



UNIVERSITÀ DI PISA

Corso di laurea magistrale in Medicina Veterinaria

# **Funzionalità surrenale nel paziente canino in SIRS**

**Candidato:**

Martina Marchetti

**Relatore:**

Dott.ssa Veronica Marchetti

**Correlatore:**

Dott. Gianluca Favilla

Anno accademico 2014-2015

# **INDICE**

<b>CAPITOLO 1. SIRS (Systemic inflammatory response syndrome) .....</b>	<b>6</b>
1.1 Definizione .....	6
1.2 Eziopatogenesi e conseguenze .....	9
1.3 Diagnosi: clinica e esami di laboratorio .....	15
1.4 Terapia e monitoraggio .....	20
1.4.1 Rianimazione .....	20
1.4.2 Screening per sepsi, miglioramento delle performance e diagnosi .....	31
1.4.3 Terapia antimicrobica, controllo della fonte e prevenzione delle infezioni .	32
1.4.4 Fluidoterapia .....	35
1.4.5 Vasopressori e inotropi .....	42
1.4.6 Corticosteroidi .....	45
1.4.7 Sangue e emoprodotti .....	45
1.4.8 Modulazione dell'infiammazione .....	48
1.4.9 Gastroprotezione .....	49
1.4.10 Nutrizione e controllo del glucosio .....	49
1.4.11 Analgesia .....	51
1.4.12 Ossigenoterapia .....	52
1.4.13 Profilassi del tromboembolismo .....	53
1.4.14 Terapia renale sostitutiva .....	54
1.4.15 Beta-bloccanti .....	54
<b>1.5 Prognosi .....</b>	<b>56</b>
<b>CAPITOLO 2. CIRCI (critical illness related corticosteroid insufficiency).....</b>	<b>61</b>
2.1 Fisiopatologia .....	63
2.2 Incidenza .....	70
2.3 Clinica e patologia clinica .....	73
2.4 Diagnosi .....	75
2.5 Terapia .....	84

2.6 Prognosi .....	92
<b>CAPITOLO 3. STUDIO SPERIMENTALE .....</b>	<b>94</b>
3.1 Introduzione .....	94
3.2 Materiali e metodi .....	97
3.2.1 Valutazione della funzionalità surrenale .....	99
3.2.2 Protocollo terapeutico .....	99
3.2.3 Monitoraggio .....	100
3.2.4 Analisi statistica .....	101
<b>3.3 Risultati .....</b>	<b>102</b>
3.3.1 Confronto fra pazienti CIRCI positivi e CIRCI negativi .....	106
3.3.2 Outcome nei pazienti trattati .....	114
3.3.3 Outcome nei pazienti trattati e non trattati .....	123
3.4 Discussioni .....	125
3.5 Conclusioni .....	139
<b>BIBLIOGRAFIA .....</b>	<b>140</b>
<b>RINGRAZIAMENTI .....</b>	<b>168</b>

## RIASSUNTO

Parole chiave: cortisolo, circi, cane, sirs, idrocortisone

Nei pazienti critici si può verificare una condizione di insufficienza corticosteroidica correlata allo stato di criticità denominata CIRCI, che è risultata associata a ipotensione e aumentata mortalità nell'uomo. In veterinaria pochi studi hanno finora valutato la presenza di tale sindrome e non ci sono studi pubblicati che valutino la risposta alla terapia con basse dosi di idrocortisone. L'obiettivo dello studio è di verificare la presenza di CIRCI nei pazienti canini affetti da sindrome da risposta infiammatoria sistemica (SIRS), valutarne l'eventuale correlazione con outcome e la risposta al trattamento con idrocortisone. Ventun pazienti in SIRS sono stati inclusi nello studio e per tutti è stata valutata la funzionalità surrenale tramite esecuzione di un test di stimolazione con ACTH, considerando cortisolo basale, cortisolo post ACTH,  $\Delta$  cortisolo e aumento percentuale di cortisolo; sono stati inoltre valutati i parametri di pressione arteriosa media (MAP), glicemia, conta leucocitaria totale (WBC), percentuale di neutrofili banda, lattatemia, concentrazione di proteina c reattiva (CRP) e grading di SIRS. Quattordici pazienti sono stati trattati con idrocortisone a basse dosi, mentre i restanti 7 hanno costituito il gruppo di controllo. L'incidenza di CIRCI è risultata del 48 % basandosi su un  $\Delta$  cortisolo  $\leq 3$   $\mu\text{g/dl}$ . I pazienti CIRCI positivi avevano concentrazioni di CRP significativamente maggiori dei CIRCI negativi. L'aumentata mortalità non è risultata associata alla presenza di CIRCI, mentre è risultata significativamente associata a ipotensione, ipercortisolemia basale, leucocitosi e contemporanea presenza di ipercortisolemia basale e CIRCI. Sebbene la sopravvivenza sia maggiore nei trattati con idrocortisone, la differenza non è statisticamente significativa.

## ABSTRACT

Key words: cortisol, circi, dog, sirs, hydrocortisone

A critical illness related corticosteroid insufficiency (CIRCI) occurs in critically ill human patients, and it's associated with hypotension and increased mortality. A few veterinary studies have investigated CIRCI syndrome and no published studies have evaluated the benefit of low-dose hydrocortisone. The purpose of the current study is to verify the presence of CIRCI in dogs with systemic inflammatory response syndrome (SIRS), assess its relationship with outcome and the response to hydrocortisone therapy. Twenty-one SIRS dogs were included in the study and were all evaluated for adrenal function with ACTH stimulation test, considering baseline and ACTH stimulated serum cortisol concentrations,  $\Delta$  cortisol and cortisol percentage increase. Mean arterial pressure (MAP), glycemia, white blood cell count (WBC), banda neutrophilia percentage, lactate concentration, c-reactive protein concentration (CRP) and SIRS grading

were also assessed. Fourteen dogs were treated with low-dose hydrocortisone, the other seven dogs constituted the control group. CIRCI occurred in 48 % of the patients, basing on a  $\Delta$  cortisol  $\leq 3 \mu\text{g/dl}$ . Patients with CIRCI had significantly higher CRP concentrations than patients without CIRCI. Increased mortality was not associated with CIRCI, but was significantly associated with hypotension, basal hypercortisolemia, leukocytosis and association of hypercortisolemia and CIRCI. Even if survival is greater in patients treated with hydrocortisone, the difference is not statistically significant.

# CAPITOLO 1. SIRS

## 1.1 DEFINIZIONE

SIRS (Systemic Inflammatory Response Syndrome o sindrome della risposta infiammatoria sistemica) è un termine introdotto nel 1992 nell'ambito della conferenza tenuta dall'American College of Chest Physicians and Society of Critical Care Medicine (ACCP/SCCM) per trovare un consenso più ampio nell'inquadramento della sepsi tramite l'utilizzo di una terminologia condivisa, e fu introdotto per sottolineare l'importanza dell'attivazione dell'infiammazione sistemica nel contribuire all'insufficienza organica in corso di sepsi <sup>(1)</sup>. Dal confronto fra pazienti in sepsi e pazienti con simile decorso clinico ma in assenza di focolai infettivi fu stabilito che la sepsi era composta da due aspetti, la causa scatenante (l'infezione) e la risposta a tal causa (la risposta infiammatoria); nacque così il concetto di SIRS come risposta infiammatoria sistemica a una varietà di insulti clinici gravi, a causa infettiva o non infettiva.

Nell' ACCP /SCCM Consensus Conference è stata data una definizione di SIRS e sono stati stabiliti dei criteri per diagnosticarla.

La SIRS è uno stato clinico, non un'entità patologica precisa, e può avere numerose cause; per quanto riguarda i criteri per la definizione di SIRS non è stato ancora raggiunto un consenso univoco, tuttavia i parametri che vengono presi in considerazione nei vari modelli proposti sono la temperatura, la frequenza cardiaca, la frequenza respiratoria o la pressione parziale dell'anidride carbonica (PaCO<sub>2</sub>), la conta leucocitaria (WBC) e la presenza di neutrofili banda.

Per formulare diagnosi di SIRS in medicina umana devono essere presenti almeno 2 dei seguenti criteri:

- ❖ Temperatura corporea  $> 38\text{ °C}$  o  $< 36\text{ °C}$
- ❖ Frequenza cardiaca  $> 90$  battiti per minuto (bpm)
- ❖ Tachipnea : frequenza respiratoria  $> 20$  respiri al minuto o iperventilazione indicata da  $\text{PaCO}_2 < 32\text{ mm Hg}$ .
- ❖  $\text{WBC} < 4.000 / \mu\text{l}$  o  $> 12.000 / \mu\text{l}$  o presenza di più del 10 % di neutrofili banda.

Sempre durante l' ACCP/SCCM Consensus Conference sono state inoltre stabilite definizioni per diversi stati clinici che è importante conoscere e saper distinguere quando si tratta di pazienti critici.

**Infezione** = fenomeno microbico caratterizzato da una risposta infiammatoria alla presenza del microrganismo o invasione di un tessuto dell'ospite normalmente sterile da parte di un microrganismo.

**Batteriemia** = presenza di batteri vitali in circolo.

**Sepsi**= risposta infiammatoria sistemica a un'infezione documentata o sospetta, manifestata da due o più delle seguenti condizioni: temperatura  $> 38\text{ }^{\circ}\text{C}$  o  $< 36\text{ }^{\circ}\text{C}$ , frequenza cardiaca  $> 90$  battiti al minuto, frequenza respiratoria  $> 20$  atti al minuto o  $\text{PaCO}_2 < 32\text{ mm Hg}$ , globuli bianchi  $> 12.000 / \mu\text{L}$ ,  $< 4.000 / \mu\text{L}$ , neutrofili banda  $> 10\%$ .

**Sepsi severa** = sepsi associata a disfunzione organica, ipoperfusione o ipotensione. L'ipoperfusione può includere, anche se non necessariamente, acidosi lattica, oliguria o alterazione acuta dello stato mentale.

**Shock settico** = shock sepsi indotto con ipotensione refrattaria ad adeguata fluidoterapia, associata ad anomalie di perfusione che possono includere acidosi lattica, oliguria o alterato stato mentale.

**Ipotensione sepsi indotta** = pressione arteriosa sistolica  $< 90\text{ mm Hg}$ , pressione arteriosa media  $< 60\text{ mm Hg}$  o riduzione  $> 40\%$  rispetto al valore basale in assenza di altre cause di ipotensione.

**MODS** (sindrome da disfunzione multiorganica) = presenza di disfunzioni organiche in pazienti acuti tali che l'omeostasi non può essere mantenuta senza un intervento terapeutico.

Per quanto riguarda la medicina veterinaria, per quanto siano applicabili le definizioni suddette (con i dovuti aggiustamenti per quanto riguarda i parametri specie-specifici), per quanto riguarda i criteri di SIRS il dibattito è ancora aperto.

I criteri proposti per la diagnosi di SIRS nel cane includono almeno due fra i seguenti:

- ❖ Temperatura corporea  $> 39\text{ }^{\circ}\text{C}$  o  $< 38\text{ }^{\circ}\text{C}$
- ❖ Frequenza cardiaca  $> 120\text{ bpm}$
- ❖ Frequenza respiratoria  $> 20$  atti respiratori al minuto
- ❖  $\text{WBC} < 6 \times 10^3 / \mu\text{l}$  o  $> 16 \times 10^3 / \mu\text{l}$  o  $> 3\%$  di neutrofili banda

È stato dimostrato che questi criteri proposti nel cane hanno una sensibilità del 97% e una specificità del 64% per la diagnosi di SIRS<sup>(2)</sup>.

Questi criteri sono stati estrapolati dalla medicina umana e studi prospettici per validare tali criteri scarseggiano; è facile capire che in veterinaria, come anche in umana, l'utilizzo dei criteri proposti può portare a sovradiagnosticare lo stato clinico di SIRS. Tuttavia, dato che gli stessi criteri sono utilizzati per diagnosticare una sepsi, è meglio utilizzare criteri che portano a un maggior numero di falsi positivi che di falsi negativi<sup>(2)</sup>.

Nel gatto devono invece essere presenti almeno 3 dei seguenti criteri:

- ❖ Temperatura corporea  $> 40\text{ }^{\circ}\text{C}$  o  $< 37,8\text{ }^{\circ}\text{C}$
- ❖ Frequenza cardiaca  $> 225\text{ bpm}$  o  $< 140\text{ bpm}$
- ❖ Frequenza respiratoria  $> 40$  atti respiratori al minuto
- ❖ WBC  $< 5 \times 10^3/\mu\text{l}$  o  $> 19 \times 10^3/\mu\text{l}$

Nel gatto i criteri proposti derivano da uno studio retrospettivo in cui uno stato di sepsi grave è stato identificato alla necropsopia<sup>(3)</sup> e devono ancora essere validati da studi prospettici. Risulta particolarmente importante la differenza nella risposta emodinamica all'inflammatione sistemica fra il cane e il gatto evidenziabile dalla bradicardia tipica del gatto (detta bradicardia relativa o inappropriata) che è stata rinvenuta nel 66 % dei gatti con sepsi grave nello studio suddetto ed è stata identificata anche nel 16 % dei gatti con peritonite settica in uno studio prospettico<sup>(4)</sup>.

## 1.2 EZIOPATOGENESI E CONSEGUENZE

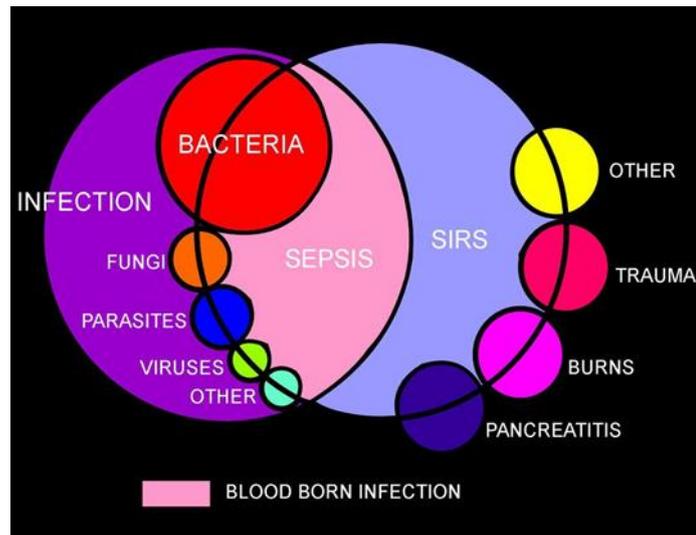


Figura 1: Cause di SIRS

In umana la SIRS è prevalentemente associata alla sepsi, ed è quindi causata da un agente infettivo, ma può manifestarsi anche in assenza di infezione, ad esempio in traumi tissutali (traumi da incidente d'auto, ustioni, chirurgie maggiori), pancreatite, colpo di calore, avvelenamento da serpenti, neoplasia<sup>(5)</sup>. Anche in veterinaria la causa più comune di SIRS è la sepsi; altre cause sono colpo di calore, pancreatite, malattie immunomediate, neoplasie, politraumi severi e ustioni<sup>(20,40)</sup>. La sepsi può essere causata da batteri anaerobi, batteri gram+ e gram- e loro prodotti, funghi, virus o protozoi.

Indipendentemente dalla causa scatenante l'infiammazione è causata inizialmente dalle citochine rilasciate dai macrofagi in risposta all'invasione microbica o a un danno tissutale e l'attivazione dei macrofagi è considerato lo step iniziale essenziale per scatenare la cascata infiammatoria in ogni SIRS/sepsi<sup>(6)</sup>. I fattori che stimolano maggiormente i macrofagi e i monociti sono i lipopolisaccaridi dei batteri gram- (LPS), endotossine che si legano alle LPS-binding proteins plasmatiche; questo complesso si lega a sua volta ai recettori CD14 dei macrofagi e il complesso LPS-LPS-binding proteins-CD14 stimola i recettori Toll-like presenti sulla membrana macrofagica che portano all'attivazione dei macrofagi<sup>(6)</sup>. Nella letteratura veterinaria gli enterobatteri gram- sono infatti la causa più documentata di sepsi<sup>(3, 7-10)</sup>. I batteri gram+ possono indurre sepsi/ sirs tramite le esotossine solubili chiamate "superantigeni" che scatenano una risposta simile a quella degli LPS ma agiscono sui recettori Toll-like di tipo 2; i superantigeni batterici stimolano direttamente la proliferazione di linfociti T e attivano i macrofagi attraverso l'interazione con i recettori per il complesso maggiore di istocompatibilità classe II bypassando il riconoscimento e la presentazione dell'antigene<sup>(11)</sup>. Il batterio gram+ che più frequentemente causa sepsi è lo *Streptococcus canis*, che può portare a una sindrome da

shock settico e a fasciti necrotizzanti nel cane<sup>(12,13)</sup>; sepsi da gram+ possono essere indotte anche in assenza di esotossine per l'azione di componenti della parete batterica (peptidoglicano, acido lipoteicoico, DNA batterico) che stimolano il rilascio di citochine, l'attivazione del complemento, l'attivazione delle cellule endoteliali e l'attivazione piastrinica. Queste componenti stimolano molto meno il rilascio di tumor necrosis factor (TNF- $\alpha$ ) rispetto all' LPS (che è 1000 volte più potente del peptidoglicano nella stimolazione di questo fattore), e ciò può aiutare a spiegare perché le sepsi da gram- sono molto più frequenti di quelle da gram+<sup>(14)</sup>. Altri fattori che stimolano l'attivazione macrofagica e monocitica sono i mannani dei funghi. Per quanto riguarda le cause non infettive di SIRS i maggiori studi in veterinaria si concentrano sulla pancreatite, che è ormai una delle più note cause scatenanti SIRS<sup>(15)</sup>: i sintomi aspecifici e generici di pancreatite acuta come tachicardia, tachipnea e febbre sono proprio dovuti al rilascio di mediatori dell'inflammatione da parte dei leucociti che invadono gli acini pancreatici, tra cui il TNF- $\alpha$  e l'interleuchina 6 (IL-6) che oltretutto sono prodotti anche dalle cellule acinari pancreatiche stesse in livelli tali da dare effetto citotossico anche senza l'attivazione degli enzimi pancreatici<sup>(16,17)</sup> e da instaurare, col contributo di altri mediatori dell'inflammatione, una SIRS con tutte le conseguenze gravi e letali che questa può portare.

Per tornare al meccanismo patogenetico, una complessa interazione tra leucociti (in particolare neutrofili), macrofagi, cellule endoteliali e piastrine porta all'attivazione cellulare e al rilascio di numerosi mediatori dell'inflammatione: citochine, linfocine, monochine, TNF- $\alpha$ , interleuchina 1(IL- 1), interleuchina 6 (IL-6), precallicreine, bradichinina, fattore di attivazione piastrinico (PAF), ossido nitrico (NO), prostaglandine (PG ), leucotrieni (LT), lisozima, fattore procoagulante tissutale, interferone, radicali tossici dell'ossigeno, complemento, proteasi, lattoferrine, catepsine e defensine<sup>(18)</sup>.

L'attivazione di una risposta infiammatoria di fronte all'invasione di un patogeno o a un insulto è assolutamente fisiologica e fondamentale perché l'organismo si possa difendere da esso. Per mantenere la normale omeostasi il sistema immunitario è fisiologicamente designato a rispondere rapidamente ai segnali di pericolo, inclusi i patterns molecolari associati ai patogeni (PAMPs, pathogens associated molecular patterns ), che indicano l'invasione dell'organismo da parte di microrganismi patogeni (es. LPS, endotossine dei gram- e peptidoglicani), e i patterns molecolari associati a un pericolo (DAMPs, danger associated molecular patterns), che sono markers di danno cellulare endogeno (es. heat shock proteins, la proteina high mobility group 1, l' ATP, il DNA) . Questi attivano il sistema immunitario innato e acquisito (innanzitutto, come detto sopra, i macrofagi) principalmente attraverso i recettori Toll-like che portano all'attivazione della cascata infiammatoria<sup>(19)</sup>.

In condizioni normali questa risposta infiammatoria è bilanciata da una risposta anti-infiammatoria che prende il nome di CARS (compensatory antinflammatory response syndrome) caratterizzata dal rilascio di mediatori antinfiammatori, inclusi l'interleuchina 10 (IL-10), l'interleuchina 13 (IL-13), l'interleuchina 4 (IL-4) e il fattore di crescita trasformante beta (TGF- $\beta$ ), dalla produzione di recettori antagonisti di mediatori dell'infiammazione come il TNF- $\alpha$  e da una riduzione della produzione dei linfociti T e B <sup>(20)</sup>. Lo scopo della CARS è di limitare i danni dati dalla risposta infiammatoria stessa e di mantenerla a un livello locale, senza interferire col patogeno o col danno scatenante.

Può accadere però che l'organismo subisca un secondo insulto – che può derivare da una chirurgia, da ipoperfusione, da ipossia tissutale, da un danno da riperfusione – che porta alla perdita del bilanciamento della risposta infiammatoria, che diviene esagerata, da parte della risposta anti-infiammatoria <sup>(21)</sup>. Si sviluppa così una SIRS, che contribuisce al danno tissutale, all'insufficienza d'organo e infine alla morte.

Un disequilibrio tra la risposta infiammatoria e la risposta antinfiammatoria è in ogni caso dannoso e benchè la CARS sia fondamentale per il controllo dello stato infiammatorio, una sua eccessiva stimolazione può portare a uno stato di “immunoparalisi” che rende l'ospite vulnerabile a ulteriori insulti e infezioni e in particolare aumenta la sua suscettibilità alle infezioni nosocomiali documentate negli stadi finali di sepsi <sup>(22-27)</sup>.

La rottura dell'omeostasi e il prevalere dei mediatori proinfiammatori porta a gravi conseguenze per l'organismo che sono riassumibili in:

- 1) Perdita del tono vascolare e aumento della permeabilità capillare. La perdita del tono vascolare è dovuta innanzitutto all'eccessiva produzione di un precursore del rilascio dell' NO, la sintetasi inducibile dell'ossido nitrico (Inos) <sup>(28)</sup>, un'isoforma dell' enzima ossido nitrico sintetasi che non si trova normalmente nelle cellule quiescenti ma la cui produzione può essere indotta da numerose citochine infiammatorie e da prodotti batterici come l'LPS all'interno del citosol di numerose cellule dell'organismo incluse cellule endoteliali, macrofagi, mastociti, monociti, epatociti e cellule muscolari lisce <sup>(29)</sup>. Inoltre i pazienti in SIRS vanno spesso incontro a deficienza di vasopressina, ormone vasocostrittore molto potente che fa sì che il sangue sia dirottato verso i distretti più importanti e che se carente può rendere l'ospite incapace di compensare e portare allo shock vasodilatatorio; i meccanismi che possono portare a deficienza di vasopressina sono : la deplezione delle scorte di vasopressina a livello ipofisario dopo il rilascio massivo della stessa nelle fasi iniziali di shock settico, una disfunzione autonoma nei pazienti in shock settico, l'aumentato rilascio di NO da parte degli endoteli vascolari all'interno dell'adenoipofisi che porta a una down regulation della produzione di

vasopressina<sup>(30)</sup>. Un altro meccanismo che porta a perdita del tono vascolare in SIRS/sepsi è la probabile deficienza di cortisolo, i cui meccanismi patogenetici saranno trattati nel dettaglio nel capitolo relativo alla patogenesi della CIRCI. La distruzione della barriera endoteliale semipermeabile è causata direttamente dall'azione delle citochine infiammatorie<sup>(31,32)</sup>; a livello locale questo aiuta la migrazione dei macrofagi verso la sede dell'infezione o dell'insulto ma se questo evento ha luogo su scala sistemica come avviene in una SIRS porta alla fuoriuscita di fluidi nel terzo spazio e alla formazione di edemi, sia a livello periferico che organico, contribuendo alla disfunzione di vari organi<sup>(33)</sup>. Le alterazioni della barriera endoteliale in corso di sepsi avvengono in particolare a causa della degradazione del glicocalice, uno strato superficiale che ricopre le cellule endoteliali di tutto l'organismo costituito da glicosaminoglicani e proteine; in corso di sepsi infatti il glicocalice è target di mediatori infiammatori e leucociti, e markers della sua degradazione, esempio i livelli circolanti di sindecani e selectine e la microalbuminuria, possono essere usati come markers di disfunzione endoteliale e gravità della sepsi<sup>(572)</sup>.

- 2) Attivazione della coagulazione. Esistono numerosi studi che descrivono la stretta correlazione fra infiammazione e coagulazione<sup>(34-38)</sup>. Le citochine proinfiammatorie portano a uno stato di ipercoagulabilità, inducendo l'espressione di fattori tissutali sulla superficie dei leucociti che portano alla deposizione di fibrina nel microcircolo e compromettendo la fibrinolisi, e contribuiscono così all'insufficienza organica negli stati infiammatori. Inoltre negli stati flogistici i fattori anticoagulanti endogeni, come la proteina C, l'antitrombina, la trombomodulina e l'inibitore della via del fattore tissutale sono consumati e spesso compromessi. Esiste una relazione bidirezionale fra infiammazione e coagulazione, ovvero l'infiammazione promuove uno stato d'ipercoagulabilità e viceversa l'ipercoagulabilità e la downregulation dei meccanismi anticoagulanti stimolano ulteriormente la flogosi: in particolare, per esempio, la trombina, risultante dall'attivazione della coagulazione, stimola l'attivazione dei leucociti e quindi la produzione di ulteriori citochine infiammatorie, mentre il TNF- $\alpha$  inibisce l'attivazione della Proteina C, che oltre all'effetto anticoagulante ha proprietà anti-infiammatorie. Effetti deleteri dello stato di ipercoagulabilità in corso di SIRS comprendono tromboembolismo polmonare, formazione di trombi nel microcircolo e progressione a uno stato di CID (coagulazione intravasale disseminata)<sup>(39)</sup>.

- 3) Depressione dell'attività cardiaca

In corso di SIRS si assiste quindi a una precoce riduzione delle resistenze vascolari sistemiche essenzialmente dovuta alla perdita del tono vascolare e alla dilatazione arteriolare e il microcircolo (i capillari) viene gradualmente occluso dall'accumulo di neutrofili e trombi piastrinici; il sangue periferico cerca così di percorrere i vasi non

occlusi rappresentati dalle arteriole dilatate contribuendo alla riduzione del precarico e della pressione arteriosa. Nella fase iniziale di una SIRS o sepsi per contrastare questa riduzione delle resistenze vascolari sistemiche e del precarico e mantenere la perfusione agli organi si assiste a un aumento della frequenza cardiaca e dello stroke volume che fanno sì che la gittata cardiaca si mantenga normale o addirittura aumenti, ma col progredire della patologia la gittata cardiaca diminuisce; l'instabilità emodinamica delle prime fasi di SIRS/sepsi è quindi caratterizzata da questo stato iperdinamico che coinvolge componenti di uno shock distributivo che può però progredire e essere aggravato da uno shock ipovolemico e cardiogenico<sup>(18,40)</sup>. In particolare il TNF-  $\alpha$  e altri mediatori infiammatori sono inotropi negativi diretti e contribuiscono allo sviluppo di uno shock cardiogeno<sup>(41)</sup>; la trombosi locale e l'ipossia miocardica vanno a esacerbare ulteriormente la disfunzione sistolica<sup>(42)</sup>; tutto ciò porta quindi alla depressione miocardica che compromette la gittata cardiaca e la perfusione tissutale fino ad arrivare agli stadi finali di sepsi. In modelli sperimentali di shock settico effettuati sui cani si è osservata una malfunzione della fase sistolica e diastolica<sup>(43)</sup>.

I pazienti in SIRS, se questa viene poi aggravata dall'ipotensione, possono quindi andare incontro contemporaneamente a tre tipi di shock, tutti causati dall'azione di citochine e fosfolipidi liberati nella flogosi tramite i meccanismi patogenetici precedentemente descritti:

- ❖ Shock ipovolemico, dovuto a una riduzione del volume circolante per la fuoriuscita di liquidi e proteine dallo spazio intravascolare
- ❖ Shock distributivo, dovuto alla vasodilatazione periferica, a una riduzione delle resistenze vascolari periferiche o a una maldistribuzione del flusso sanguigno
- ❖ Shock cardiogeno, dovuto alla riduzione della performance cardiaca

Lo shock è definito come un deficit energetico secondario a una scarsa perfusione causata da una riduzione o da un'alterata distribuzione del flusso sanguigno che porta a una riduzione critica dell'apporto di ossigeno distribuito ( $DO_2$ ) rispetto all'ossigeno totale utilizzato dall'organismo ( $VO_2$ )<sup>(53)</sup>. La conseguenza comune di tutti e tre i tipi di shock è quindi la riduzione del flusso ematico e di ossigeno ai tessuti che porta ad ipossia cellulare e a deficit energetico; come risposta adattativa si assiste inizialmente a un incremento dell'utilizzo dell'ossigeno totale nell'organismo ( $VO_2$ ) e successivamente a un aumento della distribuzione dell'ossigeno ( $DO_2$ ) agli organi vitali. Un altro adattamento metabolico in tali condizioni è l'attivazione della glicolisi anaerobia con cui l'organismo produce energia in assenza di ossigeno, meccanismo che porta però all'accumulo di acido lattico. Quando questi meccanismi compensatori falliscono o si protraggono per troppo tempo possono manifestarsi danni tissutali

permanenti o insufficienze d'organo e si passa alla fase ipodinamica dello shock, una fase scompensata che può arrivare alla MODS ed essere fatale. Altri meccanismi che possono verificarsi in SIRS/sepsi e portare a shock, anche se meno comuni rispetto a quelli che portano ai 3 tipi di shock suddetti, sono disturbi metabolici come ipoglicemia, ipossia citopatica e disfunzioni mitocondriali ("shock metabolico") e una riduzione del contenuto di ossigeno nel sangue arterioso per anemia, gravi patologie polmonari, intossicazioni da monossido di carbonio o metaemoglobinemia ("shock ipossiémico")<sup>(53)</sup>.

Conseguenza ultima e deleteria a cui può portare una SIRS è appunto la MODS, che come già definito, è la disfunzione potenzialmente reversibile (ma che può progredire in insufficienza) di almeno due sistemi organici conseguente a un grave insulto che fa sì che l'omeostasi non possa essere mantenuta senza un intervento terapeutico. L'esatta incidenza della MODS in umana è difficile da stabilire perché non c'è un vero consenso per quanto riguarda la definizione di disfunzione in ogni singolo sistema organico<sup>(1, 44)</sup>, tuttavia si stima che circa il 15 % dei pazienti ricoverati nelle unità di terapia intensiva sviluppino MODS<sup>(45,46)</sup>. In veterinaria è riportata un'incidenza nei cani del 4 % circa in traumi e del 50 % circa in sepsi, e in entrambi i casi è associata a una prognosi sfavorevole<sup>(47,48)</sup>. Sono proposti tre modelli per spiegare come si possa sviluppare una MODS<sup>(44,49)</sup>. Il primo è il cosiddetto "**one-hit model**", in cui l'insufficienza d'organo si sviluppa come insulto diretto di un insulto iniziale massivo, come una sepsi, un politrauma o un'ustione; il secondo modello, "**two-hit model**", descrive un insulto primario a cui segue un insulto secondario che può essere anche minimo- come un'infezione correlata a un catetere endovena- che aggrava però la già presente infiammazione e disfunzione organica; il terzo modello, conosciuto come "**sustained-hit model**" trova la causa in un insulto continuato responsabile sia del danno iniziale sia del perpetuarsi del fenomeno, come una polmonite associata alla ventilazione meccanica o un'infiammazione in corso del tratto gastroenterico; probabilmente i tre meccanismi coesistono. I meccanismi patogenetici che portano allo sviluppo di una MODS includono 1) ipossia cellulare o tissutale, 2) induzione dell'apoptosi cellulare, 3) traslocazione batterica o di componenti batteriche dal tratto gastroenterico, 4) disfunzioni del sistema immunitario, 5) disfunzioni mitocondriali<sup>(44)</sup>; sebbene siano tutti importanti i meccanismi principali sembrano essere gli ultimi due<sup>(50)</sup>.

### 1.3 DIAGNOSI: CLINICA ED ESAMI DI LABORATORIO

La diagnosi di SIRS in medicina veterinaria, come in medicina umana, può essere complicata e deve basarsi innanzitutto sui criteri diagnostici di SIRS proposti e sopraelencati<sup>(2,3)</sup>, accompagnati da altre manifestazioni cliniche e rilievi di laboratorio di seguito trattati<sup>(18,20,40)</sup>.

I segni clinici di SIRS, assimilabili a quelli di sepsi, dipendono in gran parte dalla causa scatenante ma sono accompagnati in genere da segni aspecifici come perdita di appetito e depressione. Nel cane si osservano tipicamente in una fase iniziale febbre, mucose congeste rosso mattone, tempo di riempimento capillare rapido, tachicardia e polso periferico forte, indicativi di uno stato iperdinamico compensato di SIRS, stato in cui la pressione si mantiene generalmente normale o alta; questi segni sono principalmente dovuti alla liberazione di NO<sup>(2,40,51,52)</sup>. Segni clinici molto comuni sono vomito e diarrea, anche se la causa scatenante la SIRS non è gastroenterica in origine.

Cambiamenti clinici che si possono osservare quando si passa dallo stato iperdinamico allo stato ipodinamico includono mucose pallide e/o itteriche, tempo di riempimento capillare prolungato, ipotermia, polso debole e ottundimento del sensorio<sup>(53)</sup>.

I gatti come già detto mostrano spesso bradicardia e non sempre tachicardia e inoltre non manifestano in genere lo stato iperemico iperdinamico<sup>(4,40)</sup>; si presentano in genere con mucose pallide e/o itteriche, polso debole e ipotensione, estremità fredde, ipotermia, dolore addominale diffuso, debolezza generalizzata o collasso<sup>(53)</sup>.

I sintomi clinici variano poi a seconda degli apparati coinvolti; le funzioni che possono essere compromesse sono quella epatica, respiratoria (con il possibile sviluppo di ARDS = sindrome da distress respiratorio acuto), gastrointestinale, cardiovascolare, emostatica, renale (con possibile sviluppo di AKI = danno renale acuto), nervosa e endocrina (in particolare surrenale)

E' importante ricordare che nel cane l'organo dello shock è il gastroenterico, per cui in corso di shock, visto che il sangue viene deviato dal gastroenterico a organi vitali, si osservano spesso ileo, diarrea, ematochezia e melena, e la rottura della barriera gastroenterica può portare alla pericolosa sequela della traslocazione batterica; nel gatto invece l'organo dello shock è il respiratorio per cui è molto comune che il paziente si presenti con diversi gradi di compromissione della funzionalità respiratoria fino all'insufficienza respiratoria, a causa della presenza di edema polmonare e effusione pleurica<sup>(40,53)</sup>. Nel gatto l'insufficienza respiratoria è in assoluto il sintomo più comune in corso di sepsi<sup>(3)</sup>.

A partire dal sospetto clinico, per emettere una diagnosi presuntiva di SIRS e per ricercare una probabile fonte di sepsi come causa di essa deve essere eseguita una valutazione diagnostica completa, comprensiva di emocromo completo, profilo biochimico, profilo coagulativo, esame delle urine con urocoltura e antibiogramma ed esami di diagnostica per immagini (radiografie toraciche addominali, ecografia addominale e ecocardiografia). Tutti questi esami sono fondamentali, oltre che per individuare foci settici, anche per decidere se il paziente necessita di un approccio chirurgico oltre che medico.

All'esame emocromocitometrico un forte sospetto di SIRS/sepsi può essere emesso al riscontro di leucocitosi neutrofilica, con o senza left shift, e dall'osservazione di neutrofilii tossici alla citologia, anche se frequente è anche il rilievo di leucopenia. La leucocitosi neutrofilica può essere spiegata da vari fattori inclusi il reclutamento di neutrofilii maturi dal pool marginale al pool circolante, la mobilitazione di linfociti maturi e immaturi dal midollo osseo e un'aumentata leucopoiesi; normalmente l'aumento di globuli bianchi è moderato ma a volte può essere presente una leucocitosi importante che viene chiamata reazione leucemoide (simile agli aumenti osservabili in una leucemia ma di origine non neoplastica). La leucopenia, in genere dovuta a una neutropenia, può essere il risultato di una deplezione dei precursori dei granulociti nel midollo osseo, di un arresto nella maturazione dei granulociti e di una migrazione nel sito di infezione di un numero eccessivo di leucociti rispetto alla capacità di rinnovo del midollo osseo. Importante è anche l'esame dello striscio di sangue periferico che può evidenziare la persistenza di granulazioni tossiche che compaiono nello stadio di promielocita, dei corpi di Dohle (aree residue grigio blu di citoplasma ricco di RNA) e di vacuoli citoplasmatici come fagolisosomi e vacuoli autofagici; inoltre talvolta è possibile identificare direttamente i batteri intracellulari nello striscio allestito dal buffy coat<sup>(54)</sup>.

Per quanto riguarda la linea rossa, la fuoriuscita di liquidi nello spazio extravascolare che si verifica in corso di SIRS/sepsi può far sì che in una fase iniziale, quando ancora non si è verificato lo shift dei fluidi dallo spazio extravascolare a quello intravascolare e la fluidoterapia non è stata ancora iniziata, si ritrovi emoconcentrazione. Tuttavia il reperto più comune è l'anemia, di origine multifattoriale: può essere dovuta a una perdita di sangue, a una ridotta produzione (anemia ipoproliferativa a causa di un processo mediato dalle citochine infiammatorie che include un blocco a livello reticoloendoteliale del ferro, una ridotta sensibilità dell'eritrono all'eritropoietina e una ridotta sopravvivenza dei globuli rossi) o a un'aumentata distruzione (anemia emolitica, causabile da frammentazione dei globuli rossi in seguito allo sviluppo di una CID, da microangiopatia con rilievo possibile di schistociti o da lisi diretta dei globuli rossi da parte di componenti batteriche)<sup>(54)</sup>. L'anemia in corso di infiammazione sistemica è riscontrata molto più frequentemente nel gatto che nel cane<sup>(55)</sup>, per una serie di fattori specifici della specie felina: i gatti hanno un volume intravascolare minore del cane, una

scarsa capacità rigenerativa nel rimpiazzare le perdite di globuli rossi e l'emoglobina felina è più suscettibile allo stress ossidativo che porta all'emolisi ; per questo nel gatto è particolarmente importante fare molta attenzione all'esecuzione dei prelievi ematici e al volume ematico prelevato perché ne può facilmente risultare un'anemia iatrogena.

Per quanto riguarda le piastrine, per quanto sia possibile riscontrarne un aumento trattandosi di uno stato infiammatorio, il reperto più comune è la trombocitopenia, spesso associata allo sviluppo di una CID. L'origine è multifattoriale : in modelli sperimentali di sepsi le piastrine aderiscono agli endoteli attivati in numerosi organi<sup>(56,57)</sup>; mediatori dell'infiammazione e prodotti batterici come le endotossine possono contribuire alla trombocitopenia aumentando la reattività e l'adesività delle piastrine<sup>(58)</sup>; altri fattori che possono contribuire alla trombocitopenia sono la fagocitosi delle piastrine da parte delle cellule reticoloendoteliali e il possibile sviluppo di anticorpi antiplastrine<sup>(59)</sup>.

Numerosi studi sono stati condotti per investigare le alterazioni dell'emostasi nei cani con infiammazione sistemica. In uno studio, tutti e 9 i cani affetti da enterite da parvovirus mostravano uno stato di ipercoagulabilità dimostrata tramite l'utilizzo del tromboelastografo e il reperto di ridotta attività dell'antitrombina<sup>(60)</sup>. Un altro studio, confrontando cani malati con o senza SIRS rispetto a controlli sani, ha evidenziato un aumento del tempo di protrombina (PT) e del tempo di tromboplastina parziale attivata (aPTT), una riduzione dell'attività dell'antitrombina e della proteina C e un aumento dei D-dimeri, in entrambi i gruppi di cani malati rispetto ai controlli<sup>(61)</sup>. Altri studi hanno dimostrato una riduzione dell'attività della proteina C e dell'antitrombina in cani in sepsi, confermando la tendenza all'ipercoagulabilità in corso di questa patologia<sup>(62-64)</sup>.

Le principali alterazioni riscontrabili in un profilo biochimico sono iperglicemia o ipoglicemia, ipoalbuminemia, aumento dell'alanina amino transferasi (ALT) e aspartato amino transferasi (AST) e iperbilirubinemia<sup>(20,40)</sup>. I cambiamenti dei livelli ematici di glucosio sono dovuti a un'alterazione del metabolismo dei carboidrati: nelle fasi precoci di SIRS si assiste a iperglicemia per un aumento della gluconeogenesi epatica, un aumento della glicogenolisi da parte degli ormoni controregolatori (epinefrina, ormone della crescita e cortisolo), un aumento del rapporto glucagone/insulina e uno shift dall'ossidazione del glucosio al metabolismo degli acidi grassi; nelle fasi finali, quando il consumo eccessivo di glucosio supera la produzione dello stesso, si va incontro a ipoglicemia. L'ipoalbuminemia risulta sia da una ridotta produzione da parte del fegato a favore della produzione di proteine infiammatorie di fase acuta sia da una perdita attraverso gli endoteli vascolari con alterata permeabilità. L'aumento dell'AST e dell'ALT, espressione di un danno citolitico, può risultare da cambiamenti nella perfusione dell'organo e riduzione dell'apporto d'ossigeno ai tessuti, da danno ossidativo e da

eventuali tossine batteriche. Infine l'aumento della bilirubina è principalmente dovuto alla colestasi, dovuta a un'inibizione della pompa  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$  che ostacola il movimento della bilirubina coniugata attraverso i canalicoli biliari; inoltre il TNF riduce l'attività delle pompe di membrana degli epatociti e il trasporto degli acidi biliari da un 50 a un 90 % in modelli in laboratorio; anche il verificarsi di un'emolisi immunomediata può avere un ruolo nel determinare l'iperbilirubinemia <sup>(65,66)</sup>. L'effetto dell'infiammazione acuta sulla funzione renale è documentato da uno studio riguardante la proteinuria nei cani in SIRS <sup>(67)</sup> che ha evidenziato una disfunzione glomerulare e tubulare dimostrata da cambiamenti nei rapporti proteine urinarie / creatinina urinaria, albumina urinaria / creatinina urinaria e proteina legante il retinolo urinaria e creatinina urinaria.

