correttamente (Franklin e Peloso, 2006).

Il passo più importante per l'omeostasi del lattato è la reazione reversibile di conversione tra lattato e piruvato:



Quindi, alla determinazione della concentrazione citosolica del lattato intervengono tre fattori:

- concentrazione di piruvato
- potenziale redox (ovvero il rapporto NADH/NAD^+)
- concentrazione intracellulare di ioni idrogeno.

Sono diversi i fattori che portano a un aumento della concentrazione di piruvato, tra questi: l'aumento della transaminazione dell'alanina a piruvato, l'inibizione della piruvato deidrogenasi (Lagutchik et al., 1996) e l'aumento della glicolisi. Per l'effetto d'azione di massa, quando aumenta il piruvato si assiste all'aumento del lattato.

Il potenziale redox definisce il rapporto lattato/piruvato e risulta alterato in caso di ipossia o disfunzioni mitocondriali. Se la glicolisi aumenta con normale potenziale redox, quindi per cause non dovute all'ipossia, il rapporto lattato/piruvato resta costante e, crescendo in modo proporzionale, mantiene il lattato a livelli 4/10 volte superiori a quelli del piruvato. Quando, al contrario,

si ha un difetto dell'utilizzazione dell'ossigeno, il potenziale redox non è più favorevole e il lattato aumenta in modo più marcato rispetto al piruvato.

Secondo la reazione in precedenza illustrata, l'aumento di ioni idrogeno intracellulari si accompagna all'accumulo di lattato, ma questo ha un limite poiché l'acidosi intracellulare, inibendo la fosfofruttokinasi, inibisce la glicolisi. Tutti i tessuti corporei hanno il corredo enzimatico per utilizzare la glicolisi, ma alcuni sfruttano maggiormente questa via, così tra i maggiori produttori di lattato figurano: eritrociti, muscolo scheletrico, cuore, mucosa intestinale, pelle, leucociti, piastrine, linfociti, cervello, midollare renale, tessuti oculari.

Per quanto riguarda il consumo di lattato, le uniche cellule che non possono utilizzarlo sono quelle prive di mitocondri come i globuli rossi. Tra i maggiori utilizzatori di lattato figurano fegato, corteccia renale, cuore e ghiandole salivari. Tra questi il più importante è sicuramente il fegato che, da solo, è responsabile della clearance del 50% del lattato (De Backer, 2003).

2.6 IPERLATTATEMIA E ACIDOSI LATTICA

L'acido lattico, $\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{COOH}$, è un acido forte che ad un pH fisiologico si trova quasi completamente in forma ionizzata $\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{COO}^-$ e H^+ .

Nell'uomo, in condizioni fisiologiche, il livello normale di lattatemia viene considerato <2 mmol/L. L'iperlattatemia è definita come un moderato aumento della concentrazione di lattato nel sangue (2-5 mmol/L) e assenza di acidosi metabolica. L'acidosi lattica viene definita come la presenza di acidosi metabolica (pH $<7,35$) associata a livelli di lattatemia >5 mmol/L (Mizock e Falk, 1992).

In diverse condizioni i sistemi tampone sono in grado di mitigare le cadute di pH, come in caso di aumento del flusso glicolitico (che determina iperproduzione di lattato) e in corso di stati ipermetabolici (sepsi, ustioni, traumi). L'acidosi lattica sopraggiunge quando si verificano importanti disfunzioni metaboliche, come nell'ipoperfusione.

Cohen e Woods, nel 1976, divisero l'acidosi lattica nell'uomo in due categorie in base alla causa dell'aumento della lattatemia:

Tipo A: presenza clinica di ipoperfusione e ipossia tissutale. L'acidosi, in questo caso, è dovuta a inadeguata distribuzione d'ossigeno (DO_2) o a eccessivo consumo d'ossigeno (VO_2).

Tipo B: include tutte le cause non ipossiche di acidosi lattica ed è suddivisa in tre categorie (B1, B2, B3). Nell'acidosi lattica di Tipo B1, sono incluse le cause che non provocano una evidenza clinica di ipossia o ipoperfusione, tra cui la sepsi, l'insufficienza renale, malattie epatiche e neoplasie. Nel Tipo B2, le cause sono costituite da farmaci o sostanze tossiche tra i quali monossido di carbonio, glicole etilenico, etanolo, epinefrina e norepinefrina. Nel Tipo B3 rientra l'acidosi lattica provocata da difetti del metabolismo, come difetti della fosforilazione ossidativa e deficienza di piruvato deidrogenasi (Mizock e Falck, 1992).

In molti casi l'esatto meccanismo attraverso il quale le patologie del gruppo B provocano acidosi lattica non è del tutto conosciuto.

Molte cause di iperlattatemia di tipo B sono state attribuite a ipoperfusione occulta (ovvero non rilevabile con i parametri di monitoraggio) o combinazioni dei tipi A e B (Lagutchik et al., 1996).

Table 3: Cohen and Wood's classification of lactic acidosis²

Type A (Clinical evidence of tissue hypoxia)	Type B		
	B1 (LA with an underlying cause)	B2 (LA due to drugs/toxins)	B3 (LA due to inborn errors of metabolism)
Shock	Diabetes mellitus	Alcohol	Glucose-6-Phosphatase deficiency
Regional hypoperfusion (limb, mesenteric ischemia)	Liver disease	Ethylene glycol	Fructose-1,6-diphosphate deficiency
Severe hypoxemia	Malignancy	Fructose Sorbitol	Pyruvate carboxylase deficiency
Severe anemia	Sepsis	Xylitol	Oxidative phosphorylation defects
Carbon monoxide poisoning	Pheochromocytoma	Salicylates	
Severe asthma	Thiamine deficiency	Acetaminophen	
Miscellaneous		Epinephrine	
D-lactic acidosis Hypoglycemia		Terbutaline Cyanide	
		Nitroprusside Isoniazid	

Tab. 1.1: Classificazione dell'acidosi lattica (Agrawal et al., 2004).

L'acidosi lattica è stata inoltre divisa in acidosi di tipo I e di tipo II in base alla relativa proporzione tra lattato e piruvato. Nel Tipo I il rapporto lattato/piruvato è mantenuto costante; nel Tipo II il lattato aumenta in proporzione maggiore rispetto al piruvato (Mizock e Falck, 1992).

2.7 IPERLATTATEMIA DA AUMENTATA PRODUZIONE

L'iperlattatemia avviene ogni volta che la produzione di lattato eccede la sua eliminazione dall'organismo. Poiché la glicolisi può procedere ad una velocità maggiore rispetto all'ossidazione del piruvato, l'iperlattatemia può avvenire in seguito ad un aumento della produzione di lattato in assenza di ipossia tissutale in condizioni che accelerano la glicolisi, come l'alcalosi, l'infusione di glucosio e la sepsi con assenza di ipoperfusione. L'iperlattatemia può inoltre essere presente in stati di ipossia tissutale relativa, quando cioè la richiesta di energia è superiore rispetto alle capacità del metabolismo aerobio, come avviene nell'esercizio fisico, nei tremori e nelle convulsioni.

L'iperlattatemia che si osserva durante l'esercizio muscolare è differente da quella provocata da altre cause, in quanto la sua risoluzione è molto rapida con un'emivita di circa 2 ore (Hughes, 2000).

L'iperlattatemia in corso di sepsi è causata da mediatori dell'infiammazione che accelerano la glicolisi aerobia provocando così un aumento dei livelli di piruvato. Gore et al. (1996) hanno rilevato che in pazienti affetti da sepsi, ma emodinamicamente stabili, aumentano sia i livelli di lattato che di piruvato a causa di un aumentato utilizzo di glucosio, dato che la produzione di glucosio nei pazienti settici era quattro volte superiore rispetto a quella misurata nei volontari sani. L'endotossinemia può infatti provocare un aumento della lattatemia per diminuzione della gluconeogenesi, aumento del consumo di ossigeno e marcato aumento della produzione di piruvato. Il piruvato prodotto in eccesso viene convertito in lattato, provocando iperlattatemia.

L'iperlattatemia provocata dall'ipossia tissutale può essere causata dall'ipoperfusione, da una grave riduzione del contenuto di ossigeno nel sangue in assenza di ipoperfusione, o più raramente dall'incapacità delle cellule di utilizzare l'ossigeno. Generalmente la causa più comune e clinicamente più importante e grave è l'ipoperfusione tissutale locale o sistemica (Hughes, 2000).

2.8 IPERLATTATEMIA DA RIDUZIONE DELLA CLEARANCE

Il lattato, quando non viene riconvertito in piruvato, viene eliminato dall'organismo.

I principali responsabili della clearance del lattato, attraverso il ciclo di Cori, sono il fegato (50%) e il rene (20%). Alterazioni a carico di questi organi possono determinare iperlattatemia. La funzionalità epatica e il flusso ematico diretto al fegato influenzano la clearance del lattato. La clearance del lattato è mantenuta nei range di normalità anche per riduzioni del flusso epatico del 70%, ma decresce quando la pO_2 arteriosa cala al di sotto di 30 mmHg o in condizioni di grave acidosi (Di Bartola, 2000). Il flusso ematico al fegato si riduce rapidamente durante lo shock, diminuendo la capacità di metabolizzare il lattato fino a diventarne produttore in caso di ipoperfusione grave (Chiolero et al., 2000).

La clearance renale del lattato avviene principalmente nella corticale renale e, a differenza del fegato, essa è molto sensibile alla diminuzione del flusso ematico (De Backer, 2003).

I muscoli a riposo, in condizioni normali, possono ossidare il lattato prodotto da quelli in esercizio fisico mentre in presenza di shock, a causa dell'ipoperfusione, ne diventano importanti produttori (Levrant et al., 2003).

2.8 IPERLATTATEMIA IN CORSO D'IPOSSIA

L'ipossia, ovvero la carenza di ossigeno nell'intero organismo o in una sua regione, determina un aumento del NADH e la riduzione di altri cofattori necessari per il ciclo di Krebs.

Lagutchik et al. (1996) riportano una definizione tratta da "The ICU book" (1991) che identifica lo shock come "uno stato in cui il consumo d'ossigeno (VO_2) non è sufficiente per soddisfare le richieste metaboliche dell'organismo".

Le variabili che determinano l'adeguatezza nel trasporto dell'ossigeno e di conseguenza l'ossigenazione tissutale sono DO_2 , e VO_2 . Distribuzione (DO_2) e consumo d'ossigeno sono valori calcolati basati su output cardiaco, concentrazione di emoglobina, saturazione d'ossigeno arteriosa e venosa, che solitamente richiedono per la misurazione la cateterizzazione dell'arteria polmonare. In condizioni normali la DO_2 eccede la VO_2 con un ampio margine e l'estrazione dell'ossigeno dal sangue è del 25-30%. Quando il sangue arterioso raggiunge i tessuti periferici, la sua pO_2 nei capillari periferici è ancora pari a 95 mmHg e la pO_2 nel liquido interstiziale che circonda le cellule dei tessuti ha un valore medio di 40 mmHg. Questa differenza di pressione iniziale causa la rapida diffusione dell'ossigeno dal sangue ai tessuti, così che la pO_2 capillare scende fino ad eguagliare quella del liquido interstiziale. Quando il flusso ematico in un determinato distretto aumenta, aumenta anche la quantità di ossigeno trasportata in un dato lasso di tempo in quel distretto e in modo proporzionale aumenta anche la pO_2 tissutale. Se per il loro metabolismo le cellule si trovano ad utilizzare una quantità di ossigeno maggiore del normale, la pO_2 del liquido interstiziale tende a diminuire. Quindi la pO_2 tissutale dipende da un equilibrio tra la quantità di ossigeno portato dal sangue ai tessuti e la quantità di ossigeno utilizzata nello stesso tempo dai tessuti.

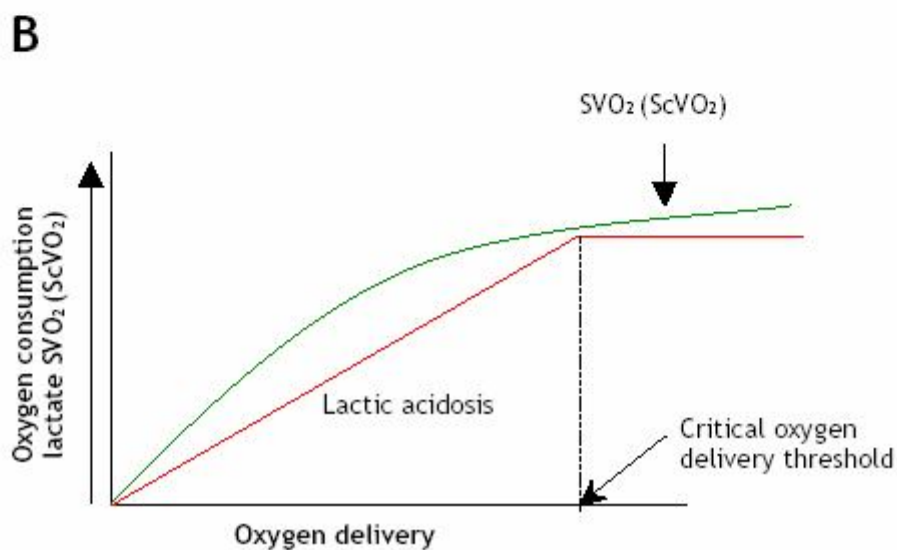
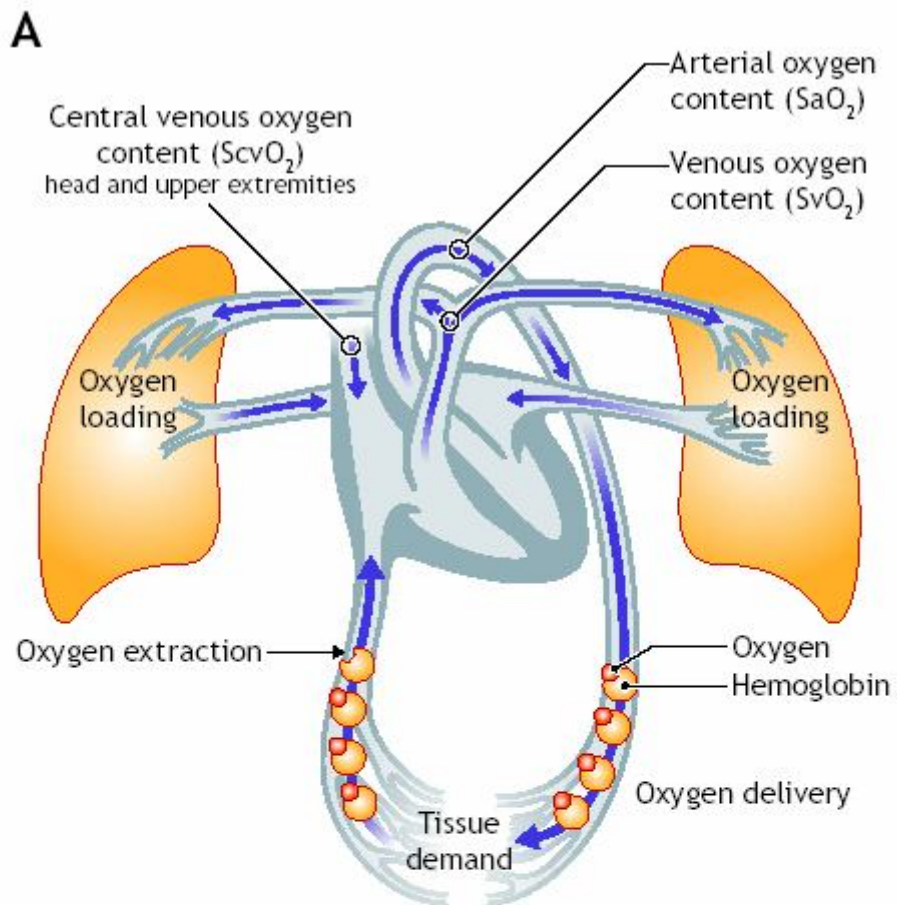


Fig 2.1 – Trasporto e utilizzazione dell'ossigeno (Rivers et al., 2005)

Quando le richieste metaboliche aumentano, intervengono meccanismi fisiologici in grado di incrementare il trasporto e l'estrazione dell'ossigeno dal sangue. Se la distribuzione è ridotta, il consumo d'ossigeno è mantenuto

costante dall'aumento della sua estrazione dal sangue ma, se anche tale meccanismo viene meno, il consumo comincia a diminuire e l'energia necessaria alla cellula viene prodotta mediante il metabolismo anaerobio, il quale determina eccesso di produzione di protoni che, tamponati con ioni bicarbonato, determinano produzione di CO₂ (Guyton e Hall, 2002).

Anche se l'ipossia tissutale contribuisce all'attivazione della risposta infiammatoria sistemica (attivazione dell'endotelio, vasodilatazione, rilascio di mediatori chimici dell'infiammazione e modulazione del sistema della coagulazione), che può portare a disfunzioni organiche sistemiche e morte, l'organismo è inizialmente in grado contrastare tale situazione mediante l'attuazione di alcuni meccanismi di adattamento:

Ridistribuzione di flusso. Mediante vasocostrizione e vasodilatazione viene variato il flusso ematico agli organi, permettendo, in condizioni critiche, di aumentare il flusso agli organi vitali a scapito degli altri. Altra risposta può essere l'aumento del numero di capillari per unità tissutale, punto di forza per aumentare la quantità di ossigeno estratta.

Riarrangiamento metabolico. Il più importante meccanismo adattativo per combattere l'ipossia è l'effetto Pasteur, che permette di ottenere energia tramite meccanismi fermentativi; nel frattempo viene favorita la gluconeogenesi epatica e cala l'ossidazione del glucosio mediante l'insulino resistenza.

Aumento dell'affinità per l'ossigeno. Sia l'aumento di anidride carbonica che l'aumento di protoni spostano la curva di dissociazione dell'emoglobina verso destra, permettendo un miglior trasferimento di ossigeno ai tessuti.

Regolazione genica. Le cellule sottoposte ad ipossia possono aumentare l'espressione dell'hypoxia inducible factor-1 (HIF-1), in condizioni di scarsa

ossigenazione. Questo fattore in condizioni normali viene rapidamente degradato, mentre durante l'ipossia si accumula favorendo i meccanismi di adattamento sopracitati. Da notare che l'assoluta privazione di ossigeno ai mitocondri determina apoptosi della cellula, evento meno dannoso della necrosi (Valenza et al., 2005).

In presenza di normali meccanismi di adattamento, le cellule possono resistere in condizioni di ipossiemia per un tempo limitato. Se i mitocondri sono intatti, il tempestivo ripristino dell'ossigenazione porta ad una diminuzione dei valori ematici di lattato (Valenza et al., 2005).

2.9 IPERLATTATEMIA IN CORSO DI SEPSI

La sepsi è definita come una sindrome infezione-indotta caratterizzata da uno stato infiammatorio generalizzato (Levy et al. 2003).

Le cause di aumento della lattatemia in corso di sepsi sono le più controverse. Secondo Levraut et al. (1998), nei pazienti umani emodinamicamente stabili, la persistenza di aumentati valori di lattatemia durante la sepsi è segno di alterata clearance e, in mancanza di segni evidenti di iperproduzione, l'iperlattatemia non sarebbe da imputare al metabolismo anaerobio. Per trovare la causa dell'alterata clearance questi autori hanno valutato la correlazione tra rimozione del lattato dal circolo ematico e parametri di funzionalità epatica come le transaminasi, ottenendo valori simili tra pazienti normali e pazienti con iperlattatemia. Anche questi autori concludono che la lattatemia si eleva a causa dell'alterazione del metabolismo che consegue alla sepsi, come precedentemente dimostrato da Gore et al. (1996).

E' stato inoltre riscontrato che nonostante la presenza di valori normali di ossigenazione tissutale, un calo dell'output cardiaco indotto dall'iniezione di endotossine determina un aumento maggiore della lattatemia rispetto a un calo dell'output indotto per via meccanica (Levraut et al., 1998).

In corso di sepsi viene anche alterata l'estrazione d'ossigeno dal sangue. L'endotelio, attraverso la liberazione di sostanze vasoattive quali l'ossido nitrico, regola la microcircolazione nei diversi organi. Il danno endoteliale determina maldistribuzione del flusso ematico ai tessuti e occorre un aumento del gradiente di distribuzione ai tessuti per mantenere una buona ossigenazione (Wilson et al., 2003).

È stato visto che, in corso di infiammazione, si verifica un marcato aumento dei livelli ematici di piruvato, che si trovano in equilibrio con quelli di alanina e lattato. Il mantenimento di proporzioni tra i tre composti fa pensare che alla base di questo dismetabolismo ci sia un mancato utilizzo di piruvato, attribuito all'inibizione del complesso delle piruvato deidrogenasi a causa

della formazione di una PDH fosforilata inattiva sepsi-indotta (Mizock, 1995).

Questo complesso enzimatico rappresenta un elemento fondamentale per una corretta clearance del lattato e l'esistenza di questo blocco metabolico è ulteriormente confermata dal fatto che, somministrando dicloroacetato (sostanza stimolante l'attività della piruvato deidrogenasi), si nota un calo dei livelli ematici di lattato (Levrault et al., 1998).

De Backer (2003) ritiene che la stimolazione della glicolisi indotta dalla sepsi sia molto più importante rispetto all'inibizione delle PDH.

Mizock, nel 1995, descrive tale meccanismo durante lo stress, inteso come stato di reazione sistemica a gravi lesioni o infezioni. In quei tessuti dov'è richiesto un elevato turnover di ATP, si assiste all'aumento dell'attività glicolitica per aumento della domanda di glucosio. L'utilizzo di ATP determina la formazione di ADP che, mediante feedback positivo sulla fosfofruttokinasi, stimola la glicolisi.

Nel 2005, uno studio di Revelly et al., ha evidenziato che nei pazienti con shock settico o cardiogeno l'iperlattatemia era principalmente dovuta ad una aumentata produzione, mentre la clearance del lattato era simile a quella osservata nei volontari sani. L'aumentata produzione di lattato era concomitante ad uno stato di iperglicemia e ad un aumentato turnover del glucosio, suggerendo che sia proprio quest'ultima che influenza il metabolismo del lattato durante lo shock.

Quando l'iperlattatemia deriva dall'aumentata glicolisi, essa è indipendente da qualsiasi stato di anaerobiosi e tale meccanismo può essere la causa dell'iperlattatemia nei pazienti in cui è stata ripristinata la normale volemia.

Nei pazienti settici, in corrispondenza dell'aumento della glicemia, si elevano anche i livelli ematici di insulina, con la possibilità di insulino resistenza. L'insulino resistenza, attivata anche dalla cascata infiammatoria, favorisce la glicolisi e il ciclo glucosio-lattato, perpetuando l'iperlattatemia.

Tabella 2.1 – Cause di iperlattatemia in corso di sepsi (da Agrawal et al., 2004)

Cause di aumento della lattatemia nella sepsi
<ul style="list-style-type: none">• Aumentata produzione da parte di leucociti e fagociti• Aumentata produzione nei polmoni• Aumentata produzione nell'area splancnica causata da disossia• Inibizione dell'attività della PDH• Diminuzione della clearance epatica – (radicali liberi dell'ossigeno provocano danno epatico)• Disfunzione multipla d'organo (MODS) – (gli organi affetti producono lattato)• Aumentata attività della fosfofruttochinasi• Inibizione della respirazione mitocondriale

2.10 PRODUZIONE REGIONALE DI LATTATO

Studi condotti su animali hanno rilevato che in corso di sepsi i polmoni sono i maggiori produttori di lattato (Bellomo et al., 1996). In corso di lesioni polmonari acute, la produzione di lattato è tanto maggiore tanto più grave è il danno subito e può essere superiore alla produzione basale dell'intero organismo.

De Backer et al. (1995) hanno inoltre dimostrato che la produzione di lattato avviene solo in soggetti affetti da patologie polmonari acute, ma non in pazienti sani, con edema polmonare cardiogeno o polmonite. La produzione di lattato richiede quindi la presenza di un processo infiammatorio.

Altro organo produttore di lattato durante la sepsi è l'intestino, probabilmente in seguito all'instaurarsi di un metabolismo anaerobio, dato che il rapporto lattato/piruvato a livello della vena portale risulta aumentato. La produzione intestinale del lattato è da imputare più alle aree interessate da alterazione del metabolismo ossidativo mitocondriale e all'infiammazione, piuttosto che alle zone ischemiche (De Backer, 2001).

Lobo et al. (2003) hanno dimostrato che tale danno deriva da meccanismi diversi dall'ipossia infatti, nonostante l'adeguata disponibilità d'ossigeno, si sviluppa la cosiddetta "ipossia citopatica": un alterato utilizzo dell'ossigeno nonostante la sua disponibilità per l'attività mitocondriale, cui consegue l'attivazione del metabolismo anaerobio.