È importante ricordare che il gatto in corso di SIRS è più soggetto all' ipoglicemia, all'ipotensione e all'iperbilirubinemia.

Le principali alterazioni riscontrabili all'emogasanalisi sono acidosi metabolica, dovuta all'ipoperfusione tissutale e iperlattatemia. L'iperlattatemia nei pazienti in SIRS/sepsi si può verificare per svariati motivi riconducibili sia all'iperlattatemia di tipo A che all'iperlattatemia di tipo B. L'iperlattatemia di tipo A, la più comune, è dovuta ad un aumento della produzione di lattato dovuta all'ipossia tissutale per uno shift dalla glicolisi aerobia alla glicolisi anaerobia, che può avvenire per ipoperfusione tissutale (per ipovolemia o ridotta frequenza cardiaca) come avviene in shock ipovolemico, settico o cardiogeno; ridotto contenuto di ossigeno arterioso come in anemia; ridotta abilità dei tessuti a mobilizzare l'ossigeno dal letto capillare come nelle condizioni di edema; condizioni di ipermetabolismo come una flogosi. L'iperlattatemia di tipo B avviene invece per una ridotta clearance dei lattati, un'alterata funzione mitocondriale o un'alterato metabolismo dei carboidrati <sup>(565)</sup>.

Particolarmente importante per l'identificazione di uno stato infiammatorio e in seguito per il monitoraggio e la risposta alla terapia è la quantificazione delle proteine infiammatorie di fase acuta (APP) sia di quelle positive, in particolare Proteina C reattiva (CRP) e fibrinogeno, sia delle negative, come albumina e transferrina <sup>(68,69,70,71)</sup>.

Identificato un paziente in SIRS è fondamentale, come già detto, distinguere il prima possibile se l'infiammazione sistemica è di origine infettiva ovvero se si tratta di una sepsi. La positività delle emocolture consente di verificare una batteriemia e la misurazione delle concentrazioni sieriche di endotossine la presenza di endotossiemie. Nonostante l'esecuzione delle emocolture e di colture a partire da altri campioni biologici, corredate dall'antibiogramma, sia di fondamentale importanza, i lunghi tempi di attesa per i risultati fanno sì che non si rivelino utili in urgenza per distinguere le sepsi dalle SIRS non settiche.

La più comune causa di sepsi è la peritonite settica<sup>(62,72-74)</sup>, che può essere causata da un gran numero di eventi, come neoplasie gastroenteriche, corpi estranei perforanti, deiscenze di siti bioptici o chirurgici dell'apparato gastroenterico, ulcere associate a somministrazione di farmaci anti-infiammatori non steroidei, coliti gravi, perforazioni da megacolon, rottura della vescica urinaria, della cistifellea o dell'utero, gastroenteriti virali o batteriche, formazioni ascessuali a livello di fegato, milza, pancreas, linfonodi mesenterici; altre cause di sepsi sono pielonefriti, polmoniti, artriti settiche, piodermiti profonde, endocarditi batteriche, patologie trasmesse da zecche, vasculiti, meningiti settiche, pitorace, traumi, ferite da morso, osteomieliti, prostatiti e immunosoppressione<sup>(75)</sup>. Da ciò si evince che spesso è possibile identificare il focolaio settico dalla visita clinica e da un pannello completo di esami di laboratorio e di diagnostica per immagini, ma non sempre. Alla luce di ciò vari studi si sono concentrati sulla ricerca di markers biologici che identificano l'assenza o la presenza di infezione batterica in pazienti con segni clinici di SIRS, e il maggiore interesse, sia in umana che in veterinaria, è rivolto alla CRP e alla procalcitonina (PCT). La CRP è una proteina di fase acuta prodotta dagli epatociti in risposta al rilascio di citochine infiammatorie; il picco di questa proteina è da 36 a 50 ore dopo la secrezione e la sua emivita è di 19 ore; nonostante studi in umana supportino il suo aumento in corso di sepsi<sup>(76)</sup>, incrementi della CRP sono stati rilevati anche in altri processi infiammatori come traumi, pancreatiti acute, chirurgie e infarti del miocardio. Vista la mancanza di specificità la CRP non è quindi considerata il marker ideale di sepsi in medicina umana. La procalcitonina, precursore della calcitonina, prodotta normalmente dalla tiroide, in corso di sepsi sembra essere prodotta dai globuli bianchi mononucleati sotto stimolazione delle citochine infiammatorie e delle endotossine; viene rilasciata alcune ore dopo il rilascio delle endotossine, e livelli di picco persistono per più di 24 ore. Il ruolo della PCT in corso di sepsi non è ben chiaro ma è stato dimostrato che aumenta il rilascio di ossido nitrico mediato dal rilascio del iNOS, e che può quindi amplificare la risposta infiammatoria<sup>(78)</sup>. Studi in medicina umana hanno documentato livelli elevati di PCT in pazienti con infezioni batteriche complicate da infezioni sistemiche e cambiamenti minimi o nulli in pazienti con infezioni localizzate o infezioni a eziologia virale<sup>(79,80)</sup>; ciò supporta l'utilizzo della PCT nel differenziare le sepsi dalle SIRS non settiche. In veterinaria, come detto precedentemente esistono studi che documentano cambiamenti della CRP e di altri marker infiammatori in corso di SIRS, ma mancano studi significativi, in particolare sulla loro utilità per distinguere le SIRS di origine settica da quelle di origine non settica. In particolare per quanto riguarda la PCT ci sono speranze che in un futuro anche in veterinaria possa essere utilizzata come marker di sepsi, ma attualmente la ricerca è fortemente limitata dall'assenza di test diagnostici validati per la sua misurazione<sup>(81,82,83)</sup>.

## 1.4 TERAPIA e MONITORAGGIO

Un trattamento precoce e un monitoraggio intensivo sono imperativi in un paziente affetto dalle sindromi cliniche di SIRS, sepsi e MODS per massimizzare le possibilità di sopravvivenza.

I punti fondamentali della terapia di una SIRS sono il trattamento della patologia sottostante scatenante e la terapia di supporto. È quindi innanzitutto fondamentale diagnosticare quanto prima se si tratta di una sepsi per controllare il focolaio d'infezione e impostare la più appropriata terapia antibiotica; tuttavia gli antibiotici sono comunque spesso inclusi nel piano terapeutico in corso di SIRS anche in assenza di una causa infettiva documentata<sup>(20)</sup>, e il trattamento di supporto, dal supporto emodinamico con fluidoterapia o farmacologico alle varie terapie aggiuntive, è sovrapponibile e in entrambe le situazioni cliniche variabile a seconda della gravità e dello stadio clinico del processo morboso.

Data la sostanziale sovrapponibilità tra trattamento della SIRS e della sepsi, dato che la sepsi, la sepsi severa, lo shock settico sono tutte possibili evenienze in corso di SIRS, e considerando che quanto attuato in medicina veterinaria ricalca con le appropriate modifiche l'approccio in medicina umana, vengono prese ad esempio le linee guida umane stabilite nella Surviving Sepsis Campaign (SSC) nel 2012<sup>(85)</sup>, in cui vengono discusse tutte le possibili opzioni terapeutiche applicabili nei pazienti affetti da queste sindromi, corredate da informazioni sul monitoraggio dei pazienti e da informazioni prognostiche. La SSC affronta innanzitutto il trattamento da attuare in caso che il paziente si presenti in situazioni particolarmente gravi di ipoperfusione sepsi-indotta, propone dei "bundles", ovvero dei "pacchetti", un insieme di misure e target terapeutici che attuati insieme offrono una maggior possibilità di successo, stabilisce le procedure fondamentali da attuare nelle prime ore dalla presentazione del paziente, per poi proseguire con la trattazione dettagliata dei vari interventi terapeutici.

Ogni aspetto sarà valutato sia in ambito umano che veterinario.

### 1.4.1 RIANIMAZIONE INIZIALE

Prima di tutto è necessario conoscere i criteri di SIRS in modo da identificare subito i pazienti che rispondono a tali criteri e, conoscendo le definizioni stabilite nell' ACCP /SCCM Consensus Conference, capire se il paziente presenta o è rischio di sviluppare una delle condizioni descritte. Quindi devono essere identificati i pazienti a rischio: in caso che il paziente si presenti in uno stato di ipoperfusione tissutale (definita in umana e adottata in veterinaria come ipotensione persistente dopo un'iniziale fluidoterapia con boli da 20 a 40 ml/kg o una concentrazione di lattati  $\geq 4$  mmol/l) deve essere iniziata quanto prima la rianimazione

quantitativa. Nelle prime 6 ore i target terapeutici a cui si deve aspirare secondo la SSC sono i seguenti:

- ❖ Pressione venosa centrale (CVP) 8-12 mm Hg
- ❖ Pressione arteriosa media (MAP)  $\geq$  65 mm Hg
- ❖ Output urinario  $\geq$  0,5 ml/kg/h
- ❖ Saturazione di ossigeno della vena cava craniale (ScvO<sub>2</sub>) o saturazione di ossigeno venoso misto (SvO<sub>2</sub>) rispettivamente 70 % e 65 %

A questi si deve aggiungere la normalizzazione dei lattati nei pazienti che presentavano lattati elevati come marker di perfusione tissutale (anche se questo punto non è incluso fra i goal terapeutici standardizzati da protocollo, è fortemente raccomandato dalla SSC nelle linee guida per guidare la rianimazione iniziale).

Questa strategia è chiamata early goal-directed therapy (EGDT, terapia precoce diretta al raggiungimento dell'obiettivo), e uno dei primi e più famosi studi in cui è stata applicata è quello di Rivers et al. del 2001<sup>(86)</sup>: la EGDT è stata confrontata con le cure standard in questo studio randomizzato con gruppo di controllo ed è risultata in una riduzione del tasso di mortalità a 28 giorni del 15,9 % (Fig 2). In seguito molti sono gli studi che hanno esaminato e validato la EGDT fino ad arrivare all'inclusione di questa nelle linee guida della SSC: solo per fare un esempio, in un altro trial più recente, eseguito su 314 pazienti in sepsi severa in 8 centri cinesi, è stata riscontrata una riduzione della mortalità a 28 giorni del 17,7 %<sup>(87)</sup>. Da studi veterinari emerge che lo stesso approccio della EGDT e dei "bundles" può migliorare l'outcome nei pazienti veterinari<sup>(52,88-90)</sup>. In veterinaria si deve considerare che spesso i pazienti arrivano in uno stadio avanzato del processo morboso, anche lontano dalle 6 golden hours, che possono aver superato le 24 o 48 ore dall'instaurarsi della SIRS/sepsi, ma il concetto di terapia quanto più precoce possibile rimane valido.

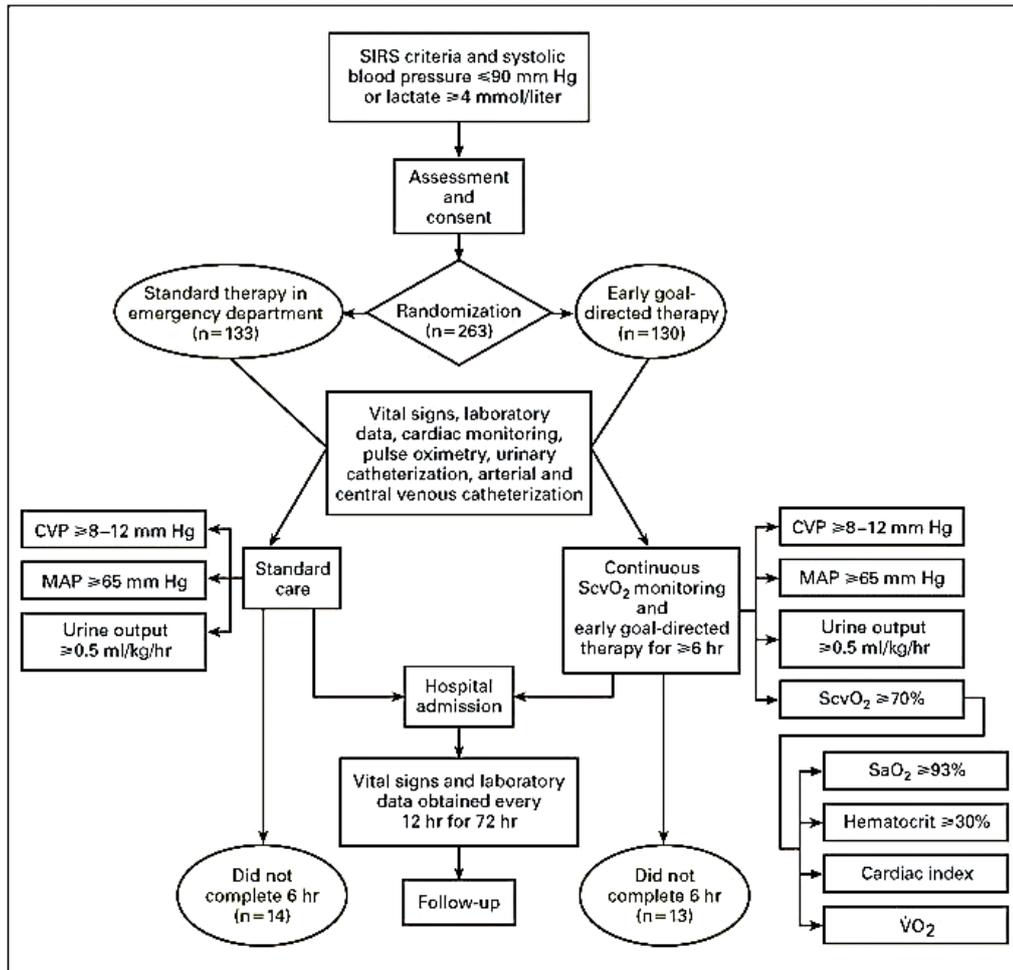


Figura 2: Early goal directed therapy, Rivers et al (2001)

- ❖ **Goal 1: CVP.** La CVP, comunemente usata come indicatore dello stato volêmico del paziente, è pressochè equivalente alla pressione dell'atrio destro e del ventricolo destro a fine diastole, che indicano il precarico<sup>(91)</sup>; in teoria se la pressione di riempimento cardiaco è ottimale lo sono anche la gittata cardiaca e quindi la distribuzione di ossigeno ai tessuti. La CVP è una misura della pressione idrostatica nella vena cava craniale intratoracica<sup>(92)</sup>; per essere misurata accuratamente la punta del catetere deve essere posizionata nella vena in stretta vicinanza dell'atrio destro<sup>(93)</sup> mentre misurazioni prese da cateteri periferici non correlano bene con il reale valore di CVP<sup>(94)</sup>. Come per ogni parametro, il trend dei valori di CVP ha una maggiore utilità clinica rispetto a una singola misurazione<sup>(95,96)</sup>; un valore di CVP normale non indica necessariamente un precarico adeguato, mentre un valore normale richiede ulteriori investigazioni, considerando anche che numerosi fattori possono aumentare la CVP (disfunzioni diastoliche, rigurgito tricuspide, ridotta compliance ventricolare, ipertensione

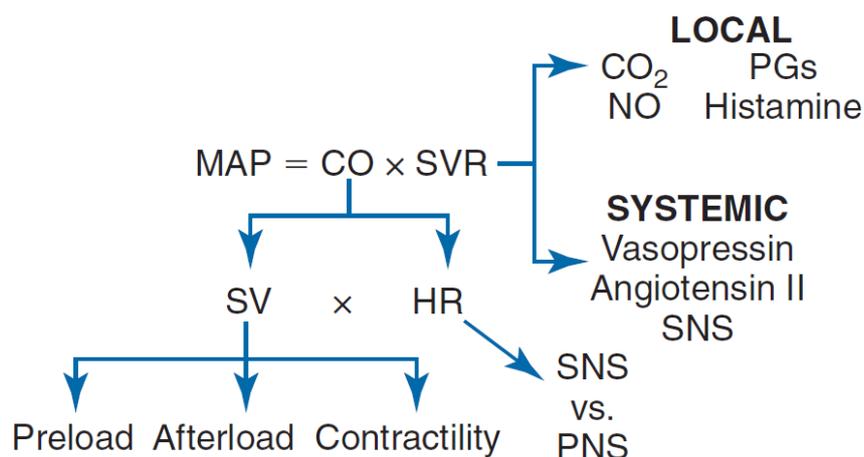
polmonare, elevata pressione intraddominale o intratoracica, versamento pericardico)<sup>(91)</sup>. In veterinaria spesso si mira a mantenere una CVP tra 7 e 10 cm H<sub>2</sub>O<sup>(90)</sup> nei pazienti critici anche se un paziente si considera ben perfuso già con una CVP tra 0 e 5 cm H<sub>2</sub>O<sup>(53)</sup>. Una CVP troppo alta, escluse le cause sopradette che ne determinano un falso aumento, può indicare un sovraccarico fluidico, per cui può essere necessario diminuire la velocità dei fluidi o considerare la terapia diuretica. Una situazione complessa è quando la CVP è alta ma l'output urinario rimane basso, cosa che indica in genere una scarsa perfusione renale (per ipotensione o per trombosi dell'arteria renale), un grave danno glomerulare o tubulare, o più raramente una sindrome da inappropriata secrezione dell'ormone antidiuretico (SIADH). Pazienti con una CVP > 10 mm Hg è poco probabile che rispondano a ulteriori somministrazioni di fluidi<sup>(97)</sup>. Nonostante la misurazione della CVP sia consigliata ci sono anche studi che ne mettono in discussione l'utilità affermando che non è un buon marker di volume intravascolare<sup>(98,99)</sup>. Il maggiore vantaggio di una fluidoterapia guidata dal monitoraggio della CVP è comunque legato al tempo, ovvero è reale se questa è precoce, non porta benefici se attuata tardivamente; ciò deve essere ancora dimostrato in veterinaria<sup>(100)</sup>. Lo scopo di questo obiettivo è di aumentare il volume intravascolare e può essere raggiunto con cristalloidi isotonici in aliquote da 10 a 22 ml/kg endovena (EV) in 15-30 minuti fino a un volume totale di 80-90 ml/kg nel cane e 40-60 ml/kg nel gatto; possono essere usati anche colloidali in boli di 5 ml/kg fino a un volume massimo di 20 ml/kg<sup>(90)</sup>. Maggiori informazioni riguardo la fluidoterapia si trovano più avanti in questo capitolo. Se con la prova dei fluidi la CVP sale e si mantiene a livelli adeguati per circa 20 minuti il challenge ha funzionato, altrimenti possono essere necessari ulteriori volumi di fluidi. Non sempre, specialmente in veterinaria, viene misurata la CVP e in tal caso un marker molto utile del miglioramento del riempimento intravascolare è l'abbassamento della frequenza cardiaca durante la rianimazione fluidica, come suggerito dalla stessa SSC e come spesso avviene nella pratica nei piccoli animali.

- ❖ **Goal 2: MAP.** La pressione arteriosa è la pressione esercitata sul letto vascolare e deriva dal prodotto fra la gittata cardiaca e le resistenze vascolari periferiche. La MAP esprime l'andamento medio della pressione arteriosa nell'intervallo di tempo di un ciclo cardiaco ed è quella che gioca il maggior ruolo nel garantire la perfusione tissutale<sup>(101)</sup>.

Valori normali di pressione arteriosa		
	Cane	Gatto
Pressione arteriosa sistolica	110-190	120-170
Pressione arteriosa diastolica	55-110	70-120
Pressione arteriosa media	80-130	60-130

Tabella 1: Valori normali di pressione arteriosa (Da Wadell LS: Direct blood pressure monitoring, Clin Tech Small Anim Pract 15(3):111, 2000)

I meccanismi di regolazione della pressione sono estremamente complessi e avvengono sia a livello sistemico che locale. I fattori determinanti la pressione sanguigna sono riassunti nella formula sottostante, il cosiddetto Tree of life<sup>(102)</sup> (CO=gittata cardiaca, CO<sub>2</sub> = diossido di carbonio, HR=frequenza cardiaca, MAP= pressione arteriosa media, NO= ossido nitrico, PG<sub>s</sub>= prostaglandine, PNS= sistema nervoso parasimpatico, SNS= sistema nervoso simpatico, SV=volume di eiezione cardiaca, SVR= resistenze vascolari sistemiche).



La pressione dovrebbe essere misurata idealmente con un catetere arterioso, che permette una misurazione diretta e rappresenta il gold standard, sia in umana che in veterinaria, specialmente se il soggetto presenta un'instabilità emodinamica, richiede

terapia con sostanze vasoattive e necessita di frequenti prelievi arteriosi<sup>(90)</sup>. Le maggiori complicazioni che si possono riscontrare sono danno ischemico permanente, embolia, infezione locale o sistemica, pseudoaneurismi, mentre complicazioni meno gravi includono ostruzione temporanea, ematomi o emorragie; le complicazioni maggiori sono rare e si verificano in meno dell'1 % dei pazienti umani con un catetere arterioso<sup>(103)</sup>. I fattori limitanti all'uso di questo metodo in veterinaria rimangono la mancanza della strumentazione adeguata e la difficoltà riscontrabile nel posizionare una cannula arteriosa, per cui il metodo più usato rimane attualmente il monitoraggio della pressione sanguigna con metodi indiretti o non invasivi (NIBP). Fra i metodi indiretti abbiamo il metodo oscillometrico con sfigmomanometro e il metodo Doppler ultrasonografico; diversi studi veterinari hanno comparato l'accuratezza dei metodi indiretti di misurazione della pressione e nessun metodo risulta essere migliore degli altri nei pazienti critici perchè tutti tendono a sottostimare la pressione nei pazienti ipotesi<sup>(104-106)</sup>.

Nel cane e nel gatto si può parlare di ipotensione quando la MAP scende sotto 80 mm Hg, anche se una seria preoccupazione per la perfusione tissutale si ha per valori più bassi, inferiori a 60-65 mm Hg, valori in corrispondenza dei quali è persa l'autoregolazione renale e cerebrale e il flusso sanguigno a questi organi diventa dipendente dalla pressione sistemica; anche una pressione sistolica inferiore a 90-100 mm Hg si può considerare ipotensione, ed è importante tenere presente questo dato nel caso in cui si utilizzi un metodo Doppler ultrasonografico che misura solo la pressione sistolica<sup>(102)</sup>, benchè si ritenga che nel gatto la pressione misurata con il metodo Doppler rifletta maggiormente la MAP<sup>(107)</sup>.

Benchè ci siano ancora controversie su quale sia il miglior valore di MAP come target terapeutico sia lo studio di Rivers del 2001 che la SSC del 2012 considerano auspicabile raggiungere almeno 65 mm Hg. Studi osservazionali in pazienti in shock settico hanno dimostrato un'associazione tra outcome positivo e  $MAP \geq 65$  mm Hg<sup>(108)</sup>. In veterinaria si consiglia di mantenere una MAP tra 70 e 130 mm Hg<sup>(109)</sup>. Uno studio retrospettivo felino ha riscontrato che una pressione  $< 90$  mm Hg misurata con il Doppler era associata a ridotta sopravvivenza<sup>(110)</sup>.

Questo endpoint può essere raggiunto tramite fluidoterapia e vasopressori (questo aspetto sarà approfondito in seguito in questo capitolo), anche se la somministrazione di fluidi è preferita all'uso dei vasopressori nelle prime 6 ore, considerando anche che l'ipotensione tende a essere più refrattaria alla fluidoterapia negli stadi più avanzati<sup>(100)</sup>. L'ipotensione è una condizione molto frequente nei pazienti critici e può essere dovuta a ipovolemia, a varie cause di ridotta gittata cardiaca e a inappropriata vasodilatazione. Meno frequente è invece la situazione opposta di ipertensione, che può essere dovuta a

cause non patologiche come dolore, stress e ansia; scartate queste, se ne devono indagare le cause patologiche e una pressione sistolica > 180 mm Hg deve essere trattata. Possibili opzioni sono l'amlodipina a 0,1-0,2 mg/kg per os ogni 4-6 h al bisogno, la prazosina a 1-4 mg totali ogni 12 h o nei casi più gravi acepromazina, idralazina o nitroprussiato di sodio<sup>(90)</sup>.

- ❖ **Goal 3: output urinario.** Il verificarsi di AKI è un evento molto comune in pazienti umani in terapia intensiva e in tutti gli studi fatti aumenta notevolmente la mortalità<sup>(111-116)</sup>. In particolare uno studio multicentrico in più paesi ha riscontrato una prevalenza di AKI in terapia intensiva del 5-6 % e un tasso di sopravvivenza alle dimissioni del 40%; lo shock settico era la causa più comune di AKI<sup>(117)</sup>; un altro studio ha documentato una prevalenza del 65 % di AKI nei pazienti in shock settico<sup>(118)</sup>. In veterinaria la prevalenza di AKI è sconosciuta ma dagli studi fatti sembra ridurre la sopravvivenza, in uno studio su cani in peritonite settica è riportata un'incidenza del 12,3% e un tasso di sopravvivenza alle dimissioni del 14%<sup>(47)</sup>, in un altro studio su cani critici, di cui solo circa la metà in sepsi, un'incidenza del 14,6 % e un tasso di sopravvivenza del 45,8 %<sup>(119)</sup>. Il termine AKI, ovvero danno renale acuto, comprende un range molto ampio, da piccole alterazioni della funzione renale e indici di danno a situazioni in cui può essere necessaria la terapia sostitutiva<sup>(120,121)</sup>. In medicina umana sono stati elaborati i criteri RIFLE per classificare il danno renale (Risk of renal dysfunction, Injury to the kidney, Failure of kidney function, Loss of kidney function, End stage kidney disease); il sistema di classificazione RIFLE prende in considerazione la creatinina sierica, il tasso di filtrazione glomerulare (GFR) e l'output urinario<sup>(121)</sup>. Si definisce oliguria una produzione inferiore a 0,5-1 ml/kg/h, anuria una produzione urinaria inferiore a 0,3-0,5 ml/kg/h<sup>(122)</sup>. La cosa migliore per misurare la produzione urinaria è il posizionamento di un catetere urinario; in alternativa si possono pesare le traversine imbevute di urine per stimare la produzione urinaria. Quando la produzione urinaria scende sotto 1 ml/kg/h è necessario cominciare a indagarne le cause, controllando innanzitutto che il catetere sia correttamente posizionato, quindi si può controllare la vescica tramite la palpazione manuale o una sonda ecografica e se la vescica è vuota si deve valutare lo stato di idratazione del paziente per escludere cause prerenali. È necessario ricercare cause di ipovolemia (perdite esterne gastrointestinali, respiratorie, nel terzo spazio, aumento della permeabilità vascolare, edema interstiziale, inappropriata vasodilatazione<sup>(121)</sup>) e valutare se sono presenti ipotensione o ridotta gittata cardiaca che riducono la produzione urinaria anche in presenza di normovolemia<sup>(111)</sup>. Misure conservative per prevenire l'AKI nei pazienti critici includono la prevenzione della disidratazione e dell'ipotensione e una limitata esposizione a agenti nefrotossici come aminoglicosidi,

amfotericina e mezzi di contrasto non iodati. La fluidoterapia rimane fondamentale ma una fluidoterapia eccessivamente aggressiva può essere dannosa<sup>(123-126)</sup>; quando si rendono evidenti i segni di sovraidratazione è poco probabile che ulteriori volumi di fluidi migliorino la produzione urinaria. La CVP può guidare la fluidoterapia anche se uno studio ha riscontrato bilancio fluidico positivo in pazienti con CVP normale, a indicare che questo monitor potrebbe non essere sensibile<sup>(127)</sup>; un aumento dal 5 al 10 % del peso corporeo è associato a un bilancio fluidico positivo e può quindi essere un miglior strumento di monitoraggio<sup>(126,128)</sup>. Se il paziente risulta sovraidratato o il challenge fluidico non riesce a migliorare l'output urinario si deve pensare a una terapia renale sostitutiva, cosa che in medicina veterinaria non è sempre possibile. In alternativa si possono tentare degli interventi farmacologici anche se l'evidenza scientifica, secondo gli studi condotti in medicina umana, è molto bassa: dopamina<sup>(129,130)</sup>, furosemide<sup>(131,132)</sup> e mannitolo<sup>(133)</sup> aumentano l'output urinario ma non migliorano la sopravvivenza né riducono il bisogno di una terapia renale sostitutiva, mentre sono ancora da investigare l'uso di fenoldopam e diltiazem; in particolare la SSC non raccomanda l'uso della dopamina a basse dosi solo per protezione renale perché non comporta nessun beneficio nell'outcome né immediato né tardivo, come dimostrato dai principali trials randomizzati e studi di metanalisi<sup>(130,134)</sup>.

- ❖ **Goal 4: ScvO<sub>2</sub> o SvO<sub>2</sub>.** La saturazione venosa di ossigeno è una misura della saturazione dell'ossigeno all'emoglobina nel sangue venoso e riflette la differenza fra l'ossigeno totale distribuito al corpo (DO<sub>2</sub>) e l'ossigeno totale consumato (VO<sub>2</sub>). Può essere valutata con misurazioni intermittenti tramite emogasanalisi o tramite co-ossimetria o con misurazioni continue spettrofotometriche con la fibra ottica<sup>(135)</sup>. Il pulsossimetro richiede un flusso pulsatile e quindi può misurare solo la saturazione arteriosa di ossigeno e non quella venosa. La saturazione di ossigeno venosa mista (SvO<sub>2</sub>) si riferisce al sangue venoso nell'arteria polmonare, un sangue venoso rappresentativo di tutto il corpo (sia la parte superiore o craniale che la parte inferiore o caudale al cuore) compreso il circolo coronarico, può essere visto come la differenza totale fra DO<sub>2</sub> e VO<sub>2</sub> e rappresenta quindi un marker del deficit di ossigeno globale. La saturazione di ossigeno venosa centrale (ScvO<sub>2</sub>) si riferisce invece alla saturazione del sangue della vena cava craniale (o più raramente caudale) e riflette quindi l'apporto e il consumo di ossigeno della testa e della parte superiore del corpo. Nei pazienti in salute la ScvO<sub>2</sub> è inferiore alla SvO<sub>2</sub> di circa il 2-3% sia per l'alto tasso metabolico della testa e della parte craniale del corpo sia per il contributo dei circuiti vascolari che non utilizzano la fosforilazione ossidativa nella parte caudale del corpo come il flusso sanguigno renale<sup>(135)</sup>. In stati di shock la relazione si può invertire e la ScvO<sub>2</sub> può essere

molto più alta della  $SvO_2$  probabilmente per la redistribuzione del flusso sanguigno dalla circolazione splancnica al letto vascolare coronarico e cerebrale<sup>(136-138)</sup>. Dall'analisi di diversi studi la SSC del 2012 ha stabilito che misurazioni della  $ScvO_2$  al posto della  $SvO_2$ , visto che è tecnicamente più facile, possono essere usate con successo durante la rianimazione in sepsi. In condizioni normali viene distribuito ai tessuti molto più ossigeno di quanto ne venga estratto ma quando l'apporto diminuisce fino a una soglia critica diminuisce anche l'estrazione e il paziente va incontro a un debito d'ossigeno e a acidosi lattica; per questo la misurazione della  $SvO_2$  o  $ScvO_2$  rappresenta un utile marker terapeutico, attendibile predittore di mortalità<sup>(86,139,140)</sup> e ormai inserito nelle linee guida umane della SSC. Ciò nonostante, nella più recente SSC è riportato che dagli studi fatti

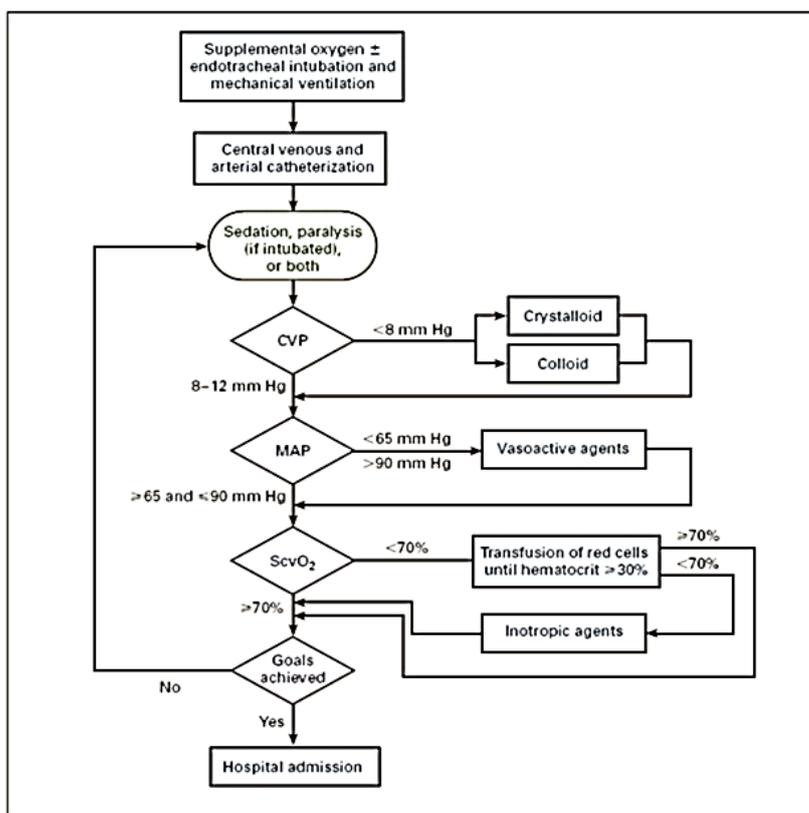


Figura 3. Schematizzazione dell' early goal directed therapy, Rivers et al. 2001

per verificare l'aderenza al programma delle SSC precedenti (con criteri sovrapponibili all'ultima) risulta che l'adesione ai target di CVP e di  $SvcO_2$  o  $SvO_2$  per guidare la rianimazione iniziale è ancora bassa<sup>(141)</sup>. Anche in veterinaria gli studi finora condotti supportano le raccomandazioni della SSC umana per quanto riguarda la  $ScvO_2$  e riconoscono che il suo

valore è significativamente correlato alla prognosi<sup>(89,142)</sup>.

Una  $ScvO_2$  basso deve far pensare a ipovolemia o ipotensione come causa di ipoperfusione tissutale; se poi il suo valore rimane basso nonostante la normalizzazione dei parametri macrovascolari di frequenza cardiaca, pressione sistemica e CVP significa che i tessuti si trovano in deficit d'ossigeno. Possibili cause sono riduzione del contenuto di ossigeno (anemia o ipossiemia), ridotta gittata cardiaca e inappropriata vasodilatazione. Se dall'emogasanalisi risulta una  $PaO_2 < 60$  mm Hg il paziente è ipossiémico e necessita di ossigenoterapia; deve essere quindi controllato l'ematocrito (HCT) e, secondo quanto

stabilito da Rivers et al.<sup>(86)</sup>, se basso deve essere effettuata una trasfusione di sangue intero o globuli rossi concentrati fino a raggiungere un HCT > 30 % e una ScvO<sub>2</sub> > 70%. Il beneficio di una trasfusione di sangue sta nell'aumento della capacità di trasportare l'ossigeno ai tessuti tramite l'emoglobina<sup>(143)</sup> ma anche nel meno noto effetto di miglioramento delle proprietà reologiche del sangue e di normalizzazione del microcircolo<sup>(144)</sup>. Questa raccomandazione è controversa in umana per il rischio di reazioni immunomediate<sup>(145,146)</sup> e per il potenziale contributo all'insorgere di danno polmonare acuto (ALI)<sup>(147,148)</sup>. La SSC suggerisce quindi la trasfusione come possibile opzione valutando sempre il rapporto rischio/beneficio e questa considerazione è ragionevolmente applicabile in veterinaria. Se la ScvO<sub>2</sub> non aumenta nemmeno dopo l'incremento dell'HCT la SSC suggerisce la terapia inotropica con dobutamina in infusione continua a 2-20 µg /kg /min da valutare in base alla risposta con lo scopo di aumentare il flusso e quindi la perfusione; la stessa opzione terapeutica può essere considerata in veterinaria<sup>(90)</sup>.

- ❖ **Goal 5: Lattati.** Il lattato deriva dalla rottura del piruvato in condizioni anaerobiche e la sua clearance è operata dal fegato. Esistono due tipi di iperlattatemia, il tipo A che si verifica quando l'apporto di ossigeno ai tessuti è insufficiente rispetto alla domanda (es in shock, insufficienza cardiaca, tromboembolismo locale, ipossiemia, anemia, esercizio), e il tipo B dovuto a un' insufficiente clearance per insufficienza epatica, a una disfunzione mitocondriale, a certi farmaci o tossine e a ipoglicemia<sup>(90,149,150)</sup>; in corso di sepsi sono spesso presenti entrambi i tipi di iperlattatemia<sup>(151-154)</sup> e inoltre i lattati possono aumentare a causa di una disregolazione della piruvato deidrogenasi<sup>(155)</sup>. Nonostante l'iperlattatemia in corso di sepsi sia quindi multifattoriale è considerata un marker attendibile di perfusione tissutale. Studi sia umani che veterinari hanno concluso che più misurazioni seriali rappresentative dell'effettivo tasso di clearance dei lattati sono un miglior marker prognostico rispetto a una singola misurazione iniziale<sup>(156-159)</sup>, probabilmente perché il tasso di riduzione dei lattati riflette la rapidità con cui viene corretto il deficit di ossigeno<sup>(160)</sup>. È però importante considerare che anche se normalmente i lattati alti indicano una bassa DO<sub>2</sub>, non è detto che se i lattati sono normali sia normale anche la DO<sub>2</sub> come si evince da uno studio che non riscontrava una correlazione significativa fra DO<sub>2</sub> e lattati<sup>(161)</sup>. In medicina umana da uno studio<sup>(141)</sup> la prevalenza globale di pazienti in sepsi severa che si presentano inizialmente con ipotensione e lattati ≥ 4 mmol/L, solo ipotensione e solo lattati ≥ 4 mmol/L è rispettivamente del 16,6%, 49,5% e 5,4%. Il tasso di mortalità risulta particolarmente alto nei pazienti settici che presentano entrambi i criteri (46,1%), è comunque alto nei

pazienti con sola ipotensione (36,7%) e nei pazienti con solo lattati  $\geq 4$  mmol/L (30 %). In veterinaria è stato condotto uno studio simile, per valutare se la prognosi nei pazienti critici ipotesi con o senza iperlattatemia fosse diversa<sup>(162)</sup>: è risultato che i cani ipotesi senza iperlattatemia avevano una pressione sistolica significativamente più alta e una possibilità di sopravvivenza 3,23 volte maggiore rispetto agli ipotesi con iperlattatemia. Molti altri studi, sia umani<sup>(157,163,168)</sup> che veterinari<sup>(159,169)</sup>, riconoscono che i lattati alti sono importanti indicatori prognostici negativi in casi di SIRS/sepsi/shock, specialmente se associati a ipotensione e se l'iperlattatemia persiste nel tempo. Diversi studi umani hanno inoltre dimostrato che in pazienti in ipoperfusione sepsi indotta la misurazione della clearance dei lattati è un'opzione valida in alternativa alla misurazione della ScvO<sub>2</sub> se questa non è disponibile, o che comunque possono fornire informazioni complementari sull'efficacia della rianimazione e rappresentare un endpoint congiunto se disponibili entrambe<sup>(165,170-172)</sup>. Anche in veterinaria si consiglia di seguire la raccomandazione della SSC di misurare i lattati entro le prime 6 h, iniziare il protocollo di fluidoterapia da rianimazione se  $\geq 4$  mmol/L e ricontrollarli come parte dei target terapeutici<sup>(75,88,89)</sup>.

Un altro parametro che è utile considerare, benchè non rientri nel protocollo della SSC, è l'Eccesso di basi (BE), che in alcune pubblicazioni veterinarie viene preso in considerazione insieme agli altri goal terapeutici sopradescritti<sup>(90,100)</sup>. Il BE è definito come la quantità di basi o acidi in millimoli richiesta per titolare il pH del sangue a 7,4 a una temperatura corporea di 37 °C e con una PaO<sub>2</sub> di 40 mm Hg, e rappresenta un marker di acidosi metabolica. È importante distinguere se si tratta di acidosi metabolica ischemica e da ipossia tissutale, accompagnata da iperlattatemia, o non ischemica (come insufficienza renale, perdita di bicarbonati con urine o diarrea, ipercloremia<sup>(173)</sup>). Anche se si considera sempre che il BE sia specchio della concentrazione dei lattati, studi umani dimostrano che non è sempre così<sup>(174,175)</sup>. In medicina umana un BE molto negativo è associato a una maggiore mortalità nei pazienti critici<sup>(176-178)</sup>; in veterinaria si sa che è associato a una peggior prognosi nella chetoacidosi diabetica e che è predittivo di SIRS nei cani con piometra<sup>(179,180)</sup>. Nonostante il suo uso come strumento prognostico, ci sono ancora troppe poche informazioni sul suo uso per guidare la terapia.

Ricapitolando, L' EGDT è così efficace perché prende in considerazione sia parametri macrovascolari (pressione sistemica, CVP e output urinario) che microvascolari (ScvO<sub>2</sub> o SvO<sub>2</sub>, lattati e loro clearance, BE) e ciò permette la migliore valutazione possibile della perfusione tissutale<sup>(151)</sup>.

#### 1.4.2 SCREENING PER SEPSI, MIGLIORAMENTO DELLE PERFORMANCE E DIAGNOSI

La SSC raccomanda di effettuare sempre uno screening di routine per identificare i pazienti rispondenti ai criteri di SIRS e sospetti infetti in modo da formulare il prima possibile la diagnosi di sepsi e attuare quanto prima la EGDT, visto che la mancanza di un riconoscimento precoce dello stato clinico del paziente rappresenta il primo ostacolo all'applicazione di una terapia mirata e precoce basata sui "Bundles" terapeutici suddetti. Uno studio dimostra che la diagnosi precoce di sepsi e l'incremento di tale tipo di terapia migliorano l'outcome e riducono la mortalità associata alla sepsi, e che l'applicazione dei "bundles" proposti dalle SSC ha portato nel corso degli anni a un continuo e sostenuto miglioramento nella cura della sepsi e nella riduzione della mortalità<sup>(141)</sup>; da un altro risulta che la riduzione del tempo di diagnosi di sepsi severa è una componente critica per la riduzione della mortalità da MODS sepsi-associata<sup>(171)</sup>. La SSC sottolinea anche l'importanza di una collaborazione multidisciplinare (medicina, terapia intensiva, chirurgia, diagnostica per immagini) per avere la massima probabilità di successo. Queste considerazioni sono tutte ragionevolmente applicabili anche in medicina veterinaria.

Per quanto riguarda la diagnosi di sepsi, la SSC raccomanda di ottenere campioni colturali appropriati prima di iniziare la terapia antimicrobica, purchè ciò non comporti un ritardo significativo (>45 minuti) all'inizio della terapia antimicrobica. Per amplificare la possibilità di identificare gli organismi responsabili è raccomandato prima dell'inizio della terapia antibiotica fare almeno 2 campioni per emocoltura<sup>(181)</sup> (sia per batteri aerobi che per anaerobi), di cui almeno uno per via percutanea e uno da un accesso vascolare, ammesso che questo sia stato posizionato recentemente (<48 h); questi campioni possono essere ottenuti nello stesso momento se presi da siti differenti. Altri tipi di campioni, da valutare di caso in caso (urine, fluido cerebro spinale, ferite, secrezioni respiratorie o qualsiasi altro fluido sospettato come fonte d'infezione) dovrebbero essere ottenuti allo stesso modo prima della terapia antimicrobica se ciò non ritarda eccessivamente l'inizio della somministrazione. L'ottenimento di campioni colturali ematici sia dalla periferia che dall'accesso vascolare è una strategia importante: se si ritrova lo stesso organismo in entrambe le colture è molto probabile che esso sia il responsabile della sepsi; inoltre se, dati volumi equivalenti, il campione prelevato dall'accesso vascolare risulta positivo almeno 2 h prima dell'altro, è molto probabile che il catetere stesso sia la fonte della sepsi<sup>(172,181,182)</sup>. Il volume di sangue prelevato dovrebbe essere di almeno 10 ml<sup>(83)</sup>. In medicina umana è riportato che le emocolture positive vanno dal 30 al 50 % dei pazienti in sepsi severa o shock settico<sup>(184,185)</sup>. Anche in veterinaria si sottolinea la fondamentale importanza di ottenere emocolture e colture a partire da altri campioni biologici, e si raccomanda di effettuarli purchè non ritardino eccessivamente l'attuazione degli interventi terapeutici e non pongano il

paziente a rischio<sup>(75)</sup>. Anche se nella pratica non sempre le emocolture vengono fatte di routine in veterinaria, uno studio riporta che il 49% dei cani e gatti critici presenta emocolture positive<sup>(8)</sup>. Come già detto nel capitolo relativo alla diagnosi, il ruolo di potenziali biomarker (principalmente PCR e PCT) per la diagnosi di sepsi rimane da definire, sia in veterinaria che in umana, e per quanto in umana studi riportino l'utilità della procalcitonina per differenziare sirs settiche da sirs non settiche<sup>(79,80)</sup>, la SSC, tenendo conto che ci sono anche evidenze del contrario<sup>(186-188)</sup>, non raccomanda di basarsi sulla PCT per distinguere le due situazioni. In un futuro metodi di diagnosi rapida non basati sulle colture (PCR, spettroscopia di massa, microarray) potranno essere disponibili e utili per una veloce identificazione del patogeno e dei principali determinanti di antibioticoresistenza<sup>(189)</sup>; questi metodi si riveleranno particolarmente utili in caso di patogeni difficili da coltivare e in quelle situazioni in cui è stata già somministrata una terapia antibiotica prima dell'ottenimento dei campioni. L'esperienza clinica è limitata e servono quindi maggiori studi prima di poter raccomandare questi metodi molecolari non colturali come alternativa ai metodi colturali standard<sup>(190,191)</sup>. La SSC suggerisce anche di utilizzare test per la diagnosi di Candidiasi, quando una Candidiasi invasiva è sospettata come causa dell'infezione responsabile di sepsi, ma questa considerazione non è applicabile in veterinaria perché dalla letteratura non risulta che la Candidiasi sia associata a sepsi e non è rinvenibile niente in proposito.

Infine, la SSC raccomanda di eseguire il prima possibile esami di diagnostica per immagini alla ricerca di possibili fonti d'infezione, che dovranno essere campionate, sempre considerando il rischio per il paziente, per esempio a essere trasportato o a subire procedure invasive; come detto in precedenza, le stesse considerazioni si applicano in veterinaria.

#### 1.4.3 TERAPIA ANTIMICROBICA, CONTROLLO DELLA FONTE E PREVENZIONE DELLE INFEZIONI

La SSC raccomanda come obiettivo fondamentale della terapia in pazienti in sepsi severa con o senza shock settico la somministrazione di antibiotici entro un'ora. In questi pazienti la priorità è mettere un accesso vascolare e iniziare la fluidoterapia da rianimazione, quindi somministrare antimicrobici EV il prima possibile<sup>(141,167,192,193,194-203)</sup>. Molti studi dimostrano che in caso di shock settico ogni ora di ritardo nella somministrazione di antibiotici efficaci e appropriati è associata a un significativo aumento della mortalità<sup>(141,167,194-196,202,203)</sup>. In veterinaria è raccomandato di seguire lo stesso approccio<sup>(53,75,100,204)</sup>. La forte raccomandazione di somministrare gli antibiotici entro un'ora dalla diagnosi di sepsi non è però ancora lo standard nella terapia nella pratica, come dimostra uno studio<sup>(141)</sup>.

Per quanto riguarda la scelta empirica iniziale dell'antimicrobico, la SSC raccomanda di includere farmaci che abbiano attività contro i patogeni ritenuti possibili e che penetrino adeguatamente nel tessuto ritenuto responsabile dell'infezione. La scelta deve poi tenere in considerazione molteplici fattori: l'anamnesi del paziente, l'intolleranza/ allergia a eventuali farmaci, gli antibiotici somministrati al paziente negli ultimi 3 mesi (che dovrebbero essere evitati), la patologia sottostante, la sindrome clinica, la sensibilità dei patogeni nella comunità e nell'ospedale e quella dei patogeni che hanno infettato precedentemente il paziente. Un fallimento nella scelta di un'appropriata terapia antibiotica, ovvero la terapia che ha attività contro il patogeno che viene successivamente identificato come agente causativo, correla con morbilità e mortalità nei pazienti in sepsi severa e shock settico, sia in umana che in veterinaria<sup>(10,192,195,203,205,206)</sup>. In attesa dei risultati di eventuali colture e antibiogrammi, i pazienti in sepsi, sia umani che veterinari, richiedono una copertura a quattro quadranti a ampio spettro, preferibilmente battericida, per via endovenosa, che agisca contro batteri Gram+, Gram-, aerobi e anaerobi; non appena disponibili i risultati sarà scelta la terapia antibiotica più appropriata a spettro ristretto<sup>(20,75,85,90,109)</sup>. È importante tenere presente che spesso i pazienti critici possono avere anormale funzione epatica o renale, per cui possono essere necessari aggiustamenti di dose. Combinazioni usate frequentemente in medicina veterinaria sono ampicillina o ampicillina-sulbactam e enrofloxacin, cefalosporine di prima, seconda o terza generazione, con aggiunta di metronidazolo o clindamicina per ampliare lo spettro contro gli anaerobi; la terapia con aminoglicosidi dovrebbe essere evitata finché il paziente non è ben idratato e la funzione renale non è stata indagata adeguatamente; in caso che si sospettino resistenze batteriche opzioni possibili sono agenti singoli come ticarcillina-acido clavulanico, cefoxitina o imipenem<sup>(20,75,90,100)</sup>.

Nel caso si sospettino agenti virali o fungini come causa di SIRS/sepsi, è importante iniziare una terapia il prima possibile contro questi agenti.

Restringere lo spettro antimicrobico e ridurre la durata del trattamento diminuisce la possibilità che il paziente vada incontro a superinfezioni con patogeni resistenti o patogeni come *Clostridium difficile*, specie di *Candida* o *Enterococcus faecium*; tuttavia il desiderio di minimizzare le superinfezioni e altre complicazioni non deve impedire di portare a termine un adeguato corso di terapia contro l'infezione responsabile di sepsi<sup>(85)</sup>.

Per quanto riguarda la sospensione della terapia, non esistono regole fisse ed è una decisione che spetta al clinico da valutare di paziente in paziente; tuttavia la SSC consiglia una durata di 7-10 giorni, se clinicamente appropriata e se non ci sono problemi di controllo della fonte, anche se corsi più lunghi possono essere appropriati in pazienti con lenta risposta, foci d'infezione non drenabili, batteriemie con *S. aureus*, alcune infezioni virali o fungine,

deficienze immunologiche come neutropenia. In umana è suggerito l'uso di bassi livelli di procalcitonina e di simili biomarker come aiuto alla decisione clinica di sospendere la terapia in pazienti apparentemente settici ma senza nessuna evidenza d'infezione; la maggior parte della letteratura sostiene infatti l'uso della procalcitonina come mezzo per discontinuare la terapia antibiotica, tenendo presente che l'esperienza clinica in proposito è limitata e il rischio di nuocere non può essere escluso<sup>(188,207,208)</sup>; uno studio non ha dimostrato benefici nella misurazione giornaliera della PCT in terapia antibiotica precoce e correlazioni con l'outcome<sup>(209)</sup>, un altro ha dimostrato che se la terapia antibiotica è guidata dalla misurazione della PCT è ridotta l'esposizione agli antibiotici e il ricovero in terapia intensiva ma non ci sono differenze nell'outcome e nella mortalità<sup>(210)</sup>.

Mentre sull'importanza degli antibiotici in sepsi c'è pieno accordo, nella SIRS l'argomento è controverso, anche in veterinaria<sup>(40)</sup>. Se la SIRS risulta essere determinata da una causa non infettiva la SSC suggerisce di stoppare la terapia antimicrobica, per minimizzare la possibilità che il paziente si infetti con patogeni multi-resistenti o vada incontro a reazioni avverse o effetti collaterali da farmaci non necessari. Una terapia antibiotica non necessaria deve essere stoppata, ma questa scelta deve essere valutata attentamente basandosi soprattutto sulla clinica, perché si deve tenere in considerazione che i test colturali possono dare falsi negativi (le emocolture danno un risultato negativo nel 50 % dei casi se il paziente è sotto terapia antibiotica). Se per esempio il paziente presenta un leucogramma con left shift o con marcata tossicità, se è immunodepresso, se ha sanguinamento gastroenterico (melena, ematemesi) o se le sue condizioni sono in deterioramento, la terapia antibiotica è indicata anche se non è identificata una causa infettiva di SIRS<sup>(40)</sup>.

In caso di sepsi, la SSC sottolinea come oltre la terapia antibiotica sia fondamentale il controllo della fonte, per cui deve essere ricercata o esclusa quanto prima una sede anatomica focus d'infezione, e se identificata è raccomandato intervenire entro 12 h dalla diagnosi se possibile<sup>(211-213)</sup>. Nel caso l'infezione sembri derivare da necrosi peripancreatica si consiglia però di rimandare l'intervento in attesa di distinguere bene fra tessuti vitali e non vitali e di adottare una tecnica mini-invasiva<sup>(214,215)</sup>. In generale, si consiglia di intraprendere per il controllo della fonte la procedura efficace e meno invasiva possibile (es. drenaggio di un ascesso percutaneo anziché chirurgico<sup>(216)</sup>). Se si ritiene che la fonte di sepsi possa essere un accesso vascolare questo deve essere prontamente rimosso dopo aver stabilito altri accessi<sup>(217,218)</sup>. Nella scelta dell'approccio migliore da seguire si devono sempre valutare rischi e benefici, anche solo per lo spostamento del paziente<sup>(219)</sup>, tenendo in conto che gli interventi per il controllo della fonte possono portare complicazioni come sanguinamento, formazione di fistole, involontario danno d'organo; la chirurgia dovrebbe essere intrapresa quando altri approcci non sono adeguati o quando si hanno incertezze diagnostiche nonostante la diagnostica per immagini.

Infine, la SSC sottolinea l'importanza di una serie di misure atte a prevenire le infezioni nosocomiali (il lavaggio accurato delle mani, la cura del catetere, l'adeguata aerazione, il posizionamento sopraelevato della testa, l'istituzione di barriere di protezione..) e consiglia l'introduzione della decontaminazione selettiva orale e del tratto digerente e l'uso di clorexidina gluconato orale come decontaminante oroesofageo per ridurre il rischio di polmoniti associate a ventilazione meccanica. Escluse le considerazioni sulla decontaminazione orale e digerente su cui non si hanno dati disponibili, per tutte gli altri aspetti riguardanti il controllo della fonte e la prevenzione delle infezioni in veterinaria si raccomanda di adottare lo stesso approccio che in umana<sup>(75,90,100)</sup>.

#### 1.4.4 FLUIDOTERAPIA

Come detto più volte la fluidoterapia è il punto cardine della terapia in medicina umana e veterinaria e punta a risolvere l'ipovolemia, migliorare la perfusione tissutale, soddisfare i fabbisogni di mantenimento e rimpiazzare eventuali perdite. Cristalloidi isotonici, cristalloidi ipertonici, colloidali sintetici, sangue e emoderivati sono le opzioni possibili per i pazienti in SIRS/sepsi; la scelta dipende molto dal quadro clinicopatologico di ogni singolo paziente, tuttavia esistono linee guida sia umane che veterinarie.

Queste sono le linee guida della SSC per quanto riguarda la fluidoterapia:

- ❖ È fortemente raccomandato l'uso di un cristalloide come fluido di prima scelta. Non risulta infatti alcun benefit dalla somministrazione di colloidali rispetto ai cristalloidi, e visto il costo maggiore delle soluzioni colloidali, è raccomandata la somministrazione di cristalloidi nella rianimazione.
- ❖ Non è assolutamente raccomandato l'utilizzo del colloide sintetico hetastarch (amido idrossietilico, HES) sulla base dei numerosi trials randomizzati e controllati svolti in umana.
- ❖ È suggerito l'uso dell'albumina per la rianimazione di pazienti in sepsi severa e shock settico che richiedono imponenti volumi di cristalloidi.
- ❖ È raccomandato un challenge fluidico iniziale nei pazienti con ipotensione sepsi-indotta per correggere l'ipovolemia con almeno 30 ml/kg di cristalloidi (una parte di questa quota fluidica può essere fornita in albumina) come specificato nella rianimazione iniziale.
- ❖ Si raccomanda di applicare la tecnica dei boli fluidici nel continuare la fluidoterapia fino a che non venga raggiunto un miglioramento emodinamico basato sia su variabili

dinamiche (variazioni della pressione di polso, variazioni del volume sistolico) che statiche (pressione arteriosa, frequenza cardiaca).

Non esiste un fluido ideale per ogni situazione e di ciascun fluido è bene tenere presente l'efficacia e la sicurezza. L'efficacia di un fluido da rianimazione può essere definita come la sua capacità di restaurare l'effettivo volume circolante, la perfusione d'organo e l'ossigenazione dei tessuti con il minor volume possibile in modo da evitare il sovraccarico fluidico.

Teoricamente i cristalloidi incrementano molto il volume intravascolare nell'immediato ma permangono poco nello spazio intravascolare e il 60-80 % del volume somministrato viene redistribuito dallo spazio intravascolare a quello extravascolare in 30-60 min, come dimostrano alcuni studi in cui si sono resi necessari volumi consistenti per espandere adeguatamente il volume intravascolare, correggere l'ipovolemia e restaurare la perfusione d'organo in corso di insufficienza circolatoria<sup>(220,221)</sup>. I cristalloidi hanno il principale svantaggio del rischio di un bilancio fluidico positivo, che è associato a un outcome peggiore con maggiore morbilità e mortalità sia in umana che in veterinaria<sup>(222,223)</sup>; la somministrazione di cristalloidi isotonici induce anche uno stato proinfiammatorio<sup>(221,224)</sup> con stimolo alla produzione di citochine e attivazione endoteliale, e tutto ciò contribuisce alla formazione degli edemi; altri danni da eccessiva fluidoterapia da rianimazione sono coagulopatie diluizionali, difficoltà nella cicatrizzazione dei tessuti, sindrome compartimentale, disfunzione cellulare<sup>(221)</sup>. Tra i cristalloidi, sembrerebbe consigliabile l'uso di soluzioni isotoniche come il Ringer o il Normosol, più fisiologiche rispetto alla soluzione isotonica salina 0,9%, che può portare a ipernatremia, ipercloremia, acidosi metabolica ipercloremica e AKI indotta da ipernatremia<sup>(222)</sup>; trials clinici umani hanno dimostrato riduzione delle complicazioni maggiori con l'uso di queste soluzioni rispetto alla salina nei pazienti critici<sup>(225,226)</sup> e un recente ampio studio retrospettivo in adulti critici in sepsi ha dimostrato ridotto rischio di mortalità ospedaliera in pazienti trattati con soluzioni bilanciate rispetto alla normale salina<sup>(227)</sup>.

Le soluzioni colloidali essendo invece costituite da grandi molecole che non passano la barriera endoteliale permangono molto più a lungo nello spazio intravascolare, e per quanto riguarda i colloidali iperoncotici rispetto al plasma, questi generano anche un forte gradiente oncotico che impedisce il movimento del fluido dai vasi agli interstizi espandendo ulteriormente lo spazio intravascolare e riducendo teoricamente il rischio di un bilancio fluidico positivo<sup>(228,229)</sup>. I colloidali possono essere naturali (albumina, sangue o plasma fresco congelato o congelato) o sintetici (amido idrossietilico o hetastarch, destrani e gelatine) . Gli effetti collaterali più comunemente riportati per i colloidali sintetici sono coagulopatie, AKI e aumento della mortalità, seguiti da prurito, disfunzioni reticoloendoteliali, epatopatie e reazioni anafilattiche<sup>(222,230)</sup>;

specifiche fasce di popolazione, in particolare i pazienti in sepsi, sembrano essere particolarmente a rischio<sup>(222)</sup>.

Nel corso degli anni sono stati fatti numerosi studi per comparare sicurezza e efficacia di cristalloidi e colloidi nella fluidoterapia in pazienti critici e il dibattito è ancora vivo, come dimostra l'uscita di una recente "State of the Art Review" che prende in considerazione sia la medicina umana che veterinaria<sup>(222)</sup>.

In molti recenti studi umani l'effetto di dispersione del volume nello spazio extravascolare imputato ai cristalloidi rispetto ai colloidi sembra essere molto ridimensionato con un rapporto di volume di cristalloidi efficace nell'espansione del volume intravascolare di 1,2-1,4 : 1 rispetto ai colloidi<sup>(231-235)</sup>; il principale vantaggio dei colloidi rispetto ai cristalloidi è quindi marcatamente diminuito nei pazienti critici. In veterinaria uno studio ha comparato l'uso di soluzione salina 0,9%, salina ipertonica 7,5 %, destrano 70 e hetastarch (HES) 6%; le soluzioni saline determinavano il maggior picco di espansione del volume intravascolare immediato e poi un rapido declino, mentre i colloidi determinavano il maggior effetto cumulativo con un aumento costante del volume, tuttavia le differenze riscontrate non sono risultate significative<sup>(236)</sup>; un altro studio ha valutato l'HES rispetto alla soluzione salina sia in cani sani che critici e nonostante il maggior supporto alla pressione colloidale dato dai colloidi non ci sono stati benefici significativi nell'uso di una soluzione rispetto all'altra<sup>(237)</sup>.

Il trial umano randomizzato VISEP del 2008 condotto su 537 pazienti in sepsi severa o shock settico ha comparato l'uso di Ringer lattato e di HES 10%<sup>(231)</sup>; per tutto il periodo dello studio la ratio fra il volume somministrato di Ringer lattato e di HES è stata di 1.32:1, confermando quanto detto prima, mentre il gruppo trattato con HES ha avuto un'incidenza significativamente maggiore di AKI e di bisogno di terapia renale sostitutiva, una conta piastrinica minore e un maggior bisogno di trasfusione di globuli rossi; è stata inoltre trovata una correlazione diretta tra la dose cumulativa di HES, il bisogno di ricorrere a terapia renale sostitutiva e il tasso di morte a 90 giorni. Nel 2012 è stato condotto il CRYSTMAS trial<sup>(235)</sup>, uno studio prospettico randomizzato in doppio cieco su 196 pazienti con sepsi severa, che ha comparato la rianimazione con HES 6 % e con normale salina: la stabilizzazione emodinamica era più rapida e efficiente nei pazienti trattati con HES ma non raggiungeva valori significativi, i pazienti di entrambi i gruppi avevano comparabile funzione renale valutata sia col sistema RIFLE che AKIN (acute kidney injury network), i parametri coagulativi erano sovrapponibili e non c'era differenza nella necessità di ricorrere a trasfusioni. La differenza fra i risultati dei trials VISEP e CRYSTMAS si può spiegare considerando che quest'ultimo ha usato dosi più basse di HES e per soli 4 giorni, un tempo considerevolmente corto, contando che le differenze in termini di AKI e mortalità riscontrate nel VISEP erano evidenti solo dopo almeno 20 giorni di trattamento.

Sempre nel 2012 è stato condotto il trial multicentrico in cieco a gruppi paralleli S6 su 800 pazienti in sepsi severa trattati con HES 6% o con Ringer acetato<sup>(236)</sup>: non è stata riscontrata alcuna differenza significativa dal punto di vista dell'efficienza della rianimazione con i due fluidi, mentre nel gruppo trattato con HES la necessità di ricorrere a terapia renale sostitutiva era significativamente maggiore e associata a mortalità a 90 giorni ed è stata inoltre documentata una significativa maggiore incidenza di grave sanguinamento. Nello stesso anno è uscito il CHEST trial, il più grande e influente a oggi, uno studio randomizzato controllato a doppio cieco che ha comparato l'uso di HES 6% e normale salina per la rianimazione in 7000 pazienti in terapia intensiva<sup>(233)</sup>; benchè il gruppo trattato con HES ricevesse dosi di fluidi significativamente più basse e quindi un bilancio fluidico positivo inferiore, valutando l'efficacia nella stabilizzazione emodinamica dei due fluidi nei primi 4 giorni di studio non si riscontra alcuna differenza significativa. Per quanto riguarda la tossicità il gruppo trattato con HES ha avuto un bisogno significativamente maggiore di ricorrere a terapia renale sostitutiva e concentrazioni di creatinina consistentemente maggiori benchè paradossalmente siano incorse più AKI secondo il RIFLE score nel gruppo della salina; non è stata riscontrata però alcuna differenza nella mortalità a 90 giorni nei due gruppi. Il CRYSTAL trial<sup>(238)</sup>, un grande studio randomizzato che ha valutato la rianimazione fluidica in pazienti in shock ipovolemico confrontando cristalloidi isotonici e colloidali (nel 70% dei casi HES), non ha riscontrato differenze nella necessità di ricorrere a terapia renale sostitutiva né differenze di mortalità a 28 giorni, mentre la mortalità a 90 giorni era addirittura significativamente più bassa nel gruppo dei colloidali; spiegazioni per i diversi risultati di questo studio possono essere l'uso di dosi giornaliere più basse di colloidali, la sovrapposizione di più colloidali e non solo l'HES, l'uso di sola salina nel gruppo dei cristalloidi e la riduzione di insufficienze respiratorie e circolatorie associate ai colloidali, con minor ricorso ai vasopressori a vantaggio dei reni<sup>(222)</sup>. Alla luce dei risultati di questi trials la SSC ha emesso la raccomandazione negativa per l'uso di HES e il prodotto è stato ritirato dal mercato europeo<sup>(239)</sup>. Diversi influenti studi di metanalisi sono stati pubblicati nel 2013 per valutare la sicurezza della rianimazione con colloidali. Una Cochrane review valutando tutti i trial randomizzati controllati sulla fluidoterapia da rianimazione nei pazienti critici ha riscontrato un complessivo aumento del rischio di AKI, terapia renale sostitutiva e insufficienza renale<sup>(240)</sup>, una seconda Cochrane review ha valutato nello specifico l'effetto dell'HES sulla funzione renale rispetto a qualsiasi altro tipo di fluidoterapia e ha confermato le conclusioni della precedente aggiungendo che un volume sicuro di HES deve essere ancora determinato<sup>(241)</sup>. L'ultimo grande studio di metanalisi ha confermato i dati delle due Cochrane review e un rischio di morte significativamente aumentato nei pazienti trattati con HES<sup>(242)</sup>.

Per quanto riguarda l'albumina, è un colloide naturale frequentemente usato in medicina umana e veterinaria per la rianimazione fluidica che possiede benefici che vanno oltre alle teoriche proprietà dei colloidali di sostegno alla pressione colloidale-osmotica e espansione del volume intravascolare e comprendono ruolo di carrier di ormoni e farmaci, protezione dal danno ossidativo, effetto anticoagulante e mantenimento dell'integrità vascolare<sup>(243)</sup>. In umana viene in genere usata una soluzione isotonica al 4 % di albumina umana sierica purificata (HSA). Il SAFE trial è il più grande studio randomizzato controllato pubblicato a oggi che confronta l'uso di HSA e normale soluzione salina per la rianimazione fluidica di pazienti umani in terapia intensiva<sup>(244)</sup> e ha dimostrato che la somministrazione di HSA è sicura e non ha un sostanziale vantaggio di risparmio fluidico, con una ratio albumina/cristalloidi di 1: 1,4 nei primi 4 giorni di studio; visto che non ci sono state differenze significative nell'outcome conclude che le due soluzioni sono equivalenti, anche se suggerisce un possibile effetto benefico dell'albumina nel sottogruppo dei pazienti in sepsi. Uno studio di meta-analisi aggregando dati da 17 trials randomizzati sull'uso di albumina vs cristalloidi ha riscontrato una riduzione della mortalità nel gruppo trattato con albumina in diversi studi<sup>(245)</sup>. Più recentemente il trial ALBIOS ha valutato l'uso dell'albumina 20 % associata ai cristalloidi rispetto all'uso di soli cristalloidi nei pazienti umani in sepsi severa o shock settico<sup>(246)</sup> riscontrando un certo benefit nella stabilizzazione emodinamica con albumina che non raggiungeva però una differenza significativa e nessuna differenza nell'outcome fra i due gruppi.

In veterinaria i cristalloidi isotonici rimangono il punto cardine della terapia in SIRS, MODS e sepsi, e in caso che il paziente si presenti in shock cardiovascolare (non cardiogenico) si consiglia di partire con una dose da shock di 90 ml/kg nel cane e 50 ml/kg nel gatto, somministrando 1/3 o 1/2 della dose il più velocemente possibile, seguita da ulteriori boli sempre dopo valutazione dei parametri clinici<sup>(53,109)</sup>. La fluidoterapia è comunque importante anche in pazienti in SIRS che si presentano emodinamicamente stabili per mantenere i normali livelli di idratazione e perfusione, sempre facendo attenzione a evitare il sovraccarico fluidico<sup>(109)</sup>. Anche l'ipertonica salina (7-7,5%) può essere utile in pazienti instabili senza una contemporanea disidratazione interstiziale perché determina uno shift osmotico transitorio (<30 min) dallo spazio extravascolare a quello intravascolare e sembra inoltre ridurre il rigonfiamento endoteliale, modulare la risposta infiammatoria, aumentare la contrattilità cardiaca, dare una leggera vasodilatazione e ridurre la pressione intracranica<sup>(53,109)</sup>; data la rapida redistribuzione del sodio e la diuresi osmotica deve essere sempre associata a cristalloidi o colloidali. Può essere somministrata in piccoli volumi (3-5 ml/kg) in circa 10 minuti<sup>(53,109)</sup>. Alcuni studi in pazienti canini suggeriscono che una combinazione di ipertonica salina e destrano 70 è associata a un più rapido miglioramento dello stato emodinamico e riduce il volume totale di cristalloidi necessario rispetto all'uso dei cristalloidi da soli<sup>(247,248)</sup>. I colloidali sintetici vengono

frequentemente usati appropriatamente in veterinaria in pazienti ipoproteinemici (prot. tot <3,5 g/dl) con una ridotta pressione colloidale-osmotica o che non rispondono adeguatamente a una rianimazione con i cristalloidi, e si somministrano a dosi di 10-20 ml/kg nel cane e 5-10 ml/kg nel gatto<sup>(53,109)</sup>. Spesso vengono usati in combinazione con i cristalloidi per ottenere un aumento del volume intravascolare più consistente e duraturo con volumi minori in un tempo più rapido e evitando eccessivo accumulo di liquido interstiziale. Per quanto riguarda il profilo della sicurezza in veterinaria mancano studi in proposito e per ora non è dimostrato che i colloidali diano gli effetti collaterali ampiamente documentati in umana, quindi si deve fare attenzione a estrapolare conclusioni dagli studi umani perché ciò comporterebbe ovviamente un margine di errore; tuttavia è bene farne un uso giudizioso<sup>(53,109,222)</sup>. Si deve inoltre considerare che il grado complessivo di gravità nei pazienti critici veterinari rispetto alla controparte umana è parecchio inferiore, o perlomeno il sottogruppo di pazienti così gravemente ammalato rispecchia una fetta della popolazione ma non è rappresentativo dell'intera popolazione veterinaria in SIRS o sepsi, e soprattutto che i periodi di ospedalizzazione sono estremamente diversi per i pazienti critici umani (settimane-mesi) e veterinari (generalmente giorni, talvolta settimane) e questo comporta che i volumi di fluidi totali somministrati sono notevolmente inferiori nei pazienti veterinari<sup>(222)</sup>. Visto che dagli studi umani gli effetti collaterali dei colloidali si rendono evidenti nella maggior parte dei casi solo dopo 20 giorni<sup>(231,241)</sup>, il ridotto tempo di ospedalizzazione dei pazienti veterinari potrebbe spiegare il fatto che in veterinaria questi effetti non sono ancora mai stati osservati, e sembrano più applicabili le conclusioni dei trials CRYSTMAS e CRYSTAL, che si focalizzano su pazienti ipovolemici che richiedono una rapida correzione del deficit emodinamico con l'utilizzo di HES per tempi notevolmente inferiori<sup>(235,238)</sup>. A supporto dell'uso dei colloidali sintetici in veterinaria c'è anche da dire che purtroppo non esiste oggi un'alternativa valida per sostenere la pressione colloidale-osmotica perché non esiste un colloidale naturale specie specifico sostenibile dal punto di vista economico e sempre disponibile come invece è per l'albumina umana. I pazienti veterinari in SIRS/sepsi sono spesso ipoalbuminemici e necessitano un trattamento per questa condizione; sfortunatamente il plasma fresco congelato non è una soluzione molto applicabile, visto che elevati volumi alzano solo di poco i livelli di albumina (22 ml/kg di plasma per un aumento di 0,5 g/dl delle concentrazioni di albumina<sup>(249)</sup>). L'albumina umana è una valida alternativa che viene usata frequentemente in veterinaria e studi preliminari dimostrano che la sua somministrazione nel cane porta a un rapido aumento dell'albumina, dei solidi totali e della pressione colloidale-osmotica, anche se gli effetti sulla mortalità non sono noti<sup>(53,109,243,250,251)</sup>. In un grande studio retrospettivo la somministrazione di 5 % HSA in 418 cani e 170 gatti critici ipoalbuminemici si è rivelata sicura<sup>(252)</sup>. Altri studi riportano però gravi e talvolta fatali reazioni di ipersensibilità di tipo 3 in cani trattati con HSA<sup>(253,254)</sup> e un significativo rischio con ripetute somministrazioni per la formazione di anticorpi anti HSA entro settimane dalla somministrazione<sup>(255)</sup>; le reazioni di ipersensibilità

grave sembrano però limitate quasi esclusivamente alla somministrazione in pazienti sani e non ai critici, probabilmente per l'immunocompromissione che si può avere nei pazienti critici, con rare eccezioni<sup>(256)</sup>. Alla luce di questi risultati la somministrazione di HSA nei pazienti veterinari è controversa e non è indicata per la rianimazione di routine come in umana ma va riservata ai pazienti ipoalbuminemici<sup>(109,222)</sup>. L'albumina canina liofilizzata non è ancora facilmente reperibile ma potrà giocare un ruolo centrale nella rianimazione fluidica in futuro. In un piccolo trial clinico quest'albumina è stata somministrata a 7 cani con peritonite settica e ha portato a un aumento delle concentrazioni di albumina, della pressione colloid-osmotica e della pressione diastolica nelle 2 ore post trasfusione rispetto al gruppo di controllo<sup>(257)</sup>. Altri trials su efficacia e sicurezza di questo prodotto sono auspicabili e necessari. Gli altri colloid naturali saranno discussi nel paragrafo su sangue e emoprodotti.

Un ultima cosa che è importante ricordare nei pazienti in shock emorragico con emorragia attiva, soprattutto traumatizzati, è che secondo i dati più recenti questa categoria di pazienti ha un miglior outcome con la cosiddetta rianimazione ipotensiva<sup>(258-260)</sup>. Questa consiste in una fluidoterapia che mira inizialmente a una pressione sistolica più bassa del normale (80-90 mm Hg) per aiutare a controllare l'emorragia attiva e evitare la rottura dei coaguli appena formati. La rianimazione ipotensiva è una buona soluzione temporanea in attesa di un controllo emostatico definitivo ma non deve essere usata a lungo termine perché alla lunga ne può risentire la perfusione tissutale<sup>(261)</sup>.

Table 60-1 Suggested Doses for Shock Fluid Resuscitation			
Shock Fluid	Dose	Comments	Examples of Products
Isotonic crystalloids	Typical bolus dose: 10-20 ml/kg IV over 15-30 minutes Total "shock" dose: 60-90 ml/kg in dogs, 45-60 ml/kg in cats	Rapid redistribution with short-lived intravascular volume expansion effect. Caution with use in patients with decreased colloid osmotic pressure or increased vascular permeability because of increased risk of pulmonary and interstitial edema.	0.9% NaCl, lactated Ringer's solution, Normosol-R, Plasmalyte-148
Synthetic colloids	Typical bolus dose: 2-5 ml/kg IV over 10-30 minutes Total "shock" dose: 10-20 ml/kg in dogs, 5-10 ml/kg in cats	Sustained intravascular volume expansion. Increased risk of coagulation disturbances with use of large doses. May potentially cause or exacerbate preexisting acute kidney injury.	Hespan (6% hetastarch in 0.9% NaCl) Hextend (6% hetastarch in lactated electrolyte solution) Pentastan (10% pentastarch in 0.9% NaCl) Vetstarch, Voluven (6% tetrastarch in 0.9% NaCl)
Hypertonic solutions	Typical dose: 3-5 ml/kg of 7%-7.5% NaCl solution Can be combined in a 1:2 ratio of 23.4% NaCl to a synthetic colloid for sustained intravascular volume expansion	Monitor electrolytes, particularly sodium. Use with caution in chronic hyponatremia. Can exacerbate interstitial volume depletion in dehydrated patients. Good for small-volume resuscitation, particularly in septic shock, hemorrhagic shock, and traumatic brain injury.	Commercially available in concentrations ranging from 3%-23.4% NaCl
Albumin	Typical dose: 2 ml/kg of 25% human serum albumin IV over 2 hours followed by 0.1-0.2 ml/kg/hr IV for 10 hours for a total dose of 2 g/kg Alternatively, albumin deficit can be calculated and replaced over 6-12 hours (see text for calculation)	Ideal for critically ill hypoalbuminemic patients with severe sepsis, septic shock, or trauma. Monitor for anaphylactoid or delayed hypersensitivity reactions. Repeated use is NOT recommended due to sensitization and risk of anaphylactic reactions	Commercially available as 25% human serum albumin solution Lyophilized canine albumin previously marketed for use in dogs but is no longer commercially available in United States
Blood products	Typical dose: pRBCs and fresh frozen plasma: 10-20ml/kg given IV over 2-4 hours (can be given faster in rapidly decompensating patients up to a rate of 1.5ml/kg/min over 15-20 minutes) Fresh whole blood: 20-30 ml/kg over 2-4 hours	Check blood type before administration and crossmatch if necessary. Monitor for transfusion reactions throughout duration of administration. Ideal for patients presenting in acute hemorrhagic shock.	Canine and feline pRBCs Canine and feline FFP Canine and feline fresh whole blood (where donors available)
Oxyglobin	Typical dose: 10 to 30 ml/kg IV	No crossmatch or blood typing required. Hyperoncotic solution, so monitor for fluid overload. Increases systemic vascular resistance. Can cause yellow-orange discoloration of serum, tissues, and urine.	N/A

Figura 4: Dosi suggerite per rianimazione fluidica in shock in veterinaria. FFP, Fresh frozen plasma; pRBCs, packed red blood cells. (da: Shock fluids and fluids challenge, in: Silverstein DC, Hopper K, Small Animal Critical Care Medicine, saunders elsevier 2014)

#### 1.4.5 VASOPRESSORI E INOTROPI

Se i pazienti non rispondono alla rianimazione fluidica il passo successivo per il trattamento dell'ipotensione è l'uso di agenti vasopressori. Anche se è sempre bene portare a termine l'adeguata rianimazione fluidica prima di ricorrere all'uso di questi agenti, nei casi in cui la pressione è troppo bassa questa deve essere corretta anche prima della correzione dell'ipovolemia, perché sotto un valore critico di MAP nei pazienti critici il letto vascolare perde la capacità di autoregolarsi e la perfusione tissutale diventa strettamente dipendente dalla

pressione<sup>(85)</sup>. L'inappropriata vasodilatazione è comune in SIRS e sepsi e può essere causata da ridotta risposta vascolare alle catecolamine, deplezione di vasopressina o sviluppo di CIRCI<sup>(90)</sup>. La SSC raccomanda di porsi inizialmente come target una MAP di 65 mm Hg con la terapia vasopressoria, e di posizionare in tutti i pazienti che richiedono vasopressori un catetere arterioso, se possibile, essendo la misurazione della pressione invasiva più attendibile della non invasiva.

Di seguito sono elencati gli agenti vasopressori utilizzabili, tutti da somministrare in infusione continua endovenosa con pompa a siringa:

- ❖ Norepinefrina (noradrenalina): è raccomandata come vasopressore di prima scelta dalla SSC. Questa raccomandazione risulta dall'analisi di numerosi trials randomizzati che comparano l'uso di dopamina e noradrenalina in shock settico da cui si evince che non è supportato l'uso della dopamina sulla noradrenalina per la gestione dello shock settico, visto che la dopamina è associata a un maggior rischio di mortalità a breve termine e di aritmie<sup>(262-266)</sup>. Studi di metanalisi e review successive alla SSC confermano la noradrenalina come agente di prima scelta da preferire alla dopamina<sup>(267-269)</sup>. Il neurotrasmettitore noradrenalina è una catecolamina a effetto misto alfa e beta adrenergico con effetto predominante sui recettori alfa-1 e aumenta la MAP grazie all'effetto vasocostrittore, con minimi cambiamenti nella frequenza cardiaca e un minore incremento della gittata cardiaca rispetto alla dopamina; rispetto a quest'ultima è più potente nell'incremento pressorio<sup>(85,270)</sup>. Viene utilizzata come vasopressore negli animali con normale o aumentato output cardiaco, con dose suggerita (estrapolata da quella umana) di 0,1-2 µg/kg/min<sup>(270)</sup>.
- ❖ Dopamina. E' un precursore di adrenalina e noradrenalina con effetto potenzialmente dopaminergico e adrenergico dose dipendente. A basse dosi (1-5 µg/kg/min) si vedono principalmente gli effetti dopaminergici vasodilatatori, a dosi moderate (5-10 µg/kg/min) predominano gli effetti beta adrenergici con inotropismo positivo e aumento dell'output cardiaco, a alte dosi (10-15 µg/kg/min) si aggiungono agli effetti beta adrenergici quelli alfa adrenergici, che predominano a dosi ancora più alte (15-20 µg/kg/min), apportando attività vasopressoria<sup>(90,109,270-272)</sup>. Per quanto sia stata considerata per molto tempo il vasopressore di prima scelta, gli ultimi studi come detto prima smentiscono ciò, e la SSC la suggerisce come vasopressore alternativo alla norepinefrina solo in pazienti con basso rischio di tachiaritmie e bradicardia assoluta o relativa. Viene usata frequentemente in animali con vasodilatazione e ridotta contrattilità cardiaca come agente singolo per dare sia il supporto pressorio che inotropo, ma nonostante questi benefici può avere effetti deleteri sul circolo renale, mesenterico e scheletrico, e soprattutto nel cane, la vasocostrizione splancnica può

esacerbare lo stato di sepsi promuovendo una perdita di funzione della barriera gastrointestinale e una traslocazione batterica<sup>(75,109)</sup>. A basse dosi di 0,5-2 µg/kg/min causa vasodilatazione renale senza un aumento della GFR e natriuresi inibendo il trasporto di sodio nei tubuli renali<sup>(273)</sup> e il suo effetto di nefroprotezione a queste dosi è stato indagato, ma sulla base dei dati oggi disponibili<sup>(130,134)</sup> la SSC non la raccomanda assolutamente per la nefroprotezione.