Anche i globuli bianchi hanno un importante ruolo nell'aumentare la lattatemia. In condizioni normali, solo il 10% della produzione di ATP è di origine mitocondriale, il resto deriva dalla glicolisi anaerobia, quota che cresce notevolmente quando i leucociti si attivano, producendo grandi quantità di lattato. Sebbene generato da un metabolismo anaerobio, questo aumento della produzione di lattato non è dovuto ad una carenza di ossigeno. Il fatto che la produzione di lattato non sia dovuta all'ipossia è dimostrato dal fatto che, in vitro e in condizioni di aerobiosi, esponendo sangue intero

all'azione delle endotossine, la produzione di lattato raddoppia, esclusivamente a causa di un aumento della sua produzione da parte dei leucociti, dato che la produzione da parte degli eritrociti non è modificata (Haji-Michael et al., 1999). De Backer (2003) ipotizza che probabilmente può essere proprio quest'ultima la causa dell'aumento della produzione di lattato nelle patologie polmonari acute.

L'adeguata somministrazione di fluidi è essenziale per mantenere una corretta perfusione e quindi ridurre i danni ischemici, ma può essere inutile aumentare la distribuzione d'ossigeno se ci sono danni indotti dalle endotossine.

La rianimazione di pazienti ad alto rischio, in seguito ad interventi chirurgici, ottiene percentuali di sopravvivenza superiori di quella dei pazienti che sviluppano insufficienza organica a causa di shock settico e il motivo potrebbe essere proprio lo sviluppo dell'ipossia citopatica (De Backer, 2003).

2.11 ALTRE CAUSE DI IPERLATTATEMIA

Deficienza di Tiamina: riduce l'attività della piruvato deidrogenasi determinando aumento del piruvato.

Convulsioni generalizzate: determinano aumento della domanda d'ossigeno.

Aumento delle catecolamine circolanti: stimolano la glicogenolisi, aumentano la richiesta d'ossigeno e possono determinare vasocostrizione causando ischemia.

Alcalosi: l'aumento di pH induce una più rapida attività della fosfofruttokinasi, portando ad aumento della lattatemia.

Avvelenamenti: ad esempio avvelenamento da monossido di carbonio, paragonabile a un calo della distribuzione d'ossigeno, e avvelenamento da etanolo, metanolo o glicole etilenico, che influenzano il potenziale redox, favorendo la conversione del piruvato a lattato. Inoltre i loro metaboliti possono causare acidosi indipendentemente dai livelli di lattato (Lagutchik et al., 1996).

2.12 IL D-LATTATO

Al contrario delle cellule eucariote che producono prevalentemente acido L-lattico, le cellule procariote, come i batteri, producono sia acido L- che D-lattico.

Un aumento della produzione di acido D-lattico da parte dei batteri presenti nell'intestino è stato ampiamente descritto in pazienti umani con "sindrome da intestino corto" (Oh et al., 1979). Il malassorbimento dei carboidrati provocato dalla resezione del piccolo intestino provoca fermentazioni

anomale nel colon con produzione di acido D-lattico da parte dei batteri che colonizzano il tratto intestinale.

Gentile e Rademacher nel 1998 hanno ipotizzato l'esistenza di una origine patogenetica simile per l'acidosi lattica acuta del ruminante nel bovino e la sindrome da intestino corto nell'uomo. Sembra infatti che in entrambe le patologie sia il D-isomero ad accumularsi nel sangue, nonostante nel tratto gastroenterico vengano prodotte entrambe le forme di acido lattico. Nei mammiferi la causa di questo accumulo è l'assenza dell'enzima D-lattato deidrogenasi (D-LDH), mentre la presenza dell'L-LDH permette la metabolizzazione dell'L-isomero.

Più recentemente Gentile et al. (2004) hanno confermato che l'acidosi ruminale nel vitello, così come nel bovino adulto, provoca un'acidosi metabolica D-lattica clinicamente manifesta. Durante l'acidosi ruminale, l'attività fermentativa dei batteri produce grandi quantità di L- e D-lattato. Il lattosio e gli altri carboidrati contenuti nel latte, alimento base dei vitelli nello studio, rappresenta il substrato principale per questo processo. Gli isomeri dell'acido lattico vengono entrambi assorbiti dal ruminante o dal lume intestinale nel sangue acidificandolo. Il D-lattato non essendo metabolizzato si accumula nel sangue provocando iper-D-lattatemia.

Capitolo 3

3.1 VALUTAZIONE DELLA LATTATEMIA NEL PAZIENTE UMANO

La misurazione della lattatemia è divenuta pratica comune nella valutazione iniziale del paziente in condizioni critiche presso reparti di traumatologia, medicina d'urgenza, anesthesiologia e terapia intensiva.

Broder e Weil (1964) furono i primi a rilevare che una eccessiva concentrazione di lattato nel sangue in pazienti con shock indicava una prognosi infausta, con una sopravvivenza all'iperlattatemia dell'11%.

Il valore prognostico della lattatemia rilevata al momento del ricovero e/o in tempi successivi è stato dimostrato nei pazienti umani dei reparti di Medicina d'Urgenza (Nguyen et al., 2004; Shapiro et al 2005), nei pazienti affetti da setticemia (Nguyen et al., 2004; Trzeciak et al., 2007), nei traumatizzati (Husain et al., 2003), nello shock di qualsiasi genere (Vincent et al., 1983; Marecaux et al., 1996), nelle ustioni (Jeng et al., 2002; Kamolz et al., 2005), e nei pazienti sottoposti ad interventi chirurgici (McNelis et al., 2001; Husain et al., 2003).

Nonostante esistano dei punti di disaccordo, la maggior parte degli autori riconosce il valore prognostico della lattatemia misurata al momento del ricovero e delle sue misurazioni seriali in caso di shock di qualsiasi origine.

Un progetto a livello mondiale, denominato *Surviving Sepsis Campaign* (<http://www.survivingsepsis.org>) ha come obiettivo la riduzione dell'incidenza dei decessi causati dalla sepsi entro i prossimi 5 anni.

Tale progetto è costituito da una serie di linee guida per gestire i pazienti in stato di sepsi, che prevedono la valutazione di diversi "bundles", cioè gruppi di marker relazionati a un processo patologico che, valutati assieme, risultano possedere un valore prognostico migliore di quanto essi abbiano singolarmente. Nella composizione dei bundles è stata inserita anche la valutazione della lattatemia. Infatti la probabilità di morte nella fase acuta della sepsi (considerata di tre giorni) aumenta significativamente e in modo

lineare con l'aumento dei valori di lattatemia al ricovero. Secondo le linee guida della "Surviving Sepsis Campaign", elevati livelli di lattatemia nei pazienti settici devono essere trattati con la stessa urgenza con cui verrebbe trattata l'ipotensione (Dellinger et al., 2004). Sembra infatti che un intervento aggressivo possa far diminuire le probabilità di una prognosi infausta, ma ciò non è stato ancora scientificamente provato.

Da studi effettuati da Levraut et al. (2003) emerge che, nell'ambito dei pazienti settici, solo i sopravvissuti presentano una significativa riduzione dei livelli ematici di lattato durante il decorso della malattia. I pazienti non sopravvissuti mantengono elevati livelli di lattato sia durante la fase iniziale che durante la fase finale dello shock settico. Gli autori asseriscono però che l'interpretazione di una singola misurazione di lattato presenta delle limitazioni poiché esistono diversi fattori che interferiscono sulla lattatemia, quali la produzione, la capacità di eliminazione e la clearance.

Un ulteriore studio è stato effettuato su pazienti affetti da sepsi grave o shock settico giunti in pronto soccorso, valutando la clearance del lattato prima del ricovero in un reparto di terapia intensiva. I pazienti che presentavano una clearance superiore al 10% nelle prime sei ore del ricovero, hanno dimostrato una minore necessità di supporto inotropo con vasopressori e una ridotta mortalità (Nguyen et al., 2004).

Quando il paziente giunge presso un reparto di medicina d'urgenza con un sospetto di sepsi o di shock settico, ci sono alcune ore dette "ore d'oro", in cui un'aggressiva rianimazione emodinamica è relazionata ad alte percentuali di sopravvivenza e a ridotte disfunzioni d'organo. Superata questa finestra, che si ritiene abbia una durata di circa sei ore, le possibilità di rianimazione diminuiscono, probabilmente a causa di lesioni endoteliali e disfunzioni cellulari di entità troppo grave. È quindi utile agire velocemente, secondo protocolli stabiliti, per aumentare le chance di sopravvivenza del paziente. E' consigliabile inoltre effettuare la rianimazione direttamente nel reparto di

medicina d'urgenza perché anche il solo trasferimento del paziente nel reparto di terapia intensiva comporterebbe un eccessivo ritardo (Park et al., 2006).

Utilizzando come valore di cutoff 4 mmol/l, i pazienti oltre tale valore presentano sei volte più probabilità di decesso, in fase acuta, rispetto a quelli con valori inferiori al cutoff (Trzeciak et al., 2007).

E' inoltre degno di nota il fatto che una elevata lattatemia suggerisce una prognosi infausta anche in pazienti che non presentano segni clinici di shock. Nei pazienti traumatizzati con frequenza cardiaca e pressione ematica pressochè normale, una lattatemia superiore ai 2,5 mmol/L è correlata ad una elevata mortalità e morbilità. E' stato notato un peggioramento della prognosi quanto più a lungo i valori di lattatemia rimangono elevati (Blow et al., 1999). La spiegazione di questo fenomeno sembra risiedere nella presenza di una "ipoperfusione occulta", la cui presenza predispone ad una maggiore morbilità e allo sviluppo di complicazione di carattere infettivo (Crowl et al., 2000; Claridge et al., 2000).

Blow et al. (1999) hanno riscontrato una correlazione diretta tra l'ipoperfusione occulta e la prognosi, lo sviluppo di insufficienza multipla d'organo (MODS- Multiple Organ Dysfunction Syndrome) e l'aumento dell'incidenza di complicazioni respiratorie. Ottenendo quindi una rapida correzione dell'acidosi lattica, si assiste ad un calo dell'incidenza di complicanze conseguenti a traumi gravi.

A questo scopo, nelle unità di terapia intensiva (ICU), la misura della lattatemia è ampiamente utilizzata come fattore prognostico. L'aumento del lattato ematico rappresenta un marker della risposta metabolica allo stress, la cui gravità e durata sono strettamente correlate alla morbosità e mortalità dei pazienti (Levrant et al., 2003).

Per emettere una prognosi nei pazienti critici, sono state prese in considerazione sia singole misurazioni che il monitoraggio dell'andamento della lattatemia.

Husain et al. (2003), hanno valutato, in uno studio retrospettivo, la capacità predittiva del lattato e del deficit di basi come indici di mortalità e morbilità in 137 pazienti che necessitavano di rianimazione in seguito a shock provocato da traumi, pancreatiti o interventi di chirurgia addominale. Gli autori arrivano alla conclusione che la lattatemia è più attendibile del deficit di basi come marker di shock e della necessità di rianimazione. Al contrario del deficit di basi, la lattatemia, misurata al momento del ricovero e dopo 24 ore è in grado di distinguere i pazienti sopravvissuti dai deceduti in tutti i tipi di shock riscontrati nei pazienti. Inoltre, in accordo con altri studi (Vincent et al., 1983; Falck et al., 1985; Abramson et al., 1993; Bakker et al., 1996; Claridge et al., 2000) è stato riscontrato che il tempo necessario affinché la lattatemia torni a livelli normali è più significativo rispetto al valore assoluto della lattatemia. Nei pazienti che non raggiungono livelli normali di lattatemia la mortalità raggiunge infatti il 100%.

Un esempio di estrema riduzione della perfusione ematica tissutale è l'arresto cardiaco. Durante la rianimazione cardiopolmonare (CPR), il calo della perfusione e la riduzione della distribuzione di ossigeno ai tessuti fanno prevalere il metabolismo anaerobico provocando acidosi lattica. Durante la CPR i gas arteriosi sono indicativi degli scambi a livello polmonare mentre, quelli venosi, sono indicativi dello stato acido-base e dell'ossigenazione. È stato notato che è più importante migliorare lo stato perfusionale, per favorire la rimozione di anidride carbonica dai tessuti, piuttosto che somministrare bicarbonati per correggere l'acidosi. Un possibile marker dello stato perfusionale è la clearance del lattato, capace di evidenziare le disfunzioni di flusso che si verificano a livello di microcircolo. Gli autori hanno infatti dimostrato che una precoce clearance del lattato era associata a diminuzione della mortalità sia all'inizio del ricovero (dopo 24 ore) che nelle fasi successive. Non hanno trovato però correlazione tra la lattatemia misurata al momento del ricovero e la mortalità (Donnino et al., 2007).

Jeng et al. (2002) hanno studiato il valore prognostico della lattatemia in seguito ad ustioni che coinvolgevano almeno il 15% della superficie corporea in 49 pazienti. Hanno rilevato che l'iperlattatemia era predittiva di morte al momento del ricovero e dopo 48 ore di trattamento. Anche in questo lavoro il deficit di basi non è stato in grado di predire l'outcome nella popolazione studiata.

Nel paziente pediatrico sottoposto ad interventi di chirurgia cardiaca il ruolo del lattato è meno chiaro. Secondo Basaran et al., (2006) l'iperlattatemia in questi pazienti indica la presenza di complicazioni secondarie, in disaccordo con Schroeder et al., (2005).

L'iperlattatemia è stata inoltre studiata nel paziente pediatrico affetto da asma bronchiale (Yousef e McGeady, 2002).

L'acidosi lattica fulminante è stata ampiamente descritta nei pazienti affetti da HIV in seguito a terapie con farmaci antiretrovirali che hanno attività tossica sui mitocondri (John et al., 2001; Imhof et al., 2005), mentre il dibattito è acceso sull'iperlattatemia indotta da metformina, un farmaco per curare il diabete mellito di tipo 2 (Fantus, 2005).

La valutazione del D-lattato nello shock settico è stata proposta da Sapin et al. (2006). Il suo innalzamento è probabilmente imputabile allo sviluppo d'ischemia intestinale. Una rapida discesa del D-lattato plasmatico, attribuibile a un miglioramento della perfusione splancnica, è stata associata ad un calo della mortalità a 28 giorni. Il calo del D-lattato è stata osservato tra il primo e il secondo giorno, senza però aver mostrato rilevanza statistica ai fini della prognosi.

Collange et al. (2006), misurando il D-lattato durante interventi per rottura di aneurisma all'aorta addominale hanno verificato che, tanto più elevata è la D-lattatemia, tanto più è probabile lo sviluppo di ischemia del colon. Nonostante tali risultati, il numero di soggetti esaminati nello studio è troppo ridotto per poter stabilire specificità e sensibilità del D-lattato. In tale studio non è stata trovata correlazione tra D- e L-lattato.

3.2 IL MONITORAGGIO DELLA LATTATEMIA NEL BAMBINO NEONATO

Come nell'adulto, anche nel bambino è stata trovata correlazione tra iperlattatemia e mortalità e tra durata dell'iperlattatemia e mortalità (Sanz et al., 2002). Anche nel bambino quindi, è il grado di iperlattatemia quello più facilmente correlabile alla mortalità: un cutoff di 5 mmol/l è risultato utile per discriminare i sopravvissuti dai non sopravvissuti (Hatherill et al., 2003).

L'iperlattatemia è stata descritta in un gran numero di complicazioni neonatali come la setticemia, stress da freddo e ipovolemia (Walter, 1992; Hawdon et al., 1993).

Duke et al. (1997) hanno ricercato il miglior marker di perfusione in neonati con diagnosi di shock settico o di SIRS, per differenziare i sopravvissuti dai non sopravvissuti: il lattato si è dimostrato il discriminante più precoce. A 12 ore dall'ammissione, livelli di lattato superiori a 3 mmol/l presentano valore positivo predittivo di morte del 56%, mentre livelli inferiori a tale valore un valore positivo predittivo di sopravvivenza dell'84%. Dallo studio non sono state identificate altre variabili valide per identificare precocemente i non sopravvissuti.

La lattatemia è stata misurata in 4045 neonati su sangue prelevato dall'arteria ombelicale alla ricerca di una possibile correlazione con patologie perinatali. La lattatemia risultava più elevata nei neonati con parto vaginale piuttosto che in quelli che nascevano con parto cesareo programmato. I valori più alti sono però stati riscontrati in quei neonati che nascevano con parto cesareo in seguito a stress fetale. Gli autori concludono però che la lattamia non ha valore prognostico né per quanto riguarda un esito infausto né per l'outcome neurologico (Westgren et al., 1995).

In uno studio successivo gli stessi autori hanno valutato l'esistenza di una possibile correlazione tra la lattatemia e le concentrazioni ematiche di noradrenalina, adrenalina, dopamina e pH nel sangue di cordone ombelicale

in 60 parti naturali. E' stata rilevata una debole seppur significativa correlazione tra concentrazione di lattato e catecolamine nel sangue dell'arteria ombelicale nei neonati sani nati con parto vaginale (Nordström et al., 1996).

Capitolo 4

4.1 IL MONITORAGGIO DELLA LATTATEMIA IN MEDICINA VETERINARIA

Nel 1998, come affermano Lagutchik et al., le ricerche in medicina veterinaria sull'utilità del lattato erano ridotte a pochi lavori. Fino a quel momento la lattatemia era stata associata alla mortalità in corso di colica nel cavallo, ma non c'era alcuno studio in atto, riguardante i piccoli animali critici. Dal '98 ad oggi sono numerosi gli studi nelle varie specie di interesse veterinario.

4.2 LA LATTATEMIA NEL CANE

La lattatemia normale nel cane è circa 1,5 mmol/l. Lagutchik et al. (1998) hanno monitorato l'andamento della lattatemia in 109 cani affetti da gravi patologie o gravi lesioni, correlando i livelli di lattato con le diverse patologie. Il 95% dei cani valutati in questo studio, al ricovero, presentavano livelli di lattatemia al di sopra della media. Gli animali che avevano subito traumi minori o che presentavano problemi di tipo metabolico, urinario-renale o ematologico avevano valori di lattatemia sovrapponibili a quelli normali. Al contrario, sono stati trovati valori di lattatemia elevati in corso di patologie polmonari, gastrointestinali, cardiovascolari, neurologiche, intossicazioni e traumi gravi, con prognosi e andamento della lattatemia paragonabile a quello visto nelle unità di terapia intensiva in medicina umana.

In bibliografia si trovano diversi lavori riguardanti lo studio della lattatemia: nel cane adulto il suo monitoraggio è stato ritenuto utile in corso di babesiosi, peritoniti e per prevedere la necrosi gastrica, mentre nel cucciolo è stata presa in considerazione come marker dell'ipossia.

Babesiosi: La babesiosi è una patologia che facilmente può sfociare in ipossia e sepsi, portando a disfunzioni multiorganiche.

L'acidosi metabolica in corso di babesiosi è principalmente dovuta all'accumulo di acido lattico, prodotto sia a causa dell'ipoperfusione sia a causa dell'ipermetabolismo. Lo studio effettuato da Nel et al. (2004), compiuto su 90 cani, ha dimostrato che il lattato può essere usato come indice prognostico di sopravvivenza in corso di babesiosi. Il miglior valore predittivo è stato ottenuto a 24 ore; i cani con lattatemia superiore a 40 mg/dl sono deceduti mentre quelli al di sotto di tale valore sono sopravvissuti. Nello stesso studio non è stata trovata correlazione tra ematocrito e sopravvivenza, mentre l'ipoglicemia al ricovero è stata associata a morte. Il monitoraggio della lattatemia è risultato maggiormente predittivo rispetto a singole valutazioni: i cani con lattatemia decrescente dopo il trattamento hanno prognosi favorevole, mentre se la lattatemia resta persistentemente elevata la prognosi è infausta.

Necrosi gastrica: La necrosi gastrica è uno delle più importanti complicanze postoperatorie e causa di morte nella sindrome da dilatazione-torsione gastrica e predire quali cani svilupperanno necrosi gastrica può essere d'aiuto per emettere la prognosi. È stata trovata forte correlazione tra un'elevata concentrazione plasmatica di lattato e la sopravvivenza.

Il lattato, non essendo indice diretto di necrosi gastrica, si eleva ogni qualvolta si presentino scarsa perfusione o ischemia gastrica. Infatti, utilizzando un valore cutoff di 6 mmol/l, bassi livelli di lattato sono più predittivi di sopravvivenza di quanto alti livelli lo siano di morte, ovvero è più facile che un cane al di sotto di tale limite sopravviva piuttosto che uno oltre le 6 mmol/l muoia. La combinazione di lattato plasmatico e valori emostatici ha maggior valore prognostico rispetto al lattato preso singolarmente e valutazioni seriali risultano maggiormente predittivi rispetto a valutazioni singole (De Papp et al., 1999).

Peritoniti: Il lattato è stato valutato nel fluido peritoneale e comparato con il lattato ematico in cani e gatti con effusioni addominali settiche e non settiche, per tentare di differenziarle: tutti i cani con effusioni settiche avevano una concentrazione peritoneale di lattato maggiore di quella ematica e superiore alle 2,5 mmol/l. Nel cane tale test ha elevata accuratezza diagnostica (Levin et al., 2004).

Ipossia neonatale: Per quanto riguarda il cucciolo, la lattatemia è stata presa in considerazione come marker di ipossia nel neonato.

La lattatemia normale del neonato differisce da quella del cane adulto: il range nei neonati fino 4 giorni d'età è 1,07-6,59 mmol/l, tra 10 e 28 giorni 0,80-4,60 mmol/l e solo dai 70 giorni i livelli sono paragonabili a quelli dell'adulto. Nel cucciolo ci sono alcune particolarità che giustificano i livelli maggiori di lattatemia rispetto all'adulto. La capacità di compiere la gluconeogenesi è limitata alla nascita e la barriera cerebrale risulta essere permeabile all'acido lattico che, per questo motivo, è disponibile per il cervello in quantità maggiori di altri metaboliti (ad esempio del glucosio). Durante l'ipoglicemia, i livelli di lattato nel sangue cerebrale decrescono fino all'83% nei cani neonati, presumibilmente per aumento del consumo cerebrale. Per questo motivo, alcuni autori sostengono che nel cucciolo, durante i periodi di ipoglicemia, il lattato funga da substrato alternativo al glucosio.

Nel cucciolo, molti scenari clinici richiedono fluidoterapia (come ad esempio traumi e shock) e l'esigenza di fluidi è superiore a quella dell'adulto poiché essi hanno una maggiore percentuale di acqua corporea, maggior superficie corporea di scambio e ridotto grasso corporeo, più intenso metabolismo e scarsa capacità del rene di concentrare le urine, che limita la possibilità di utilizzare la produzione urinaria come marker di perfusione.

Essendo difficile stabilire indici di perfusione nei neonati, il lattato può essere un buon indicatore di distribuzione del flusso, utile per guidare la terapia (McMicheal et al., 2005).

4.3 LA LATTATEMIA NEL GATTO

Nel gatto non sono stati compiuti molti studi.

Rand et al. (2002) hanno dimostrato che gatti sani sottoposti a stress mediante lavaggi con spray sviluppavano iperglicemia e che questa era correlata allo stato di agitazione, all'iperlattatemia, e all'aumento della concentrazione di norepinefrina.

Nello studio di Levin et al. (2004), già citato, riguardante l'utilità della lattatemia misurata nel sangue venoso e nel liquido peritoneale come test diagnostico per rilevare effusioni peritoneali settiche, nel gatto non sono stati ottenuti gli stessi risultati incoraggianti conseguiti per il cane. Una possibile spiegazione alla scarsa attendibilità del test in questa specie può essere che, data l'elevata sensibilità allo stress dell'animale, il rilascio di catecolamine determina comunque un innalzamento dei livelli di lattato. La misurazione della lattatemia e la differenza tra la concentrazione ematica e quella peritoneale di lattato non sono indicative della presenza di effusioni settiche peritoneali nel gatto.

Chan et al. (2005) hanno studiato le alterazioni che avvengono nel metabolismo dei carboidrati nei gatti gravemente compromessi. I risultati dimostrano che questi animali hanno concentrazioni ematiche di glucosio, lattato, glucagone, acidi grassi non-esterificati (NEFA), norepinefrina e cortisolo maggiori rispetto ai gatti sani del gruppo di controllo. Nei gatti gravemente compromessi, l'iperglicemia non risulta correlata all'iperlattatemia, al contrario di quanto è risultato nel gruppo di controllo e nel precedente studio di Rand et al. (2002).

Nei gatti sani anche la concentrazione plasmatica di epinefrina è correlata all'iperlattaemia, cosa che non avviene nei malati. Gli autori concludono sostenendo che il metabolismo dei carboidrati nei gatti in condizioni critiche è simile a quello osservato nell'uomo e che a causa della sua complessità sono necessari ulteriori studi.