- ❖ Epinefrina (adrenalina). Questa catecolamina è un vasopressore molto potente con attività mista alfa e beta agonista, che determina vasocostrizione, aumento della gittata cardiaca e marcato aumento pressorio anche se può causare aumento della domanda di ossigeno, vasocostrizione splancnica marcata e iperlattatemia<sup>(85,90,109)</sup>. Tuttavia dall'analisi di trials randomizzati non risulta alcuna differenza in outcome o rischio di morte dall'uso di adrenalina rispetto alla noradrenalina<sup>(274-277)</sup>, quindi la SSC la suggerisce come agente da associare alla noradrenalina (o anche come prima alternativa a questa) in caso che serva un altro agente per portare a livelli adeguati la pressione. In veterinaria non è quasi mai usata come prima scelta per i suoi potenziali effetti collaterali ma in certi casi si rivela necessaria per un supporto emodinamico nei pazienti più critici. La dose per un effetto vasopressorio è 0,01-0,1 µg/kg/min, per effetti prevalentemente beta agonisti è 0,005-0,02 µg/kg/min.
- ❖ Fenilefrina. È un puro alfa agonista che determina potente vasocostrizione e aumento pressorio e non avendo effetto sui recettori beta è la meno aritmogena delle catecolamine. Si usa in umana e in veterinaria quando la norepinefrina o altri agenti pressori hanno portato allo sviluppo di severe aritmie, se la gittata cardiaca è molto alta e come terapia salvavita quando altri agenti vasopressori e inotropi hanno fallito nel raggiungimento della MAP adeguata<sup>(85,109,278)</sup>. La dose va da 0,5 a 3 µg/kg/min<sup>(109)</sup>.
- ❖ Vasopressina. È un agente vasopressore non adrenergico che agisce sui recettori V1 della maggior parte dei letti vascolari determinando vasocostrizione; a basse dosi può dare vasodilatazione nel circolo renale, polmonare mesenterico e cerebrale, preservando il flusso in questi importanti distretti. Durante lo shock settico si ha una risposta bifasica della vasopressina che in una fase iniziale è alta in risposta a ipossia, ipotensione e acidosi e poi si abbassa inaspettatamente per probabile deplezione delle riserve ipotalamiche (insufficienza relativa di vasopressina); il trattamento con vasopressina in pazienti in shock settico in fasi avanzate può quindi essere benefico, specialmente se manifestano vasodilatazione e sono refrattari alla terapia con catecolamine, sia in umana che in veterinaria<sup>(85,109,279)</sup>. Dall'analisi di numerosi studi la SSC consiglia l'uso della vasopressina a basse dosi (fino a 0,03 U/min) associata alla noradrenalina per cercare di raggiungere la MAP adeguata o ridurre le dosi di noradrenalina, mentre non la raccomanda come agente di prima scelta e raccomanda di riservare dosi > 0,03 U/min

come terapia salvavita se non non si è raggiunto una MAP adeguata con altri vasopressori; simili considerazioni vanno fatte per l'uso in medicina veterinaria, con dose raccomandata di 0,5-5 mU/kg/min<sup>(280)</sup>.

- ❖ **Dobutamina.** Questa catecolamina beta agonista priva di effetto sui recettori alfa è un agente inotropo positivo che aumenta gittata cardiaca, apporto di ossigeno ai tessuti e consumo di ossigeno senza determinare vasocostrizione. La SSC raccomanda l'uso di dobutamina come inotropo di prima scelta (eventualmente in aggiunta ai vasopressori) in infusione continua endovenosa fino a 20 µg/kg/min in caso di disfunzione miocardica (suggerita da elevata pressione di riempimento cardiaco e bassa gittata cardiaca) o di segni di ipoperfusione nonostante il raggiungimento di adeguato volume intravascolare e adeguata MAP. Sconsiglia invece l'uso di strategie atte a aumentare l'indice cardiaco a livelli maggiori del normale. Negli animali si può usare con le stesse indicazioni a dose di 1-5 µg/kg/min nel gatto (tenendo presente che in questa specie può esacerbare tachiaritmie e crisi epilettiche) e 2,5-20 µg/kg/min nel cane<sup>(109)</sup>.

L'uso di vasopressori multipli è associato a una prognosi peggiore nei pazienti critici. Uno studio ha dimostrato che cani in sepsi con ipotensione che ha richiesto l'uso di vasopressori dopo la chirurgia erano 2,35 volte più a rischio di morire di quelli senza ipotensione<sup>(47)</sup>, mentre un altro studio in cani con peritonite settica ha riscontrato che pazienti trattati con vasopressori (soprattutto se più di un agente) avevano meno possibilità di sopravvivere<sup>(281)</sup>; questo non implica un rapporto causa effetto ma piuttosto che cani che presentano uno stato di criticità grave da richiedere la terapia vasopressoria hanno meno possibilità di sopravvivere<sup>(90)</sup>.

#### 1.4.6 CORTICOSTEROIDI

In pazienti refrattari a una stabilizzazione emodinamica nonostante l'appropriata fluidoterapia e gli agenti vasopressori, i corticosteroidi possono essere d'aiuto: visto che il beneficio dei corticosteroidi è legato principalmente alla possibilità dello sviluppo di una CIRCI, la terapia con questi farmaci sarà descritta nel dettaglio nel capitolo successivo.

#### 1.4.7 SANGUE E EMOPRODOTTI

Il bisogno di emoprodotti nei pazienti umani e veterinari in SIRS, MODS e sepsi dipende dal processo patologico sottostante e dal quadro clinico. Queste sono le linee guida umane della SSC:

- ❖ Risolta l'ipotensione e in assenza di particolari situazioni (ischemia del miocardio, ipossiemia severa, emorragia acuta, patologie ischemiche delle coronarie) è raccomandata una trasfusione di globuli rossi quando la concentrazione di emoglobina scende sotto i 7 g/dl ponendosi come target una concentrazione di emoglobina fra 7 e 9 g/dl negli adulti; nelle prime 6 ore della rianimazione si deve invece seguire il protocollo della EGDT secondo cui la soglia di trasfusione in pazienti con basso ScvO<sub>2</sub> è un ematocrito < 30%. La strategia trasfusionale restrittiva con valore soglia di 7 g/dl di emoglobina (rispetto al passato in cui si riteneva che già un'emoglobina ≤ 10 g/dl fosse indicativa della necessità di una trasfusione) è stata scelta perché non c'è ad ora evidenza che porsi valori soglia più alti porti un beneficio.
- ❖ Non si raccomanda l'uso dell'eritropoietina come terapia specifica dell'anemia in corso di sepsi severa perché benchè non esistano studi adeguati in pazienti in sepsi, gli studi condotti su pazienti critici non riportano alcun beneficio nell'outcome<sup>(282-283)</sup>; è da tenere presente però che l'eritropoietina possiede teoricamente benefici che esulano dall'effetto eritropoietico e consistono in effetto anti-apoptotico, citoprotettivo e vasomotore (per incremento dell'effetto di mediatori come catecolamine e endoteline)<sup>(284-285)</sup>, ma servono studi per valutarne i benefici in corso di SIRS/sepsi.
- ❖ È consigliata la trasfusione di plasma fresco congelato in caso di coagulopatie con compresenza di deficienza dei fattori della coagulazione (provate da alterazioni del profilo coagulativo) e sanguinamento attivo o necessità di procedure chirurgiche invasive. Non è invece suggerito l'uso in presenza di anormalità del profilo coagulativo ma in assenza di un sanguinamento o di necessità di procedure invasive, anche perché studi dimostrano che oltretutto la trasfusione di plasma fresco non corregge il tempo di protrombina in pazienti con lievi anormalità di laboratorio se non sanguinano<sup>(286-287)</sup>, e non ci sono studi che suggeriscono che in caso di alterazioni laboratoristiche gravi la trasfusione di plasma apporti un beneficio in assenza di sanguinamento.
- ❖ Non è raccomandata la somministrazione di antitrombina fino a che non saranno disponibili ulteriori studi. Un trial clinico di fase III non ha dimostrato alcun beneficio sulla mortalità a 28 giorni con la somministrazione di alte dosi di antitrombina in adulti in sepsi e shock settico e ha riscontrato un maggior rischio di sanguinamento con l'uso associato di antitrombina e eparina<sup>(288)</sup>; benchè un sottogruppo di pazienti in sepsi con elevato rischio di morte abbia mostrato un miglioramento dell'outcome con la somministrazione dell'antitrombina in uno studio<sup>(289)</sup>, servono maggiori dati per consigliarne l'utilizzo.
- ❖ Si consiglia di somministrare le piastrine a scopo profilattico quando la conta è ≤ 10.000/ mm<sup>3</sup> (10x10<sup>9</sup>/L) in assenza di sanguinamento apparente o quando la conta è ≤ 20.000/ mm<sup>3</sup> (20x10<sup>9</sup>/L) in presenza di un significativo rischio di sanguinamento; in

presenza di conte più alte si consiglia la trasfusione di piastrine in caso di sanguinamento attivo, chirurgia o procedure invasive. La SSC ha adottato queste guidelines da quelle approvate per la trasfusione di piastrine in trombocitopenia chemioindotta; è importante tenere presente che la SIRS e la sepsi in sé sono fattori di rischio di sanguinamento e che altri fattori di rischio in corso di sepsi sono temperatura > 38°C, recenti emorragie minori, riduzione rapida della conta piastrinica e altre anomalie coagulative<sup>(290-292)</sup>.

In veterinaria la terapia trasfusionale con sangue e suoi componenti è un'opzione terapeutica a cui si può fare ricorso nei pazienti in SIRS/sepsi, in particolare nella rianimazione dei pazienti in shock; non ci sono regole fisse e valori soglia rigidi al di sotto dei quali si deve trasfondere e la decisione di operare una trasfusione deve essere presa sempre dopo un'attenta valutazione clinica caso per caso.

In animali con perdita di sangue acuta non responsivi alla fluidoterapia il sangue fresco intero (o globuli rossi concentrati associati a plasma fresco congelato) dovrebbe essere utilizzato nel tentativo di stabilizzare i segni clinici dello shock, mantenere l'HCT sopra il 25 % e mantenere nei range i tempi di coagulazione<sup>(53)</sup>. I globuli rossi concentrati e il plasma fresco congelato sono somministrati a una dose di 10-20 ml/kg, il sangue fresco intero a 20-30 ml/kg. Generalmente il sangue e tutti i suoi componenti vanno somministrati in un arco di tempo di 2-4 ore per monitorare le eventuali reazioni avverse e evitare il sovraccarico fluidico ma in caso di perdite di sangue interne o esterne può essere necessario somministrarli in piccoli boli<sup>(53)</sup>. Il trattamento coi globuli rossi concentrati è adatto per aumentare il contenuto di ossigeno in casi di severa anemia; se l'anemia è associata a ipoprotidemia è appropriato l'uso di sangue intero congelato o di globuli rossi più plasma fresco congelato; in caso di anemia associata a alterazioni emostatiche primarie e secondarie si usa sangue fresco intero, e in caso di sanguinamenti causati da trombocitopenie o trombocitopatie e emorragie massive in cui le piastrine sono fondamentali, si deve ricordare che queste sono presenti solo nel sangue fresco intero conservato per meno di 8 h a temperatura ambiente (si possono somministrare anche sotto forma di plasma ricco di piastrine o concentrati piastrinici)<sup>(293)</sup>. Come già detto, l'abilità del plasma nell'aumentare le concentrazioni di albumina è limitata e in tal caso si raccomanda quindi la somministrazione dell'albumina, e come sostegno alla pressione colloidale-osmotica si scelgono più frequentemente i colloidali sintetici sia perché più efficaci in questo senso sia perché più facilmente reperibili<sup>(109)</sup>. È importante ricordare che prima di una trasfusione deve essere determinato il gruppo sanguigno dell'animale da trasfondere per verificare che i prodotti che si vanno a trasfondere siano compatibili, in particolare nel gatto. Infine, soluzioni trasportanti ossigeno a base di emoglobina possono avere un ruolo nel trattamento dello shock, e in veterinaria l'unica soluzione approvata è l'ossi-emoglobina, benché non sia sempre facilmente

disponibile e attualmente non sia presente sul mercato in molti paesi; in casi di anemia può aumentare l'apporto di ossigeno ai tessuti e la perfusione capillare anche in casi di microtrombi grazie alle piccole dimensioni dell'emoglobina libera; nonostante queste proprietà e la lunga shelf life di 36 mesi non è molto utilizzata per la scarsa disponibilità, il notevole costo, la possibilità di effetti indesiderati (essenzialmente sovraccarico fluidico) e la mancanza di un chiaro e documentato vantaggio rispetto a altre soluzioni disponibili e comunemente usate<sup>(53)</sup>.

#### 1.4.8 MODULAZIONE DELL'INFIAMMAZIONE

Diversi studi in umana si sono concentrati su potenziali terapie volte a modulare la risposta infiammatoria, per ora con risultati non molto promettenti. Il blocco delle citochine infiammatorie è stato ampiamente studiato per controllare la flogosi, prevenire il danno d'organo e migliorare la sopravvivenza in pazienti in SIRS/sepsi. Il blocco del TNF- $\alpha$  con anticorpi anti-TNF- $\alpha$  non ha dimostrato un miglioramento della sopravvivenza nei pazienti umani settici e in alcuni studi ha dimostrato anzi avere effetti dannosi<sup>(294,295)</sup>. Allo stesso modo l'uso di recettori antagonisti al TNF- $\alpha$ , il fattore piastrinico e l'interleuchina 1 non hanno portato a una riduzione della mortalità a 28 giorni nei pazienti umani in sepsi<sup>(296,297)</sup>. Sono stati investigati anche i benefici antinfiammatori dell'ibuprofene in un trial prospettico randomizzato con controllo placebo in doppio cieco in pazienti umani in sepsi, e non è stato riscontrato un miglioramento della sopravvivenza<sup>(298)</sup>. Prima degli anni Novanta era pratica diffusissima la somministrazione di corticosteroidi ad alte dosi in pazienti in SIRS/sepsi per controllare la risposta infiammatoria, ma questa pratica è stata poi abbandonata per la totale mancanza di un beneficio nella sopravvivenza e l'aumentato rischio di mortalità come dimostrato da alcuni studi<sup>(299)</sup>. Le immunoglobuline umane endovena sono state oggetto di numerosissimi studi, ma dall'analisi di quelli più ampi e di maggior valore la SSC per ora non ne suggerisce l'uso in corso di sepsi pur incoraggiando ulteriori grandi studi in proposito. Anche le statine, farmaci comunemente usati per controllare il colesterolo in umana, possono avere in corso di SIRS/sepsi dei benefici che devono essere ancora indagati, date le proprietà immunomodulatrici<sup>(300)</sup>; in particolare è stato condotto un trial randomizzato multicentrico con controllo placebo in doppio cieco sull'uso dell' atorvastatina nei pazienti in sepsi e non è stata dimostrata una differenza nella concentrazione di IL-6, nella mortalità e nella durata di ospedalizzazione<sup>(301)</sup>. La proteina C attivata umana ricombinante (rhAPC) era stata approvata per l'uso in molti paesi nel 2001 in seguito ai promettenti risultati del PROWESS (Recombinant Human Activated Protein C Worldwide Evaluation in Severe Sepsis) trial che su 1690 pazienti aveva dimostrato una riduzione significativa e notevole della mortalità rispetto al gruppo

placebo. L'uso della proteina C attivata ricombinante fu quindi fortemente raccomandato nelle linee guida della SSC del 2004, ma in seguito a studi che la dimostrarono inefficace nel migliorare l'outcome in adulti e bambini settici<sup>(302,303)</sup> la sua importanza fu già ridimensionata nella SSC del 2008; infine dopo l'uscita del PROWESS SHOCK trial del 2011<sup>(304)</sup> che non dimostrò alcun beneficio nel suo uso su 1696 pazienti, il prodotto fu ritirato dal mercato e a oggi non è più disponibile.

#### 1.4.9 GASTROPROTEZIONE

Ulcere mucosali correlate allo stress e al danno vascolare tissutale e conseguente sanguinamento gastrointestinale sono frequenti nei pazienti umani critici in SIRS, MODS e sepsi e possono verificarsi anche nei pazienti veterinari; ipoperfusione del tratto gastroenterico superiore, eccessiva secrezione acida gastrica e alterati meccanismi di difesa mucosale contribuiscono al loro sviluppo<sup>(109)</sup>. In umana la SSC raccomanda l'uso di anti H<sub>2</sub> o inibitori della pompa protonica in pazienti in sepsi a rischio di sanguinamento (con coagulopatie, ipotensione o ventilati meccanicamente da più di 48 h) e tra i due prodotti invita all'uso degli inibitori della pompa protonica; in pazienti che non sono a rischio la profilassi non è raccomandata perché è poco probabile che traggano beneficio dal trattamento. In veterinaria l'incidenza di ulcere mucosali da stress non è conosciuta e non ci sono linee guida stabilite per il trattamento precise come in umana, tuttavia si raccomanda di trattarle e si forniscono opzioni terapeutiche per farlo<sup>(20,109)</sup>. Innanzitutto è fondamentale per la prevenzione garantire un'adeguata perfusione gastroenterica e passare il prima possibile alla nutrizione enterale. I pazienti a rischio dovrebbero ricevere la profilassi per le emorragie gastroenteriche seguendo quanto stabilito in umana, ovvero che gli inibitori della pompa protonica sono più efficaci degli anti H<sub>2</sub>, a loro volta più efficaci del sucralfato; farmaci disponibili includono gli inibitori di pompa protonica omeprazolo (0,7-1 mg/kg PO sid) e pantoprazolo (0,7-1 mg/kg EV sid), gli anti H<sub>2</sub> ranitidina (0,5-4 mg/kg EV bid o tid) e famotidina (0,5-1 mg/kg EV sid o bid) e il protettore sucralfato (0,25-1 g/ 25 kg PO tid o qid).

#### 1.4.10 NUTRIZIONE E CONTROLLO DEL GLUCOSIO

Una volta stabilizzato il paziente in SIRS, MODS o sepsi, si deve porre attenzione anche alla nutrizione, aspetto importante in pazienti come questi che si trovano in uno stato ipermetabolico. Fondamentale è anche il controllo del glucosio, volto a evitare iperglicemia,

ipoglicemia e ampie variazioni dei livelli ematici di glucosio. Queste sono le linee guida umane della SSC:

- ❖ fornire nelle prime 48 h dalla diagnosi di sepsi alimentazione orale o se necessario enterale se tollerate, piuttosto che mantenere il paziente a digiuno o trattarlo esclusivamente con glucosio EV
- ❖ evitare di fornire l'apporto calorico pieno durante la prima settimana e preferire una dose più bassa (fino a massimo 500 calorie al giorno) e aumentare solo se la dose è tollerata dal paziente
- ❖ usare il glucosio endovena e la nutrizione enterale invece della nutrizione parenterale totale da sola o congiunta alla nutrizione enterale nei primi 7 giorni dalla diagnosi
- ❖ usare un'alimentazione priva di supplementi immunomodulatori
- ❖ applicare il protocollo per la gestione del glucosio ematico, iniziando la terapia con insulina quando il glucosio è  $> 180$  mg/dl per due prelievi consecutivi, con l'obiettivo di raggiungere un glucosio ematico  $< 180$  mg/dl; sul dosaggio di insulina non è stato ancora raggiunto il pieno consenso perché dipende tantissimo dal paziente, quello che si consiglia è di operare in modo da mantenere il glucosio fra 140 e 180 mg/dl, come suggeriscono i consensus statements sul controllo glicemico nei pazienti ospedalizzati di numerose organizzazioni mediche<sup>(305-308)</sup>.
- ❖ monitorare i livelli ematici di glucosio ogni 1-2 h fino a che questi e la velocità di infusione d'insulina non sono stabili, quindi ogni 4 h
- ❖ interpretare con cautela i livelli di glucosio letti dai glucometri che prendono sangue capillare, perché potrebbero non essere rappresentativi dei reali livelli di glucosio.

Anche negli animali la via enterale (orale o con feeding tube inserito a vari livelli del tratto gastroenterico) è da preferire se l'animale è vigile, normoteso e non vomita, mentre in casi in cui la nutrizione enterale non è fattibile o è controindicata si deve ricorrere alla nutrizione parenterale. Se il glucosio scende sotto i 60 g/dl devono essere somministrati 0,5 ml/kg di glucosio 50 % diluiti in acqua sterile in rapporto 1:1 endovena in 1-2 minuti, e i fluidi possono essere supplementati con glucosio secondo i bisogni (2,5-7,5 %)<sup>(109)</sup>. L'iperglicemia deve essere evitata perché, benchè in veterinaria siano necessari ulteriori studi per determinare una correlazione tra glucosio sierico e outcome nei pazienti critici, può essere associata a maggior rischio di infezioni, complicazioni e peggior prognosi<sup>(109,309,310)</sup>. Il fatto che in umana siano stati dimostrati benefici nell'uso di insulina in pazienti critici iperglicemici non vuol dire che ciò sia necessariamente vero anche in veterinaria e servono studi al momento mancanti per dimostrarlo. L'uso di routine della terapia insulinica in pazienti veterinari critici non può quindi essere ancora raccomandato tuttavia può essere consigliato un protocollo insulinico per il controllo del glucosio in pazienti non diabetici con trauma cranico o sepsi: può essere usata una bassa dose di

insulina (0,25-1 U/kg/die) diminuendo la velocità di infusione dal 50 al 75 % quando il glucosio scende sotto i 150 mg/dl; la velocità di infusione deve essere regolata in modo da mantenere i livelli di glucosio tra 85 e 130 mg/dl; durante la terapia insulinica è fondamentale un monitoraggio intensivo e un controllo seriale dei livelli ematici di glucosio<sup>(310)</sup>.

#### 1.4.11 ANALGESIA

Nei pazienti critici come quelli in SIRS/sepsi/MODS il dolore è un problema primario. La SSC inserisce infatti la gestione dell'analgesia, e della sedazione quando necessaria, fra gli interventi terapeutici da operare in pazienti in sepsi. Anche in veterinaria la terapia del dolore è diventata parte integrante delle cure già da molti anni<sup>(311)</sup> e attualmente la tendenza è di adottare un approccio preventivo volto a impedire o ridurre la trasmissione dello stimolo dolorifico piuttosto che aspettare che l'animale manifesti chiaramente i segni del dolore, anche perché spesso cani e gatti critici non manifestano segni di dolore anche se questo è presente<sup>(312)</sup>; in particolare l'infiammazione di per sé stimola la nocicezione quindi è ragionevole pensare che i pazienti in SIRS provino dolore e necessitino di una terapia indipendentemente dai segni clinici<sup>(313)</sup>. Inoltre non può essere ignorato che il dolore può rendersi responsabile di alterazioni profonde ai vari apparati e ai meccanismi di regolazione omeostatici<sup>(312-315)</sup>. È facile capire quindi come il dolore può perpetuare e aggravare lo stato del paziente critico in SIRS/sepsi/MODS, e c'è un'evidenza crescente che dolore e stress neuroendocrino contribuiscano a morbidità e mortalità nei pazienti veterinari<sup>(312)</sup>.

<i>Effetti negativi di un dolore non trattato</i>		
Apparato	Modificazioni associate al dolore	Conseguenze
Cardiovascolare	> frequenza cardiaca, > gittata cardiaca, > pressione sistemica, > insorgenza di aritmie	Compromissione della funzione cardiovascolare
Respiratorio	> frequenza respiratoria, < ventilazione	Ipossiemia, ipercapnia, acidosi, > rischio atelettasia, > rischio polmonite
Gastrointestinale	> secrezione intestinale, ileo paralitico	Vomito, anoressia, > rischio ulcere gastriche, dolore intestinale

Urinario	Ritenzione urinaria, ritenzione di sodio e acqua	Squilibri elettrolitici
Sistema metabolico	> metabolismo e consumo di ossigeno, > catabolismo lipidico e glucidico	> catabolismo tissutale, ritardo guarigione ferite, perdita di peso
Sistema immunitario	Compromissione della funzione immunitaria	> rischio di infezioni e sepsi, > diffusione metastatica dei tumori, > recidive tumorali
Sistema nervoso	Sensibilizzazione	Iperalgesia e allodinia, accresciuta percezione del dolore, sviluppo di dolore cronico

**Tabella 2: effetti negativi del dolore non trattato (Da Grant D: Pain management in small animals, 2006)**

È importante ricordare che un'adeguata gestione del dolore dipende anche da una sua sistematica e comprensiva valutazione: il miglioramento di un approccio sistematico alla valutazione del dolore è infatti associato a decisioni più efficienti per la sua gestione, con benefici sulla riduzione dell'intensità del dolore, la durata della ventilazione meccanica, la durata dell'ospedalizzazione, la mortalità e gli effetti avversi e complicazioni<sup>(316)</sup>. Da qui la necessità di sviluppare scale per la valutazione del dolore: in umana ce ne sono tantissime, anche per i pazienti critici in terapia intensiva non coscienti o sedati e quindi incapaci di esprimersi, come la Behavioural Pain Scale (BPS) e la Critical Care Pain Observation Tool (CPOT) a oggi considerate le migliori per questo tipo di pazienti<sup>(317)</sup>; anche in veterinaria, dove la valutazione del dolore è chiaramente più difficile che in umana, sono state sviluppate numerose scale, sia per il dolore acuto che cronico, sia per il cane che per il gatto, descritte nel dettaglio nelle recenti Linee guida WSAVA (world small animals veterinary associations) del 2014 sul riconoscimento, la valutazione e il trattamento del dolore nei piccoli animali<sup>(318)</sup>. I farmaci a disposizione sono tantissimi (oppioidi, antinfiammatori non steroidei, anestetici locali, ketamina, lidocaina, alfa-2 agonisti, gabapentina) e la scelta deve essere valutata di volta in volta a seconda del quadro clinico di quel paziente critico<sup>(313)</sup>.

#### 1.4.12 OSSIGENOTERAPIA

Un ulteriore terapia di supporto di cui può necessitare il paziente umano o veterinario in SIRS/sepsi/MODS è l'ossigeno terapia. Questa è indicata nel paziente veterinario quando ha una  $PaO_2 < 70$  mm Hg o una  $SpO_2 < 93$  % in aria ambiente, e si può applicare con vari metodi

più o meno invasivi da scegliere in base al grado di ipossiemia, alla compliance del paziente e alle attrezzature disponibili: ossigeno flow-by, maschera facciale, cappucci per ossigeno, gabbia a ossigeno, cannule nasali, catetere nasale, nasofaringeo o tracheale<sup>(319)</sup>. In medicina umana i pazienti in sepsi che sviluppano ARDS vengono ventilati meccanicamente secondo protocolli descritti nel dettaglio dalla SSC; anche in veterinaria, anche se più raramente, si può fare ricorso alla ventilazione meccanica se il paziente ha una grave ipossiemia nonostante la supplementazione di ossigeno, se ha una grave ipoventilazione nonostante la terapia, se ha un eccessivo sforzo respiratorio e un rischio o una presenza di insufficienza respiratoria e se ha una severa compromissione emodinamica non responsiva alle normali terapie; non esistono ancora protocolli standardizzati per la ventilazione meccanica nei pazienti veterinari<sup>(320)</sup>. Un anello di congiunzione fra i metodi di ossigenoterapia non invasivi e la ventilazione meccanica è la CPAP, e anche se il suo utilizzo in veterinaria è molto recente e ancora da esplorare, i primi risultati sono promettenti<sup>(576,577)</sup>.

#### 1.4.13 PROFILASSI DEL TROMBOEMBOLISMO

I pazienti in SIRS, facendo parte dei pazienti ospedalizzati in terapia intensiva, sono a rischio di trombosi venosa profonda e tromboembolismo polmonare, quindi la SSC umana raccomanda di eseguire la terapia profilattica, risultata efficace dall'analisi di numerosi studi, per scongiurare questo rischio. La SSC raccomanda di somministrare a questo proposito eparina a basso peso molecolare sottocute (deltaeparina o altra eparina a basso peso molecolare con ridotto metabolismo renale o eparina non frazionata se la clearance della creatinina è < 30 ml/dl); la terapia farmacologica deve essere accompagnata, se possibile, da misure fisiche come tecniche di compressione pneumatica intermittenti; i pazienti che hanno una controindicazione all'uso di eparina (trombocitopenia, coagulopatia severa, sanguinamento attivo o recente emorragia intracerebrale) non devono ricevere la terapia con eparina ma solo il trattamento fisico se non controindicato e solo quando il rischio si riduce può essere iniziata la terapia con eparina. Nonostante sia ormai noto che cani e gatti in SIRS siano a rischio di trombosi, non esistono a oggi studi veterinari che aiutino a individuare una popolazione specifica in cui la tromboprofilassi porti dei vantaggi<sup>(321)</sup>. Sfortunatamente la terapia con eparina a alte dosi può peggiorare il quadro clinico se data quando il paziente si trova già nella fase scompensata di una CID SIRS-indotta, fase in cui il paziente è già in coagulopatia da consumo e a rischio sanguinamento, e rimane difficile l'identificazione della fase di ipercoagulabilità quando la terapia con eparina potrebbe essere molto utile<sup>(321)</sup>, a meno che non si disponga di un tromboelastografo.

#### 1.4.14 TERAPIA RENALE SOSTITUTIVA

La SSC raccomanda la terapia renale sostitutiva continua o l'emodialisi intermittente nei pazienti in sepsi con insufficienza renale acuta e le due tecniche sono considerate equivalenti perché danno simili tassi di sopravvivenza a breve termine; è suggerito però l'uso della terapia continua per facilitare la gestione del bilancio fluidico nei pazienti emodinamicamente instabili. In veterinaria il trattamento dell'insufficienza renale acuta nei pazienti critici in SIRS si fa in genere con fluidoterapia e correzione dell'equilibrio acido-base e elettrolitico, diuretici, supporto nutrizionale e terapia sintomatica, ma in certi casi queste misure sono inefficaci e la terapia renale sostitutiva sarebbe senza dubbio il metodo più efficace per gestire il paziente uremico; purtroppo la scarsa disponibilità di queste tecniche e il loro elevato costo le rende poco praticabili per molti veterinari e proprietari.

#### 1.4.15 TERAPIA CON BETA BLOCCANTI

Recentemente in medicina umana diversi studi si stanno concentrando sui potenziali benefici dell'uso dei beta-bloccanti nei pazienti in SIRS, sepsi e shock settico. Questi pazienti infatti vanno incontro a un'iperattivazione del sistema nervoso simpatico, risposta inizialmente fondamentale e fisiologica per l'organismo per rispondere all'insulto patogeno, ma che alla lunga diventa deleteria, con effetti a livello cardiaco (aumento eccessivo della contrattilità, della frequenza e del consumo di ossigeno) e extracardiaco (stato ipermetabolico, iperglicemia, ipercoagulabilità, modulazione del rilascio di citochine infiammatorie) che possono incrementare complicazioni, incidenza di MODS e mortalità<sup>(323-325)</sup>. Anche se non si hanno ancora abbastanza dati per uno studio di metanalisi e per emettere delle raccomandazioni nella SSC, i dati disponibili sono promettenti e in particolare l'uso di esmololo sembra associato a un miglioramento della funzionalità cardiaca (con riduzione della frequenza cardiaca) e della mortalità a 28 giorni nei pazienti settici<sup>(323-325)</sup>. In veterinaria non sono stati ancora condotti studi in proposito.

<b>SURVIVING SEPSIS CAMPAIGN BUNDLES</b>
<b>TO BE COMPLETED WITHIN 3 HOURS:</b>
1) Measure lactate level
2) Obtain blood cultures prior to administration of antibiotics
3) Administer broad spectrum antibiotics
4) Administer 30 mL/kg crystalloid for hypotension or lactate $\geq 4$ mmol/L
<b>TO BE COMPLETED WITHIN 6 HOURS:</b>
5) Apply vasopressors (for hypotension that does not respond to initial fluid resuscitation) to maintain a mean arterial pressure (MAP) $\geq 65$ mm Hg
6) In the event of persistent arterial hypotension despite volume resuscitation (septic shock) or initial lactate $\geq 4$ mmol/L (36 mg/dL):
- Measure central venous pressure (CVP)*
- Measure central venous oxygen saturation (Scvo <sub>2</sub> )*
7) Remeasure lactate if initial lactate was elevated*
*Targets for quantitative resuscitation included in the guidelines are CVP of $\geq 8$ mm Hg, Scvo <sub>2</sub> of $\geq 70\%$ , and normalization of lactate.

Figura 5. Surviving Sepsis Campaign Bundles: le misure terapeutiche da adottare nelle prime 3 e 6 h dalla diagnosi

## 1.5 PROGnosi

La prognosi nei pazienti in SIRS dipende dalla causa sottostante, dalla stabilità del sistema cardiovascolare, dalle comorbidity associate e dallo stadio clinico del paziente (sirs/sepsi, sepsi severa, shock settico, MODS). Queste sindromi sono associate ad un elevato tasso di mortalità nei pazienti ricoverati in terapia intensiva sia in umana che in veterinaria.

In medicina umana la mortalità nei pazienti in SIRS/sepsi va dal 10 al 52 %<sup>(326-338)</sup>. In uno studio recente il tasso di mortalità nei pazienti in sepsi (con documentata fonte d'infezione e insufficienza d'organo) aumenta in modo lineare all'aumentare dei criteri di SIRS, senza un aumento del rischio significativo al raggiungimento di 2 dei 4 criteri di SIRS (T < 38°C o > 39°C, FC > 120 bpm, FR > 20 atti respiratori al minuto e WBC < 6 x 10<sup>3</sup> / µl o >16 x 10<sup>3</sup> / µl o > 3 % di neutrofili banda)<sup>(338)</sup>, soglia stabilita per rientrare nella definizione di SIRS e sepsi. Lo studio è significativo perché mette in dubbio l'utilità della soglia dei due criteri per la definizione di SIRS e sepsi, visto che il 12% dei pazienti in studio con documentata sepsi e insufficienza d'organo erano pazienti SIRS-negativi (rispondenti a meno di 2 criteri) e avrebbero rischiato quindi di non essere compresi; lo studio consiglia quindi di non considerare la soglia dei 2 criteri di SIRS come un punto critico per definire il rischio di morte per un paziente, ma piuttosto di valutare per questo l'aderenza crescente ai criteri di SIRS. Uno studio ha valutato i tassi di mortalità in SIRS, sepsi, sepsi severa e shock settico, che sono risultati rispettivamente del 7%, 16%, 20% e 46%, ha dimostrato la progressione da SIRS/sepsi a sepsi severa a shock settico durante l'ospedalizzazione e ha riscontrato che il tempo per il passaggio da SIRS a sepsi è inversamente proporzionale al numero di criteri di SIRS<sup>(339)</sup>. Almeno uno studio ha dimostrato come la SIRS sia un fattore prognostico negativo di per sé nella popolazione in terapia intensiva<sup>(340)</sup>, con possibilità di avere infezioni 2,2 volte maggiore, rischio di shock settico 5,5 volte maggiore, percentuale di batteriemia 3,7 volte maggiore e soprattutto mortalità a 28 giorni 6,9 volte maggiore rispetto ai pazienti SIRS-negativi; un altro studio ha riportato tempi di ospedalizzazione progressivamente più lunghi in SIRS, sepsi e sepsi severa rispetto ai controlli<sup>(341)</sup>; un ulteriore studio ha riscontrato come la presenza di criteri di SIRS in pazienti sottoposti a sostituzione valvolare aortica transcateretere fosse significativamente associata con la mortalità a 30 giorni e a un anno<sup>(342)</sup>.

Lo sviluppo di MODS è associato a prognosi sfavorevole e il numero di sistemi organici coinvolti correla con la mortalità nelle unità di terapia intensiva<sup>(184,330,343-345)</sup>. Persone con sepsi severa e MODS sono 2,2 volte più a rischio di morire rispetto a pazienti con sepsi severa ma una sola disfunzione organica, e pazienti con più di 4 organi compromessi hanno una possibilità 4 volte maggiore di morire rispetto a pazienti con singola disfunzione organica<sup>(344)</sup>; un altro

studio in pazienti critici ha riscontrato tassi di mortalità corrispondenti a 1,2,3 e > 4 disfunzioni organiche rispettivamente di 21,2 %, 44,3 %, 64,5 % e 76,2 %<sup>(184)</sup>.

Molti studi riportano tassi di mortalità in riduzione nel corso del tempo<sup>(326-328,333,346,347)</sup>. Per esempio, uno studio multicentrico su 101064 pazienti in terapia intensiva in Australia e Nuova Zelanda riporta una riduzione del rischio di mortalità intra-ospedaliera del 50 % (dal 35 al 18 %) dal 2000 al 2012<sup>(327)</sup>. È probabile che questa riduzione di mortalità sia dovuta al miglioramento nel precoce riconoscimento di SIRS e sepsi e quindi nella precoce gestione, e soprattutto nel miglioramento delle strategie terapeutiche, in particolare grazie all'applicazione della EGDT e dei "sepsis bundles" promossi dalla SSC come detto nel paragrafo relativo alla terapia<sup>(85-87,151)</sup>; anche se molti studi depongono a favore di questa ipotesi, ci sono evidenze controverse sul fatto che l'aderenza ai "sepsis bundles", peraltro variabile nella pratica, risulti in un effettivo miglioramento della mortalità<sup>(333,335,348-351)</sup>. Dopo la dimissione dall'ospedale, la sepsi porta con sé un più elevato rischio di morte (perlopiù nei 6 mesi successivi ma il rischio rimane elevato fino a un anno dopo), di incorrere nuovamente in sepsi, di subire successive ospedalizzazioni e di avere una qualità della vita inferiore<sup>(332,352-358)</sup>.

Tra i fattori prognostici in medicina umana si hanno fattori relativi all'ospite, alla risposta dell'ospite all'infezione, all'eziologia, al tipo e sito d'infezione, al tempo di istituzione e tipo di terapia antibiotica intrapresa. Fattori di rischio di mortalità relativi all'ospite sono risultati età maggiore di 44 anni<sup>(327)</sup> o di 40 anni<sup>(184)</sup>, comorbidità come AIDS e immunodepressione<sup>(352,353)</sup>, patologie epatiche e alcolismo<sup>(354)</sup>, neoplasie<sup>(355)</sup>. Tra i possibili fattori prognostici legati alla risposta dell'ospite si sono riscontrati ipotermia<sup>(356,358)</sup>, leucopenia<sup>(357)</sup>, ipercloremia<sup>(359)</sup> e anomalie coagulative, in particolare ipocoagulabilità<sup>(357,360)</sup>. Per quanto riguarda l'eziologia, uno studio riporta tassi di mortalità inferiori nei pazienti con SIRS con causa infettiva rispetto a quelli con SIRS da causa apparentemente non infettiva<sup>(361)</sup>; tra le SIRS infettive, la prognosi peggiore si ha quando l'infezione è acquisita in ambiente ospedaliero (infezioni nosocomiali)<sup>(362,363)</sup>, e in setticemie causate da *Stafilococcus aureus*, *Pseudomonas*, *Candida* o altri funghi e infezioni polimicrobiche<sup>(362,264)</sup>. Anche il sito d'infezione è importante, con i più bassi tassi di mortalità nelle infezioni del tratto urinario, specie se confrontate a infezioni gastrointestinali, polmonari o di origine sconosciuta<sup>(337,356,365)</sup>. La diminuzione del marker infiammatorio PCR nei pazienti in sepsi è correlata alla guarigione<sup>(366)</sup>, tanto che viene utilizzato come criterio guida per la durata della terapia antibiotica, insieme alla procalcitonina<sup>(367)</sup>. Un fattore prognostico su cui è stato raggiunto ormai ampio consenso è l'attuazione di una terapia antibiotica quanto più precoce possibile (raccomandata entro un'ora) e appropriata, come descritto nel dettaglio nel paragrafo "terapia antimicrobica, controllo della fonte e prevenzione delle infezioni" all'interno del capitolo "terapia e monitoraggio". Come discusso ampiamente nel paragrafo "rianimazione iniziale" del capitolo "terapia e monitoraggio", l'efficacia di una

rapida rianimazione con restaurazione della perfusione tissutale guidata dai principi della EGDT è associata a un miglior outcome; in particolare si ricorda che nei pazienti in sepsi ipotensione<sup>(108,141)</sup> e iperlattatemia<sup>(141,157,163,168)</sup> sono associati a una prognosi sfavorevole, specie se associati, così come basso ScvO<sub>2</sub> o SvO<sub>2</sub><sup>(86,139,140)</sup>.

In veterinaria, dove il concetto di SIRS è relativamente recente, per molto tempo la maggior parte degli studi si sono riferiti alla sola sepsi; tuttavia ultimamente un numero sempre maggiore di lavori considera la SIRS nella sua globalità, indipendentemente dalla causa infettiva o non infettiva. Gli studi riportano un tasso di mortalità per i pazienti in SIRS e sepsi molto variabile, tra il 27 e il 64 %<sup>(8,10,21,47,62, 64,71,89,161,281,368-376)</sup>.

Uno studio recente su 70 cani con epatite primaria ha dimostrato che la presenza di SIRS in questi pazienti costituisce un fattore prognostico negativo e che un punteggio alto di SIRS (aderenza a 2, 3 o 4 criteri) è un fattore prognostico negativo indipendente<sup>(377)</sup>. Anche in veterinaria lo sviluppo di MODS è associato a una prognosi sfavorevole: ad esempio un recente studio su cani con sepsi addominale riporta una sopravvivenza del 40 % nei cani in MODS rispetto al 79 % di sopravvivenza globale<sup>(257)</sup>, un altro studio su cani operati per sepsi addominale riscontra una sopravvivenza del 30 % su cani in MODS rispetto al 75% dei cani non in MODS<sup>(47)</sup>. Anche in veterinaria la sopravvivenza è inversamente proporzionale al numero di disfunzioni organiche, con tassi di sopravvivenza del 46%, 24%, 8% e 0% in caso di 2, 3, 4 e 5 organi coinvolti rispettivamente<sup>(47)</sup>; simili risultati si hanno in caso di MODS in cani affetti da babesiosi, come dimostra uno studio su 332 cani con babesiosi in cui è stata indagata l'incidenza di SIRS e MODS e la correlazione di queste sindromi con l'outcome<sup>(378)</sup>. Numerosi studi si sono concentrati sui fattori prognostici in corso di SIRS. Diversi lavori hanno preso in considerazione i marker infiammatori e in particolare la proteina C reattiva, per valutarne il valore prognostico. Uno studio su 61 cani in SIRS settica e non settica non ha riscontrato una relazione significativa tra il tasso di sopravvivenza e le concentrazioni iniziali di PCR ma ha riscontrato una correlazione tra la diminuzione delle concentrazioni di questa proteina di fase acuta e la sopravvivenza: i sopravvissuti mostrano una riduzione della concentrazione di PCR significativamente maggiore rispetto ai non sopravvissuti; secondo lo studio, i cambiamenti delle concentrazioni di PCR nell'arco dei 3 giorni predicono correttamente la sopravvivenza nel 94 % dei casi ma la morte solo nel 30 % dei casi<sup>(375)</sup>. Uno studio ha valutato i livelli plasmatici di ferro, proteina c reattiva, albumina e fibrinogeno nei pazienti in SIRS, e ha riscontrato che l'ipoferremia (che sembra mediata essenzialmente dall'epcidina, prodotta dal fegato in risposta alle citochine infiammatorie e responsabile della perdita di ferroportina, deputata al trasporto del ferro dal compartimento cellulare al plasma) è un marker sensibile di infiammazione sistemica nel cane e che l'aumento della concentrazione di ferro e la diminuzione della concentrazione di PCR durante il periodo di ricovero sono significativamente più consistenti nei sopravvissuti

rispetto ai non sopravvissuti<sup>(379)</sup>. Un parametro che può essere utile valutare nei pazienti critici è l'interleuchina 6, come suggerisce uno studio che ha dimostrato che questa citochina pro-infiammatoria è in grado di predire l'outcome nei pazienti canini in SIRS, visto che la sua concentrazione al momento dell'ammissione correla significativamente con maggior gravità del processo patologico, maggior tasso di mortalità e morte più rapida<sup>(380)</sup>. Uno studio ha valutato l'ipocalcemia (che nei pazienti critici ha cause multifattoriali e comprendenti disfunzioni delle paratiroidi, soppressione citochino-mediata del rilascio di paratormone, deficienza o mancata attivazione di vitamina D, ipomagnesiemia, chelazione di calcio, accumulo di calcio nelle cellule, nei tessuti e nei fluidi corporei<sup>(381)</sup>) tramite misurazione del calcio ione in pazienti critici: l'incidenza è maggiore nei cani con sepsi confermata da coltura positiva e rispondenti a almeno 3 criteri di SIRS, ma non è stata identificata una correlazione con la mortalità o un valore nel predire l'outcome, anche se valori più bassi erano associati a una più lunga ospedalizzazione<sup>(381)</sup>. È stato valutato anche il profilo amminoacidico in corso di SIRS, risultato alterato rispetto alla normalità, e i valori di alcuni amminoacidi sono risultati associati all'outcome, per cui ulteriori studi sarebbero necessari per esplorarne le possibilità terapeutiche<sup>(382)</sup>. Uno studio prospettico su 33 cani ha valutato un esteso profilo clinico patologico e lo scoring system APPLE<sub>fast</sub> (acute patient physiologic and laboratory evaluation) in corso di SIRS e ha dimostrato che valori aumentati di creatinina, lattati, anion gap, ALT e punteggio di APPLE<sub>fast</sub> sono significativamente correlati a un aumentato rischio di morte, mentre valori più alti di proteine totali, albumina, attività antitrombinica e eccesso di basi sono significativamente correlati a un ridotto rischio di mortalità; a un'analisi statistica più approfondita l'unico parametro significativo è risultato il punteggio di APPLE<sub>fast</sub><sup>(71)</sup>. Anche la troponina cardiaca I è stata studiata come biomarker dal potenziale valore prognostico in corso di SIRS, e un recente studio su 60 cani in SIRS ha dimostrato che una sua alta concentrazione all'ammissione è associata a una prognosi sfavorevole; misurazioni seriali nei giorni successivi non aggiungono informazioni prognostiche per la mortalità a breve termine<sup>(383)</sup>. Come descritto ampiamente nel capitolo relativo alla terapia, l'applicazione della EGDT durante la rianimazione e l'appropriata e tempestiva somministrazione di antibiotici sono associati a un outcome migliore, mentre bassi valori di pressione sistemica e ScvO<sub>2</sub> e alte concentrazioni di lattati sono fattori prognostici negativi.

Di fondamentale importanza per emettere una prognosi nei pazienti in SIRS è stadiare il processo patologico, capire a che stadio di gravità si trova, per cui vengono spesso applicati degli " Scoring system" che aiutano a valutare le disfunzioni organiche e a predire l'outcome in questi pazienti. Possono essere applicati sistemi validi per tutti i pazienti critici in terapia intensiva indipendentemente dalla causa (SOFA, MOD, LODS), ma è stato formulato anche uno specifico sistema per stadiare la sepsi (quindi solo la SIRS settica) chiamato PIRO, creato in

origine per i pazienti settici umani ma applicato anche in veterinaria<sup>(20,49)</sup>. PIRO è un acronimo per predisposizione, infezione, risposta e disfunzione organica: questo sistema suggerisce infatti di stratificare i pazienti sulla base delle condizioni predisponenti, della natura e dell'estensione dell'insulto infettivo, del tipo e dell'intensità della risposta dell'ospite e del grado e tipo di disfunzione organica; questi quattro componenti coprono una moltitudine di noti fattori indipendenti (lievemente variabili a seconda degli studi e ancora in aggiornamento) che possono influenzare onset, sviluppo e outcome della sepsi e il sistema PIRO si è rivelato essere un approccio efficace per caratterizzare e stadiare meglio la sepsi e un utile strumento prognostico<sup>(573-575)</sup>.

## CAP.2 CIRCI

La CIRCI (critical illness-related corticosteroid insufficiency) è una sindrome molto complessa che si può verificare nei pazienti critici come quelli in SIRS, sepsi, shock settico e MODS, che può essere definita come un'attività corticosteroidea inadeguata rispetto alla gravità del processo patologico in un paziente<sup>(44,384)</sup>. Questa sindrome è stata descritta per la prima volta in medicina umana, dove è ormai una condizione ampiamente documentata, mentre per quanto riguarda la medicina veterinaria si hanno per ora pochi studi.

Da lungo tempo è noto che gran parte dei pazienti critici manifesta livelli plasmatici elevati di cortisolo, che riflettono l'attivazione dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene in situazioni di stress, e questa risposta è considerata un adattamento para-fisiologico atto a mantenere l'omeostasi<sup>(385,386)</sup>. Tuttavia più studi hanno evidenziato una marcata eterogeneità nella funzionalità surrenale nei pazienti critici, e alcuni hanno dimostrato anche l'esistenza di un numeroso sottogruppo di pazienti critici in cui questo tipo di risposta è alterata. Il primo a notare livelli di cortisolo inaspettatamente bassi e in alcuni casi una risposta ridotta dopo la stimolazione con ormone adrenocorticotropo (ACTH) sintetico fu Sibbald nel 1977 in uno studio su 26 pazienti umani con sepsi severa<sup>(387)</sup>; egli notò anche che dei 9 pazienti con questa inaspettata risposta, solo uno, il quale aveva ricevuto corticosteroidi, sopravvisse (11%), mentre fra i pazienti con attesi livelli di cortisolo basale e risposta al test dell'ACTH la sopravvivenza era del 47%.

Dopo questo studio, altri confermarono l'esistenza di un'alterata e ridotta attivazione dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene e una correlazione fra questa e la mortalità nei pazienti in sepsi grave e shock settico<sup>(388-392)</sup>. Questi studi suggerivano che pazienti settici malati gravemente con un'alterata funzione dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene potessero avere una sorta di insufficienza surrenale, che fu definita inizialmente "insufficienza surrenale relativa" (RAI, relative adrenal insufficiency) visto che a differenza dell'insufficienza surrenale assoluta (il classico ipoadrenocorticismo) i livelli di cortisolo spesso non sono bassi in questi pazienti ma anzi tendono a essere normali o alti, ma è la risposta dopo stimolazione che si rivela inadeguata alla gravità dello stato clinico del paziente; inoltre questa sindrome è temporanea e reversibile e non richiede un trattamento a vita. Il termine RAI entrò nell'uso per indicare quei pazienti settici con livelli di cortisolo basale inaspettatamente bassi o quelli con risposta al test di stimolazione con ACTH inadeguata indipendentemente dai valori di cortisolo basale<sup>(393-398)</sup>.

La definizione di insufficienza surrenale relativa è stata criticata perché il termine implica che le surrenali siano anormali (disfunzione surrenale primaria), mentre questa alterata funzionalità dell'asse endocrino può essere dovuta anche a una disfunzione ipotalamica e pituitaria (disfunzione surrenale secondaria) o a un'alterazione nel trasporto dei glicocorticoidi o a una

ridotta affinità per i glicocorticoidi a livello di recettori per i glicocorticoidi<sup>(399)</sup>. Fu quindi coniato il più adatto termine CIRCI, comprensivo di tutti i possibili meccanismi causa di questa insufficienza corticosteroidea, approvato da una task force internazionale dell'American College of Critical Care Medicine nel 2008<sup>(400,401)</sup>.

Alcuni autori hanno proposto il termine “sick euadrenal state”, per sottolineare che le alterazioni dell'attività corticosteroidea (a livello plasmatico o tissutale) nei pazienti malati acuti non sono da riferirsi a una vera e propria insufficienza surrenale ma piuttosto a una disfunzione correlata allo stato di malattia, seguendo lo stesso principio che ha portato a coniare il termine “euthyroid sick syndrome” per indicare alterazioni ormonali mimanti l'ipotiroidismo in pazienti affetti da altre condizioni patologiche<sup>(402)</sup>.

L'identificazione di una condizione di insufficienza corticosteroidea nei pazienti critici, in particolare se settici, ha ovviamente spinto medici umani e veterinari a indagare il potenziale beneficio dei corticosteroidi in questi pazienti, come sarà descritto ampiamente nel paragrafo relativo alla terapia della CIRCI, con risultati contrastanti che hanno comunque portato alla raccomandazione della task force internazionale sull'insufficienza corticosteroidea del 2008 e della SSC del 2012 di somministrare l'idrocortisone a basse dosi ai pazienti in shock settico con ipotensione refrattaria alla fluidoterapia e al trattamento vasopressorio, indipendentemente dai risultati dei test ormonali<sup>(85,401)</sup>. Alcuni autori hanno infatti anche proposto la descrizione della CIRCI come un miglioramento della reattività pressoria e un più rapido svezzamento dalla terapia vasopressoria dopo la somministrazione di basse dosi di idrocortisone<sup>(403)</sup>.

Sia in medicina umana che a maggior ragione in medicina veterinaria, i meccanismi eziopatogenetici della CIRCI sono ancora in gran parte sconosciuti e non è stato ancora raggiunto un consenso internazionale pieno su quale sia il metodo migliore per diagnosticare questa condizione.

## 2.1 FISIOPATOLOGIA

Per quanto la patogenesi della CIRCI sia in gran parte sconosciuta, sono state fatte varie ipotesi per capire i meccanismi che possono portare a una CIRCI, e per capirli è necessario prima descrivere brevemente la normale fisiologia dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene<sup>(403-407)</sup>.

La produzione di cortisolo da parte della zona fascicolata (e in misura inferiore dalla zona reticolare) della corteccia surrenale è controllata dall'asse ipotalamico-ipofisario; numerosi segnali (rilascio di citochine, danno tissutale, dolore, ipotensione, ipoglicemia, ipossiemia) sono percepiti dal sistema nervoso centrale e trasmessi all'ipotalamo, che integra questi segnali e aumenta la liberazione dell'ormone di rilascio della corticotropina (CRH). Il CRH circola fino all'adenoipofisi, dove stimola il rilascio dell'ormone adrenocorticotropo (ACTH) che a sua volta agisce sul surrene stimolando produzione e rilascio di cortisolo (e in misura inferiore di mineralcorticoidi e steroidi sessuali). L'attivazione dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene determina la produzione da parte dell'ipotalamo anche di arginina vasopressina (AVP) che agisce in modo sinergico al CRH stimolando il rilascio di ACTH. Il cortisolo in circolo opera un feedback negativo sull'asse ipotalamo-ipofisi-surrene per inibire la sua stessa produzione, cosicchè ridotte concentrazioni di cortisolo stimolano il rilascio di CRH e ACTH mentre alte concentrazioni di cortisolo ne inibiscono il rilascio. Con questo meccanismo il corpo riesce a mantenere l'omeostasi, mantenendo il cortisolo nel range fisiologico in salute e aumentando la sua secrezione in caso di stress o altri segnali.

L'80 % del cortisolo è prodotto a partire dal colesterolo plasmatico mentre il restante 20 % è prodotto dalla surrenale a partire da acetato e altri precursori. Il cortisolo circola nel sangue per almeno il 90 % legato alla globulina legante i corticosteroidi (CBG), in piccola parte all'albumina, e per il 10 % libero, ed è la forma non legata quella fisiologicamente attiva. Le attività dei glicocorticoidi sono mediate sia dai recettori per i glicocorticoidi (GR) che da quelli per i mineralcorticoidi (MR), e sia i glicocorticoidi che i mineralcorticoidi si legano a entrambi i recettori in proporzioni diverse; l'enzima 11- $\beta$ -idrossisteroide deidrogenasi (11 $\beta$ -HSD) gioca un ruolo importante nel prevenire l'accesso dei glicocorticoidi alle cellule che esprimono soprattutto MR. Questo enzima ha due isoforme 11 $\beta$ -HSD-1 e 11 $\beta$ -HSD-2; la seconda isoforma si trova soprattutto nei tessuti con elevata attività dei MR (rene, ghiandole sudoripare e salivari, placenta, colon) e trasforma il cortisolo nel suo metabolita inattivo cortisone, incapace di legarsi ai GR e MR; al contrario l'11 $\beta$ -HSD-1 si trova soprattutto nei tessuti con elevata attività dei GR e catalizza la conversione da cortisone a cortisolo. Una volta legato ai GR il cortisolo diffonde rapidamente attraverso le membrane cellulari; esistono due isoforme di GR, i GR- $\alpha$ , presenti in 7 isoforme espresse selettivamente dai vari tessuti e provocanti distinte risposte, e i GR- $\beta$ , che non si legano al cortisolo e non attivano l'espressione genica, funzionando quindi da inibitori

dei GR- $\alpha$ ; il complesso cortisolo-GR- $\alpha$  si muove fino al nucleo delle cellule, dove il cortisolo esercita effetti genomici alterando la produzione di proteine e la funzione cellulare.

La risposta da stress che si verifica in corso di malattie acute è mediata essenzialmente da due sistemi funzionalmente correlati: il sistema simpato-adrenale, costituito da sistema nervoso simpatico e midollare del surrene, la cui attivazione porta alla secrezione di adrenalina e noradrenalina dalla midollare del surrene, e l'asse ipotalamo-ipofisi-surrene<sup>(408)</sup>.

Per quanto riguarda l'asse ipotalamo-ipofisi-surrene sono molti i fattori che possono influenzarlo in pazienti critici acuti: agonisti adrenergici, oppioidi e citochine infiammatorie, in particolare IL-1, IL-2, IL-6 e TNF- $\alpha$  stimolano il rilascio di CRH<sup>(395)</sup>; le citochine infiammatorie, così come le catecolamine, l'angiotensina II, la serotonina e il peptide intestinale vasoattivo agiscono sull'ipofisi stimolando la secrezione di ACTH<sup>(399)</sup>; durante lo stress si ha inoltre una riduzione del feedback negativo del cortisolo sull'asse ipotalamo-ipofisi-surrene che risulta in un'aumentata concentrazione di cortisolo all'incirca proporzionale alla gravità della malattia<sup>(409)</sup>. Nelle condizioni di stress e infiammazione si ha inoltre una riduzione del legame del cortisolo con la CBG e l'albumina<sup>(393,410)</sup>, che porta a un aumento del cortisolo libero, ed è dovuta sia a una ridotta secrezione (fino al 50 %) di queste proteine carrier negli stati critici e di sepsi in particolare<sup>(411-413)</sup>, che all'azione delle elastasi dei neutrofili, che dissociano il cortisolo dalla CBG nel sito d'infezione permettendo una maggior distribuzione del cortisolo alle cellule<sup>(414)</sup>. È anche documentato che le citochine possono aumentare l'affinità dei recettori per i glicocorticoidi, in particolare grazie all'aumento dell'attività dell'11 $\beta$ -HSD-1 e alla diminuzione di quella dell'11 $\beta$ -HSD-2 da parte del TNF- $\alpha$  e dell'interleuchina 1beta (IL-1 $\beta$ )<sup>(415-417)</sup>.

Il normale ritmo circadiano di secrezione del cortisolo, che prevede il raggiungimento di alte concentrazioni al mattino, è perso nei pazienti critici<sup>(418)</sup>. È interessante notare come talvolta sia presente una dissociazione fra i livelli di ACTH, soppressi, e quelli di cortisolo molto elevati<sup>(419)</sup>: è stata quindi recentemente suggerita l'esistenza di un meccanismo extrapituitario di produzione del cortisolo che potrebbe implicare le citochine proinfiammatorie (IL-6 e TNF- $\alpha$  in particolare), da sommarsi alla riduzione della degradazione del cortisolo<sup>(420)</sup>.

Per tutti i meccanismi sopra descritti il cortisolo in corso di stress aumenta e questo contribuisce al mantenimento dell'omeostasi: gli effetti metabolici, specialmente la stimolazione della gluconeogenesi e della glicogenolisi favoriscono la disponibilità continua di substrati energetici; gli effetti cardiovascolari mantengono il tono vascolare, l'integrità endoteliale e la distribuzione dei fluidi nello spazio vascolare; il cortisolo inoltre potenzia l'azione vasocostrittoria delle catecolamine e riduce la produzione di ossido nitrico; infine il cortisolo contrasta la cascata

infiammatoria, modulando la risposta immunitaria, riducendo la produzione di citochine e aumentando la produzione del fattore inibente la migrazione dei macrofagi<sup>(405)</sup>.

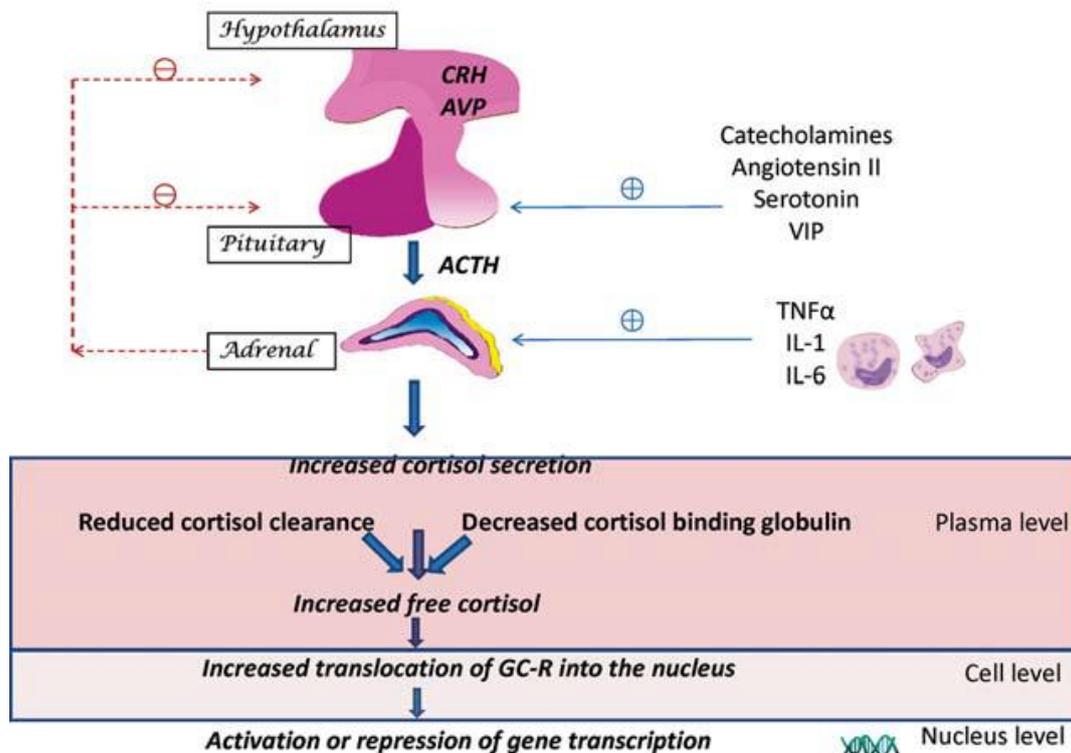


Figura 6 attivazione dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene in corso di stress (da Levy-Shraga Y, 2013)

Alterazioni di uno o più dei passaggi precedentemente descritti possono quindi portare alla CIRCI, con insufficiente downregulation cortisolo mediata dei fattori di trascrizione proinfiammatori e mantenimento di livelli eccessivamente elevati dei mediatori infiammatori nel tempo; l'equilibrio tra risposta infiammatoria e anti-infiammatoria viene così alterato, con conseguenze a livello immunitario, metabolico, vascolare e disfunzioni organiche. I meccanismi che possono portare a una CIRCI sono due e entrambi sembrano legati in gran parte all'azione delle citochine infiammatorie: ridotta sintesi di glicocorticoidi per alterazioni dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene o ridotta attività dei glicocorticoidi, per ridotto accesso dei glicocorticoidi ai tessuti e alle cellule target e per resistenza dei GR.

- ❖ Ridotta sintesi di glicocorticoidi. La ghiandola surrenale non ha riserve di glicocorticoidi significative e queste esigue quantità bastano a mantenere l'omeostasi per pochi minuti in assenza di una continua biosintesi, quindi il tasso di secrezione è direttamente proporzionale al tasso di biosintesi, ragion per cui un'interruzione della sintesi di glicocorticoidi risulta immediatamente in un'insufficienza di questi ormoni<sup>(399)</sup>. In pazienti critici ci può essere una riduzione della produzione di CRH, ACTH o cortisolo per un danno all'ipotalamo, all'ipofisi o ai surreni. Nei pazienti

umani in sepsi sono riportate necrosi e emorragie a carico dell'ipotalamo e dell'ipofisi a causa della prolungata ipotensione o di gravi coagulopatie<sup>(421)</sup>, così come trombosi e emorragie delle ghiandole surrenali sono state proposte come cause di CIRCI in pazienti critici<sup>(410,422)</sup>; in uno studio sono state ritrovate emorragie surrenali in più del 30 % dei pazienti umani non sopravvissuti a uno shock settico<sup>(423)</sup>; occasionalmente una CIRCI può derivare anche da infarti pituitari secondari a danno traumatico o trombosi<sup>(410,422,424)</sup>. Studi su animali hanno dimostrato che uno shock settico produce un'estesa patologia alle ghiandole surrenali, con necrosi emorragiche, ematomi massivi, microtrombi e aggregazioni piastriniche rinvenibili nella corticale del surrene<sup>(410,425)</sup>. La soppressione della sintesi di CRH può derivare anche da apoptosi neuronale, che può essere innescata da un aumento della sostanza P o di Inos a livello ipotalamico<sup>(426,427)</sup>. Anche se come detto prima normalmente i mediatori infiammatori stimolano il rilascio di CRH, ACTH e cortisolo, ci sono anche studi che dimostrano che questi, ad esempio il TNF- $\alpha$ , possono bloccare il rilascio dell'ACTH indotto dal CRH<sup>(428)</sup> e quello di cortisolo mediato dall'ACTH<sup>(429)</sup>; l'espressione locale di TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$  possono interferire con la sintesi di CRH e ACTH<sup>(427)</sup>. Un recente studio ha dimostrato un'associazione tra elevati livelli di citochine infiammatorie e disfunzioni surrenaliche in pazienti in CIRCI, diagnosticata come normale o alto cortisolo basale e basso delta cortisolo (differenza fra cortisolo post ACTH e cortisolo basale)<sup>(430)</sup>. Inoltre le corticostatine come l' $\alpha$  defensina competono con l'ACTH a livello dei recettori di membrana con un effetto inibitorio sulle cellule surrenali<sup>(431)</sup>. Studi sperimentali suggeriscono che le lipoproteine ad alta densità (HDL) siano la principale fonte di colesterolo per la steroidogenesi nelle ghiandole surrenali<sup>(432)</sup>, e ci sono studi sperimentali che documentano che i livelli di HDL nei pazienti critici (sepsi, ustioni, infarti del miocardio e anche pazienti postchirurgici) sono notevolmente ridotti<sup>(433,434)</sup> e che più bassi livelli di HDL sono associati a una ridotta risposta al test ACTH<sup>(435)</sup>. Ci sono anche numerosi farmaci, che vengono usati più o meno frequentemente nei pazienti critici, che influenzano l'asse ipotalamo-ipofisi-surrene col risultato di una possibile riduzione nella sintesi del cortisolo, e si pensa che questi farmaci siano una concausa di CIRCI<sup>(399)</sup>. Tra i più usati sia in medicina umana che veterinaria abbiamo le benzodiazepine, che determinano una riduzione della concentrazione di cortisolo dose-dipendente<sup>(436)</sup> e gli oppioidi<sup>(437)</sup>; anestesie con diazepam e fentanyl in umana riducono l'aumento di ACTH e cortisolo che dovrebbe avvenire in risposta alla chirurgia, suggerendo che questi farmaci agiscano a livello ipotalamico<sup>(399,438)</sup>. Sospendere l'uso di questi farmaci o ridurre le dosi può risultare in un miglioramento clinico nei pazienti in CIRCI<sup>(439)</sup>. Le statine riducendo il substrato per la sintesi di cortisolo (il colesterolo) ne riducono la secrezione e uno studio in pazienti diabetici umani mostra un effetto dose-

dipendente di questi farmaci sulla produzione di cortisolo<sup>(440)</sup>. Alcuni farmaci bloccano in modo parziale o totale l'attività enzimatica dell'enzima 11 $\beta$ -HSD, tra cui etomidato, fluconazolo e ketoconazolo<sup>(399,441)</sup>. L'etomidato inibisce la steroidogenesi bloccando gli enzimi mitocondriali della citocromo P450 e questo effetto può persistere anche 24 h dopo una singola dose di etomidato in pazienti umani critici<sup>(442)</sup>; anche in veterinaria sono stati condotti studi in proposito: uno studio su pazienti canini chirurgici ha dimostrato che la funzionalità surrenale è depressa fino a 6 h dopo un singolo bolo ev di etomidato per indurre l'anestesia<sup>(443)</sup>, uno studio simile ha dimostrato che la risposta alla stimolazione con ACTH è depressa dopo 2 h da un singolo bolo ev di etomidato nei pazienti canini chirurgici<sup>(444)</sup> e infine uno studio felino ha riscontrato profonda soppressione del cortisolo fino a 5 h e mezzo dalla somministrazione di un singolo bolo ev di etomidato per l'induzione dell'anestesia<sup>(445)</sup>. Gli antifungini azolici, come il ketoconazolo, possono determinare soppressione delle surrenali reversibile perché inibiscono gli enzimi citocromo P450 dipendenti coinvolti nella steroidogenesi, come documentano diversi case report umani<sup>(446,447)</sup>. La dexmedetomidina, un potente  $\alpha$ 2agonista molto usato per la sedazione e l'analgesia perioperatoria in veterinaria, è un composto imidazolico e può inibire la sintesi di cortisolo come dimostrano studi canini in vivo e in vitro<sup>(448)</sup>. Infine, è da ricordare che un'insufficienza surrenale secondaria può essere causata da terapie con corticosteroidi a lungo termine per riduzione della sintesi di cortisolo endogeno e che questo può quindi essere un fattore di rischio di sviluppo di CIRCI in pazienti critici<sup>(449)</sup>. Anche la carenza di P-glicoproteina è stata ipotizzata come fattore di rischio per lo sviluppo di CIRCI nei cani in cui questa proteina non è presente: la P-glicoproteina infatti limita l'entrata del cortisolo nell'encefalo riducendo il feedback negativo di esso su ipotalamo e ipofisi, per cui nei cani con mutazione del gene ABCB1 (cosiddetti cani MDR1, fra cui Collie, Pastori dello Shetland, Pastori australiani, Bobtail, Levrieri), sprovvisti della P-glicoproteina, una quantità maggiore di cortisolo può entrare nell'encefalo e inibire la secrezione di CRH e ACTH e quindi di cortisolo; i livelli di cortisolo basale e post ACTH sono infatti significativamente più bassi in cani MDR1 rispetto ai cani wildtype ABCB1 a indicare una maggiore soppressione dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene<sup>(450)</sup>; servono però ulteriori studi per investigare meglio la possibile associazione fra questo genotipo canino e lo sviluppo di CIRCI e se ciò può influire nell'outcome di questi pazienti.

- ❖ Ridotta attività dei glicocorticoidi. Alcuni pazienti possono essere “insufficienti” anche se le concentrazioni sieriche di cortisolo sono appropriate, ad indicare che i glicocorticoidi sono prodotti, ma ci sono meccanismi che ne impediscono l'accesso alle cellule e l'azione, fra cui alterazioni nel trasporto del cortisolo ai siti recettoriali e alterazioni nel legame coi recettori<sup>(399,406)</sup>. Innanzitutto, visto che in pazienti critici ci

può essere una riduzione fino al 50% della concentrazione di CBG e albumina a causa del catabolismo a livello dei siti infiammatori e di una ridotta sintesi epatica<sup>(414)</sup>, questo risulta in un ridotto accesso del cortisolo al sito d'infiammazione e alle cellule immunitarie<sup>(399)</sup>. Farmaci proteasi inibitori (amprenavir, lopinavir, nelfinavir, ritonavir) inibiscono l'elastasi, fondamentale per la dissociazione del cortisolo dalla CBG e quindi per l'accesso di questo ai tessuti, e possono concorrere alla ridotta attività di questi ormoni<sup>(399)</sup>, ma non sono comunemente usati in veterinaria. È stato dimostrato che nei pazienti pediatrici in sepsi, shock settico e trauma cranico si assiste a una riduzione del numero dei GR<sup>(451)</sup>; la riduzione del numero e dell'attività dei GR nei pazienti critici in condizioni flogistiche è probabilmente dovuta a una risposta citochino-mediata<sup>(409)</sup> e fra i meccanismi ci possono essere un'inibizione della traslocazione dei GR dal citoplasma al nucleo e una riduzione della trascrizione genica mediata dai GR<sup>(452)</sup>. Un altro meccanismo che gioca sicuramente un ruolo importante è l'azione di alcune citochine come l'IL-2, l'IL-4 e l'IL-13 che stimolano l'attività dell'enzima 11 $\beta$ -HSD-2, che converte il cortisolo nel metabolita inattivo cortisone<sup>(399,453)</sup>. La resistenza tissutale ai corticosteroidi è ben nota in diverse patologie infiammatorie croniche, come la patologia polmonare cronica ostruttiva, l'asma, il lupus eritematoso sistemico, la colite ulcerativa e le artriti reumatoidi<sup>(384)</sup>, e gli studi suggeriscono che si verifichi anche in patologie infiammatorie acute, in particolare in sepsi e ALI<sup>(454)</sup>. A questo proposito sono stati condotti vari studi sperimentali su animali: alcune scimmie, a causa di una sovraespressione di un chaperone dei recettori per i glicocorticoidi chiamato FK-binding protein 51, hanno una riduzione della traslocazione nucleare del complesso cortisolo-GR- $\alpha$  e GR incompetenti nella trascrizione, pur avendo elevati livelli di cortisolo<sup>(455,456)</sup>; un modello sperimentale ovino di endotossiemia ha dimostrato una riduzione del legame nucleare dei GR- $\alpha$  e una riduzione della fosfolipasi A2 nonostante aumento dei livelli di cortisolo<sup>(457)</sup>; stessi reperti sono evidenziabili a livello del citoplasma degli epatociti in ratti con ustioni e parzialmente antagonizzabili con somministrazione di AC neutralizzanti il TNF- $\alpha$  e l'IL1 $\beta$ <sup>(458)</sup>; in due studi è stato dimostrato che il TNF- $\alpha$  inibisce l'attività di trascrizione dei GR- $\alpha$  interferendo con la sua interazione con il coattivatore p160 dei recettori nucleari<sup>(459,460)</sup>. Uno studio ha comparato la densità citoplasmatica e nucleare dei complessi GR-cortisolo nei pazienti in ARDS con o senza miglioramento del processo patologico e ha riscontrato che in quelli senza miglioramento la densità dei complessi a livello nucleare è notevolmente ridotta indicando che questo potrebbe essere un meccanismo di ridotta attività dei glicocorticoidi nei pazienti critici<sup>(454)</sup>. Uno studio recente sui pazienti pediatrici critici ha però invece dimostrato che è ridotto il numero dei recettori totali e citoplasmatici ma non quello dei recettori a livello nucleare, e questo suggerisce che il meccanismo della

resistenza recettoriale ai glicocorticoidi sia sì importante nella patogenesi della CIRCI ma che comunque alcuni recettori mantengono la propria funzionalità e si può quindi cercare di massimizzare la funzionalità residua di essi con i trattamenti terapeutici<sup>(451)</sup>. Un altro meccanismo che sembra implicato nella ridotta attività dei GR è l'induzione, in forme di shock tossico e causate da superantigeni, dell'isoforma GR- $\beta$ , che non si lega al cortisolo, non attiva la trascrizione genica e inibisce l'attività dei GR- $\alpha$ <sup>(461)</sup>. Una recente review sulla misurazione di recettori per i glicocorticoidi in corso di CIRCI nei pazienti pediatrici conclude che ad oggi non ci sono studi che abbiano stabilito la loro misurazione come strumento per stabilire quali pazienti abbiano una CIRCI per resistenza recettoriale, ma che dovrebbero essere condotti studi a questo proposito, soprattutto per le potenzialità che ciò potrebbe avere nel stabilire quali pazienti beneficerebbero realmente della terapia sostitutiva con glicocorticoidi in modo da fare le appropriate valutazioni rischio/beneficio<sup>(461)</sup>.

È importante ricordare che la CIRCI è un processo dinamico e che quindi l'assenza di una CIRCI all'ammissione in pazienti critici come i pazienti in SIRS/sepsi non esclude la possibilità di uno sviluppo della stessa nel corso della patologia<sup>(405)</sup>.

## 2.2 INCIDENZA

La CIRCI sembra avere una prevalenza totale del 30 % nei pazienti umani critici, ma la prevalenza aumenta notevolmente fino a un 60 % nei pazienti in sepsi severa e shock settico<sup>(404,462)</sup>. Oltre che dalla gravità della malattia l'incidenza di CIRCI dipende anche dai test specifici e dai criteri adottati per diagnosticarla<sup>(393,396,410)</sup>; nei pazienti pediatrici, data la mancanza di un consenso sui criteri diagnostici, l'incidenza è estremamente variabile e va dal 17 al 90% dei bambini critici<sup>(405)</sup>. Per quanto la maggior parte degli studi supporti ormai l'esistenza e il trattamento della CIRCI ci sono anche evidenze del contrario ed è ancora un concetto controverso e non universalmente accettato<sup>(463)</sup>.

In medicina veterinaria si hanno poche informazioni riguardo l'incidenza della CIRCI nei pazienti critici vista la scarsità di studi sulla valutazione della funzionalità dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene in corso di malattie acute. I primi studi condotti hanno fallito nel dimostrare l'esistenza di un'insufficienza corticosteroidica nei pazienti critici<sup>(464,465)</sup>. Il primo studio svolto nel '95, ha considerato una popolazione di cani malati critici gravi a causa di un'ampia varietà di patologie (comprendenti patologie non surrenaliche ma anche iperadrenocorticismo), e in nessun cane il test di stimolazione con ACTH (10 µg/kg di cosyntropin ev) ha evidenziato livelli di cortisolo basale o post ACTH inferiori ai range di normalità, anche se è bene tenere presente che nella maggior parte dei casi si trattava di patologie croniche<sup>(465)</sup>. Nello studio successivo del 2002 è stato valutato il cortisolo basale e post ACTH (250 µg/ cane di cosyntropin ev) in 20 cani ricoverati per svariate patologie e in tutti i casi i valori di cortisolo basale e post ACTH erano normali o superiori al range di normalità, ma anche in questo caso solo il 40 % dei cani critici erano malati acuti<sup>(464)</sup>; entrambi gli studi non avevano però valutato il delta cortisolo, ovvero la differenza fra il cortisolo post ACTH e il cortisolo basale, che sia in umana che in veterinaria è uno dei metodi ritenuti migliori per diagnosticare una CIRCI, come verrà spiegato in seguito nel capitolo relativo alla diagnosi.

In uno studio del 2007 è stata per la prima volta identificata questa condizione nei pazienti critici canini<sup>(466)</sup>: in 33 cani critici acuti ammessi nello studio per rispondenza ai criteri di SIRS e diagnosticata o sospetta patologia infettiva scatenante, è stato misurato l'ACTH endogeno, il cortisolo basale e il cortisolo post stimolazione con ACTH (250 µg/cane di cosyntropin im); in molti cani sono stati identificati valori di ACTH endogeno e di cortisolo post stimolazione inferiori al range di normalità. Nello studio è stato valutato anche il delta cortisolo, e concentrazioni di delta cortisolo  $\leq 3$  µg/dL si sono dimostrate significativamente associate a ipotensione sistemica e a maggiore mortalità (quest'ultima 4,1 volte maggiore rispetto a pazienti con delta cortisolo  $>3$  µg/dL) e basandosi su questo valore per la diagnosi di CIRCI l'incidenza della patologia è stata del 48 %. Nel 2008 è stato eseguito uno studio multicentrico per valutare

la funzionalità ipofisaria e surrenale in 31 cani malati critici acuti (con sepsi, trauma grave o torsione di stomaco) e sono stati valutati cortisolo basale, cortisolo post ACTH (5 µg/kg di cosyntropin ev), ACTH endogeno e delta cortisolo<sup>(467)</sup>. Il 55 % dei cani aveva almeno un'anormalità laboratoristica fra le sopracitate indicativa di un'insufficiente funzione dell'ipofisi o del surrene e solo il 3 % mostrava una risposta consistentemente alta alla stimolazione con l'ACTH; i cani con delta cortisolo  $\leq 3$  µg/dL avevano un rischio 5,7 volte maggiore di ricevere vasopressori e anche una mortalità maggiore, anche se quest'ultimo valore non ha raggiunto una significatività statistica; fra i tre sottogruppi (sepsi, trauma, torsione di stomaco) non sono state riscontrate differenze significative per nessuno dei parametri presi in considerazione.

La funzionalità dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene nei pazienti canini è stata indagata anche in corso di numerose altre condizioni cliniche. Uno studio del 2005 ha valutato la funzionalità dell'asse in cani con linfoma o altri tumori non ematopoietici e ha riscontrato valori inferiori ai limiti di riferimento di cortisolo basale nel 5 % dei pazienti con linfoma e nel 13 % dei pazienti con tumori non ematopoietici, di cortisolo post stimolazione nel 20 % dei cani con linfoma e nel 13 % dei cani con tumori non ematopoietici e di ACTH endogeno nel 10 % dei cani con linfoma e nel 7 % dei cani con tumori ematopoietici; lo studio non ha però calcolato il delta cortisolo né distinto tra insufficienza surrenale assoluta e CIRCI<sup>(468)</sup>. Uno studio del 2007 ha riscontrato un'associazione significativa tra mortalità e valori elevati di cortisolo basale e ACTH endogeno nei pazienti canini con babesiosi, anche se lo studio ha il limite di non aver valutato né il cortisolo post stimolazione né il delta cortisolo, per cui è difficile fare ipotesi sulla presenza o meno di una CIRCI<sup>(469)</sup>; in uno studio del 2008, condotto sempre per investigare la funzionalità pituitaria e surrenale in corso di babesiosi, sono stati invece misurati cortisolo basale, cortisolo post ACTH, ACTH endogeno, delta cortisolo e rapporto cortisolo/ACTH e gli autori hanno concluso che in questo gruppo di pazienti si ha un up-regulation dell'asse e la presenza di CIRCI può essere esclusa sulla base di aumentati livelli di cortisolo basale, cortisolo post ACTH e rapporto cortisolo/ACTH, e che i livelli di cortisolo sia basale che post stimolazione sono risultati significativamente più alti nei pazienti non sopravvissuti<sup>(470)</sup>. Uno studio ha valutato la funzionalità surrenale in 63 cuccioli con parvovirosi e 17 cuccioli sani come gruppo di controllo<sup>(471)</sup> tramite il test di stimolazione con ACTH (5 µg/kg di tetracosactrin ev) per più giorni consecutivi fino al decesso o alla dimissione: al giorno 1 il cortisolo basale era significativamente più alto e il delta cortisolo significativamente più basso nei parvovirofici rispetto ai controlli e nei non sopravvissuti rispetto ai sopravvissuti, ma questa significatività veniva persa al giorno 3 sottolineando il limite nell' identificare un paziente come insufficiente surrenale con prognosi negativa sulla base di una sola misurazione<sup>(471)</sup>.