4.4 LA LATTATEMIA NEL BOVINO

Le patologie respiratorie del bovino sono responsabili di importanti perdite economiche per ridotta crescita, costo delle misure profilattiche e costo dei trattamenti. L'età in cui più frequentemente il bovino si trova predisposto alle broncopolmoniti è tra i 2 e i 4 mesi. Mediante la valutazione della lattatemia, si è cercato di predire la sopravvivenza di bovini colpiti da patologie respiratorie. Si è notato che il lattato plasmatico cresce all'aumentare della gravità della patologia. Il miglior valore, per ottenere un indicatore prognostico di mortalità entro le 24 ore, è risultato essere 4 mmol/l. Dato che il costo dei falsi positivi è minore di quello dei falsi negativi, il veterinario può decidere di eliminare tutti gli animali positivi piuttosto che curarli (Coghe et al., 2000).

Inoltre è stato valutato il valore prognostico della lattatemia nella dislocazione dell'abomaso (destra o sinistra) e nel volvolo abomasale. Insieme ad altri parametri clinico-patologici, come frequenza cardiaca e cloremia, la lattatemia è risultata un buon indicatore prognostico per il ritorno a buone performance riproduttive in bovine operate per tali patologie (Figueiredo et al., 2006).

L'acidosi lattica è stata molto studiata nel vitello con diarrea neonatale. Il malassorbimento e il passaggio di alimento non digerito nella parte più distale dell'intestino, frequenti nei vitelli con diarrea, determinano sovracrescita batterica e, per fermentazione del lattosio contenuto nel latte, produzione di D e L-lattato, che possono essere rinvenuti nelle feci. In seguito, forse a causa

dell'infiammazione della mucosa, questi acidi possono entrare in circolo. Il D-lattato nei mammiferi, al contrario del L-lattato, ha un metabolismo lento e il suo accumulo determina acidosi metabolica. L'acidosi è di solito mista, perché al lattato assorbito dall'intestino si somma quello prodotto dall'organismo a causa di disidratazione e ipovolemia (Omole et al., 2001).

Gentile et al. (2004) hanno verificato, nel vitello, se l'acidosi ruminale può condurre ad acidosi D-lattica inducendola mediante l'inserimento forzato di latte nel rumine attraverso un catetere ruminale. In tutti i vitelli sottoposti alla prova i livelli ematici di D-lattato sono aumentati, mentre i livelli di L-lattato non si sono discostati dalla norma. Figueiredo et al. (2006) concordano che, nel vitello, la L-lattatemia abbia un ruolo marginale rispetto alla D-lattatemia.

Lorenz e Vogt (2006) studiando un campione di 73 vitelli hanno rilevato che, nonostante l'elevata lattatemia, non occorre servirsi di particolari terapie perché, per ragioni non ancora ben chiare, restituendo un corretto volume di fluidi si assiste regolarmente ad un crollo della lattatemia. In corso di acidosi, somministrando bicarbonati, la concentrazione di lattato resta abbastanza costante nelle prime 4 ore, probabilmente perché l'assorbimento di lattato da parte dell'intestino è controbilanciato dalla diluizione nel bicarbonato somministrato. A 24 ore comincia il calo della lattatemia, lento ma consistente. Se a 24 ore il lattato non cala, probabilmente c'è una sovrapproduzione di L-lattato che si somma al D-lattato.

4.5 LA LATTATEMIA NEL CAVALLO

Nel cavallo, animale particolarmente soggetto a patologie intestinali, la causa più comune di morte, come risultato diretto della colica, è l'insufficienza circolatoria acuta causata dall'ischemia intestinale, di cui è importante cogliere precocemente i sintomi per migliorare l'exitus. L'ischemia intestinale ha effetti negativi sulla permeabilità cellulare e determina produzione di lattato, che viene poi rilasciato nel sangue e in cavità peritoneale. La ricerca di questo marker biochimico all'interno del sangue o della cavità peritoneale è uno strumento importante sia a fini diagnostici che prognostici.

I livelli normali di lattato del cavallo adulto sono inferiori a 2 mmol/l nel sangue, mentre nel liquido peritoneale sono $0,7 \pm 0,2$ mmol/l (Latson et al., 2005).

Il Colic Severity Score (CSS) è un modello prognostico sviluppato da Furr et al. (1995) per valutare la probabilità di sopravvivenza in corso di colica. In esso vengono considerate quattro variabili: frequenza cardiaca, proteine totali nel liquido peritoneale, aspetto delle mucose esplorabili e lattatemia. È interessante notare che tutte queste variabili riflettono lo stato cardiocircolatorio.

Ad animali con elevato rischio di mortalità sono stati associati valori di lattatemia maggiori di 75 mg/dl (8,3 mmol/l), in accordo con uno studio del 1976 (Moore et al., 1976). Gli autori sottolineano che la sola lattatemia non è sufficientemente accurata nel predire l'esito di una colica, così come non lo è la frequenza cardiaca. Una frequenza cardiaca elevata può essere provocata anche da dolore o eccitazione in assenza di compromissione dello stato cardiovascolare.

Latson et al. (2005), partendo dal presupposto che, nell'uomo, la differenza tra valore plasmatico e peritoneale di lattato è utilizzata come marker per identificare la rottura di visceri e di necrosi intestinale, hanno valutato il rapporto lattato plasmatico/lattato peritoneale nel cavallo in corso di colica.

Il risultato dello studio rivela che il lattato peritoneale, oltre che in condizioni fisiologiche, resta inferiore a quello ematico anche negli stadi iniziali d'ischemia mentre, col progredire dell'insulto, il lattato peritoneale si innalza. Tutti i cavalli sopravvissuti alla colica presentavano valori plasmatici di lattato superiori a quelli peritoneali. Quando il rapporto lattato peritoneale/lattato plasmatico è inferiore a 1, spesso la causa della patologia è una semplice ostruzione intestinale. L'uso di un modello predittivo che preveda il possibile sviluppo di necrosi intestinale, in aggiunta alla presentazione clinica, può fornire una diagnosi precoce e rapida, riducendo i casi di lesioni intestinali da strangolamento (Latson et al., 2005).

Fielding e Magdesian (2005) hanno verificato che la valutazione della concentrazione di lattato venoso è un pratico, semplice ed economico test che può dare informazioni per guidare la fluidoterapia nel cavallo. La lattatemia va sempre interpretata in modo critico: in alcune condizioni mediche associate a ridotta distribuzione d'ossigeno, nonostante gli elevati livelli di lattato, è controindicata la somministrazione di fluidi, come ad esempio nell'insufficienza cardiaca.

Magdesian et al. (2006) hanno valutato le variazioni della pressione venosa centrale (PVC) e del lattato ematico, in risposta ad emorragia acuta nel cavallo. Lo studio è stato condotto su animali sani in stazione ai quali veniva prelevata una quantità di sangue pari a 16 ml/kg (emorragia di I-II °-15-25%) che poi veniva ritrasfusa. I risultati hanno dimostrato una diminuzione della PVC anche con perdite considerate di modesta entità. In seguito al ripristino della perdita ematica, la PVC tornava a valori basali. La variazione della frequenza cardiaca non è risultata invece significativa. Anche la lattatemia si è dimostrata essere un precoce indice di emorragia e gli autori considerano una concentrazione >1,1 mmol/L un possibile indice di emorragia in un cavallo con trauma che ha coinvolto dei grandi vasi. In conclusione gli autori suggeriscono di monitorare la PVC e la lattatemia in un cavallo che abbia subito perdite ematiche in quanto sicuramente più utili e più sensibili di

frequenza cardiaca ed ematocrito che identificano correttamente perdite ematiche di maggiore entità.

4.6 LA LATTATEMIA NEL PULEDRO NEONATO

Andamento fisiologico della lattatemia nel puledro neonato

Diversi autori hanno stabilito i valori fisiologici di lattatemia nel puledro.

I primi a misurare la lattatemia nel puledro neonato sono stati Kitchen e Rosedale nel 1975 i quali hanno rilevato concentrazioni di $4,9 \pm 1,02$ mmol/L alla nascita, $2,25 \pm 0,6$ mmol/L a dodici ore e di $0,89$ mmol/ a 24 ore di vita.

Uno studio successivo ha rilevato una lattatemia di $3 \pm 0,4$ mmol/L alla nascita (Silver et al., 1987).

Corley (2002) ha misurato in cinque puledri di età compresa tra 30 e 46 ore la lattatemia nel sangue giugulare ($2,18 \pm 0,35$ mmol/L) e nel sangue prelevato dall'arteria metatarsale dorsale ($2,17 \pm 0,49$ mmol/L).

Magdesian (2003) studiando 14 puledri, ha valutato la concentrazione venosa di lattato ogni 24 ore, dall'immediato post-partum fino alle 48 ore di vita, mediante uno strumento commerciale, ottenendo i seguenti valori:

Ore	Lattatemia (mmol/L)
0	$2,38 \pm 1,03$
24	$1,24 \pm 0,33$
48	$1,08 \pm 0,27$

Castagnetti et al. (2007b), in uno studio preliminare, hanno valutato il lattato in 21 puledri sani, rilevando la lattatemia ogni 12 ore per le prime 72 ore di vita, ottenendo i seguenti valori:

Ore	Lattatemia (mmol/L)
0	3,89 ± 1,94
12	3,16 ± 1,32
24	2,22 ± 0,73
36	2,11 ± 0,69
48	1,81 ± 0,58
60	1,82 ± 0,81
72	1,82 ± 0,73

Andamento della lattatemia nel puledro malato e sua utilità prognostica

Negli ultimi anni anche in neonatologia equina è aumentato l'interesse verso la misurazione della lattatemia per predire le probabilità di sopravvivenza e la risposta alla terapia (Wotman et al., 2005).

In uno studio svolto da Corley et al. (2005), in cui venivano valutati 58 puledri neonati critici affetti da diverse patologie, la lattatemia è risultata differente nelle differenti condizioni patologiche.

La lattatemia media al ricovero è risultata più alta nei casi di batteriemia (7,65 mmol/l) e di PAS (8,5 mmol/l) mentre, nelle infezioni batteriche localizzate (2 mmol/l) e nelle coliti (1,7 mmol/l) era più bassa. Tutti i puledri con emocoltura positiva avevano lattatemia all'ammissione maggiore di quella dei puledri con emocoltura negativa. È stata trovata maggior correlazione tra anion gap e lattatemia negli animali con emocoltura negativa perché, in corso di sepsi e di endotossiemia, si sommano all'anione lattato altri anioni non identificati (Corley et al., 2005).

L'anion gap infatti aumenta quando aumentano le concentrazioni sieriche degli anioni non misurati, come acidi grassi volatili, lattato, piruvato, solfati e fosfati, o se cala la concentrazione dei cationi non misurati, come calcio e magnesio (Lorenz et al., 1999). Tra gli anioni non misurati, il D-lattato, che

aumenta notevolmente in corso di diarrea neonatale bovina, potrebbe, anche nel puledro, contribuire all'aumento dell'anion gap.

Ai fini della prognosi, i parametri maggiormente utili per predire la sopravvivenza sono lattatemia e pH arterioso, a scapito di tutte le altre variabili acido-base come anion gap, base excess o bicarbonati che sono stati spesso correlati alla prognosi nell'uomo e in altri animali. In particolare, la misura della lattatemia a 0, 18, 36 ore dal ricovero è un parametro clinicamente rilevante e di maggior valore predittivo confrontato con la singola stima al ricovero (Corley et al., 2005).

Lo studio più recente che indaga sull'utilizzo della lattatemia in una popolazione di puledri malati con età inferiore alle 96 ore di vita, è di Henderson et al. (2007) ed è stato presentato come abstract al congresso dell' "AAEP- American Association of Equine Practitioner". Gli Autori rilevano che i puledri non sopravvissuti hanno concentrazioni di lattato maggiori rispetto ai sopravvissuti al momento del ricovero e dopo 12-36 ore. Essi rilevano che i valori più alti di lattatemia si riscontrano in puledri prematuri e nell'encefalopatia ipossico-ischemica. I diversi gruppi diagnostici inoltre presentano differenti concentrazioni di lattato al momento del ricovero, ma tale differenza non esiste più dopo 12-36 ore. Stabilendo come cut-off una lattatemia di 4,85 mmol/L gli autori sono riusciti a classificare correttamente più dell'80% dei puledri in relazione alla sopravvivenza.

Per cercare di migliorare la capacità predittiva dei modelli prognostici nel puledro neonato, negli ultimi anni sono state studiate le variabili più significative, tra cui la lattatemia.

Saulez et al. (2006) in un lavoro presentato come abstract, confrontando la variazione di diversi parametri in gruppi di animali sopravvissuti e non sopravvissuti, hanno osservato che quelli più significativi sono: anion gap, K^+ , Cl^- , rapporto albumine/globuline e lattato.

Recentemente Castagnetti et al. (2007a) hanno proposto un modello matematico, valutato su 64 puledri al di sotto dei 7 giorni, che sfrutta

parametri aspecifici, velocemente disponibili e a basso costo rilevati al momento dell'ammissione. Tra i parametri selezionati, le sei variabili che, associate, presentano miglior sensibilità e specificità (rispettivamente 100% e 97,7%) sono state: lattatemia, bicarbonati, ematocrito, tempo di riempimento capillare ed emoglobina, tutti rilevati all'ammissione.

Anche Saulez et al. (2007) in uno studio retrospettivo su 62 puledri neonati hanno incluso la lattatemia in un modello predittivo. La lattatemia insieme a conta leucocitaria, valore ematocrito, rapporto albumina/globulina, fosfatasi alcalina, CO₂ totale, potassio e sodio è in grado di predire la mortalità nell'84% dei casi. Secondo questo studio l'unica variabile che riesce a predire la mortalità in maniera indipendente è l'anion gap.

Anche se l'utilità della singola misurazione di lattato ematico al ricovero è ancora oggetto di dibattito, così come avviene nella medicina umana, è evidente che se il suo accumulo persiste per più di 24 ore, l'incidenza della mortalità aumenta: la prognosi risulta tanto più sfavorevole tanto più difficoltoso è il ripristino della normale clearance del lattato. E' quindi fondamentale risolvere l'accumulo di lattato entro 48 ore dall'ammissione (Wotman et al., 2005).

Correlazione tra lattatemia e SIRS nel puledro neonato

Corley et al. (2005) hanno cercato di correlare l'iperlattatemia con la SIRS, entrambe condizioni frequenti nel puledro neonato critico.

La SIRS (Systemic Inflammatory Response Syndrome), ovvero la risposta che mette in atto l'organismo per difendersi da un agente lesivo (infettivo o non infettivo), si deve differenziare dalla sepsi, di cui si parla solo quando, alla sintomatologia tipica della SIRS, si somma l'isolamento del patogeno ritenuto responsabile di tale risposta.

In medicina umana si parla di SIRS quando coesistono almeno due dei seguenti sintomi:

- temperatura corporea superiore a 38°C o minore a 36°C
- frequenza cardiaca maggiore a 90 battiti/minuto
- iperventilazione evidente per frequenza respiratoria superiore a 20 atti/minuto o $P_aCO_2 < 32$ mmHg
- conta leucocitaria > 12000 cellule/ μ l o < 4000 cellule/ μ l (Tsiotou et al., 2005).

Corley et al. (2005) hanno dimostrato che esiste una correlazione statisticamente significativa tra presenza di SIRS e iperlattatemia, proponendo il lattato ematico come possibile parametro per monitorare l'evoluzione della SIRS.

Correlazione tra lattato e parametri clinico-patologici nel puledro neonato ricoverato in terapia intensiva

Magdesian et al. (2004) hanno trovato, nel puledro, correlazione tra lattatemia e pressione colloidale-osmotica (COP).

Un decremento della COP determina un passaggio di fluidi dal vaso allo spazio interstiziale. Probabilmente in questo caso è la ridotta perfusione periferica che guida verso il metabolismo anaerobico e all'aumento della produzione di lattato. Altre possibili cause sono dovute al fatto che la riduzione della COP determina la formazione di edemi, con aumento della distanza che l'ossigeno deve compiere per diffusione per raggiungere i tessuti. I puledri in condizioni critiche possono essere contemporaneamente ipooncotici e iperlattatemicici.

Henderson et al. (2007) hanno inoltre riscontrato che la lattatemia nei puledri con emocoltura positiva era più bassa rispetto a quella di puledri con emocoltura negativa al contrario di quanto rilevato da Corley et al. (2005).

Castagnetti et al. (2007c), in unostudio preliminare su 65 puledri (51 sopravvissuti, 14 deceduti) di età inferiore ai 7 giorni, hanno trovato correlazione statisticamente significativa tra lattatemia all'ammissione e pH arterioso, MAP, livello di cure intensive (I-III), sepsi, batteriemia, volume di cristalloidi ed esito del ricovero.

Valutazione della lattatemia durante la fluidoterapia

La correlazione significativa trovata tra lattatemia e pressione arteriosa fa pensare che il lattato possa essere utile anche come indicatore dello stato cardiovascolare (Corley et al., 2005; Castagnetti et al., 2007c).

Per quanto riguarda la fluidoterapia, utilizzando come limite fisiologico un valore di lattatemia di 2,5 mmol/l, quando un puledro presenta concentrazioni di lattato superiori alle 5 mmol/l è molto probabile che necessiti di terapia fluida (Corley e Axon, 2005).

4.7 LA LATTATEMIA NEGLI ANIMALI NON CONVENZIONALI

L'importanza crescente della lattatemia in medicina veterinaria è confermata dai continui studi che vengono continuamente proposti per ogni specie animale, di recente anche negli animali non convenzionali. Nel 1996, Jackson et al. hanno studiato la distribuzione del lattato nella tartaruga, in corso e in seguito all'ipossiemia. Nel 2003 Harms et al., servendosi di uno strumento portatile (i-STAT), hanno valutato l'andamento del lattato e di altri parametri acido base, per mettere a confronto due differenti metodi di cattura nella tartaruga di specie *Caretta caretta*, notando che la perturbazione ai sistemi acido base è più imponente in caso di sistemi di cattura a strascico rispetto a sistemi passivi.

Capitolo 5

5.1 LA MISURAZIONE DELLA LATTATEMIA

In passato, per la misura della lattatemia, si sfruttavano strumenti di analisi lenti e costosi, che ne limitavano l'uso a ospedali e università.

Il primo metodo sfruttato per la determinazione del lattato richiedeva diversi giorni e un quantitativo di sangue superiore ai 200 ml. Negli anni '70 la rilevazione è stata migliorata grazie all'introduzione di una metodologia di tipo elettrochimico che comunque richiedeva ancora elevate quantità di sangue e tempi lunghi (Slomovitz et al., 1998). Oggi sono disponibili metodologie automatiche e semiautomatiche che permettono una rapida misurazione del L-lattato con campioni di sangue dell'ordine di grandezza del microlitro.

Attualmente le tecniche sfruttate nei laboratori di analisi sono due:

- ✓ la tecnica enzimatica colorimetrica che prevede l'uso di uno spettrofotometro con picco d'assorbimento a 340 nm, per quantificare la formazione di NADH all'interno del campione. Il NADH si forma mediante l'ossidazione controllata del L-lattato ad opera del NAD^+ . Tale reazione è catalizzata dalla lattato deidrogenasi. Quando il lattato presente nel campione reagisce con la lattato ossidasi si ha una alterazione di colore che è direttamente proporzionale al lattato contenuto nel campione. L'alterazione di colore è letta dalla fotometria a riflettanza (Shimojo et al., 1989).
- ✓ la tecnica di tipo amperometrico prevede la reazione tra il sangue intero, lattato ossidasi e potassio ferrocianide per produrre una corrente anodica. Si ha infatti la produzione di perossido d'idrogeno che, reagendo con un elettrodo di platino, produce ossigeno e una corrente elettrica, proporzionale alla concentrazione di lattato presente nel campione (Shimojo et al., 1993).

Altra via tentata per la valutazione della gravità dell'acidosi lattica è stata la stima della lattatemia attraverso l'anion gap. Teoricamente un peggioramento dell'acidosi lattica, oltre all'aumento del lattato ematico, corrisponde a un incremento dell'anion gap. Ma, nei pazienti critici, con danni al sistema di regolazione acido-base, vengono generati cationi e anioni che compromettono la proporzionalità tra i due valori (Adams et al., 2006).

Gossett et al. (1987), valutando la correlazione tra anion gap e lattato, hanno scoperto che nel 18% dei casi l'aumento dell'anion gap non è correlato con l'innalzamento della lattatemia, arrivando alla conclusione che l'anion gap può indicare la presenza, ma non il grado di acidosi lattica. La stima indiretta della lattatemia ha più volte dimostrato di non essere accurata e, per questo motivo, è consigliabile operare misurazioni di tipo diretto.

5.2 PRELIEVO E CONSERVAZIONE DEL CAMPIONE DI SANGUE PER LA VALUTAZIONE DELLA LATTATEMIA PLASMATICA

I campioni di sangue possono essere prelevati a livello di circolo venoso, periferico o centrale, ma l'ideale è prelevare un campione di sangue arterioso, anche se le differenze tra i valori è minima (Valenza et al., 2005).

Durante l'esecuzione del prelievo ematico si deve considerare che occlusioni venose prolungate o la presenza di trombi nella zona del prelievo causano un lieve aumento della concentrazione di lattato nel campione. Ancor più peso ha il grado di attività muscolare: si può osservare un aumento anche di 6 o 7 mmol/l nel sangue prelevato da cani normali che tremano durante il prelievo (Huges, 2000).

Dato che raccolta del campione, stabilità dei campioni stoccati ed effetti metabolici dei globuli rossi possono influenzare la misurazione del lattato (Valenza et al., 2005), il campione prelevato deve essere posto in una provetta contenente litio eparina, e il dosaggio deve essere realizzato entro i 5 minuti successivi. Se la misura non può essere eseguita in tempi brevi, è consigliabile

centrifugare per ottenere il plasma e conservarlo nel ghiaccio. In questo modo la lattatemia del campione aumenterà di 0,1 mmol/l ogni due ore (Pouderoux, 2006).

Il miglior metodo di conservazione si assicura con l'utilizzo di provette contenenti fluoruro di sodio e ossalato di potassio, in grado di inibire la maggior parte degli enzimi eritrocitari coinvolti nella glicolisi, bloccando il metabolismo del glucosio e inibendo la produzione di lattato. In questo modo, a temperatura ambiente, un campione in sodio fluoruro è stabile fino a 8 ore (Meinkoth e Allison, 2007).

King et al. (1994) hanno cercato di quantificare i limiti di conservazione del lattato nel plasma di cavallo, analizzando tempo e temperatura. Da tale studio emerge che, per valori di lattatemia inferiori alle 20 mmol/l e utilizzando litio-eparina come anticoagulante, occorre tenere il campione refrigerato e analizzarlo entro 96 ore. Impiegando fluoruro di sodio, la temperatura può anche restare superiore ai 31°C per più di 96 ore, senza determinare variazioni significative della concentrazione di lattato.

5.3 STRUMENTI PORTATILI

Gli analizzatori portatili per la misurazione della lattatemia sono nati con lo scopo di fornire supporto nella valutazione e nel monitoraggio delle performance atletiche nell'uomo. Per compiere misure su ampia scala e in condizioni di campo, alcune caratteristiche sono importanti: lo strumento deve essere portatile, semplice, rapido e accurato per un ampio range di concentrazioni e capace di operare in condizioni ambientali di ogni tipo

E' inoltre importante il fatto che richieda una quantità minima di sangue in modo da poter rendere possibile la misurazione più volte anche nei neonati.

Utilizzo degli strumenti portatili per la valutazione delle performance atletiche

La rilevazione con strumenti portatili della lattatemia, sia nell'uomo sia nella medicina veterinaria, non è solamente importante per la cura del paziente, ma anche per valutare le prestazioni degli atleti.

Per poter riconoscere precocemente il cavallo che otterrà buone performance atletiche, occorre testare regolarmente i cavalli fin dalla giovane età. Numerose sono le variabili biochimiche che possono dare informazioni sulle performance atletiche, ma l'unica variabile che ha significato, presa singolarmente, è il lattato. La diagnosi di performance positiva è ottenibile misurando, dallo stesso cavallo, la lattatemia plasmatica ripetutamente (Lindner, 2000).

Nell'uomo, i campioni di sangue per la misura della lattatemia con strumenti portatili possono essere presi dall'orecchio o dal dito, mentre nel cavallo in genere si utilizza sangue prelevato dalle giugulari. Tale campionamento deve essere compiuto dal veterinario e, per la natura dell'animale, il prelievo in condizioni di campo può risultare difficoltoso. Può venire in aiuto a questi problemi l'uso di lancette con prelievo mediante puntura cutanea nella regione toracica o cervicale. Tale metodo è semplice, sicuro e permette, con strumenti portatili, che richiedono un campione di ridotte dimensioni, di valutare la capacità aerobica e l'intensità dell'esercizio giornalmente, anche in assenza del veterinario (Kobayashi, 2007).