Sono stati condotti anche studi per investigare la presenza di CIRCI nei pazienti felini<sup>(472-474)</sup>. In uno studio, condotto nel 2003, sono stati misurati il cortisolo basale e post stimolazione (con 125 µg/gatto di cosyntropin ev) e calcolato il delta cortisolo in 20 gatti critici con diverse patologie e in 10 gatti sani come gruppo di controllo: i gatti critici avevano livelli di cortisolo basale significativamente più alti, mentre i valori di cortisolo post ACTH non differivano fra i due gruppi; i livelli di cortisolo basale, post ACTH e di delta cortisolo non differivano significativamente fra sopravvissuti e non sopravvissuti, né fra i gatti settici e non settici, mentre i gatti con neoplasia avevano concentrazioni di delta cortisolo inferiori agli altri e una maggiore probabilità di morte, a indicare che la CIRCI potrebbe essere una patologia più frequente nei gatti critici con neoplasie<sup>(472)</sup>. Uno studio precedente aveva in effetti già riscontrato che su 10 gatti con linfoma (in cui era esclusa ecograficamente un'invasione neoplastica surrenale), in 9 si aveva una ridotta risposta al test di stimolazione con ACTH (con 125 µg/gatto di cosyntropin ev) e in 5 si avevano elevati livelli di ACTH endogeno, a indicare che la CIRCI è probabilmente una patologia frequente in questi gatti<sup>(473)</sup>. Nel 2006 è stato condotto uno studio prospettico multicentrico su una popolazione di 19 gatti con rispondenza ad almeno due criteri di SIRS e noto o sospetto focolaio infettivo oppure pressione misurata con Doppler < 90 mm Hg e su 19 gatti sani come controllo; in entrambi i gruppi sono stati misurati il cortisolo e l'aldosterone basale e post stimolazione con ACTH (con 125 µg/gatto di cosyntropin im) e sono stati calcolati i valori di delta cortisolo e delta aldosterone: i gatti malati avevano livelli di delta cortisolo significativamente più bassi e valori di aldosterone basale e post ACTH significativamente più alti dei gatti sani, ma non sono state riscontrate differenze significative fra i valori di delta cortisolo o delta aldosterone fra sopravvissuti e non sopravvissuti<sup>(474)</sup>.

Casi di CIRCI sono stati documentati anche nella specie equina, in particolare in puledri critici, soprattutto se affetti da setticemia neonatale<sup>(475)</sup>.

## 2.3 CLINICA E PATOLOGIA CLINICA

I segni clinici riscontrabili in corso di CIRCI sono vaghi, aspecifici e associati e talvolta mascherati dai sintomi della malattia sottostante che ha scatenato la SIRS, e dipendono anche dallo stadio di gravità in cui si trova il paziente nella sequela SIRS/sepsi, sepsi grave, shock settico, MODS.

Non è detto che la presentazione e i segni clinici nei pazienti in corso di CIRCI corrispondano a quelli tipici della malattia di Addison, anzi ciò è molto raro. L'insufficienza surrenale assoluta è infatti una patologia cronica, e il paziente si presenta in genere con una storia di sintomi altalenanti che comprendono debolezza, anoressia, perdita di peso, letargia, nausea, vomito, diarrea, e più raramente dolore addominale, poliuria/polidipsia e tremori; all'esame fisico si possono riscontrare bradicardia, polso femorale debole, disidratazione e dolore addominale<sup>(476)</sup>. Frequenti rilievi di laboratorio sono anemia non rigenerativa, eosinofilia e linfocitosi e lieve neutropenia all'esame emocromocitometrico; il profilo biochimico evidenzia spesso iponatremia e iperpotassiemia con inversione del rapporto NA/K, ipocloremia, iperazotemia prerenale, iperfosfatemia; sono inoltre riscontrabili ipoglicemia, ipoalbuminemia, ipocolesterolemia, ipercalcemia; all'emogas si può notare acidosi metabolica e il peso specifico delle urine è da isostenurico a iperstenurico<sup>(476)</sup>; è importante ricordare che esiste anche l'ipoadrenocorticismo atipico, in cui si ha solo carenza di glicocorticoidi e non di mineralcorticoidi, e l'ipoadrenocorticismo secondario a una patologia ipofisaria o ipotalamica, e che in queste due situazioni (così come talvolta nell'ipoadrenocorticismo tipico ma in fase iniziale) non si riscontrano le tipiche alterazioni elettrolitiche<sup>(476)</sup>. Nell'ipoadrenocorticismo tipico, quando iponatremia e iperkaliemia diventano gravi, le conseguenti ipovolemia, iperazotemia prerenale e alterazioni cardiache possono degenerare in una crisi addisoniana, condizione di emergenza in cui il paziente presenta la stessa sintomatologia precedentemente descritta ma con un grado di gravità maggiore, fino allo shock<sup>(476)</sup>. In caso di crisi addisoniana quindi il quadro è quello di un paziente critico e acuto che può essere sovrapponibile a quello di un paziente in SIRS/sepsi/shock settico che può potenzialmente sviluppare una CIRCI, ma in corso di crisi addisoniana i livelli di cortisolo basale e post ACTH sono in genere inferiori ai range di riferimento e gli squilibri elettrolitici in genere molto marcati.

Il paziente in CIRCI è un paziente acuto, che si presenta con un'esagerata risposta proinfiammatoria e immunitaria dovuta alla mancata azione anti-infiammatoria dei corticosteroidi. L'ipotensione refrattaria alla fluidoterapia e richiedente anche l'uso di vasopressori è in assoluto il reperto più comune nei pazienti critici umani associabile a una CIRCI<sup>(384,393,396,410,422)</sup>. Anche in veterinaria si ritiene che il segno clinico che più deve spingere il medico a diagnosticare una CIRCI sia l'ipotensione refrattaria ai fluidi e la necessità dell'uso

dei vasopressori<sup>(403)</sup>, visto che i cani con scarsa risposta alla stimolazione al test ACTH, ovvero con basso delta cortisolo, sono a maggior rischio di essere ipotesi e di richiedere vasopressori<sup>(466,467)</sup>.

Altri segni clinici sono come detto estremamente aspecifici (depressione, debolezza, febbre, vomito, diarrea, dolore addominale) e variabili a seconda delle patologie sottostanti<sup>(406)</sup>; ovviamente il paziente potrà presentare tutti i segni clinici riscontrabili in corso di SIRS (descritti nel capitolo relativo), a partire dai criteri di SIRS stessi (tachicardia, tachipnea, ipertermia o ipotermia, leucocitosi e neutrofilia o leucopenia e neutropenia e presenza di neutrofili banda)<sup>(2)</sup>. Si può riscontrare uno stato iperdinamico che riflette la fase iperdinamica della SIRS/sepsi sottostante, ma l'emodinamica è variabile e risultante dalla combinazione fra CIRCI e patologia sottostante; la CIRCI deve essere considerata anche nei pazienti che sviluppano progressiva ALI e ARDS<sup>(384,477)</sup>.

Nei pazienti umani gli esami di laboratorio possono evidenziare eosinofilia e ipoglicemia, anche se non sono così comuni, mentre iponatremia e iperkaliemia sono rare<sup>(384,410,422)</sup>. Ad oggi iponatremia, iperkaliemia, eosinofilia e ipoglicemia non sono riportate nei pazienti canini e felini con CIRCI<sup>(406,466,467,472-474)</sup>.

## 2.4 DIAGNOSI

Attualmente non è stato ancora raggiunto un pieno consenso per quanto riguarda l'identificazione dei pazienti con CIRCI, né in medicina umana né in medicina veterinaria. Tipicamente i pazienti umani con CIRCI hanno concentrazioni normali o elevate di cortisolo basale e una ridotta risposta al test di stimolazione con ACTH; anche nei pochi studi veterinari sulla funzionalità surrenale nei pazienti critici sono riscontrabili le stesse alterazioni<sup>(466,467,473,478,479)</sup>; si deve però ricordare che non sono stati stabiliti dei normali range di riferimento per le concentrazioni di cortisolo basale e post ACTH nei pazienti canini e felini critici<sup>(406)</sup>. Tuttavia, in tutte le specie, non è chiaro se le concentrazioni plasmatiche ormonali e i test di funzionalità dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene siano correlate al miglioramento della risposta pressoria riscontrabile in alcuni animali trattati con idrocortisone, per cui secondo alcuni autori è più corretto emettere una diagnosi di CIRCI in base alla valutazione della risposta clinica<sup>(403)</sup> e si raccomanda comunque di considerare la CIRCI nel diagnostico differenziale di tutti quei pazienti critici che richiedono un supporto pressorio, sia in umana che in veterinaria<sup>(384, 406)</sup>.

Cortisolo basale (totale o libero), cortisolo post stimolazione con ACTH, delta cortisolo (differenza fra cortisolo post ACTH e cortisolo basale), rapporto cortisolo/ACTH, risposta al trattamento e combinazioni di questi sono tutti metodi che sono stati proposti per identificare una CIRCI sia in medicina umana che veterinaria; questi metodi verranno trattati di seguito prima nell'uomo e poi nei piccoli animali.

In medicina umana tradizionalmente viene fatta diagnosi di insufficienza surrenale nei pazienti critici con misurazione del cortisolo totale basale (cosiddetto "stress cortisol") o del cambiamento delle concentrazioni sieriche di cortisolo in risposta al test di stimolazione con 250 µg di ACTH sintetico (cosyntropin), il cosiddetto "delta cortisolo"<sup>(391,395)</sup>. Entrambi i test hanno però considerevoli limiti nei pazienti critici:

1. ambedue misurano il cortisolo totale e non la forma biologicamente attiva, il cortisolo libero;
2. nei pazienti critici sono riportate variazioni importanti nelle concentrazioni ormonali in misurazioni diverse a frequenza oraria;
3. il test di stimolazione con ACTH ha una scarsa riproducibilità nei pazienti critici<sup>(418,480,481)</sup>;
4. la sensibilità, la specificità e le performance dei test diagnostici disponibili in commercio sono variabili<sup>(482)</sup>.

5. Si è speculato anche sul fatto che la variabilità dei risultati dei test diagnostici in pazienti critici sia ancora maggiore e sono state ipotizzate come possibili cause la presenza di anticorpi eterofili e di precursori e metaboliti del cortisolo<sup>(483)</sup>.

Il primo approccio suggerito per diagnosticare una disfunzione surrenale nei pazienti critici fu quello di misurare il cortisolo totale senza stimolazione, dato che l'aumento dei livelli sierici di cortisolo costituisce la fisiologica risposta allo stress; nei pazienti sani valori di cortisolo basale  $> 18 \mu\text{g/dl}$  hanno un'alta "likelihood ratio" negativa per l'insufficienza surrenale (ovvero è altamente improbabile che il paziente abbia questa condizione), ma questi valori non sono probabilmente applicabili nei pazienti critici per identificare un'insufficienza surrenale<sup>(484)</sup>, come si evince da alcuni trials che dimostrano che livelli di cortisolo basale  $> 25 \mu\text{g/dl}$  sono molto comuni in pazienti in shock settico, in traumatizzati o anche in pazienti post-operatori, suggerendo che questo valore è probabilmente più adeguato come cut-off per valutare la funzionalità surrenale nei pazienti critici<sup>(410)</sup>. Questo valore è stato però criticato, soprattutto dopo la pubblicazione di un' influente studio nel 2000 (Annane et al.) che si proponeva di valutare i parametri surrenali e correlarli alla mortalità nei pazienti in shock settico in terapia intensiva<sup>(391)</sup>: lo studio ha riscontrato che concentrazioni di cortisolo basale  $\leq 34 \mu\text{g/dl}$  combinate con concentrazioni di delta cortisolo  $\geq 9 \mu\text{g/dl}$  in risposta a una stimolazione con  $250 \mu\text{g/persona}$  di ACTH sintetico ev si associavano a una prognosi favorevole mentre concentrazioni di cortisolo basale  $\geq 34 \mu\text{g/dl}$  combinate con concentrazioni di delta cortisolo  $< 9 \mu\text{g/dl}$  si associavano a una prognosi sfavorevole; l'esecuzione di un test ACTH e il calcolo del delta cortisolo aveva un maggior successo nel predire l'outcome che la misurazione del solo cortisolo basale, e da quel momento la concentrazione di delta cortisolo  $< 9 \mu\text{g/dl}$  è stata frequentemente usata come criterio diagnostico di CIRCI. Il valore di questa concentrazione di delta cortisolo è stato confermato da uno studio del 2006 in cui una concentrazione di delta cortisolo  $< 9 \text{ mg/dl}$  si è rivelato il miglior metodo per diagnosticare un'insufficienza surrenale (usando come gold standard il test di stimolazione con metirapone) nei pazienti con sepsi/shock settico<sup>(485)</sup>; nello stesso studio anche livelli di cortisolo basale  $< 10 \mu\text{g/dl}$  sono considerati predittivi di insufficienza surrenalica ma la sensibilità del test è molto bassa; gli autori concludono quindi che livelli di delta cortisolo  $< 9 \mu\text{g/dl}$  o di cortisolo basale  $< 10 \mu\text{g/dl}$  sono i migliori test predittivi di insufficienza surrenale, e sono dotati di un'alta specificità ma di una bassa sensibilità, mentre una combinazione di valori di cortisolo post ACTH  $\geq 44 \mu\text{g/dl}$  e di delta cortisolo  $\geq 16,8 \mu\text{g/dl}$  escludono la diagnosi di insufficienza surrenale. Tornando al cortisolo basale, a oggi si ritiene che bassi valori abbiano un' alta "likelihood ratio" positiva per insufficienza surrenale e alti valori un'alta "likelihood ratio" negativa per insufficienza surrenale ma non è mai stato stabilito con certezza e validato quanto bassi e quanto alti; molti esperti considerano "basso" un cortisolo  $< 10 \mu\text{g/dl}$  (considerato avere un'alta specificità per

CIRCI<sup>(485)</sup>) e “alto” un cortisolo > 34-44 µg/dl. Nel Consensus Statements del 2008 per la diagnosi e il trattamento della CIRCI, una concentrazione di cortisolo basale totale < 10 µg/dl è raccomandata per la diagnosi di insufficienza surrenale<sup>(401)</sup>; questi valori però non sono validati per guidare la terapia steroidea<sup>(484)</sup>.

L'esecuzione di un test di stimolazione con ACTH sintetico è un metodo da tempo ampiamente utilizzato e validato per diagnosticare un'insufficienza surrenale nei pazienti umani non critici, ed è il più usato anche per diagnosticare una CIRCI; si può scegliere il test di stimolazione a alte dosi (250 µg/persona ev), da lungo tempo il più utilizzato, o a basse dosi (1 µg/persona ev)<sup>(484)</sup>. Uno dei primi studi ad utilizzare un test di stimolazione con ACTH sintetico (ad alte dosi) nei pazienti critici umani risale al 1991<sup>(388)</sup>: nonostante il numero di pazienti fosse un po' ristretto, gli autori riscontrarono che nei pazienti con incremento del cortisolo post ACTH rispetto al cortisolo basale ≤ 9 µg/dl la mortalità era del 100%, mentre in quelli in cui questo valore era > 9 µg/dl la mortalità era del 30%. Nel 2000 è stato condotto lo studio di Annane sopra descritto<sup>(391)</sup> che ha confermato che un delta cortisolo ≤ 9 µg/dl era la variabile surrenale che meglio correlava con la mortalità, con una sensibilità del 68 % e una specificità del 65%; questo lavoro è stato cruciale per l'accettazione che una disfunzione surrenale è un'evenienza possibile nei pazienti critici e che la sua presenza correla con la mortalità. Le conclusioni di questo lavoro sono state riconfermate come detto nel 2006 dagli stessi autori<sup>(485)</sup> e hanno gettato le basi per i primi grandi studi sul trattamento steroideo in questi pazienti, in particolare per la realizzazione del grande e influente “studio francese” sempre di Annane et al. del 2002<sup>(397)</sup> che dimostrò che il trattamento con fludrocortisone e idrocortisone nei pazienti con delta cortisolo ≤ 9 µg/dl riduceva significativamente il tempo di svezzamento dai vasopressori e la mortalità; alla luce di questi risultati fu suggerito di seguire questo approccio nelle guidelines della SSC del 2004, raccomandazione poi rimossa dalla SSC del 2008 e del 2012 per la realizzazione di uno studio contrastante altrettanto influente<sup>(486)</sup>; questi aspetti saranno trattati più approfonditamente nel paragrafo relativo alla terapia. Il test di stimolazione con ACTH a alte dosi rimane il test più studiato per valutare la funzione surrenalica nei pazienti in CIRCI e quello che meglio correla con morbilità e mortalità, nonostante le attuali linee guida raccomandino di non basare le scelte terapeutiche di somministrazione di corticosteroidi sulla base dei risultati di questo test. Un numero inferiore di studi ha invece valutato l'utilizzo del test di stimolazione con ACTH a basse dosi per identificare la CIRCI nei pazienti critici; teoricamente il test a basse dosi presenta dei vantaggi rispetto al test a alte dosi: rispecchia maggiormente la fisiologia dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene perché è in grado di stimolare tutto l'asse, mentre il test ad alte dosi stimola solo le surrenali bypassando ipotalamo e ipofisi, inoltre stimola dei livelli di ACTH simili a quelli rilasciati in corso di shock (100 pg/ml) al contrario del test a alte dosi che genera concentrazioni molto più alte<sup>(484)</sup>. Uno dei primi studi in questo ambito, che ha valutato la risposta del cortisolo

utilizzando il test a basse dosi, ha riscontrato che i pazienti che non erano responsivi al test avevano un miglioramento della risposta pressoria dopo la somministrazione di idrocortisone<sup>(487)</sup>. Un successivo studio del 2005<sup>(488)</sup> condotto con lo scopo di confrontare il test di stimolazione con ACTH a basse dosi e ad alte dosi, ha definito come non responsivi i pazienti con delta cortisolo  $\leq 9$   $\mu\text{g}/\text{dl}$  e ha evidenziato risultati interessanti: un gruppo di pazienti responsivi al test a alte dosi non era responsivo al test a basse dosi e mostrava una prognosi peggiore; il dato suggerisce che il test a basse dosi può individuare dei pazienti con insufficienza surrenale che il test ad alte dosi non riesce a individuare. Uno studio più recente conferma che i due test hanno un'accuratezza sovrapponibile e che il test a basse dosi identifica anzi un maggior numero di pazienti con prognosi peggiore (aumentata mortalità e dipendenza da vasopressori)<sup>(484)</sup>; il test di stimolazione a basse dosi è stato usato anche in diversi recenti studi nei pazienti pediatrici critici mostrando una sensibilità del 100% e una specificità dell'84%<sup>(489-491)</sup>. Data la scarsità di dati riguardo al test ACTH a basse dosi rispetto a quello ad alte dosi e la mancanza di formulazioni farmacologiche disponibili per questo test, non è ancora possibile raccomandarne l'uso rispetto al test ad alte dosi.

Come visto in precedenza, almeno il 90% del cortisolo circola legato alle proteine (prevalentemente alla CBG e in misura minore all'albumina) e in corso di malattie critiche e situazioni di stress si osserva spesso ipoproteinemia marcata, per cui le concentrazioni di cortisolo totale potrebbero essere falsamente basse nei pazienti ipoproteinemici e ciò potrebbe risultare in una sovrastima dell'incidenza di CIRCI<sup>(411)</sup>. Questa ipotesi ha portato allo studio del cortisolo libero per la diagnosi di insufficienza surrenale nei pazienti critici; il cortisolo libero può essere misurato o calcolato dalla relazione fra cortisolo totale e CBG, anche se questo ultimo metodo è più impreciso e non tiene conto dell'albumina<sup>(484)</sup>. Diversi studi umani suggeriscono che le misurazioni del cortisolo libero siano più accurate per valutare l'attività corticosteroidica<sup>(411,492-494)</sup> e uno di questi studi suggerisce valori di cortisolo libero basale  $< 2$   $\mu\text{g}/\text{dl}$  e di cortisolo post ACTH  $< 3,1$   $\mu\text{g}/\text{dl}$  come cut-off per la diagnosi di CIRCI<sup>(411)</sup>. Lo studio di Annane del 2006<sup>(485)</sup> che ha comparato diversi metodi diagnostici per la diagnosi di CIRCI usando come gold standard il test di stimolazione con metirapone ha concluso però che l'uso di cortisolo libero non migliora in modo significativo l'accuratezza della diagnosi di CIRCI, e questo risultato è corroborato da un successivo studio del 2008<sup>(495)</sup> e da uno del 2011<sup>(496)</sup>. Considerando quindi che test per la misurazione del cortisolo libero sono raramente disponibili, che i valori di cut-off per la diagnosi di CIRCI sono molto meno studiati per il cortisolo libero rispetto al cortisolo totale e che non c'è sufficiente evidenza che la sua misurazione sia superiore per la diagnosi di CIRCI a quella del cortisolo totale, non ci sono per ora raccomandazioni che invitano a usare test che misurano il cortisolo libero anziché il cortisolo totale.

Altri potenziali metodi diagnostici per CIRCI come il test di stimolazione con metirapone, il cortisolo salivare e l'ipoglicemia insulino-indotta non sono consigliati e usati nella pratica corrente per motivi diversi.

Il test con metirapone si basa sull'inibizione dell'enzima 11 $\beta$ -HSD con conseguente inibizione della conversione da 11-deossicortisolo a cortisolo, e determina una marcata riduzione della concentrazione sierica di cortisolo e un incremento dell'11-deossicortisolo e dell'ACTH. Il più volte citato studio di Annane del 2006, che ha stabilito i valori di cortisolo basale e delta cortisolo indicativi di CIRCI, ha utilizzato per la prima volta il test del metirapone nei pazienti critici come gold standard per valutare le performance della misurazione del cortisolo basale e del delta cortisolo, sia utilizzando il cortisolo libero che totale<sup>(485)</sup>. Nonostante il test con metirapone possa essere considerato un gold standard nei pazienti non critici, sorgono dubbi sull'eticità e il potenziale danno che si può causare nell'interrompere la sintesi di corticosteroidi nei pazienti critici, e ciò, unito al fatto che il test non è facilmente reperibile in tutti i paesi, fa sì che non sia raccomandato per la diagnosi di CIRCI<sup>(484)</sup>.

La misurazione del cortisolo nella saliva presenta potenzialmente numerosi vantaggi: è un metodo non invasivo, permette di ridurre i prelievi ematici, e a differenza del cortisolo sierico il cortisolo salivare è per l'85 % libero. Purtroppo prelevare la saliva nei pazienti critici non è un metodo standardizzato, può essere anche difficoltoso (es. nei pazienti in coma o ventilati meccanicamente) e diverse variabili possono interferire con la sua misurazione (anemia, sanguinamento orale, decontaminazione orale con clorexidina, candidiasi orale), per cui è un metodo poco indagato e serviranno ancora molti trials per validarlo per la diagnosi di CIRCI nei pazienti umani<sup>(484)</sup>; tuttavia gli studi finora fatti, compresi i più recenti, mostrano risultati promettenti perché dimostrano che nei pazienti critici, compresi i pazienti pediatrici, il cortisolo salivare ha un'ottima correlazione con il cortisolo sierico e può essere usato come surrogato del cortisolo libero sierico<sup>(497-500)</sup>.

L'ipoglicemia insulino-indotta è considerata insieme al test del metirapone un gold standard per la diagnosi di insufficienza surrenale nei pazienti umani non critici, visto che l'ipoglicemia è uno dei più potenti stimoli per la sintesi del cortisolo, ma non è mai stata valutata e non è da prendere in considerazione nei pazienti critici e instabili, in cui è vivamente raccomandato mantenere uno stato di euglicemia, dati gli effetti deleteri che sia l'ipoglicemia che l'iperglicemia possono causare in questi pazienti<sup>(85,484)</sup>.

Come visto precedentemente, non è detto che l'insufficienza corticosteroidica nei pazienti critici sia correlata a una ridotta produzione, ma può essere anche dovuta a una ridotta attività per una resistenza tissutale periferica, e alcuni studi che hanno misurato il cortisolo nei tessuti hanno evidenziato che i livelli ormonali sierici possono non essere degli indicatori attendibili

dell'attività glicocorticoidea tissutale<sup>(501,502)</sup>. Uno studio del 2010 ha valutato i livelli di mediatori proinfiammatori e la presenza di “insufficienza surrenale” (definita come cortisolo basale < 10 µg/dl o delta cortisolo ≤ 9 µg/dl) in 82 pazienti critici, in maggioranza settici, per indagarne la relazione<sup>(503)</sup>; il rationale dello studio si basa sul fatto che i glicocorticoidi, i più potenti ormoni anti-infiammatori nel corpo, in corso di stress inibiscono il rilascio e l'attività dei mediatori pro-infiammatori a livello tissutale, per cui uno scarso feedback inibitorio mediato dai glicocorticoidi dovrebbe risultare in un aumento delle citochine pro-infiammatorie. Lo studio ha evidenziato risultati interessanti: il gruppo di pazienti con basso delta cortisolo aveva livelli di mediatori infiammatori notevolmente più elevati rispetto ai pazienti che avevano solo bassi livelli di cortisolo basale, a suggerire che i pazienti con basso delta cortisolo abbiano probabilmente un'insufficiente produzione di corticosteroidi associata a una resistenza tissutale e cellulare ai glicocorticoidi, mentre quelli che presentano esclusivamente basso cortisolo basale abbiano un'insufficiente produzione di glicocorticoidi ma non una resistenza recettoriale a questi ormoni. Purtroppo ad oggi metodi adeguati per identificare questa resistenza sono ancora in studio e non ci sono raccomandazioni in proposito.

Per concludere, in medicina umana ci si basa ancora sul consenso del 2008 dell'American College of Critical Care Medicine<sup>(401)</sup> che propone come criteri diagnostici di CIRCI concentrazioni di cortisolo basale < 10 µg/dl o di delta cortisolo ≤ 9 µg/dl; a questo molti autori aggiungono che la CIRCI può essere esclusa quando le concentrazioni di cortisolo basale sono > 34-44 µg/dl<sup>(404,484)</sup>; tenendo però conto anche dell'impossibilità con i metodi correnti di valutare quando un paziente sia effettivamente insufficiente a livello cellulare, sia il consenso internazionale del 2008 che la SSC del 2012 raccomandano di non basarsi sui test ormonali per la somministrazione di corticosteroidi ma sulla clinica, in particolare sulla presenza di ipotensione refrattaria; questo fa sì che nella pratica la diagnosi di CIRCI in umana venga spesso fatta valutando la risposta al trattamento con idrocortisone a basse dosi<sup>(407)</sup>.

In medicina veterinaria la valutazione della funzione surrenale viene fatta con l'esecuzione del test di stimolazione con ACTH. Il protocollo più comunemente usato consiste nella somministrazione ev (o meno frequentemente intramuscolo) di 5 µg cosyntropin/kg (fino a un massimo di 250 µg) nel cane e di 125 µg cosyntropin/gatto nella specie felina; le concentrazioni plasmatiche o sieriche di cortisolo vengono ottenute prima e 60 min dopo la somministrazione dell'ACTH<sup>(406)</sup>. Queste dosi standard comunemente utilizzate sono maggiori di quelle necessarie a produrre la massima stimolazione surrenale nei pazienti veterinari sani<sup>(504,505)</sup>; ma già partire da dosi più basse, e precisamente 0,5 µg/kg nel cane<sup>(504)</sup> e 5 µg/kg nel gatto<sup>(505)</sup>, è possibile indurre la massima stimolazione delle ghiandole surrenali a produrre cortisolo. Da ciò è sorto il dubbio che l'uso di dosi più alte costituisca uno stimolo sovralfisiologico e porti alla mancata identificazione di alcuni pazienti canini e felini in CIRCI.

Uno studio del 2010 ha quindi comparato il test di stimolazione con ACTH a basse dosi (0,5 µg/kg ev) e a dosi standard (5 µg/kg ev) in un gruppo di pazienti canini critici<sup>(506)</sup>: tutti i cani con un'insufficiente funzione surrenale (considerata come una concentrazione di cortisolo sierico post stimolazione inferiore al range di riferimento o aumentata di meno del 5 % rispetto al cortisolo basale) identificati dal test a dosi standard erano identificati anche con il test a dosi basse, ma alcuni cani insufficienti erano identificati solo dal test a basse dosi. Il test di stimolazione con ACTH a basse dosi sembra essere accurato almeno quanto il test a dosi standard, e probabilmente più sensibile di questo, per la diagnosi di CIRCI nei pazienti veterinari critici<sup>(406)</sup>.

Date le perplessità precedentemente descritte sull'attendibilità dell'uso del cortisolo totale rispetto al cortisolo libero nei pazienti critici frequentemente ipoalbuminemici, anche in veterinaria è stato condotto uno studio su 35 pazienti canini critici (con sepsi, trauma grave o torsione di stomaco) per comparare le concentrazioni di cortisolo libero e totale<sup>(506)</sup>: un numero inferiore di cani critici con insufficienza surrenale (definita come una concentrazione di cortisolo sierico post stimolazione inferiore al range di riferimento o aumentata di meno del 5 % rispetto al cortisolo basale) è stato identificato considerando la concentrazione di cortisolo sierico libero rispetto alla concentrazione di cortisolo totale; tuttavia i livelli di cortisolo totale, sia basale che post stimolazione, non risultavano più bassi nei pazienti ipoproteinemici rispetto a quelli normoproteinemici. Il significato clinico di questo risultato non è noto e richiede maggiori investigazioni. Uno studio del 2011 ha valutato la funzione surrenale e la capacità del cortisolo di legarsi alla CBG in 6 cani in shock settico e in 10 cani sani come gruppo di controllo<sup>(507)</sup>: i cani in shock avevano concentrazioni di cortisolo basale totale significativamente più alte e concentrazioni di delta cortisolo totale significativamente più basse rispetto ai cani sani; la frazione di cortisolo libero sia basale che post stimolazione così come la concentrazione di cortisolo libero sia basale che post stimolazione erano significativamente più alte nei cani in shock ma il delta cortisolo libero era significativamente più basso rispetto ai sani; la capacità di legarsi alla CBG è stata misurata solo in 2 cani sani e in 3 cani in shock ed è risultata significativamente più bassa in quest'ultimi. Lo studio sembra suggerire che una ridotta risposta surrenale sia associata a un parallelo aumento della frazione di cortisolo biologicamente disponibile, probabilmente per una ridotta capacità del cortisolo di legarsi alla CBG, e che le frazioni di cortisolo libero e la capacità di legarsi alla CBG potrebbero essere dei buoni indicatori dell'attività fisiologica del cortisolo in corso di shock settico.

Anche in veterinaria il delta cortisolo è stato valutato come criterio diagnostico di CIRCI nei pochi studi presenti su questa condizione. Lo studio di Burkitt et al. del 2007<sup>(466)</sup> sui pazienti canini settici ha dimostrato che concentrazioni di delta cortisolo  $\leq 3$  µg/dl dopo il test di stimolazione con 250 µg/cane di ACTH intramuscolo, sono associate a ipotensione sistemica e

ridotta sopravvivenza (i cani con delta cortisolo  $\leq 3 \mu\text{g/dl}$  avevano un tasso di mortalità 4,1 volte superiore rispetto a quelli con delta cortisolo  $> 3 \mu\text{g/dl}$ ). Lo studio di Martin et al. pubblicato l'anno successivo<sup>(467)</sup> ha confermato la significatività di questo parametro nei pazienti canini critici acuti (sepsi, trauma grave, torsione di stomaco): i cani con concentrazioni di delta cortisolo  $\leq 3 \mu\text{g/dl}$  dopo il test di stimolazione con  $5 \mu\text{g/kg}$  di ACTH ev avevano una possibilità 5,7 volte maggiore di ricevere vasopressori rispetto ai cani con delta cortisolo  $> 3 \mu\text{g/dl}$  e anche un aumento della mortalità, anche se questo dato non raggiungeva la significatività statistica. Nel case report del 2009 relativo a un cane con ipotensione refrattaria responsiva all'idrocortisone, il sospetto diagnostico di CIRCI è partito proprio dalla clinica (ipotensione refrattaria in corso di shock settico) ed è stato confermato dall'esecuzione di un test ACTH che ha evidenziato un delta cortisolo di  $- 0.1 \mu\text{g/dL}$ <sup>(478)</sup>. La sensibilità di un valore di delta cortisolo  $\leq 3 \mu\text{g/dl}$  per la diagnosi di CIRCI deve però essere ancora validata.

Basandosi sulla scarsa letteratura presente ci sono principalmente 3 scenari che gli esperti suggeriscono potenzialmente indicativi di CIRCI nei pazienti canini critici<sup>(406)</sup> (soprattutto se associati a ipotensione refrattaria):

- ❖ Cani con concentrazioni di cortisolo basale normale o alto e concentrazioni di cortisolo post stimolazione con ACTH inferiori al range di riferimento
- ❖ Cani con concentrazioni di cortisolo basale normale o alto e concentrazioni di cortisolo post stimolazione con ACTH che superano di meno del 5 % quelle basali
- ❖ Cani con una concentrazione di delta cortisolo  $\leq 3 \mu\text{g/dl}$

Nel gatto si hanno ancora meno informazioni: dai pochi studi fatti la CIRCI sembra essere presente anche in questa specie ma non sono stati proposti dei criteri diagnostici. In uno studio del 2003, sono stati misurati il cortisolo basale e post stimolazione (con  $125 \mu\text{g/gatto}$  di cosyntropin ev) e calcolato il delta cortisolo in 20 gatti critici con diverse patologie e in 10 gatti sani come gruppo di controllo<sup>(472)</sup>: non sono state riscontrate alterazioni sospette di CIRCI se non nei gatti con neoplasia, che avevano concentrazioni di delta cortisolo inferiori agli altri e una maggiore probabilità di morte. Che la CIRCI potesse essere una patologia frequente nei gatti critici con neoplasie era emerso anche da uno studio precedente in cui su 10 gatti con linfoma (in cui era esclusa ecograficamente un'invasione neoplastica surrenale), in 9 si aveva una ridotta risposta al test di stimolazione con ACTH (con  $125 \mu\text{g/gatto}$  di cosyntropin ev) e in 5 si avevano elevati livelli di ACTH endogeno<sup>(473)</sup>. Nel 2006 è stato condotto uno studio prospettico multicentrico su una popolazione di 19 gatti con rispondenza ad almeno due criteri di SIRS e noto o sospetto focolaio infettivo oppure pressione misurata con Doppler  $< 90 \text{ mm Hg}$  e su 19 gatti sani come controllo: in seguito alla stimolazione con ACTH (con  $125 \mu\text{g/gatto}$  di cosyntropin im) i gatti malati avevano livelli di delta cortisolo significativamente più bassi dei

sani (delta cortisolo medio 2,3 µg/dl nei settici contro 6,5 µg/dl nei sani) ma non sono state riscontrate differenze significative fra i valori di delta cortisolo fra sopravvissuti e non sopravvissuti<sup>(474)</sup>. Un case report del 2007 riporta la risoluzione di un'ipotensione refrattaria in un gatto entro 24 h dalla somministrazione di glicocorticoidi; il delta cortisolo in questo paziente era 3,2 µg/dl<sup>(479)</sup>. Nessuno di questi studi propone un metodo diagnostico per la CIRCI, quindi attualmente nel gatto rimane sconosciuto come diagnosticare questa condizione.

Anche nel cavallo si è indagato la presenza di alterazioni dell'asse ipotalamo ipofisi-surrene: molti studi riportano che i puledri con setticemia neonatale hanno elevati livelli di cortisolo basale e di ACTH endogeno rispetto ai puledri sani<sup>(508-511)</sup>, e in due di questi studi l'ACTH endogeno e il rapporto ACTH/cortisolo sono significativamente aumentati nei puledri non sopravvissuti rispetto ai sopravvissuti, a suggerire una risposta inadeguata della surrenale all'ACTH<sup>(508,510)</sup>; uno studio riporta che i puledri non sopravvissuti hanno livelli di cortisolo basale più bassi dei sopravvissuti<sup>(510)</sup>, un altro studio afferma esattamente il contrario<sup>(511)</sup>; infine, uno studio ha riscontrato che circa la metà dei puledri malati ha livelli di delta cortisolo significativamente più bassi rispetto ai puledri sani<sup>(512)</sup>; in questo studio un'inadeguata risposta all'ACTH esogeno è associata a shock, MODS e ridotta sopravvivenza dei puledri settici. Nessuno di questi studi propone dei criteri diagnostici per CIRCI nel cavallo, che sono quindi ad oggi sconosciuti.

## 2.5 TERAPIA

Il noto e potente effetto anti-infiammatorio dei glicocorticoidi e il ruolo fondamentale che i glicocorticoidi endogeni giocano in corso di malattie critiche e stress acuto, in particolare a livello emodinamico, ha portato da sempre a considerarli fra le opzioni terapeutiche in corso di SIRS e sepsi. Innanzitutto deve essere ricordato che la produzione giornaliera di cortisolo (idrocortisone) in assenza di stress è di 15-25 mg al giorno, mentre la produzione di cortisolo sotto stress massimale va da 200 a 350 mg al giorno circa; basandosi su questi dati, una somministrazione giornaliera di idrocortisone (o di un altro corticosteroide in dose equivalente) da 25 a 200 mg è da considerare una somministrazione a basse dosi, da 200 a 350 mg a dosi fisiologiche da stress, da 351 a 1000 mg a dosi soprafisiologiche e oltre i 1000 mg a alte dosi<sup>(384)</sup>.

I primi studi hanno investigato il trattamento con corticosteroidi a alte dosi per breve tempo nei pazienti in sepsi e in ARDS, comunemente praticato fino agli anni 90'. Da studi clinici e meta-analisi risulta che la supplementazione di corticosteroidi ad alte dosi non ha portato ad alcun beneficio nell'outcome (in termini di morbidità, rapidità di risoluzione dello shock e mortalità) e anzi è stata associata a una maggior incidenza di complicazioni<sup>(513-517)</sup>. I dati emergenti sull'esistenza di un' "insufficienza surrenale" transitoria come fattore aggravante in corso di sepsi e shock settico hanno portato a riconsiderare il trattamento con questi ormoni. Idealmente la dose di corticosteroidi dovrebbe essere sufficiente a operare una down-regulation della risposta infiammatoria, senza portare a un'immunoparalisi e a un'interferenza con la guarigione delle ferite, e la durata del trattamento dovrebbe essere guidata anche dalla durata della CIRCI e dell'infiammazione sistemica<sup>(384)</sup>.

Il primo studio che suggerì la somministrazione di dosi fisiologiche e non farmacologiche di corticosteroidi in corso di shock settico risale al 1991: in 3 su 8 pazienti dello studio si ottenne una risoluzione dello shock con l'uso di idrocortisone a 100 mg ev ogni 8 h, scalato a partire dall'ottenimento di un miglioramento clinico<sup>(518)</sup>. L'uso di idrocortisone a basse dosi e a dosi fisiologiche (o stress doses) è stato in seguito indagato in una molteplicità di studi, fra cui i due più influenti sono il cosiddetto "studio francese" di Annane et al. del 2002<sup>(397)</sup> e il CORTICUS study del 2008<sup>(486)</sup>. Il primo, un trial randomizzato controllato multicentrico su 300 pazienti in shock settico con ipotensione refrattaria, ha dimostrato una significativa risoluzione dello shock settico e una significativa riduzione della mortalità a 28 giorni nei pazienti in CIRCI (definita come delta cortisolo  $\leq 9$   $\mu\text{g}/\text{dl}$ ) trattati con idrocortisone a 50 mg ev ogni 6 h e fludrocortisone a 50  $\mu\text{g}$  PO ogni 24 h rispetto ai pazienti non trattati; nello studio non è stata riscontrata differenza nella frequenza di effetti avversi nei 2 gruppi<sup>(397)</sup>. Altri trials randomizzati controllati su un numero minore di pazienti hanno dimostrato significativi benefici della terapia steroidea nella

risoluzione dello shock<sup>(519-522)</sup>. Alla luce di tutti questi risultati fu realizzato lo studio CORTICUS<sup>(486)</sup>, il più grande trial multicentrico randomizzato, controllato, in doppio cieco riguardante la funzione dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene e la terapia steroidea nei pazienti in shock; su 499 pazienti inclusi nello studio, non sono state riscontrate differenze significative nella mortalità a 28 giorni nè fra il gruppo trattato con idrocortisone e il gruppo di controllo con placebo, né fra i pazienti responsivi al test di stimolazione con ACTH e quelli non responsivi; l'idrocortisone determinava però una più rapida risoluzione dello shock settico, indipendentemente dal valore di delta cortisolo; gli effetti avversi sono risultati maggiori nel gruppo trattato con idrocortisone. La marcata differenza fra i due studi è spiegabile innanzitutto con il diverso stadio di gravità dei pazienti inclusi nei due trials: basandosi su un punteggio mediano maggiore di Simplified Acute Physiology Score II e su un più alto tasso di mortalità nel gruppo di controllo, la popolazione nello studio di Annane del 2002 aveva un grado di criticità maggiore di quella dello studio CORTICUS; inoltre lo studio francese ha incluso una popolazione di pazienti critici più acuti, entro le 8 h, mentre nello studio CORTICUS sono stati inclusi pazienti fino a 72 h dallo sviluppo di shock settico, e pazienti che sopravvivono per 72 h a uno shock settico hanno probabilmente maggiori possibilità in generale di sopravvivere a questa condizione; quindi essendo la popolazione dello studio CORTICUS più stabile, era meno probabile che beneficiasse del trattamento con idrocortisone, che quindi sembrerebbe avere il maggior beneficio se somministrato tempestivamente dopo l'onset dello shock settico. Inoltre, lo studio CORTICUS è stato condotto dopo che furono pubblicate le linee guida della SSC del 2004, che contenevano la raccomandazione di somministrare l'idrocortisone a quei pazienti in shock settico che richiedevano l'uso di vasopressori per sostenere la pressione sistemica nonostante la fluidoterapia adeguata; molti medici potrebbero quindi aver escluso dal CORTICUS trial i propri pazienti più gravemente malati e a rischio CIRCI per assicurarsi che ricevessero l'idrocortisone, tanto che lo studio ha fallito nel rispettare il target di 800 pazienti che si era posto, e questo può aver costituito un notevole bias del lavoro<sup>(523-525)</sup>. Infine, per quanto riguarda lo studio francese, c'è da dire che sono stati inclusi anche pazienti trattati con etomidato, un anestetico dalle note proprietà di soppressione sull'asse ipotalamo-ipofisi-surrene, e che l'aggiunta del protocollo terapeutico del fludrocortisone potrebbe in parte essere responsabile del miglior outcome ottenuto: il fludrocortisone potrebbe aiutare con un'espansione del volume intravascolare, ma non sono state fatte sufficienti ricerche sulla supplementazione di mineralcorticoidi in corso di shock settico o CIRCI che possano supportare questa ipotesi. Per quanto riguarda gli effetti collaterali, questi potrebbero essere stati più numerosi nel CORTICUS trial rispetto allo studio francese a causa della somministrazione del glicocorticoide a pazienti meno critici in cui il rapporto rischio/beneficio può essere un po' sbilanciato verso il rischio. È quindi bene tenere presente che pur essendo finora il più grande studio mai realizzato in materia, il CORTICUS trial ha numerosi limiti, che possono aver

inficiato notevolmente sui risultati ottenuti, come affermano alcuni autori<sup>(384,526)</sup>. Inoltre nel 2011 sono stati pubblicati i risultati di un'analisi prestabilita sui dati di outcome del CORTICUS trial che hanno dimostrato una riduzione dello score di gravità SOFA nei pazienti trattati con idrocortisone a basse dosi, principalmente per un miglioramento nel punteggio cardiovascolare ed epatico<sup>(527)</sup>. Un dato importante è che comunque in entrambi gli studi la somministrazione di idrocortisone si è associata a una maggior rapidità nella risoluzione dello shock, e questo suggerisce che c'è una popolazione di pazienti con ipotensione refrattaria che, anche indipendentemente dalla funzionalità dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene come nel CORTICUS trial, risponde alla somministrazione di idrocortisone a basse dosi. Negli ultimi anni sono state pubblicate diverse review sistematiche sull'utilizzo dell'idrocortisone a basse dosi nello shock settico con risultati in parte contrastanti: Annane et al<sup>(528)</sup> nel 2009 hanno analizzato i risultati di 12 studi e hanno riscontrato una significativa riduzione della mortalità a 28 giorni nei pazienti in shock settico trattati con basse dosi di corticosteroidi per un tempo prolungato. Nello stesso anno Sligl et al. in un altro studio di metanalisi<sup>(529)</sup> hanno identificato solo 8 studi, 6 dei quali trials randomizzati controllati con un elevato livello e ridotto rischio di bias, e non hanno riscontrato differenze significative nella mortalità; entrambe le review hanno riscontrato un miglioramento significativo nella risoluzione dello shock nei pazienti sottoposti a terapia steroidea. L'ultima review del 2012<sup>(530)</sup> ha identificato solo 6 trials randomizzati controllati con alto livello d'evidenza adeguati per una metanalisi<sup>(397,486,519,520,522,531)</sup> e ha riscontrato che nei 3 studi con pazienti a basso rischio (mortalità nel gruppo placebo inferiore al 50 %, che rappresenta poi la situazione più frequente) l'uso di idrocortisone non apporta benefici sull'outcome, mentre nei pazienti ad alto rischio degli altri 3 studi (mortalità nel gruppo placebo > del 60 %) il trattamento con idrocortisone porta a una riduzione della mortalità, anche se il valore non arriva a raggiungere la significatività statistica. Dalla valutazione complessiva di tutti questi dati la SSC del 2012<sup>(85)</sup> emette le seguenti raccomandazioni:

- ❖ Non è suggerito somministrare idrocortisone ai pazienti adulti in shock settico se un'adeguata fluidoterapia da rianimazione e un'adeguata terapia vasopressoria sono sufficienti a restaurare la stabilità emodinamica. Se ciò invece non è possibile, allora si suggerisce la somministrazione endovenosa di idrocortisone a 200 mg al giorno
- ❖ Non si consiglia di utilizzare il test dell'ACTH per stabilire quali pazienti possano beneficiare di una terapia steroidea
- ❖ Si suggerisce di scalare la terapia corticosteroidica quando il paziente non richiede più il bisogno di vasopressori per mantenere un'adeguata pressione sistemica, mentre per quanto riguarda la durata ottimale della terapia con idrocortisone non si può fare alcuna raccomandazione, dato che i vari trials realizzati hanno usato protocolli estremamente variabili e non è stato possibile identificare una superiorità di un protocollo su un altro,

e dato che uno studio non ha riscontrato differenze nell'outcome tra pazienti in shock settico sottoposti a un trattamento per 3 e per 7 giorni<sup>(532)</sup>

- ❖ Per ora non è raccomandato il trattamento con corticosteroidi in corso di sepsi in assenza di shock; gli steroidi infatti possono essere indicati in caso di anamnesi di terapia steroidea o in caso di disfunzione surrenalica, ma il loro effetto in corso di sepsi come prevenzione di sepsi grave e shock settico non è stato indagato; uno studio preliminare sull'uso di basse dosi di idrocortisone in corso di polmoniti ha dimostrato un miglioramento dell'outcome in una piccola popolazione<sup>(533)</sup>, e un recente trial controllato randomizzato ha dimostrato un ridotto tempo di ospedalizzazione senza però un effetto sulla mortalità<sup>(534)</sup>
- ❖ È suggerita la somministrazione endovenosa di idrocortisone a basse dosi in infusione continua piuttosto che in boli ripetuti. Questa raccomandazione è per ora debole ma emerge dal fatto che in alcuni studi sono stati riscontrati iperglicemia e ipernatremia come effetti collaterali<sup>(397)</sup>, e un piccolo studio sperimentale ha dimostrato che dopo la somministrazioni di idrocortisone in boli si riscontravano picchi di glicemia e estrema variabilità individuale nei picchi che non si riscontravano invece con la somministrazione endovena<sup>(535)</sup>; benchè non ci siano studi che associno l'iperglicemia o l'ipernatremia con l'outcome, è buona pratica evitare questi effetti collaterali.

Il consenso della task force internazionale sulla diagnosi e la gestione dei pazienti in CIRCI pubblicato nel 2008<sup>(401)</sup> emette raccomandazioni simili:

- ❖ afferma che l'idrocortisone è da considerare nel trattamento dello shock settico in particolare in quei pazienti con ipotensione non responsiva a fluidoterapia e terapia vasopressoria e che la decisione di intraprendere il trattamento con corticosteroidi non deve basarsi sui risultati dei test ormonali;
- ❖ la dose suggerita coincide, ma per quanto riguarda la modalità di somministrazione la task force consiglia di dividere i 200 mg/die di idrocortisone in 4 dosi giornaliere oppure di somministrare 240 mg giornalieri totali con un bolo iniziale da 100 mg seguito da un'infusione continua a 10 mg/h per 24 h;
- ❖ raccomanda di scalare la terapia corticosteroidica piuttosto che interromperla bruscamente, e non emette raccomandazioni per quanto riguarda la durata di una terapia ottimale;
- ❖ il trattamento con fludrocortisone è considerato opzionale visto che l'unico trial che lo aveva utilizzato al momento non permetteva di isolare gli effetti di questo dall'idrocortisone<sup>(397)</sup>.

A proposito del fludrocortisone uno studio del 2010 non ha riscontrato un significativo miglioramento della mortalità nei pazienti in shock con l'aggiunta del fludrocortisone<sup>(536)</sup>; inoltre esperti ritengono che l'effetto mineralcorticoide intrinseco nell'idrocortisone (o nel metilprednisolone nel caso di ARDS) sia sufficiente e non richieda l'aggiunta di fludrocortisone<sup>(404)</sup>; uno studio recente del 2013 sui bambini critici ha però riscontrato che l'aggiunta al protocollo terapeutico di fludrocortisone oltre all'idrocortisone ha determinato una riduzione della durata del trattamento vasopressorio nei pazienti settici<sup>(537)</sup>.

È importante sottolineare che le raccomandazioni terapeutiche emesse sia dalla SSC che dalla task force sulla CIRCI si riferiscono però al trattamento con idrocortisone nei pazienti in shock settico e non nei pazienti in CIRCI, condizione, peraltro ancora di difficile e controversa diagnosi, per la quale non sono state ancora mai emesse delle specifiche indicazioni terapeutiche.

Le complicazioni che possono associarsi all'uso dei corticosteroidi sono immunosoppressione, con conseguente aumentato rischio di infezioni, anche opportunistiche, alterazione della guarigione delle ferite, iperglicemia, miopatie, acidosi metabolica ipokaliemica, psicosi e soppressione dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene e dei GR; questi effetti sono però strettamente dipendenti dalla dose (in particolare gli effetti immunitari) e dalla durata della terapia, e sono poco comuni nell'uso a basse dosi<sup>(404)</sup>.

L'uso di corticosteroidi in pazienti critici in umana è stato indagato anche in altre situazioni, in cui si ritiene sia possibile anche lo sviluppo di una CIRCI. La ARDS, situazione a cui facilmente si può andare incontro in corso di SIRS/sepsi e che può quindi esser compresente a una CIRCI, è stata presa in considerazione in diversi studi che hanno riscontrato un beneficio nel trattamento con corticosteroidi soprattutto in termini di riduzione della necessità di ventilazione meccanica<sup>(538-541)</sup>, per cui attualmente è consigliato l'uso di corticosteroidi a dosi da stress, oltre che nei pazienti in shock con ipotensione refrattaria, anche nei pazienti in ARDS persistente e grave che non migliorano dopo 48 h di terapia di supporto e applicazione di strategie di ventilazione protettive, e il corticosteroide di scelta in questo caso è il metilprednisolone<sup>(404)</sup>. L'idrocortisone a basse dosi o dose fisiologiche è stato impiegato con effetti benefici anche in corso di polmonite<sup>(533)</sup>, nei pazienti in CIRCI con riacutizzazione di una patologia polmonare ostruttiva<sup>(542)</sup>, nei pazienti che sviluppano CIRCI in corso di trauma cranico<sup>(543)</sup>, in corso di chirurgia cardiaca<sup>(544-547)</sup> e in corso di patologie epatiche in stadio terminale, in cui la CIRCI si è dimostrata estremamente frequente (72 %)<sup>(548)</sup> e il trattamento con corticosteroidi a basse dosi sembra essere benefico<sup>(549)</sup>.

Per quanto riguarda la medicina veterinaria attualmente non sono state stabilite linee guida sul trattamento della CIRCI nei pazienti critici e la letteratura è veramente scarsa e limitata a case-

reports, suggerimenti all'interno di review e capitoli di libri nelle più recenti edizioni<sup>(403,406,407,478,479,550)</sup>, e non ci sono per ora trials clinici veterinari pubblicati e attendibili, anche se recentemente è stato condotto un piccolo trial clinico preliminare (disponibili solo dati sotto forma di abstract da Proceedings)<sup>(551)</sup>. Nella specie canina il primo dato documentato in letteratura è un case report del 2009<sup>(478)</sup>: il cane aveva sviluppato uno shock settico in seguito a una polmonite da aspirazione, con la complicazione di un'ipotensione refrattaria a fluidoterapia e farmaci vasopressori; è stato quindi eseguito un test di stimolazione con ACTH che ha evidenziato una ridotta risposta compatibile con CIRCI (delta cortisolo -0,1 µg/dl); la risoluzione dello shock è stata ottenuta entro 2 h dalla somministrazione di idrocortisone, e entro 8 h è stato possibile abbandonare l'uso dei vasopressori. Il paziente si è ripreso completamente, è stato dimesso e a un mese dalla dimissione è stato eseguito un test dell'ACTH che ha confermato la risoluzione della CIRCI vista la normale risposta surrenale. Il corticosteroide usato in questo cane è stato l'idrocortisone a 0,5 mg/kg ev ogni 6 h per 4 giorni, poi scalato a 0,5 mg/kg ogni 8 h al giorno 5 e ogni 12 h al giorno 6.

Nel 2011 al Veterinary Emergency and Critical Care Symposium sono stati presentati i risultati di uno studio realizzato per investigare il beneficio del trattamento con corticosteroidi nei pazienti canini settici<sup>(551)</sup>. Lo studio è multicentrico, randomizzato, in doppio cieco, placebo-controllato su pazienti canini in shock settico (definito come ipotensione refrattaria a fluidoterapia e vasopressori in pazienti con SIRS secondaria a una sepsi); un gruppo viene trattato con idrocortisone a 1 mg/kg ogni 6 h, l'altro con soluzione fisiologica come placebo, e la presenza di CIRCI viene definita come un delta cortisolo  $\leq 3$  µg/dl. Lo studio si era posto come obiettivo l'inclusione di 90 pazienti in un anno. Purtroppo, però, in 3 anni solo 8 cani sono rientrati nello studio: in 6 cani (75%) è stata diagnosticata una CIRCI, 3 cani sono deceduti, 3 sono stati sottoposti a eutanasia e 2 sono sopravvissuti; i due cani in cui non era stata diagnosticata una CIRCI sono stati sottoposti a eutanasia (1 è stato trattato con idrocortisone e l'altro no), e i due cani che sono sopravvissuti avevano entrambi un delta cortisolo  $\leq 3$  µg/dl (1 aveva subito il trattamento con idrocortisone e l'altro no). Ovviamente la scarsità del numero non permette di fare analisi statistiche e da questo trial non è possibile determinare se la supplementazione di idrocortisone nei pazienti in CIRCI abbia effetti sull'outcome o meno; l'unica conclusione che può essere fatta è che la CIRCI è un'evenienza che si verifica nei pazienti canini in shock settico.

Nella specie felina si ha un solo case report di un gatto in condizioni critiche con ipotensione refrattaria che ha risposto positivamente al trattamento con desametasone<sup>(479)</sup>. Il gatto, ricoverato per un politrauma, aveva sviluppato ipotensione refrattaria alla fluidoterapia e al trattamento con vasopressori; l'esecuzione di un test ACTH ha documentato un'insufficiente funzionalità surrenale (cortisolo basale nel range anche se al limite inferiore ma cortisolo post ACTH

inferiore al range di riferimento, sia a 30 che a 60 min dalla somministrazione di ACTH, delta cortisolo 3,2 µg/dl); il trattamento con desametasone a 0,08 mg/kg ev giornaliero (equivalente a una dose di prednisone di 0,5 mg/kg ev) ha determinato un rapido miglioramento clinico e emodinamico (entro le 24 h dalla somministrazione di desametasone); il gatto si è ripreso pienamente ed è stato dimesso 7 giorni dopo con prednisone a 1 mg bid PO da scalare in 2 settimane. A proposito di questo caso, è interessante notare come in medicina umana l'uso del desametasone sia fortemente non raccomandato dalla task force internazionale per la gestione e il trattamento di CIRCI<sup>(401)</sup> (nonostante fosse stato in precedenza raccomandato come terapia iniziale essendo l'unico a non interferire con il test di stimolazione con ACTH) perché determina una soppressione troppo forte dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene, che potrebbe comunque inficiare su una corretta stimolazione con ACTH; tuttavia, sempre dalla stessa task force, è consigliato di trattare i pazienti con ipotensione refrattaria indipendentemente dai test ormonali, per cui fino a che il test di stimolazione con ACTH non verrà riconosciuto come un criterio discriminante per le decisioni terapeutiche il desametasone può rimanere una valida opzione terapeutica, anche se l'idrocortisone è comunque da preferire dato che è identico alla molecola endogena, ha anche un minimo benefico effetto mineralcorticoide e non ha gli effetti immunosoppressivi eccessivi che può avere il desametasone<sup>(407)</sup>. Nella review del 2011 sulla CIRCI nei piccoli animali<sup>(406)</sup>, Martin L. consiglia di iniziare il trattamento con corticosteroidi nei pazienti con ipotensione refrattaria alla fluidoterapia e al trattamento con vasopressori dopo l'esecuzione di un test di stimolazione con ACTH e a risultati ottenuti consiglia di continuare il trattamento nei pazienti con:

- a) concentrazione di cortisolo basale elevata o normale e cortisolo post ACTH inferiore ai range di riferimento;
- b) concentrazione di cortisolo basale elevata o normale e cortisolo post ACTH aumentato di meno del 5 % rispetto al cortisolo basale;
- c) concentrazione di delta cortisolo  $\leq 3$  µg/dl;
- d) miglioramento clinico dello stato emodinamico entro 24 h dall'inizio della terapia steroidea.

Per quanto riguarda il tipo di corticosteroide e il dosaggio è consigliato l'idrocortisone a dosi da fisiologiche a sovralfisiologiche, ovvero a 1-4,3 mg/kg ev in 24 h sotto forma di 4 somministrazioni uguali ogni 6 h o di infusione continua a dose costante, o il prednisone a dose equivalente di 0,25-1 mg/kg ev in 24 (divisibile in 2 dosi uguali da somministrare ogni 12 h), o il desametasone a una dose equivalente di 0,04-0,4 mg/kg ev sid; l'autore consiglia infine di scalare il corticosteroide del 25 % al giorno e di ripetere il test ACTH in seguito alla completa risoluzione della malattia critica acuta e alla cessazione del trattamento corticosteroideo.

Sullivan e Burkitt nell'edizione 2014 del Kirk's Current Veterinary Therapy<sup>(550)</sup> consigliano l'uso di idrocortisone a 0,5 mg/kg ev ogni 6 h o a 0,08 mg/kg/h come infusione continua costante. Nell'ultima edizione del 2014 di Small Animal and Critical Care Medicine<sup>(403)</sup>, Burkitt consiglia, sulla base della propria esperienza personale, di somministrare ai pazienti in shock settico con ipotensione refrattaria idrocortisone a 2,5-3 mg/kg/die in infusione continua endovenosa, dopo aver eseguito un test di stimolazione con ACTH, e di continuare la terapia steroidea solo nei pazienti che mostrano un significativo miglioramento dello stato cardiovascolare nelle prime 24 h di somministrazione.

Anche nella specie equina è stato pubblicato un case report che riporta il successo nella gestione di un puledro di 3 giorni che mostrava segni clinici e alterazioni elettrolitiche tipiche di un ipoadrenocorticismo primario e trattato con prednisone a 50 mg ev e poi a 40 mg/kg PO ogni 12 h, a scalare poi nelle settimane successive<sup>(552)</sup>; anche in questa specie alcuni autori raccomandano l'uso di idrocortisone a 1,3 mg/kg/die ev ogni 4 h e poi a scalare per il trattamento di cavalli sospetti di avere una CIRCI<sup>(553)</sup>.

Visto le notevoli controversie che ancora circondano la CIRCI, in medicina umana è partito a Febbraio del 2013 un trial multicentrico su larga scala per investigare l'uso di idrocortisone nei pazienti in shock settico, che si propone di includere 3800 pazienti<sup>(554)</sup>, e sarebbe auspicabile andare nella stessa direzione anche per quanto riguarda la medicina veterinaria.

## 2.6 PROGNOSE

La CIRCI è una condizione transitoria e reversibile, tuttavia il suo sviluppo è considerato un fattore prognostico negativo nei pazienti critici umani che la sviluppano<sup>(388-392)</sup>. In particolare uno studio del 2000 di Annane et al.<sup>(391)</sup> è stato condotto proprio per valutare il valore prognostico dei livelli di cortisolo basale e post stimolazione con ACTH su 189 pazienti in shock settico e ha riscontrato che concentrazioni di cortisolo basale  $> 34 \mu\text{g/dl}$  e delta cortisolo  $< 9 \mu\text{g/dl}$  al momento d'inclusione nello studio sono fattori predittivi di mortalità indipendenti a un'analisi multivariata. In particolare sono stati individuati tre gruppi prognostici: pazienti con cortisolo basale  $\leq 34 \mu\text{g/dL}$  e delta cortisolo  $> 9 \mu\text{g/dL}$  avevano una prognosi buona (mortalità a 28 giorni 26%), pazienti con cortisolo basale  $> 34 \mu\text{g/dL}$  e delta cortisolo  $> 9 \mu\text{g/dL}$  o con cortisolo basale  $= 34 \mu\text{g/dL}$  e delta cortisolo  $\leq 9 \mu\text{g/dL}$  avevano una prognosi intermedia (mortalità a 28 g 67%) e pazienti con cortisolo  $> 34 \mu\text{g/dL}$  e delta cortisolo  $\leq 9 \mu\text{g/dL}$  avevano prognosi infausta (mortalità 82%). Un più recente studio del 2013<sup>(555)</sup> ha confermato che pazienti in shock settico con cortisolo basale  $\geq 34 \mu\text{g/dL}$  e delta cortisolo  $\leq 9 \mu\text{g/dL}$  hanno una prognosi peggiore (mortalità 50 %, maggiore rispetto a agli altri pazienti inclusi nello studio), così come quelli con cortisolo basale  $> 65 \mu\text{g/dL}$  (62,5%) ; nel presente studio la somministrazione di corticosteroidi non determinava un miglioramento dell'outcome. Un delta cortisolo  $\leq 9 \mu\text{g/dL}$  è risultato un fattore indipendente di mortalità nei pazienti in shock settico trattati con idrocortisone anche in uno studio del 2011<sup>(556)</sup>. Infine, uno studio retrospettivo del 2012 ha riscontrato che i pazienti che sviluppavano una CIRCI (intesa come evento dinamico come una riduzione del valore di delta cortisolo fra due test ACTH consecutivi, soprattutto se sotto i 100 nmoli/L) correlava con una prognosi peggiore (aumentata mortalità) indipendentemente dai livelli di cortisolo basale, dalla capacità di legarsi del cortisolo alle proteine plasmatiche e dalla gravità della malattia<sup>(557)</sup>.

Per quanto riguarda la medicina veterinaria, anche i due studi canini realizzati<sup>(466,467)</sup> associano lo sviluppo di CIRCI (definita come concentrazione di delta cortisolo  $\leq 3 \mu\text{g/dL}$ ) a una prognosi peggiore, intesa come maggior rischio di sviluppo di ipotensione sistemica e ridotta sopravvivenza<sup>(466)</sup> e come aumento della necessità di vasopressori<sup>(467)</sup>.

Nei pazienti in shock settico che sviluppano una CIRCI ma sottoposti a terapia con idrocortisone è però ragionevole pensare che la prognosi e la severità della malattia possano essere sovrapponibili a quelle dei pazienti che non sviluppano CIRCI, come dimostrano i risultati dello studio di Annane et al. del 2002<sup>(397)</sup>, anche se come detto il beneficio terapeutico dei corticosteroidi in questa condizione continua a essere ampiamente dibattuto; in veterinaria non sono ancora disponibili studi che avvalorino né contrastino questa ipotesi.

Per gli individui che riescono a riprendersi dal grave stadio clinico acuto causato dalla SIRS/sepsi e dalla patologia sottostante, la prognosi riguardo al ritorno alla normale funzione surrenale sembra eccellente sia in medicina umana che veterinaria<sup>(394,478,479,553)</sup>.

## **CAPITOLO 3. STUDIO SPERIMENTALE**

### 3.1 INTRODUZIONE

La sindrome da risposta infiammatoria sistemica (SIRS) descrive un'esagerata risposta dell'organismo a un insulto che implica il massivo rilascio di mediatori pro-infiammatori. L'insulto scatenante una SIRS è più frequentemente di natura infettiva (batteri, funghi, virus, protozoi) ma può anche avere un'eziologia non infettiva (pancreatiti, politraumi severi, colpo di calore, chirurgie maggiori, ustioni, neoplasie, malattie immunomediate, avvelenamento da serpenti) sia in medicina umana che veterinaria<sup>(5,20,40)</sup>.

Il dibattito sui criteri diagnostici più accurati per identificare uno stato di SIRS è ancora in corso sia in medicina umana che veterinaria. Per i pazienti canini i criteri ad oggi più ampiamente utilizzati e validati sono quelli formulati da Hauptman nel 1997; la presenza di almeno 2 dei criteri sotto elencati ha dimostrato avere una sensibilità del 97% e una specificità del 64% per la diagnosi di SIRS<sup>(2)</sup>:

- ❖ Temperatura corporea  $> 39\text{ }^{\circ}\text{C}$  o  $< 38\text{ }^{\circ}\text{C}$
- ❖ Frequenza cardiaca  $> 120$  bpm
- ❖ Frequenza respiratoria  $> 20$  atti respiratori al minuto
- ❖ WBC  $< 6 \times 10^3 / \mu\text{l}$  o  $> 16 \times 10^3 / \mu\text{l}$  o  $> 3\%$  di neutrofili banda

Nei pazienti affetti da questa sindrome clinica la rottura dell'omeostasi e il prevalere della risposta pro-infiammatoria portano a un deterioramento progressivo delle condizioni cliniche, dovuto essenzialmente a una perdita del tono vascolare, a un aumento della permeabilità capillare, a un'attivazione della coagulazione e infine a una depressione dell'attività cardiaca, con frequente sviluppo di shock (ipovolemico, distributivo, cardiogeno, metabolico e ipossimico), fino ad arrivare alla MODS e potenzialmente alla morte<sup>(18,20,40,109)</sup>.

In pazienti critici e stressati come quelli in SIRS è nota da tempo un'attivazione dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene risultante in un aumento dei livelli plasmatici di cortisolo, considerata un adattamento parafisiologico atto a mantenere l'omeostasi<sup>(385,386)</sup>. Tuttavia in medicina umana un numero sempre maggiore di studi ha evidenziato anomalie della risposta dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene nei pazienti critici, e in particolare nei pazienti in sepsi e shock settico, generalmente caratterizzata da livelli di cortisolo basale normali o aumentati (raramente bassi) e da una ridotta risposta al test di stimolazione con ACTH<sup>(387-398)</sup>. Questa sindrome è stata definita insufficienza corticosteroidica correlata a malattie critiche (CIRCI) da una task force internazionale dell'American College of Critical Care Medicine nel 2008<sup>(401)</sup>. La CIRCI è stata descritta come un'attività corticosteroidica inadeguata per la gravità del processo patologico del

paziente e sembra verificarsi soprattutto per due meccanismi: ridotta sintesi di glicocorticoidi per alterazioni dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene o ridotta attività dei glicocorticoidi, per ridotto accesso dei glicocorticoidi ai tessuti e alle cellule target e per resistenza dei recettori per i glicocorticoidi (GR)<sup>(404)</sup>. L'incidenza in medicina umana di questa patologia si attesta attorno al 30-45 % nei pazienti umani critici, con picchi oltre il 60 % in sepsi e shock settico<sup>(404, 485)</sup>. La sintomatologia in corso di CIRCI è estremamente variabile e aspecifica; non è stato ancora raggiunto un pieno consenso sui criteri diagnostici per identificarla<sup>(404)</sup> e ci si basa perciò sul consenso del 2008 dell'American College of Critical Care Medicine<sup>(401)</sup> che propone come criteri diagnostici di CIRCI concentrazioni di cortisolo basale < 10 µg/dl o di delta cortisolo (differenza fra cortisolo post stimolazione con ACTH e cortisolo basale) ≤ 9 µg/dl; tenendo però conto anche dell'impossibilità con i metodi correnti di valutare quando un paziente sia effettivamente insufficiente a livello cellulare, sia il consenso internazionale del 2008 che la SSC del 2012 raccomandano di non basarsi sui test ormonali per la somministrazione di corticosteroidi ma sulla clinica. La sindrome è stata associata in diversi studi a ipotensione refrattaria<sup>(391,397)</sup> e ad aumentata mortalità<sup>(388,390-392)</sup>. Benchè non ci sia pieno consenso, alcuni studi umani hanno dimostrato che la somministrazione di basse dosi di idrocortisone migliora significativamente la prognosi nei pazienti in CIRCI, specialmente se settici<sup>(393,397,518,519-522)</sup>.

In medicina veterinaria studi in proposito scarseggiano e un numero veramente esiguo di studi è riuscito a identificare la CIRCI nei pazienti critici, motivo per cui è difficile anche stabilire l'incidenza di tale patologia. Il primo lavoro che si era posto questo scopo, studio prospettico eseguito da Prittie et al. nel 2002, ha fallito nel dimostrare l'esistenza di CIRCI in 20 pazienti canini critici in terapia intensiva<sup>(464)</sup>. Nel 2007, Burkitt et al. in uno studio prospettico hanno identificato la CIRCI in una popolazione di 33 cani critici acuti rispondenti ai criteri di SIRS e con diagnosticata o sospetta sepsi, con un'incidenza del 48 %, utilizzando come criterio diagnostico un delta cortisolo ≤ 3 µg/dl; questo valore è stato inoltre associato a ipotensione e ad aumentata mortalità<sup>(466)</sup>. Nel 2008 uno studio prospettico di Martin et al. ha valutato la funzionalità surrenale e pituitaria in 31 cani critici e il 55 % dei cani aveva almeno un'anormalità laboratoristica suggestiva di un'insufficiente funzione di surrene o ipofisi, con solo il 3 % dei cani con una risposta consistentemente alta alla stimolazione con ACTH<sup>(467)</sup>; in questo studio la presenza di una disfunzione dell'asse ipotalamo ipofisi surrene non è però stata associata a una differenza significativa nell'outcome, anche se un delta cortisolo ≤ 3 µg/dl è stato associato a un'aumentata necessità di terapia vasopressoria.

Per quanto riguarda la terapia in medicina veterinaria si hanno ad oggi solo 2 case report, uno nel cane<sup>(478)</sup> e uno nel gatto<sup>(479)</sup>, che descrivono alterazioni ormonali indicative di CIRCI e una risoluzione dello shock settico e dell'ipotensione refrattaria in seguito alla somministrazione di bassi dosi di idrocortisone e desametasone, rispettivamente, e un ritorno alla normale

funzionalità surrenale. Nel 2011 al Veterinary Emergency and Critical Care Symposium Burkitt e Hopper hanno presentato i risultati di uno studio realizzato per investigare il beneficio del trattamento con corticosteroidi nei pazienti canini in shock settico<sup>(551)</sup>, che purtroppo ha potuto verificare esclusivamente l'effettiva presenza di CIRCI in questi pazienti ma non gli effetti dell'idrocortisone, data la scarsità di casi (8 cani).

Lo scopo del presente lavoro è quello di verificare la presenza di CIRCI nei pazienti canini in SIRS e la sua eventuale correlazione con ipotensione e outcome, nonché di valutare la risposta alla terapia con basse dosi di idrocortisone.

## 3.2 MATERIALI E METODI

Lo studio prospettico ha previsto l'inclusione di cani presentati presso l'unità di terapia intensiva dell'Ospedale Didattico "M. Modenato" dell'Università di Pisa, durante un periodo di 18 mesi, da settembre 2014 a marzo 2016.

Sono stati inclusi i pazienti che richiedevano ricovero con cure intensive e rientravano nei parametri di SIRS, adottando i criteri diagnostici proposti nel 1997 da Hauptman et al<sup>(2)</sup>; i cani erano inclusi nello studio se rispondevano ad almeno 2 dei criteri sotto elencati:

- ❖ Temperatura rettale (T°) > 39 °C o < 38 °C
- ❖ Frequenza cardiaca (FC) > 120 bpm
- ❖ Frequenza respiratoria (FR) > 20 atti respiratori al minuto
- ❖ Conta leucocitaria (WBC white blood cells) <  $6 \times 10^3 / \mu\text{l}$  o  $> 16 \times 10^3 / \mu\text{l}$  o > 3 % di neutrofili banda

Per ogni paziente è stato valutato il grading di SIRS, in una scala da 0 (aderenza a nessun parametro) a 4 (aderenza a tutti e 4 i parametri); essendo il criterio d'inclusione nello studio l'aderenza ad almeno 2 dei criteri di SIRS per i cani inclusi lo score poteva dunque variare da 2 a 4.

Sono stati esclusi dallo studio i pazienti con iperadrenocorticismo o ipoadrenocorticismo, quelli che avevano ricevuto trattamenti con corticosteroidi long-acting o per almeno una settimana nel mese precedente all'inclusione nello studio e quelli che avevano ricevuto glicocorticoidi, ketoconazolo, etomidato o eventuali altri farmaci noti per alterare l'asse ipotalamo-ipofisurrene nelle 72 h precedenti all'inclusione. Sono stati inoltre esclusi pazienti i cui campioni sono andati persi e pazienti per i quali i medici di riferimento o i proprietari hanno rifiutato l'inclusione.

I pazienti sono stati sottoposti all'arrivo in ospedale alla visita clinica comprendente:

- ❖ Misurazione della FC, misurata contando il numero di battiti del cuore per minuto tramite auscultazione con fonendoscopio
- ❖ Misurazione della FR, misurata contando le escursioni della gabbia toracica dell'animale nell'arco di 1 minuto
- ❖ Misurazione della T° rettale, misurata con termometro elettronico

- ❖ Valutazione del polso femorale e metatarsale (frequenza, intensità e concordanza con FC)
- ❖ Valutazione delle mucose e del tempo di riempimento capillare (TRC)
- ❖ Misurazione della pressione arteriosa (MAP) tramite metodo oscillometrico con dispositivo petMAP™ graphic II (Ramsey Medical), con rilevazione della pressione arteriosa sistolica, diastolica e media. Per la misurazione della pressione arteriosa è stato scelto questo metodo indiretto perché di facile applicazione anche in situazioni di emergenza; il dispositivo permette di scegliere di volta in volta la specie animale e la sede (arto anteriore sinistro o destro, arto posteriore sinistro o destro o coda); per ovviare alla sua inferiore accuratezza rispetto al metodo diretto sono state effettuate ogni volta 3 misurazioni e i valori riportati sono risultati dalle medie di queste misurazioni; inoltre per ogni cane la pressione è stata rilevata sempre con lo stesso manicotto e nella stessa sede. È stata considerata ipotensione una MAP < 60 mm Hg o una pressione sistolica < 80 mm Hg.

All'entrata i pazienti sono stati sottoposti, oltre che alla visita clinica, a un prelievo ematico dalla vena giugulare previa tricotomia e disinfezione con alcool della parte per l'esecuzione di:

- ❖ Esame emocromocitometrico, per cui 1 ml del sangue prelevato è stato immediatamente trasferito in una provetta contenente acido etilendiamminotetracetico (EDTA) ed analizzato. Il modello di contaglobuli impiegato è Procyte DX (Idexx Laboratories). Dell'esame emocromocitometrico sono stati presi in considerazione in particolare WBC e neutrofili banda, rientranti nei parametri di SIRS.
- ❖ Profilo biochimico, per cui 2,5 ml di sangue sono stati immediatamente trasferiti in una provetta da siero, contenente micro-granuli di silice che accelerano il processo coagulativo; una volta completato tale processo il campione è stato centrifugato, ottenendo un sopranatante (siero) del quale si è aspirata la quantità di 500 µl necessaria per le analisi. Il metodo analitico prevede una lettura colorimetrica del campione in esame, dopo averlo addizionato dei reagenti specifici; il macchinario utilizzato per la lettura è il modello Liasys, prodotto da ASSEL srl. Del profilo biochimico sono stati presi in considerazione in particolare la Proteina C-Reattiva(CRP) e il Glucosio.
- ❖ Emogas analisi, per cui sono stati prelevati almeno 0,4 ml di sangue tramite un siringa eparinizzata, privati di eventuali bolle d'aria e immediatamente analizzati. Il modello di emogas analizzatore utilizzato è *ABLserie 700 XP*, A. De Mori. Dell'emogas sono stati presi in considerazione in particolare i Lattati (Lac).

### 3.2.1 Valutazione della funzionalità surrenale

Tutti i cani inclusi nello studio sono stati sottoposti entro 1 h a un test di stimolazione con ACTH sintetico (Tetracosactide, 0,25 mg/ml soluzione iniettabile, Farmacia del Pavaglione) eseguito in questo modo:

- ❖ Prelievo giugulare di 2 ml di sangue immediatamente trasportato in una provetta da siero, quindi lasciato coagulare, poi centrifugato e prelevato il siero per l'analisi del cortisolo basale
- ❖ Somministrazione di 0,5 µg/kg di tetracosactide endovena. E' stato scelto di impiegare dosi inferiori alle dosi standard (5 µg/kg) perché è stato dimostrato che già con 0,5 µg/kg si induce la massima stimolazione delle surrenali in cani sani<sup>(504)</sup>; inoltre uno studio ha dimostrato che il test di stimolazione con ACTH a dosi di 0,5 µg/kg è accurato tanto quanto il test a dosi di 5 µg/kg, se non più sensibile, nel diagnosticare una condizione di CIRCI nei pazienti canini critici<sup>(506)</sup>.
- ❖ Prelievo giugulare dopo 1 h dalla somministrazione di ACTH sintetico con le modalità sopra descritte per l'analisi del cortisolo post stimolazione

Il cortisolo è stato misurato con lo strumento AIA-360 (ditta produttrice Tosoh Corporation) che utilizza un metodo immunoenzimatico fluorimetrico. In tutti i pazienti è stato inoltre calcolato il delta cortisolo ( $\Delta$  cortisolo), ovvero la differenza fra il cortisolo post ACTH e il cortisolo basale, e l'aumento in percentuale del cortisolo post ACTH rispetto al cortisolo basale. È stato utilizzato come criterio diagnostico di CIRCI un  $\Delta$  cortisolo  $\leq 3$  µg/dL.

### 3.2.2 Protocollo terapeutico

Tutti i cani sono stati trattati con idrocortisone (Flebocortid® 100 mg/2 ml) alla dose di 0,5 mg/kg per via endovenosa ogni 6 h, dopo l'esecuzione del test di stimolazione con ACTH. L'idrocortisone è stato poi scalato a somministrazioni ogni 8 h, poi ogni 12 h e infine ogni 24 h per un totale di 4 giorni di trattamento. Essendo le cause di SIRS diverse da paziente a paziente il piano terapeutico non era perfettamente identico in tutti i cani ma variabile in base alla patologia sottostante, anche se alcune misure terapeutiche sono state adottate per tutti i cani:

- ❖ Fluidoterapia con cristalloidi (Soluzione fisiologica 0,9 %, Ringer Lattato o Soluzione elettrolitica reidratante III) in base a condizioni cliniche e valori emogas analitici, con l'aggiunta di colloidali naturali (sangue fresco intero, plasma fresco congelato o albumina umana) o sintetici (soluzioni a base di gelatina) in pazienti ipoproteinemici/ipoalbuminemici e/o con necessità di sostenere la pressione sistemica

- ❖ Terapia con vasopressori e inotropi quando necessario (dopamina e/o dobutamina)
- ❖ Terapia antibiotica a 4 quadranti per via endovenosa
- ❖ Terapia analgesica con metadone
- ❖ Terapia antiossidante con N-acetilcisteina
- ❖ Terapia con gastroprotettori (omeprazolo, rantidina, sucralfato)
- ❖ Terapia antiemetica (maropitant e/o metoclopramide)
- ❖ Integrazioni amminoacidiche e vitaminiche
- ❖ Terapie specifiche per la patologia sottostante

Sette cani in SIRS sono stati inclusi nello studio come gruppo di controllo: a essi sono stati applicati gli stessi criteri d'inclusione e d'esclusione, lo stesso work up diagnostico comprensivo di valutazione surrenale e lo stesso monitoraggio; non hanno però ricevuto il trattamento con idrocortisone.

### 3.2.3 Monitoraggio

Tutti i pazienti sono stati sottoposti a visite cliniche ogni 2 h a partire dall'inclusione nello studio con valutazione di FC, FR, T°, mucose e TRC e pressione sistemica. Ogni 6 h sono state effettuate misurazioni della glicemia tramite glucometri. I parametri ematobiochimici e emogasanalitici sono stati rivalutati ogni 24h fino alle dimissioni o al decesso/eutanasia. Ulteriori valutazioni cliniche effettuate sono state l'urinazione, la defecazione, l'appetito o lo stato di anoressia/disoressia dei pazienti, la capacità di deambulazione e lo stato del sensorio considerando gli eventuali miglioramenti o peggioramenti clinici nel tempo. Tutti questi parametri e informazioni sono stati registrati su un'apposita cartella.

È stata poi registrata la sopravvivenza a 28 giorni, considerando sopravvissuti i cani che, dimessi dall'ospedale, erano ancora vivi dopo tale periodo, e non sopravvissuti i cani morti o sottoposti a eutanasia per le gravi condizioni di salute durante l'ospedalizzazione o eventualmente deceduti entro i 28 giorni dall'inclusione nello studio; è stato considerato come giorno zero il giorno dell'inclusione nello studio, ovvero quello dell'esecuzione del test di stimolazione con ACTH. In particolare ai fini del presente studio sono stati presi in considerazione esclusivamente i parametri al momento dell'inclusione nello studio.

### 3.2.4 Analisi statistiche

La MAP, i WBC, la percentuale di neutrofili banda, la glicemia, la lattatemia e la concentrazione di CRP nel totale dei casi, nei casi CIRCI positivi e nei casi CIRCI negativi sono stati valutati per la distribuzione normale con il test di D'Agostino Pearson e sono stati espressi come media e deviazione standard in caso di distribuzione normale o come mediana e range in caso di distribuzione non normale.

Sono stati confrontati poi i dati presi in considerazione nel gruppo dei CIRCI positivi e dei CIRCI negativi tramite un t-test o un Mann-Whitney test, a seconda che i dati presentassero una distribuzione normale o non normale rispettivamente, per identificare eventuali differenze significative. Per quanto riguarda la MAP si è anche indagata un'eventuale correlazione con il valore di  $\Delta$  cortisolo.

Tramite un t-test o un Mann-Whitney test è stata ricercata un'eventuale differenza significativa tra i sopravvissuti e i non sopravvissuti all'interno del gruppo di studio per quanto riguarda i parametri di delta cortisolo, cortisolo basale e pressione.