5.4 TECNOLOGIA ALLA BASE DELLA MISURAZIONE DELLA LATTATEMIA SU SANGUE INTERO TRAMITE STRUMENTI PORTATILI

Wandrup et al. (1989) hanno valutato il primo rilevatore portatile che sfrutta la tecnologia amperometrica per misurare la lattatemia (YSI Stat Lactate, Yellow Springs Instrument Co). Tale strumento è in grado di compiere misure sia sul plasma che sul sangue intero. Viene comunque misurato solo il lattato plasmatico, perché il lattato presente all'interno del globulo rosso non ha tempo sufficiente per abbandonare il globulo rosso e prendere parte alla reazione enzimatica. La lattatemia espressa dallo strumento è quella a ematocrito pari a zero, tanto più aumenta l'ematocrito tanto più il valore si discosta dal reale.

La lattatemia su sangue intero può essere ottenuta da quella plasmatica, grazie all'utilizzo di una formula che permette la correzione della lattatemia plasmatica misurata per filtrazione del sangue intero con l'ematocrito:

$$c_{\text{Lactate}}(\text{PvB}) = c_{\text{Lactate}}(\text{vB}) \cdot \frac{1}{1 - (0.24 \cdot \text{Ht})}$$

Dove: “C” è la concentrazione molare, “PvB” è il valore misurato sul plasma venoso, “vB” è il valore misurato sul sangue intero e “Ht” è l'ematocrito del campione su sangue intero.

Il primo sistema portatile impiegato nella pratica clinica, oggi ampiamente validato sia in medicina umana che veterinaria, è l' "i-STAT" (Abbott Point of Care, Abbott Park, IL). Questo misuratore portatile non misura solo la lattatemia, ma in base alla cartuccia reattiva utilizzata è in grado di effettuare un'emogas, misurare la creatininemia o altri parametri biochimici. La lattatemia è misurata con metodologia di tipo amperometrico, ma a differenza degli altri sistemi, la ferrocianide è sostituita da platino (Slomovitz et al., 1998).



Fig 5.1 – i-STAT

Saulez et al (2005) hanno valutato l'attendibilità dell'i-STAT nella misurazione del lattato ematico e della concentrazione di lattato nel liquido peritoneale. Lo studio ha rilevato che lo strumento portatile sottostima il lattato ematico soprattutto ad alte concentrazioni. Inoltre la stima del lattato peritoneale in tre casi superava il limite massimo di lattato misurato dallo strumento che è di 20 mmol/L. Inoltre gli autori riportano i limiti dello strumento: esso è infatti predisposto per operare con temperatura ambiente compresa tra i 18-30°C quindi in ambienti freddi richiede un tempo piuttosto lungo per eseguire il warm up ed essere operativo, il display non è illuminato ed è di difficile lettura in ambienti bui e le cartucce per le misurazioni vanno conservate a temperatura di refrigerazione e portate a temperatura ambiente subito prima del loro utilizzo. Non lo ritengono quindi sufficientemente comodo da poter essere utilizzato in campo.

In medicina veterinaria, ultimamente, vengono molto utilizzati quattro strumenti portatili validati per la medicina umana: "Accusport" (Boehringer Mannheim, GmbH, Germany), "Accutrend" (Roche Diagnostics Basel, Switzerland), Lactate Pro (Arkray Inc., Kyoto Japan) e "Lactate Scout" (SensLab GmbH, Leipzig, Germany).

Rispetto all'ISTAT, il costo di tali sistemi risulta molto più contenuto: attualmente il costo per uno strumento portatile per la sola misurazione della

lattatemia è di 425 dollari, con un prezzo per striscia reattiva che si aggira attorno ai 2 dollari.

5.6 MISURAZIONE DELLA LATTATEMIA TRAMITE ACCUTREND®, ACCUSPORT, LACTATE PRO E LACTATE SCOUT.



Fig. 5.2: Accutrend Lactate

L'Accutrend è un piccolo analizzatore portatile a batteria che misura la lattatemia sia sul sangue intero che sul plasma. Utilizza strisce monouso su cui viene posta una goccia di sangue. Il plasma viene filtrato attraverso una membrana e la stima della lattatemia viene effettuata all'interno di una camera di misurazione.

La determinazione viene eseguita in 60 secondi, attraverso la valutazione dell'indice di riflessione spettrofotometrico. Mediante un algoritmo interno, è possibile convertire la misurazione della lattatemia plasmatica in misurazione sul sangue intero. Visto che la distribuzione del lattato tra plasma e sangue varia, sia in individui della stessa specie, che tra specie differenti, se si utilizza la modalità "sangue intero" si incorre in errori sistematici (Coghe et al., 2000).

L'attendibilità della valutazione dell'Accutrend è stata studiata su di un campione di 217 cavalli adulti ricoverati e lo strumento ha rilevato un buon accordo con la lattatemia misurata da uno strumento per emogasanalisi. Il problema è che la misurazione con Accutrend viene effettuata su plasma per ottenere risultati il più possibile attendibili ed è necessaria l'attesa di 10-20 minuti per poterlo ottenere da campioni di sangue in litio-eparina come quelli utilizzati nello studio. La concentrazione su sangue intero può essere calcolata utilizzando un algoritmo (Tennent-Brown et al., 2007).

Il flusso di lattato attraverso la membrana eritrocitaria procede attraverso tre vie: diffusione attraverso canali non ionici del lattato, scambio di anioni inorganici e trasportatori specifici per i monocarbossilati. La distribuzione dei vari tipi di trasportatore è diverso tra specie predisposte per l'attività sportiva, come cavallo e cane, e specie predisposte per altre attività, come bovino e capra (Skelton et al., 1995). Essendo una molecola carica negativamente, la sua distribuzione può essere influenzata da altre molecole cariche negativamente come l'emoglobina o altri anioni diffusibili, in accordo con la teoria dell'equilibrio di Donnan. Inoltre, in corrispondenza di elevate concentrazioni di lattato, una sempre maggior quantità di esso resta indissociata e sfrutta trasportatori non ionici, andando a variare la distribuzione tra plasma e globulo rosso.

La distribuzione del lattato tra plasma ed eritrociti non è quindi omogenea e c'è un gradiente differente tra i diversi individui. Misurando i valori, in corrispondenza di valori di lattato sul sangue intero di 4 mmol/l, la misura corrispondente sul plasma varia tra 4 e 8 mmol/l (Poso et al., 1995).

L'analizzatore Accusport è stato già validato in diverse specie (Simmons et al., 1999).

Utilizzando la modalità di misura su sangue intero, da quanto osservato in uno studio effettuato da Evans et al. (2006)

su sangue e plasma di cavallo, sembra che l'Accusport sia in grado di misurare correttamente su sangue intero le concentrazioni di lattatemia >10 mmol/L quando il valore ematocrito è inferiore al 53%. Ciò non accade quando la misurazione viene effettuata su plasma, ma ciò limita l'utilizzo dell'analizzatore, meno indicato per condizioni di campo. Inoltre, secondo le istruzioni dell'Accusport non devono essere usati campioni contenenti fluoruro di sodio e il campione di plasma deve essere ottenuto da provette con litio eparina.

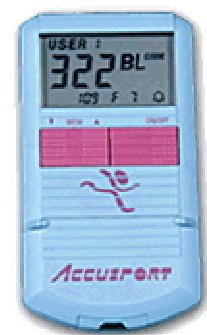


Fig. 5.3 - Accusport

Nel cavallo, i valori ottenuti sono paragonabili a quelli ottenibili in laboratorio mediante centrifugazione del plasma e analisi biochimica. È stato notato da diversi autori che, per ematocrito superiore a 53% e lattatemia maggiore a 10 mmol/l, l'Accusport tende a sottostimare il campione. La misura pare comunque abbastanza accurata per range compresi tra 0,8 e 20 mmol/l (Delesalle et al., 2007).

Mediante l'Accusport, sono stati valutati lattatemia e lattato peritoneale nel cavallo in corso di colica (Schulman et al., 2001; Delesalle et al., 2007) e lattatemia nel cane in corso di babesiosi (Nel et al., 2004).

Nel bovino è stato validato nella diagnosi di patologie respiratorie e anche in questo caso lo strumento tende a sottostimare lievemente la concentrazione

ma, anche se i valori risultano differenti da quelli di laboratorio, sono strettamente correlati ad essi (Coghe et al., 2000).



Fig 5.4 – Lactate Pro

Il Lactate Pro utilizza un metodo amperometrico. E' stato valutato nel cane e nel gatto (Acierno e Mitchell, 2007; Acierno et al., 2007) i quali hanno rilevato un

ottimo grado di accordo con la metodica di riferimento utilizzata che in questo caso era di tipo amperometrico. L'autore infatti sostiene che si riscontra un buon accordo con la tecnica di riferimento perché la metodica è la stessa e la differenza che comunque si riscontra è dovuta alla diversa tecnologia e agli algoritmi utilizzati. Il Lactate Pro utilizza la stessa metodica del Lactate Scout, ma il primo fornisce risultati in 60 secondi, l'altro in 15. Ciò suggerisce appunto che ci siano delle differenze a livello tecnologico.



Fig. 5.3: Lactate Scout

Il Lactate Scout è uno strumento portatile a batteria che utilizza un metodo enzimatico amperometrico, per misurare il lattato direttamente sul sangue intero. Richiede solo 0,5 μ l di sangue ed è dotato, al contrario dell'Accusport, di un sistema di compensazione automatica dell'ematocrito e di un sensore per la temperatura che consente un'accurata misurazione per tutte le condizioni climatiche comprese nel range tra +5 e +45°C. Dato che la temperatura influenza le caratteristiche di misurazione, è importante che le strisce reattive (che vanno conservate in frigorifero) vengano portate a temperatura ambiente prima dell'utilizzo. La rilevazione si ottiene in 15 secondi e il range di misurazione è 0,5-25 mmol/l.

Le strisce reattive sono state progettate per usi ben precisi, quindi l'utilizzo delle strisce specifiche per l'analisi del sangue umano, utilizzate per valutare soluzioni con caratteristiche di viscosità e contenuto biochimico differente, può determinare un calo d'accuratezza della lettura.

Il Lactate Scout fino ad ora è stato validato nel cane e nel gatto. I valori ottenuti dallo strumento portatile hanno una buona correlazione con quelli ottenuti mediante sistemi di laboratorio, specialmente nel range tra 0 e 5 mmol/l. Anche se spesso i valori ricadono all'interno di questo range, si deve tener conto che per valori superiori l'accuratezza cala. Se si utilizza la misurazione della lattatemia come strumento prognostico, in particolar modo quando si utilizza un cutoff preciso, i valori stimati devono essere valutati in modo cauto. Anche se sono necessari ulteriori studi, la mancanza di correlazione tra lattatemia ed ematocrito fa pensare che la misura possa essere accurata anche in caso di anemia o policitemia (Ferasin et al., 2007).

Ferasin et al. hanno utilizzato il Lactate Scout per confrontare i valori ematici di lattato ottenuti dal sangue venoso giugulare e dal sangue capillare prelevato dalla pinna auricolare, utilizzando le lancette fornite con lo strumento. Questo

sistema si è dimostrato difficilmente attuabile e non è considerato dagli autori una valida alternativa al prelievo venoso dalla giugulare .

Nordstrom et al. (1998) hanno messo a confronto, per la misura della lattatemia nel feto umano, due strumenti portatili differenti per metodo di rilevamento: uno misura il campione mediante tecnica refrattometrica (Accusport) mentre l'altro con tecnica amperometrica (Lactate Pro). Il Lactate Pro, validato da Thorneloe et al. (2007) nel cane, misura anche l'ematocrito del campione e lo utilizza per correggere la misurazione effettuata. Dallo studio è emerso che entrambi tendono a sottostimare la lattatemia in presenza di un elevato valore ematocrito ma, confrontando i valori ottenuti con il metodo di riferimento, rappresentato dall'analisi riflettometrica sul plasma, la metodologia amperometrica si è mostrata più precisa.

Studi più recenti hanno comparato tra loro quattro analizzatori portatili, Accutrend, Lactate Pro, Lactate Scout, i-STAT, sia sul cane (Acierno e Mitchell, 2007) che sul gatto (Acieno et al., 2007). I risultati dei due studi sono simili: l'i-STAT, il Lactate Pro e il Lactate Scout sembrano essere quelli maggiormente in accordo con la metodica di riferimento. L'Accutrend è invece l'analizzatore che è meno assimilabile alla metodica di riferimento, dato rilevato anche da altri autori in medicina umana (Medbo et al., 2000).

Capitolo 6

6.1 SCOPI DEL LAVORO

- Validazione dell'analizzatore portatile "Lactate Scout" per la misurazione rapida su sangue intero della lattatemia nel puledro neonato;
- Determinazione dei valori fisiologici della concentrazione venosa di lattato nel puledro sano, nelle prime 72 ore di vita;
- Valutazione dell'andamento della lattatemia nel puledro ricoverato in terapia intensiva, in relazione alle diverse patologie;
- Correlazione tra i valori ematici di lattato e altri parametri clinico-patologici nel puledro ricoverato in terapia intensiva
- Valutazione del valore prognostico della lattatemia nel puledro ricoverato in terapia intensiva.

6.2 MATERIALI E METODI

ANIMALI

Puledri neonati di età inferiore ai 7 giorni di vita ricoverati nel periodo 2004-2007, presso l'Ospedale Didattico Veterinario del Dipartimento Clinico Veterinario dell'Università di Bologna (ODV).

Tali soggetti sono stati divisi in due gruppi:

Gruppo 1– Sani: puledri nati presso l'ODV da fattrici ricoverate per il monitoraggio della gravidanza e l'assistenza al parto, con Apgar Score ≥ 8 ed esame clinico nella norma.

Gruppo 2– Malati: puledri nati da fattrici con gravidanza a rischio ricoverate per il monitoraggio e l'assistenza al parto o puledri ricoverati 6dopo la nascita presso l'ODV che richiedevano cure presso una struttura specializzata di II-III livello (Koterba et al.;1990). I puledri che sono stati inizialmente curati ma che sono stati in seguito sottoposti ad eutanasia perché prossimi al decesso sono stati inclusi nello studio.

Tutti i dati sono stati raccolti da uno dei due medici veterinari responsabili del ricovero dei puledri.

DETERMINAZIONI

GRUPPO 1

Nei puledri clinicamente sani, appartenenti al Gruppo 1, i campioni ematici per la determinazione della lattatemia sono stati ottenuti dalla vena giugulare nell'immediato post-partum (T0), poi ogni 12 ore fino alle 72 ore di vita (T12, T24, T36, T48, T60, T72).

Nei puledri nati durante la stagione riproduttiva 2006-2007 la lattatemia è stata misurata non solo con l'analizzatore Chemistry Analyzer AU400 che

utilizza un metodo enzimatico colorimetrico (metodica di riferimento) ma anche con l'analizzatore portatile Lactate Scout.

Per i dettagli riguardo le determinazioni si rimanda al paragrafo successivo relativo ai puledri del Gruppo 2.

GRUPPO 2

Per ciascun soggetto del Gruppo 2 è stato applicato un protocollo diagnostico standard e sono stati registrati in un database i seguenti parametri:

1) Esame clinico: temperatura corporea, frequenza cardiaca e respiratoria, tempo di riempimento capillare, pressione arteriosa media (MAP). La MAP è stata valutata con metodo indiretto, mediante un manicotto posto a livello dell'arteria coccigea, come descritto da Giguère et al. (2005), utilizzando lo sfigmomanometro Dynamap® pro series 300 (Critikon Company LLC, Tampa, FL, USA). Sono state registrate inoltre l'età del puledro al momento del ricovero e l'età gestazionale, in base ai dati forniti dal proprietario.

2) Esame emocromocitometrico: emoglobina (gr%), ematocrito (%), eritrociti (/mm³), piastrine (/mm³), volume eritrocitario medio (MCV) (fL), volume piastrinico medio (MPV) (fL), concentrazione emoglobinica globulare media (MCHC) (gr%), contenuto globulare medio dell'emoglobina (MCH) (pgr), ampiezza della distribuzione eritrocitaria (RDW) (%), leucociti (/mm³), neutrofili, linfociti, monociti, eosinofili.

Il campione di sangue, posto in provette S-Monovette® Sarstedt con K₃-EDTA e conservato a temperatura di refrigerazione (0–4°C), è stato analizzato entro 24 ore dal prelievo. Prima delle determinazioni analitiche, è stato sottoposto ad agitazione con Vortex (Reamix 2789) per un minuto. L'esame emocromocitometrico è stato eseguito con il contaglobuli

automatico CELL-DYN 3500R (Abbott laboratories, Santa Clara, California, USA).

Al fine di valutare morfologia eritrocitaria, morfologia e formula differenziale leucocitaria, stima, morfologia ed eventuale presenza di aggregati piastrinici, sono stati esaminati gli strisci a fresco di sangue colorati con May-GrunWald-Giemsa (Merk®) o MGG-Quick-Stain (Bio-Optica).

Tutte le determinazioni sono state eseguite presso il Servizio di Patologia Clinica Veterinaria (Sepac Vet) del Dipartimento Clinico Veterinario dell'Alma Mater Studiorum Università di Bologna.

3) Emogasanalisi arteriosa ed elettroliti: pO₂ (mmHg), pCO₂ (mmHg), HCO₃⁻ (mmol/L), BE (mmol/L), Anion Gap (mmol/L), sodio (mmol/L), potassio (mmol/L), calcio (mmol/L), cloro (mmol/L).

Per l'emogasanalisi arteriosa il sangue è stato prelevato anaerobicamente dall'arteria metatarsale dorsale con una siringa da 1 ml il cui spazio morto è stato riempito con eparina sodica (1000UI/ml).

Il campione è stato analizzato entro 10 minuti dal prelievo. Gas ematici e pH sono stati corretti per ovviare alla divergenza tra temperatura di lavoro dell'analizzatore (37°C) e quella del puledro rilevata al momento del prelievo.

Le determinazioni sono state eseguite con l'emogasanalizzatore Roche Opti CCA (Roche Diagnostic Corporation, Indianapolis, Indiana, USA) presso il Sepac Vet.

4) Parametri biochimici: creatinina (mg/dl), urea (mg/dl), proteine totali (PT) (g/dl), albumine (g/dl), rapporto albumine/globuline, magnesio (mmol/L), fibrinogeno (g/L), lattato (mmol/L).

Per la determinazione di creatinina, urea, proteine totali, albumine, rapporto albumine/globuline e magnesio, il sangue è stato raccolto in provette (S-

Monovette® Sarstedt) con “gel clotting activator” e centrifugato entro un ora dal prelievo per 10 minuti a 3000 giri/minuto. Successivamente è stato separato in quattro aliquote e mantenuto a temperatura di refrigerazione (0–4°C) fino all’esecuzione delle determinazioni richieste.

La determinazione del fibrinogeno plasmatico è stata eseguita con una metodica di tipo turbidimetrico (Fibrinogeno turbidimetrico, MeDia Diagnostics).

Il sangue è stato posto in provette S-Monovette® Sarstedt contenenti Sodio Citrato in soluzione 0,11 mol/l, con rapporto Sodio/Citrato 1:9 e conservato a temperatura di refrigerazione (0–4°C) per massimo un’ora dal prelievo. Per separare il plasma dal citrato, il campione è stato centrifugato per 10 minuti a 3000 giri/min, entro un’ora dal prelievo. Il prelievo del surnatante è stato eseguito con pipetta monouso, evitando di prelevare lo strato di plasma adiacente la frazione eritrocitaria, per ottenere un campione povero di piastrine (“platelet-poor plasma”).

Per la valutazione della lattatemia sono stati prelevati campioni di sangue al momento del ricovero (T0) e ogni 12 ore fino a 72 ore o al decesso dell’animale (T12, T24, T36, T48, T60, T72).

Il sangue è stato raccolto in provette S-Monovette® Sarstedt contenenti come anticoagulante fluoruro di sodio e ossalato di potassio, centrifugato per 10 minuti a 3000 giri/minuto immediatamente dopo il prelievo, o entro 30 minuti previa refrigerazione. Successivamente è stato separato il surnatante e conservato in aliquote congelate a -20°C per un massimo di 3 mesi, in accordo con la bibliografia e con le indicazioni riportate dalle metodiche specifiche riguardanti la stabilità di siero e plasma (Astles et al., 1994; King et al., 1995; Williamson et al., 1995).

Per la determinazione del lattato plasmatico è stata utilizzata una metodologia di tipo enzimatico-colorimetrico (LACTATE DRY-FAST Sentinel Diagnostic CH). In presenza di lattato ossidasi, il lattato viene ossidato a piruvato e perossido d’idrogeno. Per azione di una perossidasi

(POD), il perossido d'idrogeno reagisce con il TOOS [N-etil-N-(2-idrossi-3-sulfopropil)-3-metilnilina], formando un composto la cui intensità di colore è proporzionale alla concentrazione di lattato presente nel campione che viene letta dallo spettrofotometro, regolato su una lunghezza d'onda di 550 nm.

Tutti i parametri biochimici, sono stati determinati utilizzando l'analizzatore automatico Chemistry Analyzer AU400 (Olympus Diagnostica GmbH, Ireland) presso il Sepac Vet.

5) Lattatemia rapida. Per i puledri della stagione 2006 e 2007, sullo stesso campione di sangue utilizzato per la determinazione della lattatemia con Chemistry Analyzer AU400, è stata eseguita la valutazione rapida della lattatemia mediante il Lactate Scout Analyzer (SensLab Gesellschaft zur Entwicklung und Herstellung bioelektrochemischer Sensoren mbH, Leipzig, Germany).

Tale strumento compie misure di tipo enzimatico-amperometrico, comprese nel range 0,5–25,0 mmol/l, direttamente sul sangue intero, sfruttando come interfaccia delle strisce reattive. Presenta un sensore in grado di adattare la misura alla temperatura ambiente (con range di funzionamento tra +5 e +45°C) e compensa automaticamente l'influenza dell'ematocrito.

Il contenitore di strisce reattive deve essere estratto dal frigorifero venti minuti prima del prelievo e mantenuto chiuso a temperatura ambiente.

Immediatamente dopo il prelievo si estrae una striscia reattiva dal contenitore e la si inserisce nello strumento, l'apparecchio si avvia automaticamente e, quando viene indicato sul display di applicare il campione di sangue va posta una piccola goccia di sangue sull'estremità libera della striscia reattiva (sono sufficienti 0,5 µl di sangue) e in 15 secondi compare il valore di lattatemia misurato sul display.ù

6) Glicemia rapida. La glicemia è stata ottenuta con il glucosimetro portatile Medisense® Optium (Abbott laboratories, Medisense products, Bedford, MA, USA).

7) Immunoglobuline G (IgG). La determinazione delle IgG sieriche è stata eseguita utilizzando il test semiquantitativo (ELISA) SNAP Foal (IDEXX, Milano, Italia). Per i puledri dell'anno 2006-2007 la determinazione delle IgG è stata eseguita con test semiquantitativo analogo di un'altra ditta (Agrolabo S.p.A., Scarmagno, Italia).

Tali tests non forniscono il valore esatto delle IgG contenute nel campione di sangue, ma stimano le IgG in: minori di 400 mg/dl, comprese tra 400 e 800 400 mg/dl o maggiori di 800 400 mg/dl. La concentrazione di IgG sieriche è stata misurata al momento dell'ammissione se il puledro aveva almeno 18 ore di vita, altrimenti il test è stato effettuato nelle ore successive (Le Blanc, 1990).

8) Emocoltura. Il prelievo per l'emocoltura è stato eseguito al momento del ricovero, prima della somministrazione di antibiotici, anche se questi erano stati somministrati precedentemente dal veterinario referente.

Per il prelievo, i puledri venivano posizionati in decubito laterale su di un materasso e tricotomizzati a livello di doccia giugulare. Prima di ogni prelievo, l'operatore, indossando guanti sterili, posizionava una garza sterile imbevuta di alcool iodato al 10% sul tappo perforabile del terreno colturale Blood Culture System BC 100 (OXOID signal blood culture system, Oxoid Limited, Basingstoke, Hampshire, England).

Una volta raggiunto un buon contenimento del paziente, un'altra garza sterile imbevuta di alcool iodato al 10% veniva posizionata sulla zona di cute tricotomizzata e lasciata in situ per un minimo di 45-50 secondi; dopodiché si procedeva al prelievo di 10 ml di sangue. Dopo aver sostituito

L'ago con cui è stato effettuato il prelievo con uno sterile, il contenuto della siringa veniva inoculato nel terreno di crescita.

L'emocoltura veniva quindi inviata al Laboratorio di Prova di Batteriologia del Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale della Facoltà di Medicina Veterinaria dell'Università di Bologna. Qui, sotto cappa a flusso laminare, veniva inserito l'indicatore di crescita ed il tutto veniva incubato a 37°C.

Ogni campione veniva controllato tre volte al giorno per un massimo di sette giorni, trascorsi i quali veniva considerato negativo; in caso contrario, si procedeva ad una semina su piastre di Agar sangue (Oxoid), Cled Agar (Oxoid) e McConkey Agar (Oxoid) che venivano incubati in aerobiosi a 37°C, e su di una piastra di Columbia agar (Oxoid) che invece veniva incubata in anaerobiosi sempre a 37°C.

In caso di positività, 3-4 ml di brodo colturale venivano centrifugati a 3500 rpm per 15 minuti. Il sedimento così ottenuto veniva sottoposto a colorazione di Gram, quindi utilizzato per l'allestimento di un primo antibiogramma col quale fornire al clinico indicazioni tempestive sulla terapia antibiotica.

In un secondo momento, i ceppi isolati ed accuratamente clonati ed identificati, venivano sottoposti ad un secondo antibiogramma, seguendo le metodiche standard riconosciute a livello internazionale.

9) Compilazione del Sepsis Score secondo Brewer e Koterba (1988): Per la compilazione dello score, i dati anamnestici e quelli relativi alla fattrice sono stati forniti dal veterinario referente o dal proprietario dell'animale.

10) Coltura di altri eventuali campioni biologici: feci, urine, liquido sinoviale, aspirato trans-tracheale, ecc..

12) Altri campioni In caso di decesso dell'animale, durante l'esame autoptico, sono stati raccolti i campioni degli apparati con lesioni patologiche o campioni di fegato, milza, polmone e timo per la ricerca di batteri (Laboratorio di Prova di Batteriologia del Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale della Facoltà di Medicina Veterinaria dell'Università di Bologna) o virus (Istituto Zooprofilattico Sperimentale di Brescia) anche in assenza di lesioni patologiche macroscopiche.

DIAGNOSI E CLASSIFICAZIONE

I puledri sono stati successivamente classificati in base alla diagnosi secondo le seguenti definizioni:

- ✓ **“Sepsi”** - isolamento di un patogeno dall'emocoltura al momento del ricovero, dalla coltura di un patogeno da un sito di sospetta infezione o da un organo prelevato post-mortem.

- ✓ **“Shock settico”** - presenza di setticemia con tachicardia accompagnata da segni che indicano uno stato di ipotensione/ipoperfusione, come diminuzione del polso periferico, alterato stato mentale, tempo di riempimento capillare aumentato (> 2”), estremità fredde, diminuzione dell'output urinario (Levy et al 2003).

- ✓ **“Sindrome da Asfissia Perinatale (PAS)”** – presenza di dati anamnestici e segni clinici specifici, in particolare quelli neurologici riferibili ad encefalopatia ipossico-ischemica (HIE) (Knottenbelt et al., 2004).

✓“*PAS complicata*” – presenza di PAS con complicazioni secondarie (rottura della vescica, infezioni localizzate, ulcera gastrica) (Stoneham; 2007).

✓“*Prematurità/dismaturità*” – nascita prima di 320 giorni di gestazione e nascita a termine ma con caratteristiche fisiche di immaturità, rispettivamente. Le due classi di puledri sono state comunque associate essendo identici sia l’approccio al paziente che la terapia (Knottenbelt et al., 2004).

✓“*Non-classificabili*” – presenza di diarrea di origine sconosciuta o risposta clinica ad antibiotici senza la presenza documentata di infezione o evidenza clinica di infiammazione senza una documentata infezione.

I puledri affetti da più di una patologia sono stati classificati considerando la patologia più grave al momento del ricovero.

✓Per indagare sulla correlazione tra i valori ematici di lattato e la presenza o meno di **SIRS (Systemic Inflammatory Response Syndrome)**, i puledri del Gruppo 2 sono stati divisi in due sottogruppi: SIRS e non-SIRS. Il concetto di SIRS non è stato utilizzato tra le diagnosi classificate in quanto la risposta infiammatoria sistemica può essere provocata da una serie di insulti infettivi e non infettivi ed è quindi considerata una definizione non specifica (Levy et al., 2003). La classificazione dei puledri nel sottogruppo SIRS nei puledri è basata sulla presenza di almeno due dei seguenti riscontri, di cui uno, come nel paziente pediatrico umano (Goldstein et al.; 2005) deve necessariamente essere una anomalia nella temperatura corporea o nella conta leucocitaria:

- Iper- o ipotermia;
- Leucocitosi, leucopenia o presenza del 10% di neutrofili banda;
- Tachicardia in assenza di uno stimolo esterno doloroso o che provochi eccitazione;
- Tachipnea.

Sono stati utilizzati i valori di riferimento riportati in bibliografia (Harvey, 1990; Koterba, 1990).

✓ I puledri **sopravvissuti** sono quelli che sono stati dimessi vivi dall'ODV.

6.3 ANALISI STATISTICA

✓ L'analisi statistica per valutare l'accuratezza dell'analizzatore portatile Lactate Scout rispetto alla metodica di riferimento è stata effettuata con la correlazione lineare di Pearson, la regressione lineare e il metodo di Bland e Altman, in accordo con la bibliografia (Bland e Altman, 1986; Linder, 1996; Pyne et al., 2000; Delesalle et al., 2007; Ferasin et al., 2007; Tennent-Brown et al., 2007). Per confrontare il grado di accordo tra i due metodi di misurazione della lattatemia si è tenuto conto principalmente del metodo di Bland e Altman. L'influenza del valore ematocrito sulla misurazione della lattatemia effettuata con il Lactate Scout Analyzer è stata valutata mediante la correlazione lineare di Pearson.

✓ Il test di Kruskal-Wallis è stato utilizzato per analizzare:

- Il lattato misurato all'ammissione e nei tempi successivi è stato comparato in puledri con differenti diagnosi. Per quest'analisi sono stati presi in considerazione però solo gruppi diagnostici formati da più di quattro animali;
- l'andamento nel tempo dei valori medi di lattatemia nei puledri sani e nei puledri ricoverati in terapia intensiva, nei sopravvissuti e nei deceduti;

Nel caso in cui il test di Kruskal-Wallis sia risultato significativo, è stata utilizzata la correzione del Bonferroni per effettuare confronti multipli post-hoc.

✓ Per comparare la lattatemia rilevata al momento del ricovero con altri parametri clinico-patologici di tipo quantitativo, è stata utilizzata la correlazione lineare secondo Pearson per i dati di tipo parametrico, e il test di Spearman, per i dati di tipo non parametrico.

✓ Per correlare i valori di lattatemia rilevata al momento del ricovero con la presenza di emocoltura positiva o negativa, presenza o meno di SIRS, Sepsis Score maggiore o minore di 11 e infezioni sostenute da Gram- o da Gram+, è stato utilizzato il test di Mann-Whitney. Lo stesso test è stato utilizzato per correlare i valori di lattatemia misurati dal momento del ricovero, ai diversi tempi, con l'exitus.

Per ciascun test i risultati sono stati considerati significativi per $p < 0,05$. L'analisi statistica dei dati è stata realizzata con un software commerciale (Analyse-it, versione 2.07).

✓ E' stato inoltre analizzato il tempo di "clearance" (smaltimento) del lattato (LACTIME) nei puledri sopravvissuti e non-sopravvissuti.

✓ Per valutare la capacità dell'iperlattatemia nel predire la sopravvivenza, sono stati calcolati specificità, sensibilità, valore predittivo negativo (VPN) e valore predittivo positivo (VPP) utilizzando un metodo accessibile via web (www.cebm.net, Centre for Evidence Based Medicine).

6.4 RISULTATI

POPOLAZIONE

Nello studio sono stati inclusi 115 puledri.

Nel **Gruppo 1** sono stati inclusi 26 puledri clinicamente sani appartenenti a razze differenti: Standardbred (n=15), Appaloosa (n=5), Sella Italiano (n=4), Quarter Horse (n=1) e Purosangue Belga (n=1).

Il **Gruppo 2** comprende 89 puledri malatri con meno di 7 giorni di vita.

Le razze rappresentate nel Gruppo 1 riflettono quella che è la popolazione locale: Standardbred (n=61), Sella Italiano (n=9), Quarter Horse (n=8), Purosangue Arabo (n=6), Paint Horse (n=2), Appaloosa (n=1) e incroci (n=2).

Settantadue puledri/89 (81%) sono sopravvissuti e sono stati dimessi, 17/89 (19%) sono deceduti.

L'età media dei puledri del Gruppo 1 al momento del ricovero è di 36 ore: i puledri sopravvissuti hanno un'età media di 47 ore, i non-sopravvissuti di 26 ore. Nel gruppo sono inclusi 38 puledri di sesso femminile (33 sopravvissuti e 5 non sopravvissuti) e 51 di sesso maschile (39 sopravvissuti e 12 non sopravvissuti).

Undici puledri inclusi nel Gruppo 1 sono nati da fattrici ricoverate presso ODV con gravidanza a rischio e 2 di questi non sono sopravvissuti.

I puledri appartenenti al Gruppo 1 sono stati così classificati in base alla diagnosi: PAS (n=21), sepsi (n=17), shock settico (n=11), costipazione da meconio (n=6); prematurità/dismaturità (n=5), , PAS complicata (n=5), malformazioni congenite (n=4); isoeritrolisi neonatale (n=2), shock emorragico (n=2), ematoma ombelicale (n=2), trauma cranico (n=1), non classificati (n=11).

I puledri deceduti presentavano le seguenti patologie: shock settico (n=11), malformazioni congenite (n=2), shock emorragico (n=1) e PAS complicata (n=1).

Il mancato trasferimento dell'immunità passiva (IgG<400 mg/dl) è stato riscontrato in 30 puledri (22 sopravvissuti e 8 non sopravvissuti).

L'emocoltura è risultata positiva in 21 puledri sopravvissuti e in 11 non sopravvissuti. I batteri isolati dall'emocoltura e dai siti di infezione localizzata sono 16 Gram- (9 di questi isolati da puledri non sopravvissuti), 11 Gram+ (tutti isolati da puledri sopravvissuti). In un caso relativo ad un puledro sopravvissuto è stata riscontrata una infezione mista.

Il Sepsis Score è risultato ≥ 11 in 17 puledri sopravvissuti e in 12 puledri non sopravvissuti.

Quarantasette/89 puledri ricoverati (32 sopravvissuti e 12 non sopravvissuti) presentavano SIRS al momento del ricovero.

VALIDAZIONE DELL'ANALIZZATORE PORTATILE LACTATE SCOUT

La valutazione dell'attendibilità delle misurazioni effettuate con l'analizzatore Lactate Scout è stata effettuata utilizzando una popolazione costituita da 60 puledri di cui 47 ricoverati in terapia intensiva e 13 clinicamente sani.

Ogni campione ottenuto da questi animali è stato valutato sia con il Lactate Scout che con la metodica di riferimento (Chemistry Analyzer AU400). La lattatemia è stata misurata ogni 12 ore per 72 ore, eseguendo il primo prelievo al momento del ricovero per i puledri malati e immediatamente dopo la nascita per i puledri sani. La misurazione con entrambe i metodi non è avvenuta in tutti i tempi descritti a causa di vari fattori, come ad esempio la dimissione o il decesso del paziente o errore degli operatori.

Sono state ottenute in totale 201 coppie di valori.

Il coefficiente di correlazione di Pearson tra le 201 coppie di valori mostra un buon grado di correlazione tra le due metodiche ($r=0,95$; $p<0,01$).

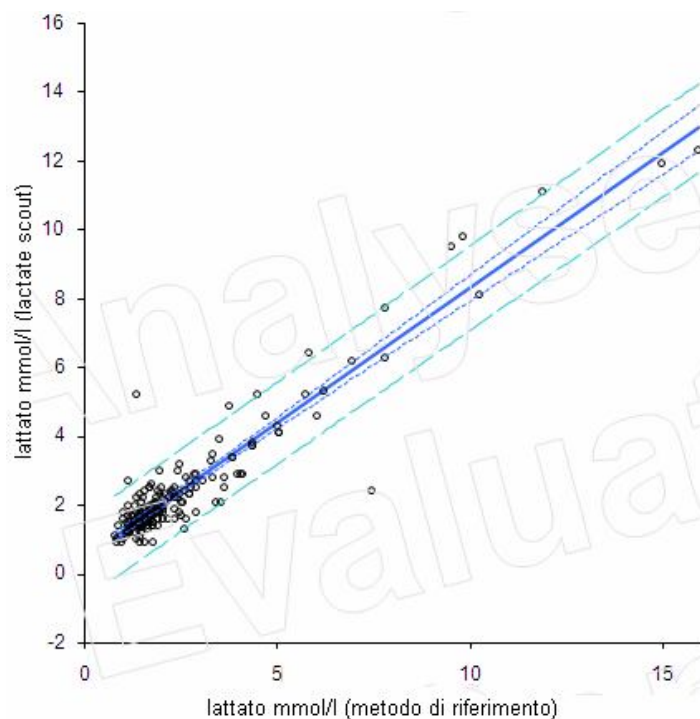


Fig. 6.1: Confronto tra metodo rapido e metodo di riferimento con il metodo della regressione lineare.

La regressione lineare, valutata nel range compreso tra 0,8 e 16 mmol/l, ha mostrato un buon grado di accordo tra i due test ($r^2=0,89$; pendenza=0,79; intervallo di confidenza 95%=0,75–0,82; intercetta=0,44; intervallo di confidenza 95%=0,31-0,57) (Fig. 1).

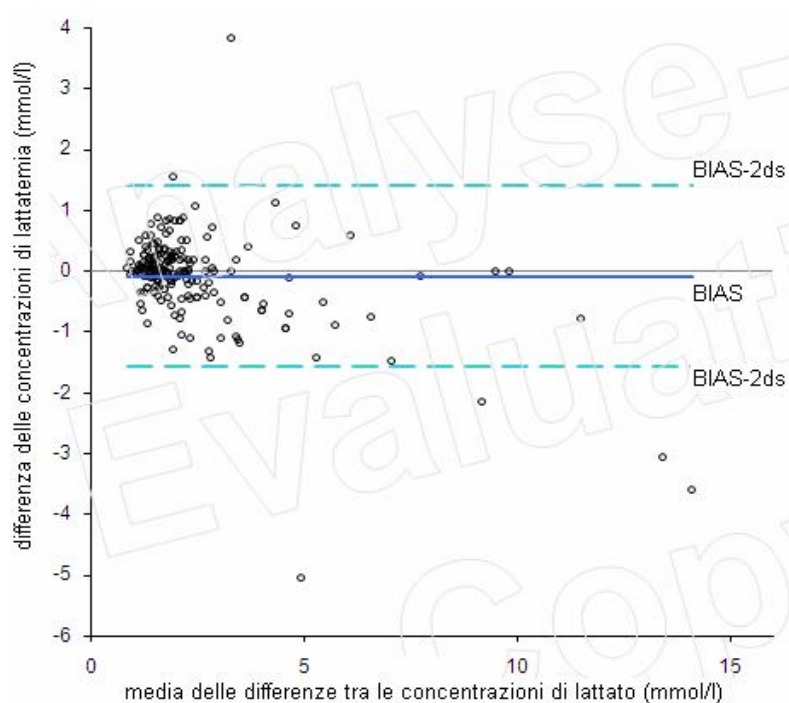


Fig. 6.2: Confronto tra metodo rapido e metodo di riferimento per tutte le 201 coppie di valori secondo il metodo di Bland e Altman.

Il grado di correlazione valutato con il metodo grafico descritto da Bland e Altman ha confermato l'accuratezza del Lactate Scout, in quanto la variazione è vicina allo zero considerando tutte le misurazioni (variazione = -0,09; ds delle differenze = $\pm 0,757$; intervallo di confidenza 95% = -1,574–1,394).

Secondo il metodo di Bland e Altman, l'accuratezza della misura ottenuta con il Lactate Scout è buona per i valori inclusi nell'intervallo compreso tra il valore medio della differenza tra i due metodi $\pm 1,96$ ds.

Dato che i campioni con elevata lattatemia possono trovarsi al di fuori di questo range, è stata ripetuta l'analisi statistica per verificare il grado d'accordo tra i due metodi anche per valori di lattatemia superiori alle 5 mmol/l.

Al di sopra di tale valore il coefficiente di correlazione calcolato con il metodo di Pearson continua a mostrare un buon grado d'accordo ($r=0,94$; $p<0,01$), ma si ha un calo della precisione della misurazione, dimostrato

dall'aumento dell'intercetta (intercetta=1,68; intervallo di confidenza al 95% = 0,01–3,35) e dall'aumento dell'intervallo di confidenza al 95% utilizzando il metodo di Bland e Altman (intervallo di confidenza al 95% = -3,583–1,464).

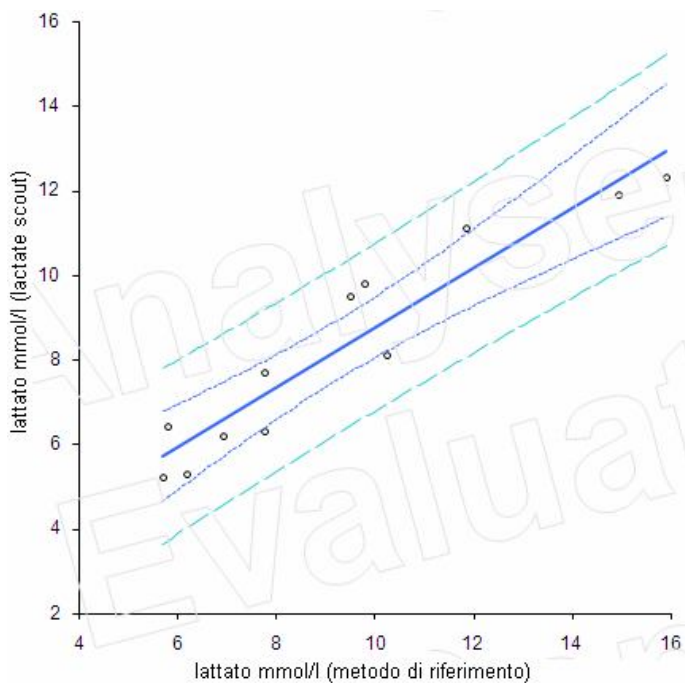


Fig. 6.3: Confronto tra metodo rapido e metodo di riferimento con il metodo della regressione lineare per valori di lattatemia >5 mmol/l.

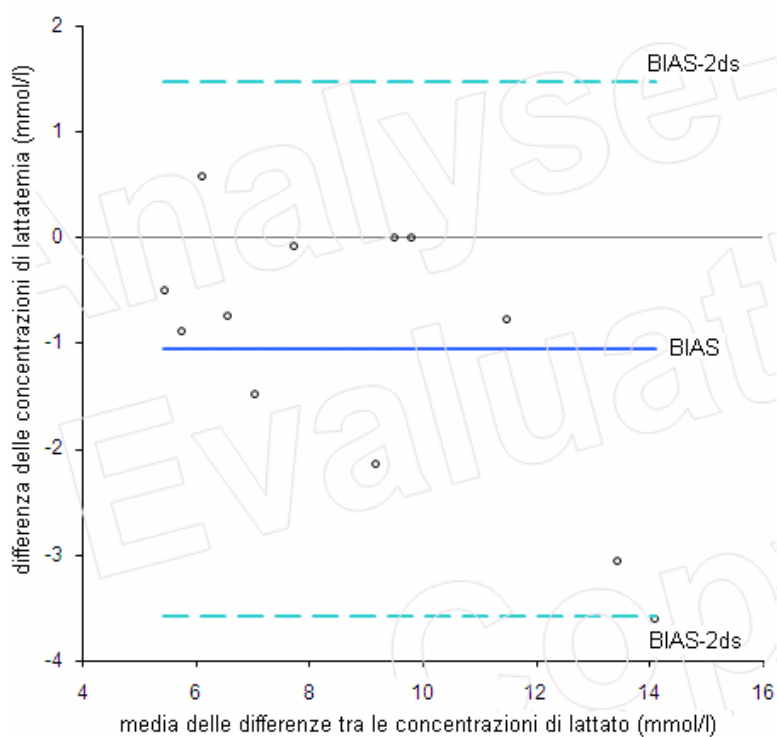


Fig. 6.4: Confronto tra metodo rapido e metodo di riferimento secondo il metodo Bland e Altman, per valori di lattatemia >5 mmol/l.

Per valutare se la presenza di emoglobina e globuli rossi presenti nel campione di sangue intero può influire sulla misurazione della lattatemia, è stata valutata la presenza di correlazione, su un totale di 58 campioni, tra il valore di lattatemia misurata con l'analizzatore portatile e l'ematocrito corrispondente (mediana 39%; intervallo di confidenza al 95% = 35-41%, per un range di valori d'ematocrito compreso tra 5% e 57%). Il test non ha riscontrato una correlazione significativa ($r = -0,04$; $p = 0,63$).

GRUPPO 1 – LA LATTATEMIA NEI PULEDRI SANI

Dai valori di lattatemia dei puledri clinicamente sani appartenenti al Gruppo 2 sono stati calcolati i range specifici per l'età illustrati nella Tabella 1.

L'analisi statistica non ha rilevato differenze tra le concentrazioni di lattato misurate a T0 e T12. Al contrario la lattatemia misurata a T0 e T12 è statisticamente differente ($p < 0,01$) dalla lattatemia misurata nei tempi successivi fino a T72.

Tabella 6.1. Concentrazione ematica di lattato (mmol/L) dal T0 al T72 nei puledri clinicamente sani.

I risultati sono espressi come mediana, valore massimo e minimo, media $\pm ds$, numero dei campioni analizzati. I risultati del test Kruskal-Wallis sono indicati con lettere in apice sul valore della mediana. Lettere differenti indicano la presenza di una differenza significativa ($p < 0,05$).

	Mediana	Valore massimo	Valore minimo	Media $\pm ds$	N. campioni
T0	3,4 ^a	10,2	1,7	3,8 \pm 1,9	26
T12	2,6 ^a	7,5	0,9	2,8 \pm 1,3	26
T24	2,1 ^b	3,7	1	2,1 \pm 0,8	25
T36	1,9 ^b	4	1,1	2,0 \pm 0,7	25
T48	1,5 ^b	3	1	1,7 \pm 0,6	25
T60	1,7 ^b	3,3	0,7	1,8 \pm 0,7	24
T72	1,7 ^b	3,6	0,9	1,9 \pm 0,7	24

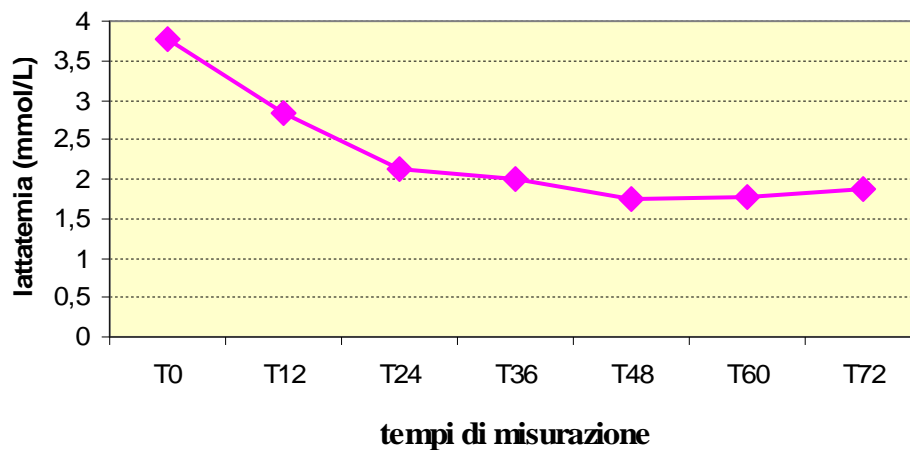


Fig 6.5– Andamento della lattatemia nei puledri sani dal T0 al T72.

LA LATTATEMIA NEI PULEDRI NEONATI RICOVERATI IN TERAPIA INTENSIVA, IN RELAZIONE ALLE DIVERSE PATOLOGIE

La concentrazione venosa di lattato al momento del ricovero è stata misurata su 88 puledri appartenenti al Gruppo 2.

E' interessante notare che è presente una grande variazione tra il lattato misurato al momento del ricovero e il lattato misurato dopo 36 ore; è stata riscontrata infatti una diminuzione fino a 35,7 mmol/L (in un animale sopravvissuto) e un aumento fino a 21,5 mmol/L (in un animale deceduto). La media della variazione dopo 36 ore dal ricovero è di -3,0 mmol/L, la mediana è -1,4 mmol/L.

I valori più alti di lattatemia al ricovero sono stati riscontrati nei puledri con shock emorragico (mediana 25,8; range 36,6–15 mmol/L) e con isoeritrolisi neonatale (mediana 10,34; range 17,48–3,20), seguiti da quelli con shock settico (mediana 9,5; range 20,0–3,5). Valori intermedi sono

stati riscontrati nelle malformazioni (mediana 7,76; range 14,54–1), nei traumi (mediana 7,64; range 10,09–5,20), nella PAS complicata (mediana 6,25; range 8,35–1,80) e nella prematurità/dismaturità (mediana 4,60; range 10,89–1,30). Nei puledri con PAS (mediana 3,57; range 11,90–1,60) e in quelli con setticemia (mediana 2,28; range 24,94–0,90) sono stati riscontrati valori medi più bassi rispetto agli altri gruppi diagnostici. Il valore più basso è stato rilevato nella costipazione da meconio (mediana 1,73; range 5,30–1,80).

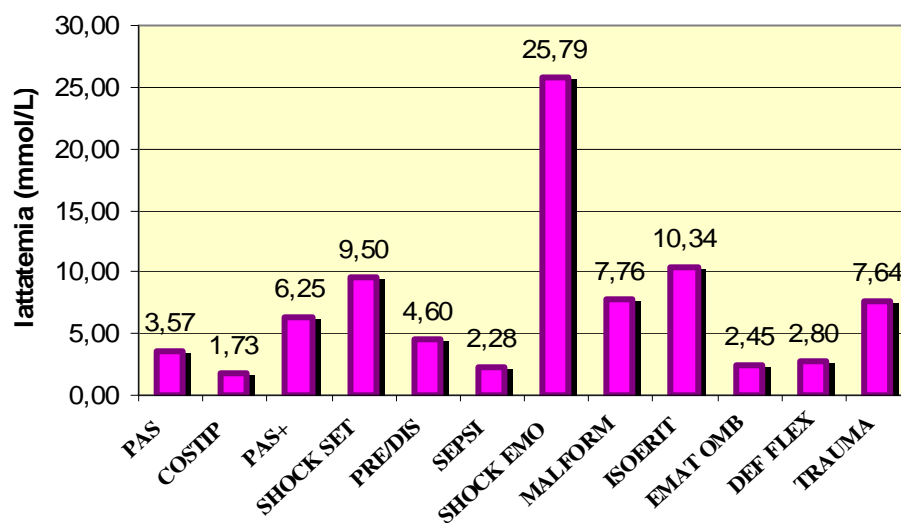


Fig 6.6 – Lattatemia (mmol/L) misurata al momento del ricovero (T0) in tutti gruppi diagnostici.

L'analisi della varianza effettuata con il test di Kruskal-Wallis nei gruppi diagnostici con più di 4 puledri (PAS, PAS complicata, sepsi, shock settico, prematurità/dismaturità, costipazione da meconio) ha rilevato una differenza altamente significativa ($p < 0,001$) per la lattatemia misurata al momento del ricovero, e una differenza significativa dopo 60 ($p < 0,05$) e 72 ore ($p < 0,05$).

- ✓ Al ricovero i valori di lattatemia dei puledri in shock settico risultano significativamente maggiori rispetto a quelli con pre/dismaturità ($p=0,0225$), sepsi ($p<0,0001$), costipazione da meconio ($p<0,0001$) e

PAS ($p=0,0023$). Sono stati riscontrati inoltre valori di lattatemia significativamente più alti nei puledri con PAS ($p=0,0126$) e PAS complicata ($p=0,0053$) rispetto ai valori nella costipazione da meconio.

- ✓ Dopo 60 ore dal ricovero, la lattatemia nella PAS complicata risulta essere significativamente maggiore da quella misurata nei puledri con prematurità/dismaturità ($p=0,0079$), nella sepsi ($p=0,0059$), nella PAS ($p=0,0003$) e nella costipazione da meconio ($p=0,0190$); i puledri con shock settico hanno valori significativamente maggiori ($p=0,0109$) rispetto a quelli affetti da PAS.
- ✓ A 72 ore dal ricovero i puledri con shock settico ($p=0,04$), i prematuri/dismaturi ($p=0,0383$) e i puledri con PAS complicata ($p=0,0076$) hanno valori di lattatemia più alti rispetto a quelli con sepsi. Anche dopo 72 ore la lattatemia dei puledri con PAS complicata è più alta rispetto a quella riscontrata nella PAS ($p=0,0176$).
- ✓ Le concentrazioni di lattato nei maggiori gruppi diagnostici, dal T0 al T72 sono riportate nella Tabella 6.2.

Tabella 6.2. Concentrazione ematica di lattato dal T0 al T72 nei maggiori gruppi diagnostici. I risultati sono espressi come media \pm ds e il numero dei campioni per ogni tempo è riportato tra parentesi. La significatività del test di Kruskal Wallis con la correzione del Bonferroni è indicato con lettere in apice disposte per riga. Lettere differenti indicano la presenza di una differenza significativa ($p < 0,05$).

	Shock settico	Sepsi	PAS	PAS +	Dismaturità	Costipazione
T0	10,4 \pm 4,7 ^a (n=11)	4,6 \pm 5,8 ^b (n=17)	4,9 \pm 3,4 ^b (n=21)	6,0 \pm 2,4 ^a (n=5)	5,0 \pm 3,6 ^b (n=5)	2,2 \pm 1,6 ^c (n=5)
T12	4,3 \pm 0,9 (n=3)	3,3 \pm 4,3 (n=15)	2,6 \pm 1,3 (n=21)	3,9 \pm 2,4 (n=5)	3,7 \pm 2,1 (n=5)	1,9 \pm 0,5 (n=5)
T24	5,5 \pm 3,7 (n=3)	1,9 \pm 0,9 (n=16)	2,1 \pm 1,3 (n=21)	3,1 \pm 1,7 (n=5)	2,1 \pm 2,3 (n=5)	1,6 \pm 0,5 (n=5)
T36	4,9 \pm 6,1 (n=3)	1,6 \pm 1,7 (n=16)	1,9 \pm 2,0 (n=21)	2,5 \pm 2,7 (n=5)	1,3 \pm 1,2 (n=4)	1,52 \pm 1,59 (n=5)
T48	1,5 (n=1)	1,5 \pm 0,4 (n=16)	1,5 \pm 0,5 (n=21)	2,8 \pm 1,4 (n=4)	1,4 \pm 0,3 (n=4)	1,5 \pm 0,6 (n=4)
T60	2,9 ^a (n=1)	1,3 \pm 0,4 ^b (n=16)	1,5 \pm 0,6 ^b (n=21)	2,9 \pm 1,6 ^a (n=4)	1,1 \pm 0,1 ^b (n=4)	1,4 \pm 0,3 ^b (n=4)
T72	9,8 ^a (n=1)	1,3 \pm 0,3 ^b (n=13)	1,5 \pm 0,6 ^b (n=20)	4,0 \pm 4,2 ^a (n=4)	2,0 \pm 0,8 ^a (n=5)	1,4 \pm 0,2 ^b (n=4)

Lo studio dell'andamento della lattatemia all'interno delle singole patologie ha rilevato che:

- ✓ Nei puledri affetti da PAS i valori di lattatemia non differiscono a 0 e 12 ore dal ricovero, e a 12 e 24 ore dal ricovero. La lattatemia si stabilizza dopo 24 ore dal ricovero;
- ✓ Nella sepsi la lattatemia si stabilizza dopo 12 ore;
- ✓ Non c'è differenza statisticamente significativa tra i valori di lattatemia misurati da 0 a 72 ore negli altri gruppi diagnostici: PAS complicata, shock settico, costipazione da meconio e pre/dismaturità.

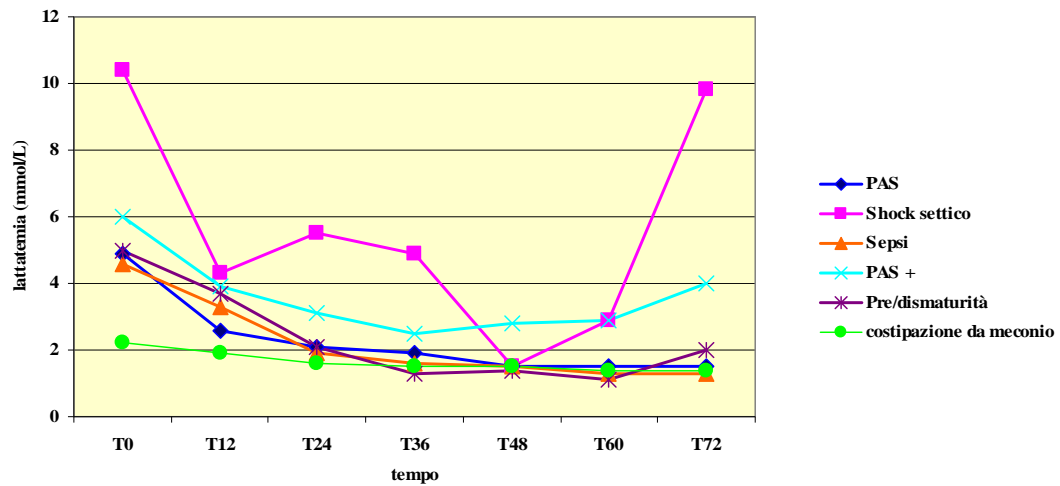


Fig 6.7– Andamento della lattatemia (mmol/L) nei principali gruppi diagnostici dal momento del ricovero (T0) fino a 72 ore dal ricovero (T72).

LATTATEMIA E ALTRE VARIABILI CLINICO-PATOLOGICHE NEI PULEDRI NEONATI RICOVERATI IN TERAPIA INTENSIVA.

Lo studio delle correlazioni tra i valori di lattatemia e le altre variabili clinico-patologiche rilevate al momento del ricovero è stato effettuato con la correlazione lineare secondo Pearson o con il test di Spearman a seconda della distribuzione dei dati (parametrica o non-parametrica rispettivamente).

✓ Il test della correlazione lineare ha evidenziato una correlazione negativa altamente significativa con:

- ione bicarbonato ($r = -0,66$; $p < 0,01$);
- pH ($r = -0,60$; $p < 0,01$);
- base excess (BE) ($r = -0,69$; $p < 0,01$);
- MAP ($r = -0,44$; $p < 0,01$),
- temperatura corporea ($r = -0,30$; $p < 0,01$).

- ✓ Correlazione negativa significativa è stata evidenziata con:
 - frequenza respiratoria ($r = -0,21$; $p < 0,05$),
 - MCHC ($r = -0,21$; $p < 0,05$),
 - fibrinogeno ($r = -0,22$; $p < 0,05$).
- ✓ Una correlazione positiva altamente significativa è stata riscontrata con:
 - anion gap ($r = 0,65$; $p < 0,01$);
 - magnesio ($r = 0,39$; $p < 0,01$).
- ✓ Il test di Spearman ha evidenziato una correlazione positiva significativa con:
 - cloro ($R = 0,30$; $p < 0,01$);
- ✓ Una correlazione negativa significativa con:
 - piastrine ($R = -0,31$; $p < 0,01$);
 - glucosio ($R = -0,23$; $p < 0,05$).

Una MAP < 60 mmHg è stata riscontrata in 16/89 (18%) puledri con un valore medio di lattatemia di 11,88 mmol/L (mediana 9,65 mmol/L; range 3,6-35,5 mmol/L). Quattordici/16 (87,5%) concentrazioni di lattato nei puledri con MAP < 60 mmHg erano maggiori di 6 mmol/L.

Sessantaquattro puledri presentavano una MAP ≥ 60 mmHg e valori di lattatemia compresi tra 29,9 mmol/L e 0,9 mmol/L (mediana 2,9 mmol/L); 42/64 (66%) puledri avevano concentrazioni di lattato inferiori a 5 mmol/L. L'**acidosi lattica** (lattatemia > 5 mmol/L e $\text{pH} < 7,35$) è stata riscontrata in 28 puledri (17 sopravvissuti e 11 deceduti).

In questi 28 puledri è stata riscontrata una MAP < 60 mmHg in 4/17 sopravvissuti e in 9/11 non sopravvissuti. Tra i nove puledri non sopravvissuti con ipotensione (mediana 40 mmHg; range 5-35 mmHg) e acidosi lattica, 7 erano anche leucopenici (mediana 1600/mm³; range 4700–700/mm³) e sono deceduti entro 12 ore dal ricovero con diagnosi di shock settico.

In 5/7 puledri con acidosi lattica, ipotensione e leucopenia è stata rilevata una $pO_2 \leq 70$ mmHg (mediana 30 mmHg; range 56–21) e 5/7 presentavano un valore di piastrine $< 150000/mm^3$ (mediana $103000/mm^3$; range 149000–59200/ mm^3).

Tra i 17 puledri sopravvissuti con acidosi lattica solo 4 presentavano al ricovero una MAP < 60 . Di questi, 3/4 avevano una stima piastrinica $> 150000/mm^3$ ed un valore non è stato rilevato. Due dei quattro puledri sopravvissuti con ipotensione e acidosi lattica erano affetti da PAS, uno da shock emorragico, uno da sepsi.

Tra i puledri sopravvissuti con iperlattatemia (lattato > 5 mmol/L) ma che non presentavano acidosi, 9 avevano pH normale e MAP ≥ 70 mmHg, ad eccezione di uno con MAP di 65 mmHg. Tutti presentavano una $pO_2 > 65$ mmHg e una $CO_2 < 50$ mmHg. Per i nove puledri sono state emesse le seguenti diagnosi: PAS (4/9), PAS + (2/9), setticemia, dismaturità e trauma cranico (1/9).

Due dei puledri deceduti presentavano iperlattatemia ed un pH $\geq 7,35$ ed erano affetti da shock settico.

Ventinueve/72 (40%) puledri sopravvissuti e due/17 (12%) puledri non sopravvissuti presentavano valori di lattatemia compresi nel range specifico per l'età.

Il test di Mann-Whitney non ha rilevato differenze statisticamente significative per la lattatemia misurata a T0, T12, T24, T36 tra puledri con emocoltura positiva (mediana 5,8 mmol/L; range 0,9-36,6 mmol/L) o negativa (mediana 3,3 mmol/L; range 1-20 mmol/L), con infezioni da batteri Gram- (mediana 8,2; range 1,5-36,6) o Gram + (mediana 4,9; range 0,9-6,2) con Sepsis Score maggiore (mediana 7,7 mmol/L; range 0,9-20 mmol/L) o inferiore a 11 (mediana 3,2 mmol/L; range 1-36,6).

Una differenza significativa è stata riscontrata a T0 ($p < 0,01$), T12 ($p < 0,05$) e T24 ($p < 0,01$) tra puledri del Gruppo 2 che presentavano SIRS (mediana

5,7 mmol/L; range 1,5-36,6 mmol/L) al momento del ricovero e gli altri (mediana 2,9 mmol/L; 0,9-11,9).

VALUTAZIONE DEL VALORE PROGNOSTICO DELLA LATTATEMIA NEL PULEDRO RICOVERATO IN TERAPIA INTENSIVA

La concentrazione ematica di lattato a T0, T12, T24, T36, T48, T60, T72 risulta essere significativamente più bassa ($p < 0,01$) nei puledri che sono sopravvissuti al ricovero, come mostrano i dati riportati nella tabella 4.

Per quanto riguarda l'andamento della lattatemia nel sottogruppo dei sopravvissuti l'analisi statistica ha evidenziato una differenza significativa ($p < 0,01$) tra i valori di lattato misurati al T0 e quelli misurati nei tempi successivi dal T24 in poi, ad eccezione del T12.

E' interessante notare che nel sottogruppo dei puledri deceduti non esiste una differenza statisticamente significativa nei valori della lattatemia.

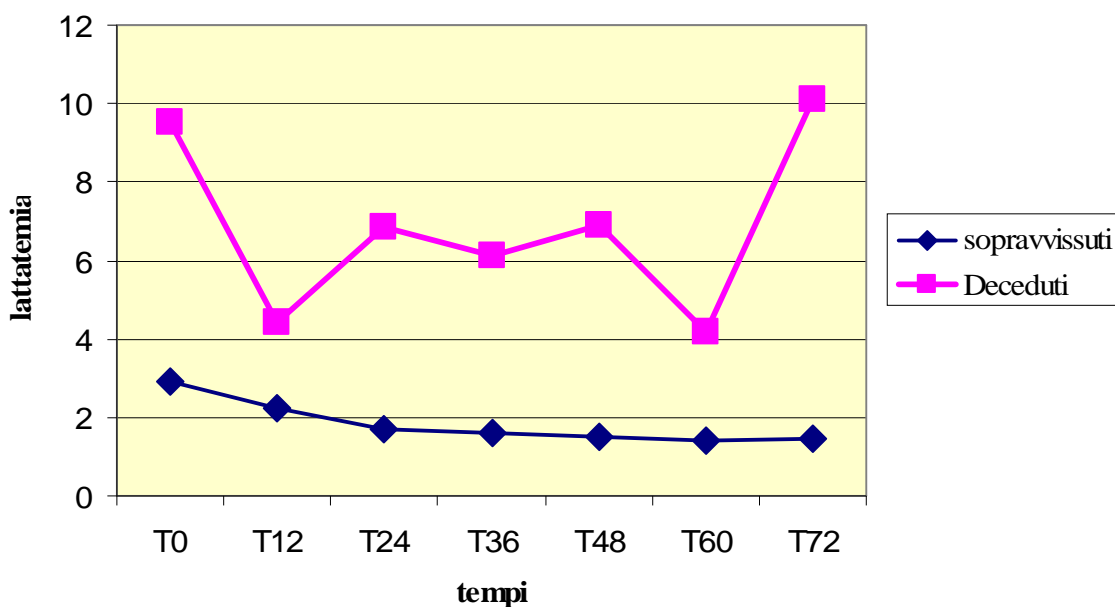


Fig 6.8 – Andamento della lattatemia (mmol/L) nei puledri sopravvissuti e nei deceduti dal momento del ricovero (T0) ogni 12 ore fino a 72 ore (T72).

Tabella 4. Concentrazione ematica di lattato (mmol/L) dal T0 al T72 nei puledri **sopravvissuti (S)** e in quelli **non sopravvissuti (NS)**.

I risultati sono espressi come mediana, valore massimo e minimo. Il numero dei campioni per ciascun tempo è riportato tra parentesi. La significatività del test di Kruskal Wallis con la correzione del Bonferroni è indicato con lettere in apice disposte per riga. Lettere differenti indicano la presenza di una differenza significativa ($p < 0,05$).

	T0	T12	T24	T36	T48	T60	T72
S	2,9 ^a (36,6-0,9) (n=72)	2,3 ^a (18,8-0,6) (n=68)	1,7 ^b (7-0,8) (n=68)	1,6 ^b (6,5-0,6) (n=67)	1,5 ^b (3,7-0,6) (n=65)	1,4 ^b (3,5-0,6) (n=63)	1,5 ^b (3,6-0,9) (n=56)
NS	9,5 (19,98-1) (n=17)	4,5 (5,2-2,2) (n=6)	5,3 (22,9-1,8) (n=5)	4,1 (23,1-1,3) (n=5)	4,3 (22,8-1,5) (n=3)	4,2 (5,4-2,9) (n=2)	10,1 (10,4-9,8) (n=2)

I puledri del Gruppo 2 sono stati suddivisi per età in modo da poterli confrontare con i sani, considerati come gruppo di controllo.

Gli animali malati ricoverati in tempi intermedi rispetto a quelli prestabiliti per il monitoraggio della lattatemia negli animali sani sono stati confrontati con il tempo precedente se le ore di differenza tra le ore di vita dei due gruppi era minore di 6, e con il tempo successivo se tale differenza era maggiore di 6. Quindi ad esempio, un animale ricoverato a 9 ore di vita è stato confrontato con gli animali sani del tempo T12.

✓ La lattatemia misurata nei puledri malati con età compresa tra 0 e 5 ore di vita risulta essere differente da quella del gruppo di controllo ed in particolare più alta ma solo per i puledri che non sono sopravvissuti al ricovero (mediana 10,98; range 19,98–4,95) che hanno valori significativamente più alti anche rispetto ai puledri sopravvissuti (mediana 3,55; range 11,9–1,3).

- ✓ I puledri malati con età compresa tra 6 e 17 ore di vita, sia sopravvissuti (mediana 5,72; range 24,94–2,8) che non (mediana 14,68; range 14,98–2,02) hanno valori di lattatemia che sono più alti rispetto a quelli dei sani della stessa età.
- ✓ Per i puledri di età compresa tra 18 e 30 ore di vita solo la lattatemia misurata nei puledri deceduti (mediana 9,5; range 10,56–8,2) è significativamente più alta rispetto al gruppo di controllo.
- ✓ Negli altri gruppi di età non è stata più riscontrata una differenza significativa.

Table 5. Concentrazione venosa di lattato (mmol/L) in puledri ricoverati in terapia intensiva (Gruppo 2), al momento del ricovero (T0). I puledri sono stati divisi in quattro gruppi di età per comparare le concentrazioni di lattato al momento del ricovero con il Limite Superiore del Range (LSR) specifico per l'età misurato nei puledri sani del Gruppo 1.

	n. puledri	Media	Mediana	Range	LSR	n. (%) puledri con lattatemia > LSR
<u>Età 0-12 h</u>	34	7,8	5,7	24,9–1,3	>4,2	24 (57,1)
<u>Età 13-24 h</u>	19	6,5	4,9	36,6–1,6	>2,9	12 (63,2)
<u>Età 25-36 h</u>	11	3,7	1,8	9,5–0,9	>2,7	5 (45,5)
<u>Età >36 h</u>	24	4,1	2,2	17,5–0,9	>2,3	9 (37,5)

Per misurare il tempo di clearance del lattato (LACTIME) il Gruppo 2 è stato suddiviso in quattro gruppi:

- Gruppo A con LACTIME <12 ore (n=16);
- Gruppo B con LACTIME <24 ore (n=15);
- Gruppo C con LACTIME >24 ore (n=32);
- Il Gruppo D (n = 19) non ha mai raggiunto livelli normali di lattatemia.

- Due puledri sono stati esclusi da questa analisi per mancanza di dati successivi al T0.

Nei gruppi A, B, C, non sono presenti puledri deceduti, mentre nel Gruppo D la mortalità è del 100%.

Il *valore prognostico* della lattatemia rilevata al momento del ricovero è stata esaminata su 88 puledri. Utilizzando una lattatemia >5 mmol/L come cut-off, la sensibilità è risultata dell'82%, la specificità del 63%, il valore predittivo positivo del 35% e un valore predittivo negativo del 93%.

DISCUSSIONE

Valutazione dell'analizzatore portatile Lactate Scout

L'analizzatore portatile Lactate Scout non era mai stato valutato nell'equino, ma solo nel cane e nel gatto (Acierno e Mitchell., 2007; Acierno et al., 2007). Non esistono inoltre studi riguardanti la valutazione di uno strumento portatile nel puledro.

I risultati ottenuti dal confronto con il metodo di riferimento indicano che il Lactate Scout può essere utilizzato per stimare con buona precisione il lattato ematico anche nel puledro neonato.

La media delle differenze tra il metodo enzimatico colorimetrico utilizzato dal Chemistry Analyzer AU400 e il metodo amperometrico utilizzato dal Lactate Scout è risultata prossima allo zero (-0,09 mmol/L) e nel 95% dei casi la differenza tra i due è compresa tra -1,58 mmol/L e +1,4 mmol/L.

L'accuratezza del Lactate Scout sembra diminuire quando la lattatemia supera i 5 mmol/L, quindi in questi casi è consigliabile valutare con criticità i valori ottenuti. Tuttavia, disponendo di sole 12 coppie di valori con lattatemia così elevata, sarebbero necessari ulteriori studi.

Comparare questi risultati con quelli ottenuti con altri analizzatori nell'equino non è possibile, essendo differenti le metodiche di riferimento ed in alcuni casi anche l'analisi statistica.

La valutazione del Lactate Scout nel cane e nel gatto, effettuata da Acierno e Mitchell e da Acierno et al. (2007), ha rilevato che questo strumento ha un buon accordo con la metodica di riferimento, anche se il metodo amperometrico era alla base di entrambe le metodiche confrontate.

Nello studio di Ferasin (2007), il Lactate Scout è stato paragonato ad un analizzatore che utilizza un metodo diverso, quello spettrofotometrico, ed ha comunque fornito ottimi risultati.

Tutti gli studi effettuati sugli analizzatori portatili hanno rilevato che a concentrazioni elevate la precisione diminuisce, rendendo gli analizzatori

meno affidabili. Purtroppo, come in questo studio, la scarsità di valori elevati ha reso più complessa questa valutazione (Tennent- Brown et al., 2007; Delasalle et al., 2007; Ferasin et al., 2007).

La mancanza di correlazione tra la lattatemia misurata con il Lactate Scout e il valore ematocrito suggerisce che tale strumento può essere utilizzato con sicurezza anche in puledri anemici o policitemici. Queste due alterazioni sono infatti frequenti nel puledro: valori molto bassi di ematocrito possono essere rilevati in puledri affetti da isoeritrolisi neonatale ed emorragie, quelli molto alti in puledri appena nati o fortemente disidratati.

L'analizzatore portatile Lactate Scout ha importanti vantaggi: come tutti gli analizzatori portatili, può essere utilizzato vicino al paziente, senza ricorrere al laboratorio; richiede l'applicazione di un'unica goccia di sangue intero (0,5µl), eliminando così la necessità di processare il campione; esegue rapidamente la misurazione (15 secondi); ha bassi costi per determinazione (circa 2 euro). Inoltre, l'analizzatore può essere utilizzato in ambienti con temperature che variano da 5 a 45°C e per la sua semplicità di utilizzo può essere impiegato anche da personale non specializzato. Per questa serie di caratteristiche, il Lactate Scout permette la valutazione della lattatemia anche in condizione di campo e in condizioni d'emergenza, contribuendo a migliorare la qualità delle cure fornite al paziente.

La lattatemia nel puledro neonato sano

Nei puledri sani, i valori medi di lattatemia nell'immediato post-partum sono elevati, per poi decrescere e stabilizzarsi intorno alle 24 ore di vita, andamento già rilevato da Magdesian (2003) e da Castagnetti et al. (2007). I valori medi risultano però più elevati rispetto a quelli riportati da altri autori (Kitchen e Rossdale, 1975; Silver et al., 1987; Corley et al., 2002; Magdesian, 2003).

La presenza di valori più elevati nell'immediato post-partum è probabilmente dovuta al rilascio di cortisolo e catecolamine durante la nascita, dato rilevato

non solo nel puledro, ma anche nel neonato umano. Nei bambini nati con parto vaginale naturale, la lattatemia risultava più elevata rispetto a quelli che nascevano con parto cesareo programmato, anche se i valori più alti sono si riscontravano in quei neonati che nascevano con parto cesareo in seguito a stress fetale. (Silver et al., 1984; Rossdale et al., 1984; Westgren et al., 1995; Nordström et al., 1996).

Dai nostri dati emerge quanto sia importante considerare l'età del puledro nell'interpretazione dell'iperlattatemia, soprattutto nelle prime 24 ore di vita.

La lattatemia nel puledro ricoverato in terapia intensiva

Nella popolazione studiata, i valori più alti di lattatemia sono stati rilevati in quelle patologie che provocano una riduzione della distribuzione d'ossigeno ai tessuti.

I puledri ricoverati con *shock emorragico* presentavano la lattatemia più alta rilevata nello studio; ciò probabilmente è causato non solo dall'ipovolemia conseguente alla perdita ematica, ma anche dalla diminuzione del valore ematocrito e quindi dalla riduzione del trasporto di ossigeno con conseguente disossia/ipossia.

Nell'*isoeritrolisi neonatale*, la causa principale dell'iperlattatemia sembra essere invece la riduzione del trasporto di ossigeno provocata dall'emolisi. Nonostante i valori molto elevati di lattatemia al ricovero, gli animali sopravvissuti affetti da queste due patologie hanno presentato una clearance molto precoce (entro 12 ore), dimostrando l'importanza di un intervento tempestivo.

Anche nello *shock settico* sono stati riscontrati valori di lattatemia molto elevati, causati dai gravi squilibri emodinamici che si presentano nel corso della patologia. In questo gruppo di animali però la diminuzione della DO_2 e l'insufficienza cardiovascolare che accompagnano lo stato di transizione dalla sepsi verso lo shock sono passati inosservati ai proprietari o al

veterinario referente e i puledri sono stati ricoverati in condizioni talmente critiche che la maggior parte di essi non è sopravvissuta più di 12 ore dal ricovero o è deceduta dopo poco.

La *PAS*, contrariamente a quanto riscontrato da Corley et al. (2005), non figura tra le patologie con lattatemia più elevata al momento del ricovero. Un intervento tempestivo è però riuscito a normalizzare la lattatemia entro le 24 ore. Tutti i puledri con *PAS* sono sopravvissuti al ricovero.

Nella *PAS complicata* da altre patologie la lattatemia è risultata più alta ed inoltre non è stata riscontrata una differenza tra i valori di lattatemia al momento del ricovero e quelli riscontrati nei tempi successivi, probabilmente perché la maggiore complessità della patologia ha ritardato un ritorno della lattatemia a valori normali.

Nei casi di *prematùrità/dismaturità*, il puledro nasce di solito debole, con difficoltà nello stabilire un normale ritmo respiratorio, insufficienza respiratoria e conseguente atelettasia e scarse riserve di glicogeno (Rossdale e Ousey, 2003). Se non prontamente assistito, il puledro andrà quindi facilmente incontro a ipoglicemia, disidratazione e probabile setticemia, soprattutto nei casi in cui non riesca ad assumere il colostro. Henderson et al. (2007) hanno rilevato che i puledri prematuri hanno le maggiori alterazioni nella lattatemia, insieme ai puledri affetti da encefalopatia ipossico-ischemica.

A differenza di quanto previsto, la lattatemia nei puledri con *sepsi* non è risultata molto elevata. E' vero però che esiste una alta variabilità nella lattatemia all'interno di questo gruppo, probabilmente perché esso comprende puledri a vari stadi della patologia. Tutti comunque sono sopravvissuti in seguito al supporto della terapia intensiva, con stabilizzazione dei valori di lattatemia entro 12 ore dal ricovero. Ciò è stato anche reso possibile da un tempestivo ricovero degli animali prima che si instaurasse uno stato di shock.

Nei casi di *costipazione* provocata dalla ritenzione di meconio, nonostante la sintomatologia colica manifestata dai puledri, i valori di lattatemia sono risultati nella norma. Nel cavallo adulto invece la lattatemia in corso di colica è più elevata rispetto alla norma e utilizzata da tempo come fattore prognostico (Furr et al., 1995; Latson et al., 2005).

La difficoltà nella comparazione tra i diversi studi sulla lattatemia nel puledro, oltre che dalla loro scarsità, nasce anche dalle differenti popolazioni di animali, dalle differenti età, ma anche da una diversa classificazione delle varie patologie. Sarebbe opportuno che, così come è avvenuto in medicina umana, i medici veterinari stabilissero delle definizioni precise, basate sull'evidenza e non sul sospetto della presenza di una determinata patologia. In questo modo sarebbe più facile e possibile una comparazione tra gli studi effettuati.

Le correlazioni rilevate tra lattatemia misurata al ricovero e i parametri relativi all'equilibrio acido-base (pH, BE, Anion Gap, bicarbonato, cloro) supportano la tesi che il lattato sia responsabile delle alterazioni acido-base che spesso si riscontrano in neonatologia equina. Inoltre questo riscontro può essere di grande utilità in campo o nei casi in cui non sia possibile effettuare un'emogasanalisi. Non essendoci invece correlazione tra lattatemia e pressioni parziali di ossigeno e anidride carbonica, il lattato non sembra in grado di rilevare un'acidosi di tipo respiratorio.

La correlazione tra pressione e lattatemia al momento del ricovero supporta l'idea che la lattatemia, nel puledro neonato, sia principalmente un parametro legato allo stato cardiovascolare, come già notato da Corley et al. (2005). Diversamente da quanto accade nell'equino adulto, la lattatemia non è correlata al valore ematocrito e alla frequenza cardiaca, in accordo con i risultati ottenuti da Corley et al. (2005), perché il neonato non attua le stesse risposte dell'adulto (aumento della frequenza cardiaca e dell'output cardiaco) in presenza di ipossia ed ipotensione (Corley, 2002).

Quando la misura della lattatemia alla visita iniziale è superiore a 6 mmol/l, possiamo sospettare che con buona probabilità la pressione arteriosa media sia inferiore a 60 mmHg. Tale valore di pressione è considerato critico per il mantenimento del flusso agli organi vitali, per cui valori di lattatemia superiori a 6 mmol/l indicano la necessità di attuare un'aggressiva terapia fluida, eventualmente supportata anche dall'utilizzo di farmaci vasopressori e inotropi, come sostengono anche Corley (2002) e Corley ed Axon (2005).

L'iperlattatemia è risultata anche inversamente correlata alla glicemia, infatti l'ipoglicemia si verifica, a seguito dell'esaurimento delle già scarse riserve di glicogeno, quando il puledro si trova nell'impossibilità di assumere il latte dalla fattrice o quando il consumo di glucosio è aumentato, come nella setticemia (Naylor, 2006).

Il riscontro di una bassa temperatura corporea è correlato alla presenza di iperlattatemia e molto probabilmente anche questo dato è indice della presenza di gravi alterazioni emodinamiche sistemiche, ipotensione e ipoperfusione tissutale.

La correlazione negativa trovata tra lattatemia al ricovero, conta piastrinica e fibrinogenemia, in accordo con uno studio in medicina umana di Kobayashi et al. (2001), può essere dovuta al fatto che, a seguito degli squilibri emodinamici, si possono formare microtrombi che determinano indirettamente l'aumento dei livelli di lattato e il peggioramento dell'ipossia tissutale. I disturbi del microcircolo infatti sono una parte fondamentale nella fisiopatologia della sepsi e dello shock settico, sua evoluzione, che insieme in questo studio costituiscono il maggiore gruppo diagnostico con 28 puledri.

La correlazione positiva tra Mg e lattato, che è stata confermata dall'analisi statistica, sembrerebbe dare un'ulteriore conferma della correlazione tra ipermagnesemia e danno cellulare ipossico-ischemico.

In seguito ad un insulto ipossico, s'instaura infatti un aumento della permeabilità cellulare e il Mg, che è contenuto per il 99% all'interno della cellula, viene rilasciato nel compartimento extracellulare (Zhang et al., 1996).

A differenza di quanto riscontrato da Corley et al. (2005), che riportano una lattatemia media di 7,65 mmol/l nei puledri batteriemici al ricovero e una differenza significativa con i non batteriemici anche a 18-36 ore, nel nostro lavoro la mancanza di correlazione tra iperlattatemia ed emocoltura positiva o negativa, infezioni sostenute da Gram+ o Gram- e Sepsis Score maggiore, uguale o minore di 11, indica che il lattato ematico non ci permette di capire quale sia il motivo alla base degli squilibri, ma solo l'entità delle alterazioni cardiovascolari.

Dalla mancanza di questa correlazione, si può ipotizzare che non è sufficiente la presenza di un patogeno per causare un aumento della lattatemia, ma sono le alterazioni cardiovascolari e metaboliche provocate dalla risposta infiammatoria sistemica. Ciò è dimostrato anche dai valori significativamente più alti nei puledri con SIRS. Non è possibile paragonare questo risultato con quello ottenuto da Corley et al. (2005), poiché sono state utilizzate due definizioni leggermente diverse per il concetto di SIRS.

In questo studio la definizione di SIRS è stata adattata al puledro e alla sua fisiopatologia, in alcuni casi diversa da quella dell'uomo adulto, per il quale era stata formulata la definizione utilizzata anche da Corley et al.

In questo lavoro, la lattatemia ha dimostrato un valore prognostico sia all'ammissione che nei tempi successivi.

Nei puledri sopravvissuti, l'analisi dell'andamento della lattatemia ha dimostrato che dopo il T24 non c'è più una differenza statisticamente significativa con i tempi successivi, mentre nei puledri non sopravvissuti la lattatemia rimane elevata per tutta la durata del ricovero. Da questo si può evincere che quando in seguito alla terapia effettuata i livelli di lattatemia si stabilizzano su valori normali entro le 24 ore dal ricovero, l'animale avrà ottime probabilità di sopravvivere.

Ciò è confermato anche dalla valutazione del LACTIME: tutti i puledri che non sono stati in grado di effettuare una clearance del lattato sono deceduti durante le prime 72 ore di ricovero.

CONCLUSIONI

La misurazione della lattatemia nella terapia intensiva del neonato equino si è dimostrata un valido strumento prognostico, soprattutto se valutata con rilievi seriali ogni 12 ore e non solo al momento del ricovero.

E' possibile inoltre affermare che nel caso in cui il puledro ricoverato, dopo 72 ore di terapia intensiva, non abbia valori di lattatemia compresi nel range specifico per l'età, la terapia effettuata non abbia raggiunto l'esito atteso o sia sopraggiunta una complicazione non sempre rilevabile clinicamente, come una ipoperfusione occulta con probabile prognosi infausta.

L'utilizzo degli strumenti portatili ha inoltre permesso la misurazione della lattatemia direttamente nel luogo in cui l'animale è ricoverato o in campo, senza i lunghi tempi richiesti dall'invio del campione ad un laboratorio e dalla sua processazione.

E' inoltre un parametro molto utile per il medico veterinario libero professionista, anche nel caso in cui egli non abbia una particolare esperienza nella cura del puledro neonato. Il rilievo di una lattatemia elevata, infatti, nonostante non fornisca precise indicazioni diagnostiche, considerata nel contesto di un esame clinico completo, dovrebbe indirizzare il medico verso il rapido invio del puledro presso strutture specializzate nella terapia intensiva neonatale.

E' evidente che, anche in presenza di valori molto elevati di lattatemia, l'emissione della prognosi non può prescindere da un esame clinico approfondito e dall'esperienza del veterinario.

BIBLIOGRAFIA

1. Abramson D, Scalea TM, Hitchcock R, Trooskin SZ, Henry SM, Greenspan J “Lactate clearance and survival following injury” *J Trauma* 1993; 35: 584-588
2. Acierno MJ, Meghan EJ, Eddleman LA, Mitchell MA “Measuring statistical agreement between four point of care (POC) lactate meters and a laboratory blood analyzer in cats” *J Feline Med Surg* 2007; in stampa
3. Acierno MJ, Mitchell MA “ Evaluation of four point of care meters for rapid determinations of blood lactate concentrations in dogs” *JAVMA* 2007; 230:1315-1318
4. Adams BD, Bonzani TA, Hunter CJ “The anion gap does not accurately screen for lactic acidosis in emergency department patients” *Emergency Med. J.* 2006; 23:179-182
5. Agrawal S, Sachdev A, Gupta D, Chugh K “Role of lactate in critically ill children” *IJCCM* 2004; 8(3):173-181
6. Astles R, Charles P, Sedor F “Stability of plasma lactate in vitro in the presence of antiglycolytic agents” *Clin. Chem.* 1994; 40(7):1327-1330
7. Backer DD, Creuter J, Silva E, Vincent JL “The hepatosplanchnic area is not a common source of lactate in patients with severe sepsis” *Crit Care Med* 2001; 29:256-261
8. Bakker J, Gris P, Coffernils M “Serial blood lactate levels can predict the development of multiple organ failure following septic shock” *Am. J. Surg.* 1996; 171:221-226

9. Basaran M, Server K, Kafali E, Ugurlucan M, Sayin OA, Tansel T, Alpagut U, Dayioglu E, Onursal E “Serum lactate levels has prognostic significance after cardiac surgery” *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2006; 20:43-47
10. Bellomo R, Kellum JA, Pinsky MR “Transvisceral lactate fluxes during early endotoxemia” *Chest* 1996; 110:198-204
11. Bernard WV, Reimer JM, “Examination of the foal” *Vet. Clin. of North Am. Equine Pract.* 1994; 10(1):37-66
12. Bland JM, Altman DG “Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement” *Lancet* 1986; 8,1(8476):307-310
13. Blow O, Magliore L, Claridge JA, Butler K, Young JS “The golden hour and the silver day: detection and correction of occult hypoperfusion within 24 hours improves outcome from major trauma” *J Trauma* 1999; 47: 964-969
14. Brewer BD, Clement SF, Lotz WS “Renal clearance, urinary excretion of endogenous substances, and urinary diagnostic indices in healthy neonatal foals” *J Vet Int Med* 1991; 5:28-33
15. Brewer BD, Clement SF, Lotz WS, Gronwall R “A comparison of inulin, praaminohippuric acid, and endogenous creatinine clearances as measures of renal function in neonatal foals” *J Vet Int Med* 1990; 4:301-305
16. Brewer BD, Koterba AM “The development of a scoring system for the early diagnosis of equine neonatal sepsis” *Equine Vet. J.* 1988; 20:18
17. Broder G e Weil MH “Excess lactate: An index of reversibility of shock in human patients” *Science* 1964; 143: 1457-1459

18. Bucca S. "Valutazione e gestione del neonato equino a rischio" *Rivista di Ippatria e Ippologia* 2001; 1: 7-32
19. Castagnetti C, Mariella J, Pirrone A, Iacono E, Mari G "Lactate concentration in amniotic fluid and in mare and foal blood at delivery" *From Foal to Yearling, Belgium International Congress of Equine Veterinarians and Farries, Hippos* 2007b; 173
20. Castagnetti C, Mariella J, Pirrone A, Remondini D, Merlo B, Mari G "Predictive mathematical model for mortality in equine neonatal intensive care" *From Foal to Yearling, Belgium International Congress of Equine Veterinarians and Farries, Hippos* 2007a; 174
21. Castagnetti C, Mariella J, Pirrone A, Romagnoli N "Utility of venous blood lactate in equine neonatal intensive care" *From Foal to Yearling, Belgium International Congress of Equine Veterinarians and Farries, Hippos* 2007c; 180
22. Chan DL, Freeman LM, Rozanski EA, Rush JE "Alterations in carbohydrate metabolism in critically ill cats" *J. Vet. Emerg. Crit. Care* 2005; 16(1):7-13
23. Chiolero RL, Revelly JP et al. "Effects of cardiogenic shock on lactate and glucose metabolism after heart surgery" *Crit. Care Med.* 2000; 28:3784-3791
24. Claridge JA, Crabtree TD, Pelletier SJ, Butler K, Sawyer RG, Young JS "Persistent occult hypoperfusion is associated with a significant increase in infection rate and mortality in major trauma patients" *J Trauma* 2000; 48:8-14
25. Coghe J, Uystepuyst CH, Bureau F, Detilleux J, Art T, Lekeux P "Validation and prognostic value of plasma lactate measurement in bovine respiratory disease" *Vet. J.* 2000; 160:139-136
26. Cohen RD, Woods HF "Clinical and biochemical aspects of lactic acidosis" Blackwell Scientific Publication, London 1976; 22-56

27. Collange O, Veber B, Tamion F, Lavoine A, Plissonnier D, Dureuil B “Interest of D-lactate as a colic hypoperfusion marker during aortic abdominal aneurysm surgery” *Ann. Fr. Anesth. Reanim.* 2006; 25:940–946
28. Corley KTT, “Monitoring and treating haemodynamic disturbances in critically ill neonate foal. Part I: haemodynamic monitoring” *Equine Vet. Educ.* 2002a; 14:270-279
29. Corley KTT, “Monitoring and treating haemodynamic disturbances in critically ill neonate foal. Part II: Assessment and treatment” *Equine Vet. Educ.* 2002b; 14:328-336
30. Corley KTT, Axon JE “Resuscitation and emergency management for neonatal foals” *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.* 2005; 21(2):431-455
31. Corley KTT, Donaldson LL, Furr MO “Arterial lactate concentration, hospital survival, sepsis and SIRS in critically ill neonatal foals” *Equine Vet. J.* 2005; 37(1):53-59
32. Crowl AC, Young JS, Kahler DM, Claridge JA, Chrzanowski DS, Pomphrey M “Occult hypoperfusion is associated with increased morbidity in patients undergoing early femur fracture fixation” *J Trauma* 2000; 48:260-267
33. Daily EK e Schroeder JS “Central venous and atrial pressure monitoring” in Daily EK e Schroeder JS “Techniques in Bedside Hemodynamic Monitoring” V edizione Mosby, St Louis 1994; 79-98
34. De Backer D “Lactic Acidosis” *Intensive Care Med.* 2003; 29(5):699-702
35. De Papp E, Drobatz KJ, Hughes D “Plasma lactate concentration as a predictor of gastric necrosis and survival among dogs with

- gastric dilatation volvulus: 102 cases (1995–1998)” *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1999; 215:49–52
36. Delesalle C, Dewulf J, Lefebvre RA, Schuurkes JAJ, Proot J, Lefere L, Deprez P “Determination of Lactate Concentrations in Blood Plasma and Peritoneal Fluid in Horses with Colic by an Accusport Analyzer” *J. Vet. Int. Med.* 2007; 21:293–301
37. Dellinger RP, Carlet JM, Masur H, Gerlach H, Calandra T, Cohen J, Gea-Banacloche J, Keh D, Marshall JC, Parker MM, Ramsay G, Zimmerman JL, Vincent JL, Levy MM “Surviving Sepsis Campaign guidelines for management of severe sepsis and septic shock” *Crit Care Med* 2004; 32:858-873
38. Di Bartola SP “Metabolic acid base disorders” in *Di Bartola Fluid Therapy in Small Animal Practice*, II edizione WB Saunders, Philadelphia, PA, USA. 2000; 263-267
39. Donnino MW, Miller J, Goyal N, Loomba M, Sankey SS, Dolcourt B, Sherwin R, Otero R, Wira C “Effective lactate clearance is associated with improved outcome in post-cardiac arrest patients” *Resuscitation* 2007; 75:229-234
40. Duke T, Butt W, South M “Predictors of mortality and multiple organ failure in children with sepsis” *Neonat. Ped. Int. care* 1997; 23(6):684-692
41. Duke T, Stocker C, Butt W “Point of view: Monitoring children after cardiac surgery: a minimalist approach might be maximally effective” *Crit. Care Resusc.* 2004; 6:306-310
42. Evans D, Golland LC “Accuracy of Accusport for measurement of lactate concentrations in equine blood and plasma” *Equine Vet. J.* 1996; 28:398-402
43. Fantus IG “Metformin’s contraindications:needed for now” *CMAJ* 2005;173:502-504

44. Ferasin L, Dodkin SJ, Amodio A, Murrau JK, Papasouliotis K
“Evaluation of a portable lactate analyzer (lactate scout) in dogs”
Vet. Clin. Pathol. 2007; 36(1):36-39
45. Fielding CL, Magdesian KG “How to use venous blood lactate
concentration to guide fluid therapy in adult horses” AAEP
Proceedings 2005; 51:260-262
46. Figueiredo MD, Nydam DIV, Perkins GA, Mitchell HM, Divers
TJ “Prognostic Value of Plasma L-Lactate Concentration
Measured Cow-Side with a Portable Clinical Analyzer in Holstein
Dairy Cattle with Abomasal Disorders” J. Vet. Int. Med. 2006;
20:1463–1470
47. Franco RM, Ousey JC, Cash RS, Rossdale PD, Silver M “Study of
arterial blood pressure in newborn foals using an electric
sphygmomanometer” Equine Vet J 1986; 18:475-478
48. Franklin RP, Peloso JG “Review of the clinical use of lactate” in
AAEP proceedings, 2006; 52:305-309
49. Furr M, Tinker Mk, Edens L “Prognosis for neonatal foals in an
intensive care unit” J Vet Intern Med 1997; 11(3): 183-188
50. Furr MO, Lessard P, White NA “Development of a colic severity
score for predicting the outcome of equine colic” Vet. Surg. 1995;
24:97-101
51. Gentile A, Sconza S, Lorenz I, Otranto G, Rademacher G, Famigli-
Bergamini P, Klee W “D-Lactic acidosis in calves as a
consequence of experimentally induced ruminal acidosis” J. Vet.
Med. A. Physiol. Pathol. Clin. Med. 2004;51(2):64-70
52. Giguère S, Knowles HAJ, Valverde A, Bucki E, Young L
“Accuracy of indirect measurement of blood pressure in neonatal
foals” J. Vet. Int. Med. 2005; 19:571-576

53. Giuliano KK “Physiological monitoring for critically ill patients: testing a predictive model for the early detection of sepsis” *Am. J. Crit. Care*, 2007; 16:122-130
54. Goldstein B, Giroir B, Randolph A, and the Members of the International Consensus Conference on pediatric Sepsis “International pediatric Sepsis Consensus Conference: Definitions for sepsis and organ dysfunction in pediatrics” *Pediatr Crit Care Med* 2005; 6:2-8
55. Gore DC, Jahoor F, Hibbert JM, DeMaria EJ “Lactic acidosis during sepsis is related to increased pyruvate production, not deficits in tissue oxygen availability” *Ann Surg* 1996; 224 (1): 97-102
56. Gossett KA, Cleghorn B, Martin GS “Correlation between anion gap, blood L lactate concentration and survival in horses” *Equine Vet. J.* 1987; 19(1):29-30
57. Gregory GA “Resuscitation of the newborn” in: Grenvik A, Ayres SM, Holbrook PR, Shoemaker WC “Textbook of critical care” IV edizione Philadelphia WB Saunders 2000; 27-37
58. Guyton AC e Hall JE “ Il trasporto dell’ossigeno e dell’anidride carbonica nel sangue e nei liquidi corporei” in Guyton AC e Hall JE “ Fisiologia Medica” II edizione, EdiSES, Napoli 2002;473-483
59. Haji-Michael PG, Ladriere L, Sener A, Vincent JL, Malaisse WS “Leucocyte glycolysis and lactate output in animal sepsis and ex vivo human blood” *Metabolism* 1999; 48:779-785
60. Harms CA, Mallo KM, Ross PM, Segars A “Venous blood gases and lactates of wild loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*) following two capture techniques” *J. Wildl. Dis.* 2003; 39(2):366-374

61. Harvey JW “ Normal hematological values” in Koterba A.M., Drummond W.H. e Kosch P.C.: “Equine Clinical Neonatology” Lea & Febiger, Philadelphia,1990; 561-570
62. Hatherill M, Waggie Z, Purves L, Reynolds L, Argent A “Mortality and the nature of metabolic acidosis in children with shock” Intensive Care Med. 2003; 29:286–291
63. Hawdon JM, Ward Platt MP “Metabolic adaptation in small for gestational age infants” Arc Ds Child 1993;68:262-268
64. Henderson ISF, Franklin RP, Wilkins PA, Boston RC “Association of hyperlactatemia with age, diagnosis, and survival in equine neonates” AAEP proceeding 2007; 53:354-355
65. Holdstock NB, Ousey JC, Rosedale PD “Glomerular filtration rate, effective renal plasma flow, blood pressure and pulse rate in equine neonate during the first 10 days post partum” Equine Vet J 1998; 30:335-343
66. Hollenberg SM, Ahrens TS, Astiz ME, Chalfin DB, Dasta JF, Heard SO; Martin C, Susla GM, Vincent JL “Practice parameters for hemodynamic support of sepsis in adult patient in sepsis” Crit. Care Med. 1999; 27: 639-660
67. Hughes D “Lactate Measurement: Diagnostic, Therapeutic and Prognostic Implications” in Bonagura JD, Kirk`s Current Veterinary Therapy: Small Animal Practice. ED 2, WB Saunders, Philadelphia 2000; 13:112-116
68. Husain FA, Martin MJ, Mullenix PS, Steele SR, Elliott DC “Serum lactate and base deficit as predictors of mortality and morbidity” Am. J. Surg. 2003; 185(5):485-91
69. Imhof A, Ledergerber B, Gunthard HF et al “Risk factors for outcome of hyperlactatemia in HIV-infected persons: is there a

- need for routine lactate monitoring?" Clin Infect Dis 2005; 41: 721-728
70. Jackson DC, Toney VI, Okamoto S "Lactate distribution and metabolism during and after anoxia in the turtle, *Chrysemys picta bellii*" Am. J. Physiol. Regulatory Integrative Comp. Physiol. 1996; 271:409-416
71. Jeng JC, Jablonski K, Bridgeman A, Jordan MH "Serum lactate, not base deficit, rapidly predicts survival after major burns" Burns 2002; 28:161-166
72. John M, Moore CB, James IR, Nolan D, Upton R, McKinnon, Mallal S "Chronic hyperlactatemia in HIV-infected patients taking antiretroviral therapy" Aids 2001; 15:717-723
73. Johnson PC "Autoregulation of blood flow" Circ Res 1986;59:483-495
74. Kamolz LP, Andel H, Schramm W, Meissl G, Herndon D, Frey M "Lactate: early predictor of morbidity and mortality in patients with severe burns" Burns 2005; 31: 986-989
75. King CM, Rose RJ, Evans DL "The influence of anticoagulant, storage temperature and time on equine plasma lactate concentration" Aust. Vet. J. 1994; 71(11):382-384
76. Kitchen H, Rosedale PD "Metabolic profiles of newborn foals" J Reprod Fert 1975; 23(Suppl): 705-707
77. Knottenbelt DC "Differential diagnosis of polyuria/polydipsia" in Robinson NE "Current therapy in equine medicine" V edizione Philadelphia WB Saunders 2003; 828-831
78. Knottenbelt DC, Holdstock N, Madigan JE "Neonatal Syndromes" in Knottenbelt DC, Holdstock N, Madigan JE "Equine

- Neonatology Medicine and Surgery” Saunders, Philadelphia 2004; 155-364
79. Kobayashi M “Simple lactate measurement in horse using a portable lactate analyzer with lancet skin punctures under field conditions” *J. Equine Sci.* 2007; 18(1):5-11
 80. Kobayashi S, Gando S, Morimoto Y, Nanzaki S, Kemmotsu O “Serial measurement of arterial lactate concentration as a prognostic indicator in relation to the incidence of disseminated intravascular coagulation in patients with systemic inflammatory response syndrome” *Surg. Today* 2001; 31:853-859
 81. Koho NM, Vaihkonen LK, Poso AR “Lactate transport in red blood cells by monocarboxylate transporters” *Equine vet. J. suppl.* 2002; 555-559
 82. Kosch P.C., Koterba A.M., Coons T.J., Webb A.I.: “Developments in the managements of the newborn foal in respiratory distress. Part 1: evaluation” *Equine Vet J* 1984; 16: 312-322
 83. Koterba A.M., Paradis M.P.: “Specific Respiratory Conditions” in Koterba A.M., Drummond W.H. e Kosch P.C.: “Equine Clinical Neonatology” Lea & Febiger, Philadelphia, 1990; 177-199,
 84. Koterba A.M.: “Diagnosis and management of the normal and abnormal neonatal foals: general considerations” in Koterba A.M., Drummond W.H. e Kosch P.C.: “Equine Clinical Neonatology” Lea & Febiger, Philadelphia, 1990; 3-16,
 85. Koterba A.M.: “Respiratory disease: approach to diagnosis” in Koterba A.M., Drummond W.H. e Kosch P.C.: “Equine Clinical Neonatology” Lea & Febiger, Philadelphia, 1990; 153-176,
 86. Lagutchik MS, Ogilvie GK, Hackett TB, Wingfield WE “Increased lactate concentrations in ill and injured dogs” *J. Vet. Emerg. Crit. Care* 1998; 8(2):117-127

87. Lagutchik MS, Ogilvie GK, Wingfield WE, Hackett TB “Lactate Kinetics in Veterinary Critical Care: A Review” *J. Vet. Emerg. Crit. Care* 1996; 6(2):81-95
88. Latson KM, Nieto JE, Beldomenico PM Snyder JR “Evaluation of peritoneal fluid lactate as a marker of intestinal ischaemia in equine colic” *Equine vet. J.* 2005; 37(4):342-346
89. Lavoie JP, Madigan JE, Cullor JS, Powell WE “Haemodynamic, pathological and behavioural changes during endotoxin infusion in equine neonates” *Equine Vet J* 1990; 22:23-29
90. Le Blanc M, “Immunologic considerations” in Koterba A.M., Drummond W.H. e Kosch P.C.: “Equine Clinical Neonatology” Lea & Febiger, Philadelphia, 1990; 275-295
91. Levin GM, Bonczynski JJ, Ludwig LL, Barton LJ, Loar AS “Lactate as a Diagnostic Test for Septic Peritoneal Effusions in Dogs and Cats” *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 2004; 40:364-371.
92. Levraut J et al. “Low exogenous clearance as an early predictor of mortality in normolactemic critically ill septic patients” *Crit. Care Med.* 2003; 31:705-710
93. Levraut J, Ciebiera JP, Chave, Rabary O, Jambou P, Charles M, Grimaud D “Mild Hyperlactatemia in Stable Septic Patients Is Due to Impaired Lactate Clearance Rather Than Overproduction” *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1998; 157(4):1021-1026
94. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, Cohen J, Opal sM, Vincent JL, Ramsay G for the International Sepsis Definitions Conference “2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference” *Intensive Care Med.* 2003; 29:530–538
95. Lindner A “Measurement of plasma lactate concentration with Accusport” *Equine vet. J.* 28(5):1996

96. Lindner A “Use of blood biochemistry for positive performance diagnosis of sport horses in practice” *Revue Mèd. Vèt.* 2000; 151:(7)611-618
97. Lobo SM, De Backer D, Sun Q, Tu Z, Dimopoulos G, Preiser JC, Nagy N, Vray B, Vercruy V, Terzi RGG, Vincent JL “Gut mucosal damage during endotoxic shock is due to mechanisms other than gut ischemia” *J. Appl. Physiol.* 2003; 95:2047-2054.
98. Lorenz J, Markarian K, Oliver M et al. “Serum anion gap in the differential diagnosis of metabolic acidosis in critically ill newborn foals” *J. Pediatr.* 1999; 135:751-755
99. Lorenz L, Vogt S “Outcome of Therapy of Acidosis, and with Posture and Demeanour in Young Calves with Diarrhoea” *J. Vet. Med. Ass.* 2006; 53:490-494
100. Magdesian GK “Blood lactate levels in neonatal foals: normal values and temporal effects in the post-partum period” *J. Vet. Emerg. Crit. Care* 2003; 13(3):159-177
101. Magdesian KG “Monitoring the critically ill equine patient” *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.* 2004; 20(1):11-39
102. Magdesian KG, Fielding CL, Madigan JE “Measurement of plasma colloid osmotic pressure in neonatal foals under intensive care: comparison of direct and indirect methods and the association of COP with selected clinical and clinicopathologic variables” *J. Vet. Emerg. Crit. Care* 2004; 14(2):108-114
103. Magdesian KG, Fielding CL, Rhodes DM, Ruby RE “Changes in central venous pressure and blood lactate concentration in response to acute blood loss in horses” *JAVMA* 2006; 229(9):1458-1462
104. Marecaux G, Pinsky MR, Dupont E, Kahn RJ, Vincent JL “Blood lactate levels are better prognostic indicators than TNF and IL-6 levels in patients with septic shock” *Intens Care Med* 1996; 22: 404-408

105. Marino PL “ The ICU book” Lea & Febiger, Philadelphia 1991;14-24
106. Mayes PA “Ciclo dell’acido citrico: catabolismo dell’acetil-CoA” in Murray RK, Daryl KG, Mayes PA, Victor WR, Harper Biochimica 25st ED. Milano 2000b; 18:184-191
107. Mayes PA “Gluconeogenesi e controllo del glucosio ematico” in Murray RK, Daryl KG, Mayes PA, Victor WR, Harper Biochimica 25st ED. Milano 2000c; 21:210-220
108. Mayes PA “La glicolisi e l’ossidazione del piruvato” in Murray RK, Daryl KG, Mayes PA, Victor WR, Harper Biochimica 25st ED. Milano 2000a; 19:192-200
109. McMichael MA, Lees GE, Hennessey J, Sanders M, Boggess M “Serial plasma lactate concentrations in 68 puppies aged 4 to 80 days” J. Vet. Emerg. Crit. Care 2005; 15(1):17-21
110. McNelis J, Marini CP, Jurkiewicz A, Szomstein S, Simms HH, Ritter G, Nathan IM “ Prolonged lactate clearance is associated with increased mortality in the surgical intensive care unit” Am J Surg 2001; 182:481-485
111. Medbo JJ, Mamen A, Holt Olsen O Evertsen F “Evaluations of four different instruments for measuring blood lactate concentration” Scan J Clin Lab Invest 2000; 60: 367-380
112. Meinkot JH, Allison RW “Sample Collection and Handling: Getting Accurate Results” Vet. Clin. North Am. Small Animal Pract. 2007; 37(2):203-219
113. Mizock BA “Alteration in carbohydrate metabolism during stress: a review of literature” Am. J. Med. 1995; 98:75-84
114. Mizock BA e Falk JL “Lactic acidosis in critical illness” Crit Care Med 1992; 20: 80-93

115. Moore JN, Owen R, Lumsden JH “Clinical evaluation of blood lactate levels in equine colic” *Equine Vet J* 1976; 8:49-54
116. Naylor JM “Severe metabolic acidemia, Hypoglycemia, and sepsis in a 3-week-old Quarter Horse foal” *Vet. Clin. Equine* 2006; 95-106
117. Nel M, Lobetti RG, Keller N, Thompson PN. “Prognostic Value of Blood Lactate, Blood Glucose, and Hematocrit in Canine Babesiosis” *J. Vet. Int. Med.* 2004; 18(4):471-476
118. Nelson DL, Cox MM “ Glicolisi e catabolismo degli esosi” in Nelson DL, Cox MM “I principi di biochimica di Lehninger” III edizione Zanichelli Editore S.p.A, Bologna 2002a; 517-556
119. Nelson DL, Cox MM “ Il ciclo dell’acido citrico” in Nelson DL, Cox MM “I principi di biochimica di Lehninger” III edizione Zanichelli Editore S.p.A, Bologna 2002b; 517-556
120. Nguyen HB, Rivers EP, Knoblich BP, Jacobse G, Muzzin A, Ressler J, Tomlanovich M “Early lactate clearance is associated with improved outcome in severe sepsis and septic shock” *Crit Care Med* 2004; 32: 1637-1642
121. Nordstrom L, Chua S, Roy A, Arulkumaran S “Quality assessment of two lactate test strip methods suitable for obstetric use” *J. Perinat. Med.* 1998; 26(2):83-88
122. Nordstrom L, Marcus C, Persson B, Shimojo N, Westgren M “Lactate in cord blood and its relationship to pH and catecholamines in spontaneous vaginal delivery” *Early Human Develop* 1996; 46: 97-104
123. Nout YS, Corley KTT, Donaldson LL, Furr MO “Indirect oscillometric and direct blood pressure measurement in

anesthetized and conscious neonatal foals” J Vet Emerg Crit Care
2002; 12:75-80

124. Oh MS, Phelps KR, Traube M, Barbosa-Saldivar JL, Boxhill C, Carrol HJ “D-lactic acidosis in a man with the short-bowel syndrome” N Engl J Med 1979; 301:249-252
125. Omole OO, Nappert G, Naylor JM, Zello GA “Both L- and D-Lactate Contribute to Metabolic Acidosis in Diarrheic Calves” J. Nutr. 2001; 131(8): 2128-2131
126. Palmer E.J.: “Ventilatory support of the neonatal foal”, VetClinof North Am: Equine Practice 1994; 4: 219-236
127. Park M, Azevedo LCP, Alexandre Toledo M et al. “Evolutionary standard base excess and serum lactate level in severe sepsis and septic shock patients resuscitated with early goal-directed therapy: still outcome markers?” Clinics 2006; 61(1) 47-52
128. Parry BW, McCarthy MA, Anderson GA: Survey of resting blood pressure values in clinically normal horses. Equine Vet J 16:53-58, 1984..
129. Poso AR, Kimmo J, Lampinen, Rasanen LA “Distribution of lactate between red blood cells and plasma after exercise” Equine vet. J. suppl. 1995; 18:231-234
130. Poudoux L “Il dosaggio della lattatemia: un nuovo strumento prognostico” SUMMA Animali da Compagnia 2006; 1:7-8
131. Pyne DB, Boston T, Martin DT, Logan A “Evaluation of the Lactate Pro blood lactate analyzer” Eur. J. Appl. Physiol. 2000; 82:112-116
132. Revelly JP, Tappy L, Martinez A, Bollmann M, Cayeux MC, Berger MM, Chioléro RL “Lactate and glucose metabolism in severe sepsis and cardiogenic shock” Crit. Care Med. 2005; 33(10):2235-2240

133. River EP, McIntyre L, Morro DC, Kandis K “Early and innovative interventions for severe sepsis and septic shock: taking advantage of a window of opportunity” *CMAJ* 2005; 173(9):1054-1065
134. Robertson CR, Deen WM, Troy JL, Brenner BM “Dynamics of glomerular ultrafiltration in the rat. 3. Hemodynamics and autoregulation” *Am J Physiol* 1972; 223:1191-1200
135. Rose RJ, Hodgson DR, Leadon DP, Rossdale PD “Effect of intranasal oxygen administration on arterial blood gas and acid base parameters in spontaneously delivered, term induced and induced premature foals” *Res Vet Sci.* 1983;34(2):159-162
136. Rossdale PD, Ousey JC “Fetal programming for athletic performance in the horse: potential effect of IUGR” *Equine Vet. Educ. Manual* 2003; 6:24-37
137. Rossdale PD, Ousey JC, Silver M “Studies on equine prematurity 6: Guidelines for assessment of fetal maturity” *Equine Vet. J.* 1984; 16:300-302
138. Russell CM, Wilkins PA “Evaluation of the Recumbent Neonate” *Clin. Tech. Equine Pract.* 2006; 5:161-171
139. Sanz CG, Lucas MR, Cid JL, Escribano DV, Cantarero GG “Valor pronóstico de la puntuación PIM (índice pediátrico de mortalidad) y del ácido láctico en niños críticamente enfermo” *An. Esp. Pediatr.* 2002; 57:394-400
140. Sapin V, Nicolet L, Aublet Cuvelier B, Sangline F, Roszyk L, Dastugue B, Gazuy N, Deteix P, Souweine B “Rapid decrease in plasma D-lactate as an early potential predictor of diminished 28-day mortality in critically ill septic Shock patients” *Clin. Chem. Lab. Med.* 2006; 44(4):492–496
141. Sasidharan P, “Breathing pattern abnormalities in full term asphyxiated newborn infants”, *Arch Dis Child* 1992; 67:440-442,

142. Saulez MN, Gummow B, Slovis NM, Byars TD, Frazer M, MacGillivray K, ain FT “An analysis of clinicopathological data in the prediction of mortality in an equine neonatal intensive care unit (NICU)” *J. Vet. Emerg. Crit. Care Soc.* 2006
143. Schroeder TH, Hansen M “Effects of fresh versus old stored blood in the priming solutions on whole blood lactate levels during pediatric cardiac surgery” *Perfusion* 2005; 20:17-19
144. Schulman ML, Nurton JP, Guthrie AJ “Use of the Accusport semi-automated analyser to determine blood lactate as an aid in the clinical assessment of horses with colic” *J. S. Afr. Vet. Assoc.* 2001; 72(1):12-17
145. Shapiro NI, Howell MD, Talmor D, Nathanson LA, Lisbon A, Wolfe RE, Woodrow Weiss J “ Serum lactate as a predictor of mortality in emergency department patients with infections” *Ann Emerg Med* 2005; 45: 524-528
146. Shimojo N, Naka K, Nakajima C, Yoshikawa C, Okuda K, Okada K, “ “Test strip method for measuring lactate in whole blood” *Clin Chem* 1989; 35:1992-1994
147. Shimojo N, Naka K, Uenoyama H, Hamamoto K, Yoshioka K, Okuda K “Electrochemical assay system with single use electrode strip for measuring lactate in whole blood” *Clin Chem* 1993; 39:2312-2314
148. Silver M, Fowden AL, Knox J “ Sympathoadrenal and other responses to hypoglycemia in the young foals” *J Reprod Fert* 1987; 35(Suppl):607-614
149. Silver M, Ousey JC, Dudan FE, “Studies on equine prematurity 2: Post natal adrenocortical activity in relation to plasma

- adrenocorticotrophic hormone and catecholamine levels in term and premature foals” *Equine Vet. J.* 1984; 16:278-286
150. Skelton MS, Kremer DE, Smith EW, Gladden LB “Lactate influx into red blood cells of athletic and nonathletic species” *Am. J. Physiol. Regulatory Integrative Comp. Physiol.* 1995; 268:1121-1128
151. Slomovitz BM, Lavery RF, Tortella BJ Siegel JH, Bachl BL, Ciccone A “Validation of a hand-held lactate device in determination of blood lactate in critically injured patients” *Crit. Care Med.* 1998; 26(9):1523-1528
152. Stewart J.H., Rose R.J., Barko A.M.: “Respiratory studies in foals from birth to seven days old” *Equine Veterinary Journal*, 16, 323-334, 1984.
153. Stoneham SJ “Neonatal Disease” in *Equine Stud Medicine Course, Newmarket 15-19 January 2007*
154. Tennent-Brown BS, Wilkins PA, Lindborg S, Russell G, Boston RC “Assessment of a Point-of-Care Lactate Monitor in Emergency Admissions of Adult Horses to a Referral Hospital” *J. Vet. Intern. Med.* 2007; 21:1090:1098
155. Thomas WP, Madigan JE, Backus KQ, Powell WE “Systemic and pulmonary haemodynamics in normal neonatal foals” *J Reprod Fertil Suppl* 1987; 35:623-628
156. Thorneloe C, Bédard C, Boysen S “Evaluation of a hand-held lactate analyzer in dogs” *Can. Vet. J.* 2007; 48:283-288
157. Tibby SM, Hatherill M, Durward A, Murdoch IA “Are transesophageal Doppler parameters a reliable guide to paediatric haemodynamics status and fluid management?” *Intensive Care Med* 2001; 27:201-205

158. Trzeciak S, Dellinger RP, Chansky ME, Arnold RC, Schorr C, Milcarek B, Hollenberg SM, Parrillo JE “Serum lactate as a predictor of mortality in patients with infection” *Intensive Care Med.* 2007; 33:970–977
159. Tsiotou AG, Sakorafas GH, Anagnostopoulos G, Bramis J “Septic shock; current pathogenetic concepts from a clinical perspective” *Med. Sci. Monit.* 2005; 11(3):76-85
160. Vaala W.E. e Webb A.I.: “Cardiovascular monitoring of the critically ill foal” in Koterba A.M., Drummond W.H. e Kosch P.C.: “Equine Clinical Neonatology” Lea & Febiger, Philadelphia, 262-272, 1990
161. Vaala WE “Perinatology” in Higgins AJ e Snyder JR, *The Equine Manual.* WB Saunders 2nd ED. Philadelphia 2006; 14:803-804
162. Valenza F, Aletti G, Fossali T, Chevallard G, Sacconi F, Irace M, Gattinoni L “Lactate as marker of Energy failure in critically ill patients: hypothesis” *Crit. Care* 2005; 9:588-593
163. Vincent JL, Dufaye P, Berre J, Leeman JP, Degaute JP, Kahn RJ “Serial lactate determinations during circulatory shock” *Crit Care Med* 1983; 11:449-451
164. Walter JH “Metabolic acidosis in newborn infants” *Arch Dis Child* 1992; 67:767-769
165. Wandrup J, Tvede K, Grlnsted J, Jordenlng H “Stat Measurements of L-Lactate in Whole Blood and Cerebrospinal Fluid Assessed” *Clin Chem*, 1989; 35(8):1740-1743
166. Warren R.J.,Webb A.I., Kosch P.C., Coons L.: “Evaluation of transcutaneous oxygen monitoring in anesthetized pony foals” *Equine Veterinary Journal*, 16, 358-367, 1984.

167. Webb A.I., Daniel R.T., Miller H.S., Kosch P.C.: "Preliminary studies on the measurement of the conjunctival oxygen tension in the foal" *Am J Vet Res*, 1985;46: 2566-2574,
168. Westgren M, Divon M, Horal M, Ingemarsson I, Kublickas M, Shimojo N, Nordstrom L " Routine measurements of umbilical artery lactate levels in the prediction of perinatal outcome" *AM J Obstet Gynecol* 1995; 173: 1416-1422
169. Williamson CC, James EA, James MP, May CD, Casey PJ "Horse plasma lactate determinations: comparison of wet and dry chemistry methods and the effect of storage" *Equine Vet. J.* 1995; 28(5):405-408
170. Wilson M, Daniel D Raul C "Diagnosis of hemorrhagic shock during the initial resuscitation of multiple trauma patients: a review" *J. Emerg. Med.* 2003; 24(4):413-422
171. Wotman K, Palmer JE, Boston RC, Wilkins PA "Lactate concentration in foals presenting to a neonatal intensive care unit: association with outcome" University of Pennsylvania School of veterinary medicine, New Bolton Center, Kennet Square PA. in *ACVIM Proceedings 2005*
172. Yousef F, McGeady SJ "Lactic acidosis and status asthmaticus: How common in pediatrics" *Ann Allergy Asthma Immunol* 2002; 89:585-588
173. Zhang A, Altura BT, Altura BM "Elevation of extracellular magnesium rapidly raises intracellular free Mg^{2+} in human aortic endothelial cells: is extracellular Mg^{2+} a regulatory cation?" *Front Biosc* 1997;2:13-17

INDICE

INTRODUZIONE	1
Capitolo 1	
1.1 Il monitoraggio del puledro neonato ricoverato in terapia intensiva	2
1.2 Monitoraggio dell'apparato respiratorio	3
1.3 Monitoraggio dell'apparato cardiocircolatorio	15
Capitolo 2	
2.1 Il metabolismo del lattato	23
2.2 Glicolisi	24
2.3 Ciclo di Krebs e fosforilazione ossidativa	26
2.4 Ciclo di Cori	28
2.5 Equilibrio della lattatemia	29
2.6 Iperlattatemia e acidosi lattica	31
2.7 Iperlattatemia da aumentata produzione	33
2.8 Iperlattatemia da riduzione della clearance	34
2.8 Iperlattatemia in corso d'ipossia	35
2.10 Iperlattatemia in corso di sepsi	39
2.11 Produzione regionale di lattato	42
2.12 Altre cause di iperlattatemia	44
2.13 D-lattato	44
Capitolo 3	
3.1 Valutazione della lattatemia nel paziente umano	46
3.2 Il monitoraggio della lattatemia nel bambino neonato	51
Capitolo 4	
4.1 Monitoraggio della lattatemia in medicina veterinaria	53
4.2 La lattatemia nel cane	53
4.3 La lattatemia nel gatto	56
4.4 La lattatemia nel bovino	57
4.5 La lattatemia nel cavallo	59
4.6 La lattatemia nel puledro neonato	61
4.7 La lattatemia negli animali non convenzionali	67
Capitolo 5	
5.1 La misurazione della lattatemia	68
5.2 Prelievo e conservazione del campione di sangue per la valutazione della lattatemia plasmatica	69
5.3 Strumenti portatili	70
5.4 Tecnologia alla base della misurazione della lattatemia su sangue intero tramite strumenti portatili	72
	138

5.6 Misurazione della lattatemia tramite Accutrend, Accusport, Lactate Pro e Lactate Scout	74
Capitolo 6	
6.1 Scopi del lavoro	79
6.2 Materiali e metodi	80
6.3 Analisi statistica	90
6.4 Risultati	92
DISCUSSIONE	110
CONCLUSIONI	117
Bibliografia	118