E' stata valutata anche la probabilità di morte nei pazienti del gruppo di studio in base a CIRCI, ipercortisolemia basale, ipercortisolemia post ACTH, incremento  $< 5\%$  di cortisolo, ipotensione, leucocitosi, leucopenia, ipoglicemia, iperlattatemia, aumento di CRP (intese come presenza o assenza) tramite l'esecuzione di un test esatto di Fisher.

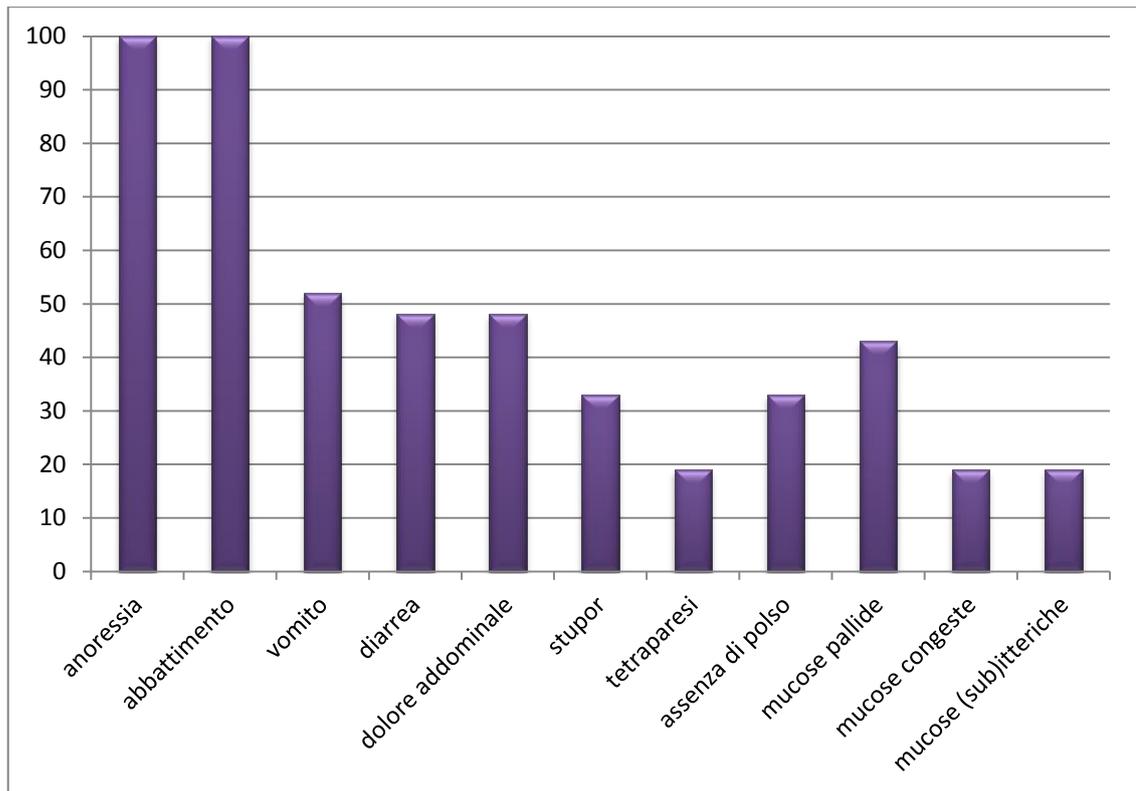
Quindi è stata valutata con un test Kaplan-Meier la sopravvivenza a 28 g nei pazienti del gruppo di studio con o senza CIRCI, aumento del cortisolo basale, ipotensione, leucocitosi, leucopenia, % di neutrofili banda  $>3$ , ipoglicemia, iperlattatemia e aumento di CRP. È stata valutata anche la sopravvivenza dei pazienti con contemporanea presenza di CIRCI e ipercortisolemia basale rispetto ai pazienti che non presentavano questa condizione. Infine è stata confrontata la sopravvivenza tra i pazienti del gruppo di studio trattati con idrocortisone e i pazienti del gruppo di controllo con un test Kaplan Meier. Le curve di sopravvivenza Kaplan-Meier sono state comparate tramite il test Log-rank (Mantel-Cox).

Sono stati considerati significativi valori per  $P < 0,05$ .

### 3.3 RISULTATI

Ventun cani sono rientrati nei criteri d'inclusione, di cui 14 maschi (11 interi e 3 castrati) e 7 femmine (5 intere e 2 sterilizzate).

I sintomi e i rilievi clinici riscontrati all'inclusione nei 21 pazienti rientrati nello studio sono visualizzabili nel grafico 1.



*Grafico 1: sintomi e rilievi clinici*

In nessun caso è stato eseguito un antibiogramma che potesse confermare la presenza di un'eziologia batterica alla base della SIRS; è stata confermata l'origine infettiva virale in 5 cani (parvovirus positivi). In 5 cani era fortemente sospettata la presenza di una sepsi per sviluppo della sintomatologia in seguito a intervento chirurgico (1 ortopedia al bacino, 1 enterectomia per corpo estraneo, 1 shunt porta-cava congiunto ad un'ortopedia, 1 revisione tpo, 1 piometra), mentre 1 cane presentava ascessi visibili ecograficamente a livello prostatico e renale; in un paziente era fortemente sospettata una sepsi a causa dell'aggressione da parte di un altro cane. I restanti cani presentavano evidenze ecografiche di pancreatite (4), marcata reattività peritoneale (3), epatite (3), colecistite (3), colite (3), colangite (2), pielonefrite (1), gastroenterocolite (1), enterite (1), prostatite (1), necrosi epatica e colangioepatite enfisematosa (1), mucocele (1). Diciannove cani tra i 21 inclusi nello studio hanno eseguito un'ecografia addominale e di questi nessuno presentava alterazioni ecografiche delle ghiandole surrenali.

Per quanto riguarda i criteri di SIRS, nella tabella 3 sono visibili le frequenze con cui sono stati riscontrati i vari parametri.

Criterio	Numero di pazienti	Percentuale %
Ipotermia	9/21	42,86
Ipertermia	9/21	42,86
Tachicardia	16/21	76,19
Tachipnea	16/21	76,19
Leucopenia	9/21	42,86
Leucocitosi	8/21	38,10
Neutrofilia banda > 3%	13/21	61,90

**Tabella 3: frequenza dei criteri di SIRS**

Solo un cane presentava grading di SIRS pari a 2, 11 cani rientravano nel grado 3 e nei restanti 9 cani si è riscontrato un grado 4.

Nella tabella 4 sono riportate le frequenze degli altri parametri che abbiamo scelto di valutare nello studio.

Parametri	Numero di pazienti	Percentuale %
Ipotensione	7/21	33,33
Ipoglicemia	13/21	61,90
Iperlattatemia	10/21	47,62
Aumento CRP	20/21	95,24

**Tabella 4: frequenza di ipotensione, ipoglicemia, iperlattatemia e aumento CRP**

Nei grafici 2 e 3 sono riportate le alterazioni ematologiche e biochimiche ed emogas analitiche dei pazienti inclusi nello studio.

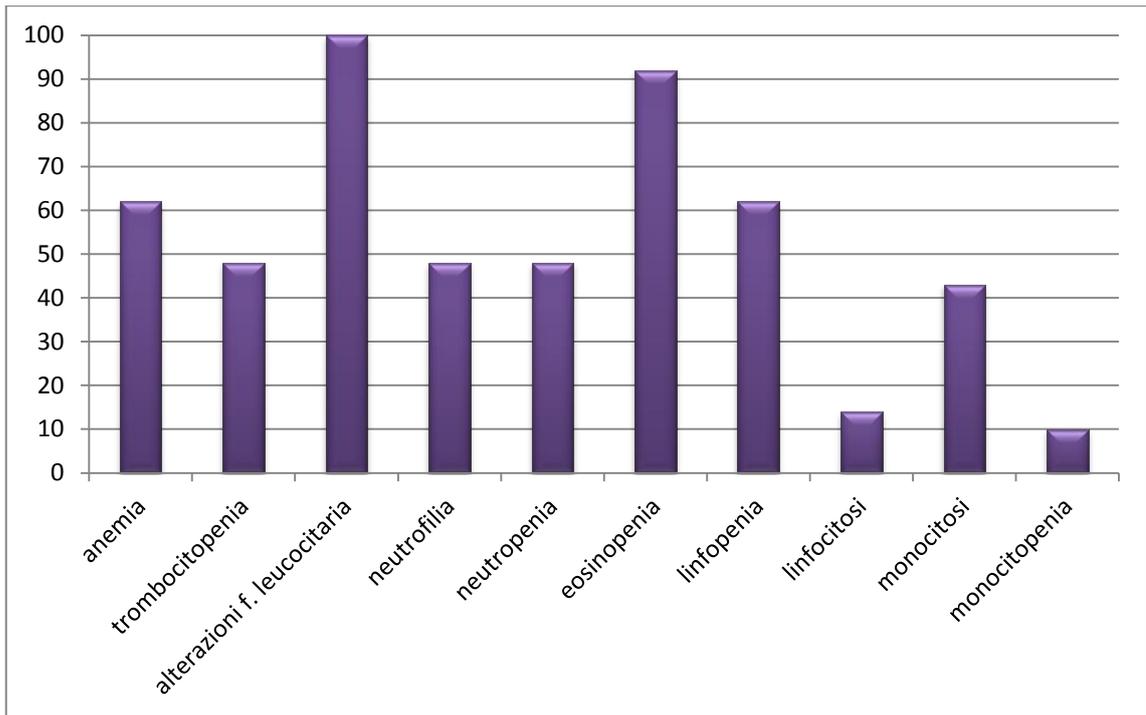


Grafico 2: alterazioni ematologiche

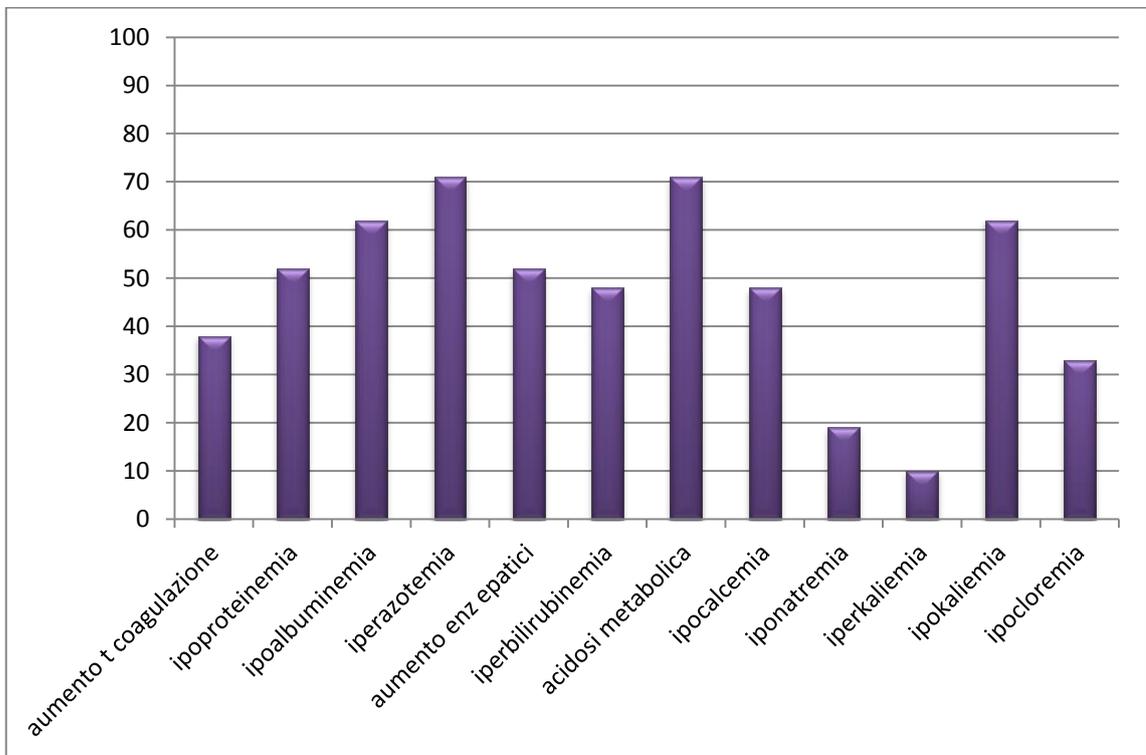


Grafico 3: alterazioni biochimiche e emogasanalitiche

Per quanto riguarda la valutazione della funzionalità surrenale glicocorticoidea, nessun cane aveva il cortisolo basale inferiore al range di riferimento, mentre 16 lo avevano superiore al range di riferimento; il cortisolo post ACTH era inferiore al limite di riferimento in 2 cani e superiore al limite di riferimento in 5 cani. Considerando clinica ed esami di laboratorio, nessun cane aveva alterazioni consistenti con una diagnosi di ipoadrenocorticismo o iperadrenocorticismo. Sette cani presentavano un aumento del cortisolo post stimolazione inferiore al 5 % e 10 cani presentavano  $\Delta$  cortisolo inferiore a 3.

Considerando un  $\Delta$  cortisolo  $\leq 3$  come criterio diagnostico di CIRCI, la prevalenza di tale sindrome clinica nel presente lavoro è stata quindi del 48% (10/21 cani). In tabella 3 sono illustrati i dati relativi alla funzionalità surrenale di ciascun paziente.

	<b>Cortisolo basale</b>	<b>Cortisolo post-ACTH</b>	<b>Aumento cortisolo %</b>	<b>Delta cortisolo</b>
Caso 1	10,96	16,02	46,17	5,06
Caso 2	10,10	17,17	75,25	7,60
Caso 3	1,84	21,81	1085,33	19,97
Caso 4	1,36	1,27	-6,61	-0,09
Caso 5	21,36	34,16	59,93	12,80
Caso 6	20,65	69,00	234,14	48,35
Caso 7	7,28	18,90	159,62	11,62
Caso 8	34,89	36,37	4,24	1,48
Caso 9	34,40	23,92	-30,47	-10,48
Caso 10	8,77	8,95	2,05	0,18
Caso 11	8,92	18,87	111,55	9,95
Caso 12	4,96	4,82	-2,82	-0,14
Caso 13	9,01	9,53	5,77	0,52
Caso 14	4,73	7,33	54,97	2,60

Caso 15	30,69	26,09	-14,99	-4,60
Caso 16	14,66	15,53	5,93	0,87
Caso 17	6,92	11,19	61,71	6,92
Caso 18	2,09	35,05	1577,03	32,96
Caso 19	50	69	38	19
Caso 20	11,25	69	513,3	57,75
Caso 21	28,79	28,97	0,63	0,18
<b>Media e <math>\sigma</math></b>	15,41 $\pm$ 13,28	25,85 $\pm$ 20,51	189,60 $\pm$ 405,40	10,60 $\pm$ 17,08
<b>Mediana e range</b>	10,10 (1,36-50)	18,90 (1,27-69)	46,17 (-30,47 – 1577)	5,06 (-10,48 – 57,75)
Intervallo di riferimento	1-5 $\mu\text{g/dL}$	6-18 $\mu\text{g/dL}$		

**Tabella 5: Valori di cortisolo basale, cortisolo post ACTH, aumento percentuale di cortisolo e delta ( $\Delta$ ) cortisolo nei singoli casi e poi espressi come media e deviazione standard ( $\sigma$ ) e mediana**

Come si può vedere dalla tabella 5, la presenza di CIRCI non è associata a bassi livelli di cortisolo basale e post ACTH: fra i 10 cani con  $\Delta$  cortisolo  $\leq 3$ , nessuno presentava livelli di cortisolo basale inferiori al range di riferimento e solo 2 cani (caso 4 e 12) presentavano livelli di cortisolo post ACTH inferiori al limite di riferimento; al contrario 4 cani (casi 8, 9, 15 e 21) pur avendo  $\Delta$  cortisolo  $\leq 3$  presentavano valori di cortisolo basale e post ACTH superiori ai range di riferimento; i restanti cani mostravano cortisolo basale e post ACTH nella norma (3/10, casi 10, 13 e 14) e aumento del solo cortisolo basale (caso 16). Simili considerazioni valgono per quanto riguarda l'aumento del cortisolo in percentuale.

### 3.3.1 CONFRONTO FRA PAZIENTI CIRCI POSITIVI E CIRCI NEGATIVI

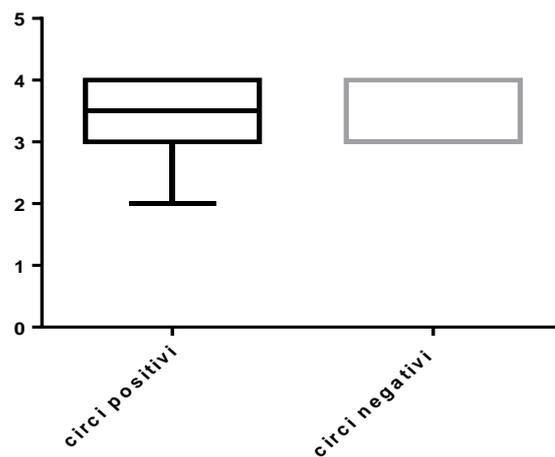
Considerando quindi un  $\Delta$  cortisolo  $\leq 3$  come diagnostico di CIRCI, sono stati valutati i valori di MAP, WBC, neutrofili banda, lattati, glicemia, CRP e grading di SIRS all'interno dei 2 gruppi, CIRCI positivi e CIRCI negativi.

Il primo valore preso in considerazione è stato il grading di SIRS confrontato tra i due gruppi.

	<b>CIRCI POSITIVI</b>	<b>CIRCI NEGATIVI</b>	<b>CASI TOTALI</b>
<b>Grading di SIRS</b>	3,0	3,0	
	3,0	3,0	
	3,0	3,0	
	2,0	4,0	
	4,0	4,0	
	4,0	4,0	
	3,0	3,0	
	4,0	3,0	
	4,0	4,0	
	4,0	3,0	
		3,0	
<b>MEDIA e <math>\sigma</math></b>	<b>3,40 <math>\pm</math> 0,70</b>	<b>3,36 <math>\pm</math> 0,505</b>	<b>3,381 <math>\pm</math> 0,59</b>
<b>MEDIANA e RANGE</b>	<b>3,50 (2-4)</b>	<b>3,00 (3-4)</b>	<b>3,00 (2-4)</b>

**Tabella 6: Grading di SIRS nei singoli casi e Media, deviazione standard, Mediana e range nei CIRCI positivi, CIRCI negativi e totalità dei pazienti**

Tra i due gruppi non è stata riscontrata alcuna differenza significativa (P=0,8920).



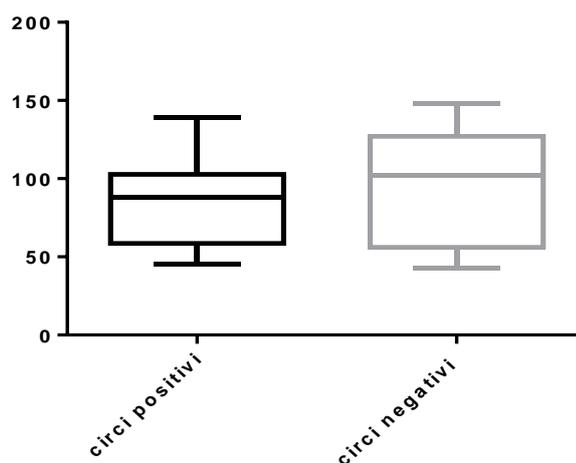
*Grafico 4.1: Grading di SIRS nei cani CIRCI positivi e CIRCI negativi*

Per quanto riguarda la pressione arteriosa media (MAP), come si può vedere dalla tabella 6, 3 cani nel gruppo dei CIRCI positivi e 4 cani nel gruppo dei CIRCI negativi hanno sperimentato ipotensione.

	<b>CIRCI POSITIVI</b>	<b>CIRCI NEGATIVI</b>	<b>CASI TOTALI</b>
<b>MAP</b>  (intervallo di riferimento 80-130 mm Hg  Ipotensione = MAP < 60 mm Hg)	139,0	148,0	
	108,0	122,0	
	57,0	130,0	
	45,0	127,0	
	88,0	95,0	
	101,0	53,0	
	92,0	102,0	
	59,0	59,0	
	88,0	43,0	
	73,0	56,0	
		111,0	
<b>MEDIA e <math>\sigma</math></b>	85,00 $\pm$ 27,83	95,09 $\pm$ 36,57	90,29 $\pm$ 32,31
<b>MEDIANA e RANGE</b>	88,00 (45-139)	102,0 (43-148)	92,00 (43-148)

**Tabella 7: MAP nei singoli casi e Media, deviazione standard, Mediana e range nei CIRCI positivi, CIRCI negativi e totalità dei pazienti**

Come si può notare sia la media che la mediana della MAP dei cani in CIRCI sono inferiori a quelle dei cani in cui non si verifica tale condizione, anche se il dato non raggiunge significatività statistica ( $P= 0,4889$ ).



**Grafico 4.2: MAP nei cani CIRCI positivi e CIRCI negativi.**

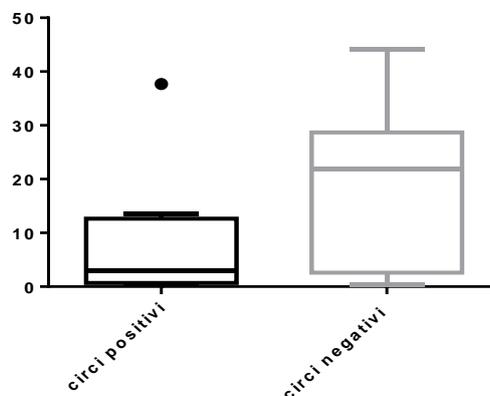
Tra i due parametri  $\Delta$  cortisolo e MAP non è stata riscontrata una correlazione significativa all'analisi con test statistico di Spearman ( $P=0,3890$ ).

Altro parametro preso in considerazione sono stati i WBC.

	<b>CIRCI POSITIVI</b>	<b>CIRCI NEGATIVI</b>	<b>CASI TOTALI</b>
<b>WBC</b> (intervallo di riferimento 5,05- 16,76 x 10 <sup>3</sup> /μl)	12,30	24,20	
	13,60	2,60	
	37,70	0,40	
	2,00	20,70	
	3,20	28,70	
	2,70	21,80	
	0,80	40,30	
	0,24	1,43	
	0,35	27,12	
	7,48	44,08	
		7,15	
<b>MEDIA e <math>\sigma</math></b>	8,037 ± 11,50	19,86 ± 15,29	14,23 ± 14,59
<b>MEDIANA e RANGE</b>	2,950 (0,24-37,70)	21,80 (0,40-44,08)	7,480 (0,24- 44,08)

**Tabella 8: WBC nei singoli casi e Media, deviazione standard, Mediana e range nei CIRCI positivi, CIRCI negativi e totalità dei pazienti**

Come si può vedere tra i CIRCI positivi prevale la leucopenia (6/10), tra i CIRCI negativi la leucocitosi (7/11). Le medie e le mediane dei WBC nei cani in CIRCI sono inferiori rispetto a quelle dei cani non in CIRCI, al limite della significatività statistica ( $P=0,0616$ ).



**Grafico 4.3: WBC nei cani CIRCI positivi e CIRCI negativi.**

La percentuale di neutrofili banda è un altro parametro preso in considerazione. Un caso è stato censurato da quest'analisi statistica in quanto presentava un valore outlier, cioè un valore aberrante che si distanzia chiaramente dagli altri dati e che se incluso può portare a un'analisi statistica fuorviante.

	<b>CIRCI POSITIVI</b>	<b>CIRCI NEGATIVI</b>	<b>CASI TOTALI</b>
<b>Neutrofili banda</b> (intervallo di riferimento 0-3%)	5,0	0,00	
	4,0	0,00	
	4,0	0,00	
	4,0	0,00	
	16,0	0,00	
	10,0	30,00	
	0,0	4,00	
	6,0	18,00	
	4,0	0,00	
	13,0	0,00	
<b>MEDIA e <math>\sigma</math></b>	6,600 $\pm$ 4,881	5,20 $\pm$ 10,38	5,90 $\pm$ 7,93
<b>MEDIANA e RANGE</b>	4,500 (0-16)	0,0 (0-30)	4,000 (0-30)

**Tabella 9: Neutrofili banda nei singoli casi e Media, deviazione standard, Mediana e range nei CIRCI positivi, CIRCI negativi e totalità dei pazienti**

Come si può notare tutti i pazienti in CIRCI escluso 1 presentavano neutrofili banda oltre il 3 %; nei CIRCI negativi solo 3 su 10 pazienti presentavano neutrofili banda, sempre oltre il 3 %, anche se un paziente all'interno di questo gruppo aveva un valore piuttosto elevato. Medie e mediane di neutrofili banda sono maggiori nei CIRCI positivi rispetto ai CIRCI negativi, ma le differenze non raggiungono significatività statistica (P=0,0656).

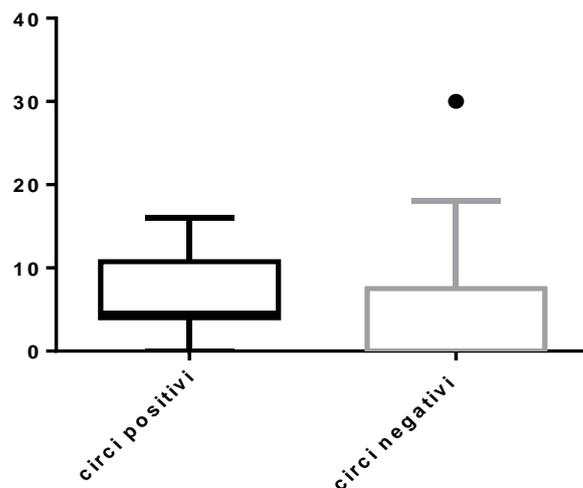


Grafico 4.4: Neutrofili banda nei cani CIRCI positivi e CIRCI negativi

L'iperlattatemia si è verificata in 5 pazienti CIRCI positivi e in 5 pazienti CIRCI negativi. Media e mediana di questo parametro sono risultate quasi sovrapponibili nei due gruppi e l'analisi statistica non ha riscontrato alcuna differenza significativa ( $P > 0,9999$ )

	<b>CIRCI POSITIVI</b>	<b>CIRCI NEGATIVI</b>	<b>CASI TOTALI</b>
<b>Lattati ematici</b> (intervallo di riferimento 0,5- 2,5 mmol/L)	1,0	2,1	
	1,2	3,4	
	5,0	1,6	
	5,2	2,3	
	5,2	2,0	
	1,3	7,4	
	1,5	1,6	
	3,2	3,0	
	1,3	3,1	
	3,3	5,0	
		1,7	
<b>MEDIA e <math>\sigma</math></b>	2,820 $\pm$ 1,787	3,018 $\pm$ 1,773	2,924 $\pm$ 1,738
<b>MEDIANA e RANGE</b>	2,350 (1-5,2)	2,300 (1,6-7,4)	2,300 (1-7,4)

Tabella 10: Lattati ematici nei singoli casi e Media, deviazione standard, Mediana e range nei CIRC positivi, CIRC negativi e totalità dei pazienti

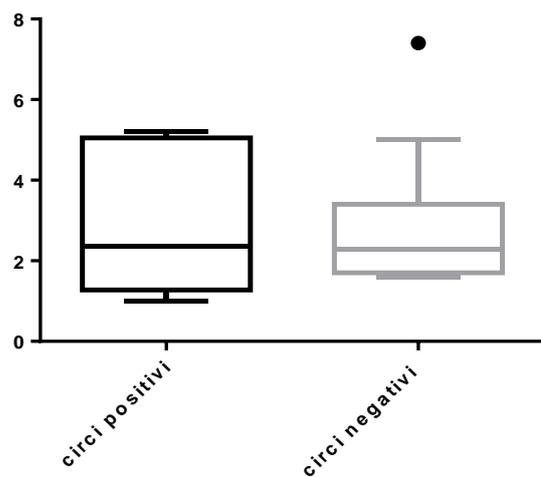


Grafico 4.5: Lattati ematici nei cani CIRCI positivi e CIRCI negativi

L'ipoglicemia si è verificata in 6 pazienti CIRC positivi e in 7 pazienti CIRC negativi. Non sono state riscontrate differenze significative fra i due gruppi ( $P=0,5178$ ).

	<b>CIRCI POSITIVI</b>	<b>CIRCI NEGATIVI</b>	<b>CASI TOTALI</b>
<b>Glucosio ematico</b> (intervallo di riferimento 80- 125 mg/dL)	65,0	126,0	
	104,0	96,0	
	42,0	63,0	
	66,0	66,0	
	47,0	50,0	
	138,0	53,0	
	78,0	66,0	
	110,0	54,0	
	131,0	60,0	
	75,0	123,0	
		88,0	
MEDIA e $\sigma$	85,60 $\pm$ 33,52	76,82 $\pm$ 27,49	81,00 $\pm$ 30,06
MEDIANA e RANGE	76,50 (42-138)	66,00 (50-126)	66,00 (42-138)

Tabella 11: Glicemia nei singoli casi e Media, deviazione standard, Mediana e range nei CIRC positivi, CIRC negativi e totalità dei pazienti

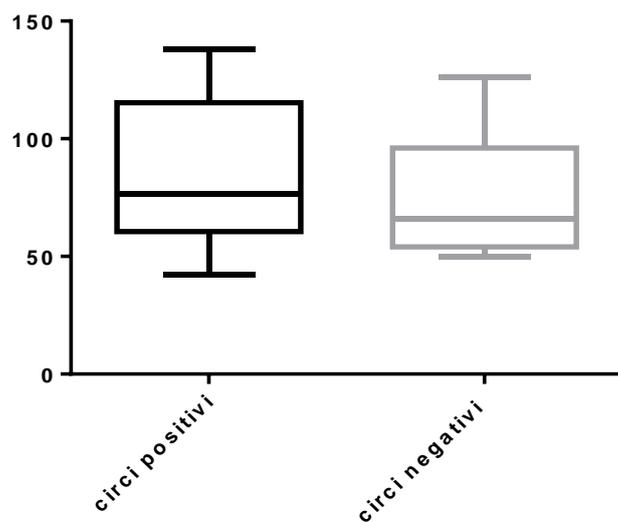


Grafico 4.6: Glicemia nei cani CIRCI positivi e CIRCI negativi

Per quanto riguarda la CRP, risultava aumentata in tutti i pazienti eccetto uno (CIRCI negativo).

	<b>CIRCI POSITIVI</b>	<b>CIRCI NEGATIVI</b>	<b>CASI TOTALI</b>
<b>CRP</b> (intervallo di riferimento 0,00-0,30 mg/dL)	6,3	1,4	
	3,0	1,5	
	5,0	1,5	
	4,5	0,7	
	3,4	2,7	
	3,0	0,1	
	2,0	3,0	
	3,5	1,5	
	2,0	3,3	
	1,7	2,7	
		4,3	
MEDIA e $\sigma$	3,440 $\pm$ 1,465	2,064 $\pm$ 1,238	2,719 $\pm$ 1,493
MEDIANA e RANGE	3,200 (1,70-6,30)	1,500 (0,10-4,30)	2,700 (0,10-6,30)

Tabella 12: CRP nei singoli casi e Media, deviazione standard, Mediana e range nei CIRCI positivi, CIRCI negativi e totalità dei pazienti

Come si può vedere sia la media che la mediana della concentrazione di CRP nei pazienti in CIRCI sono maggiori rispetto a quelle dei pazienti non in CIRCI, e la differenza è risultata significativa ( $P=0,0308$ ).

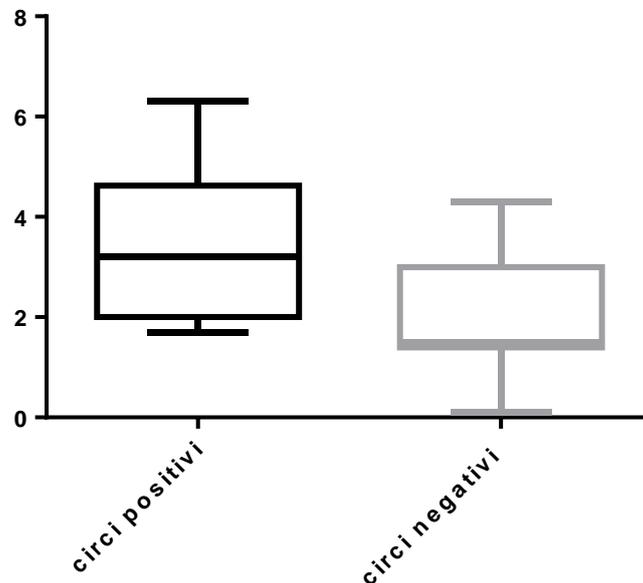


Grafico 4.7: CRP nei cani CIRCI positivi e CIRCI negativi

### 3.3.2 OUTCOME NEI PAZIENTI TRATTATI

Nel totale dei 21 pazienti, 9 cani sono deceduti e 5 sono stati sottoposti a eutanasia per le gravi condizioni di salute durante l'ospedalizzazione, mentre 7 cani sono stati dimessi ed erano tutti vivi a 28 giorni dall'inclusione nello studio. La sopravvivenza totale è stata del 33,33%.

Il confronto fra le curve di sopravvivenza in base ai vari parametri scelti e le altre analisi statistiche effettuate tra sopravvissuti e non sopravvissuti sono state condotte però solo nei 14 pazienti trattati con idrocortisone senza comprendere il gruppo di controllo, per evitare l'eventuale influenza del trattamento sull'outcome. Fra i 14 pazienti trattati, 7 sono deceduti durante l'ospedalizzazione, 2 sono stati sottoposti a eutanasia per le gravi condizioni di salute e 5 sono sopravvissuti e erano ancora tutti vivi a 28 giorni dall'inclusione nello studio (sopravvivenza 35,7 %).

Innanzitutto è stato confrontato il Grading di SIRS nel gruppo dei sopravvissuti (media  $3,200 \pm 0,4472$ , mediana 3,000 (3-4)) e in quello dei non sopravvissuti (media  $3,333 \pm 0,7071$ , mediana

3,000 (2-4)), senza evidenza di differenze significative a conferma dell'omogeneità del campione (P=0,7121).

Una volta accertata la presenza di CIRCI nei pazienti in SIRS, un altro obiettivo fondamentale dello studio era valutare se la CIRCI fosse correlata all'outcome di tali pazienti.

Innanzitutto quindi sono stati confrontati i valori di  $\Delta$  cortisolo nei pazienti sopravvissuti e non sopravvissuti.

	<b>SOPRAVVISSUTI</b>	<b>NON SOPRAVVISSUTI</b>	<b>CASI TOTALI</b>
<b><math>\Delta</math> CORTISOLO (<math>\mu\text{g/dL}</math>)</b>	7,60	5,06	
	19,97	12,80	
	-0,09	48,35	
	-0,14	11,62	
	2,60	1,48	
		-10,48	
		0,18	
		9,95	
<b>MEDIA E <math>\sigma</math></b>	5,988 $\pm$ 8,427	8,831 $\pm$ 16,48	7,816 $\pm$ 13,82
<b>MEDIANA E RANGE</b>	2,600 (-0,14 - 19,97)	5,060 (-10,48 - 48,35)	3,830 (-0,14 - 19,97)

**Tabella 7: Valori di  $\Delta$  cortisolo nei singoli casi e media, deviazione standard, mediana e range nei pazienti trattati sopravvissuti e non sopravvissuti**

Come si può notare dalla tabella, all'interno del gruppo dei sopravvissuti 3 pazienti su 5 presentavano un  $\Delta$  cortisolo  $\leq 3 \mu\text{g/dL}$ , indicativo di CIRCI, mentre fra i non sopravvissuti la CIRCI si è verificata in 4 casi su 9.

I cani sopravvissuti hanno una media e una mediana di  $\Delta$  cortisolo minore rispetto alla media e alla mediana dei deceduti; la differenza non è risultata però statisticamente significativa (P=0,6533).

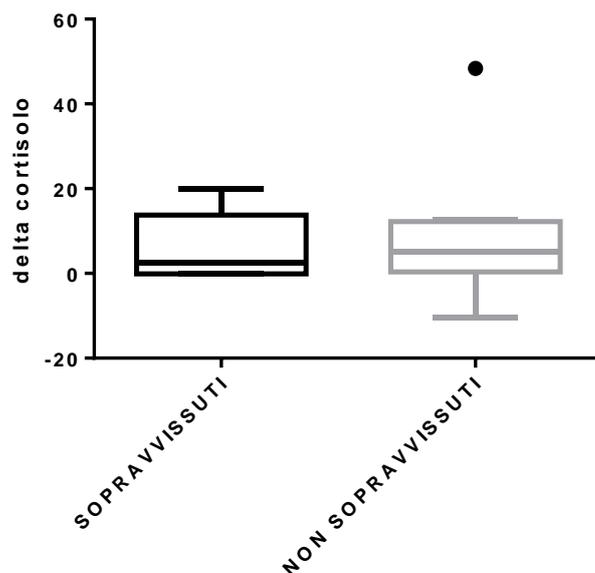


Grafico 5.1:  $\Delta$  Cortisolo nei pazienti sopravvissuti e non sopravvissuti

Fra i cani in CIRCI, 4 sono morti e 3 sono sopravvissuti (sopravvivenza 43%); fra i cani senza CIRCI 5 sono morti e 2 sono sopravvissuti (sopravvivenza 29%). Il tempo medio di sopravvivenza nei cani in CIRCI è risultato di 3 giorni, contro i 2,08 giorni dei cani non in CIRCI. L'analisi statistica non ha riscontrato differenze statisticamente significative fra la curva di sopravvivenza dei pazienti in CIRCI e quella dei pazienti non in CIRCI ( $P=0,7952$ ).

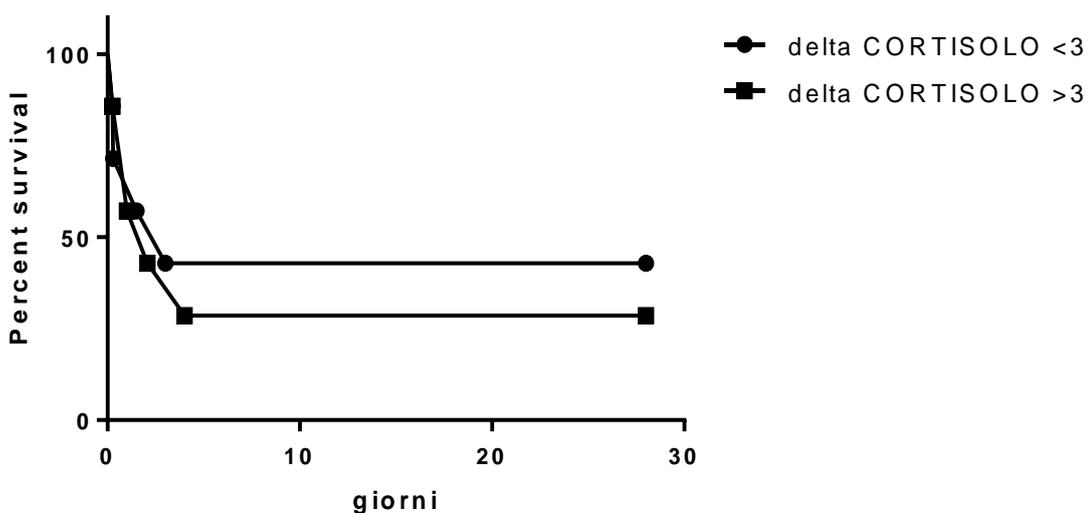


Grafico 6.1: Curva di sopravvivenza nei pazienti CIRCI positivi e CIRCI negativi

È stata valutata anche, con il test esatto di Fisher, la probabilità di morte nei pazienti in base alla presenza o meno di una condizione di CIRCI: anche in questo caso non è stata trovata un'associazione significativa (P=1,0000).

Con lo stesso test la probabilità di morte è stata valutata anche per altri parametri e solo l'aumento oltre il range del cortisolo basale (P=0,0050) e la leucocitosi (P=0,0310) risultano esporre il paziente a una maggiore probabilità di morte in modo statisticamente significativo. Aumento del cortisolo post ACTH (P=0,2657), aumento del cortisolo in % < 5 (P=1), ipotensione (P=0,2582), leucopenia (P=0,0909), % di neutrofili banda oltre il 3% (P=0,5804), iperlattatemia (P=1), ipoglicemia (P=1) e aumento di CRP (P=1) non sono correlati alla maggiore probabilità di morte in modo statisticamente significativo.

Per quanto riguarda il cortisolo basale e la MAP sono state verificate anche eventuali differenze significative fra i due gruppi.

Come si può notare dalla tabella, solo un cane fra i 5 sopravvissuti presentava un aumento del cortisolo basale oltre il limite massimo, mentre tutti e 9 i cani non sopravvissuti presentavano un aumento oltre il limite massimo. La media e la mediana nei non sopravvissuti sono notevolmente superiori rispetto ai sopravvissuti, e la differenza è risultata statisticamente significativa (P=0,0295).

	<b>SOPRAVVISSUTI</b>	<b>NON SOPRAVVISSUTI</b>	<b>CASI TOTALI</b>
<b>CORTISOLO BASEALE</b> (intervallo di riferimento 1-5 µg/dL)	10,10	10,96	
	1,84	21,36	
	1,36	20,65	
	4,96	7,28	
	4,73	34,89	
		34,40	
		8,77	
		8,92	
		9,01	
MEDIA e $\sigma$	4,598 ± 3,483	17,36 ± 11,08	12,80 ± 10,93
MEDIANA e RANGE	4,730 (1,36-10,10)	10,96 (7,28-34,89)	8,965 (1,36-34,89)

Tabella 8: Valori di cortisolo basale nei singoli casi e media, deviazione standard, mediana e range nei pazienti trattati sopravvissuti e non sopravvissuti

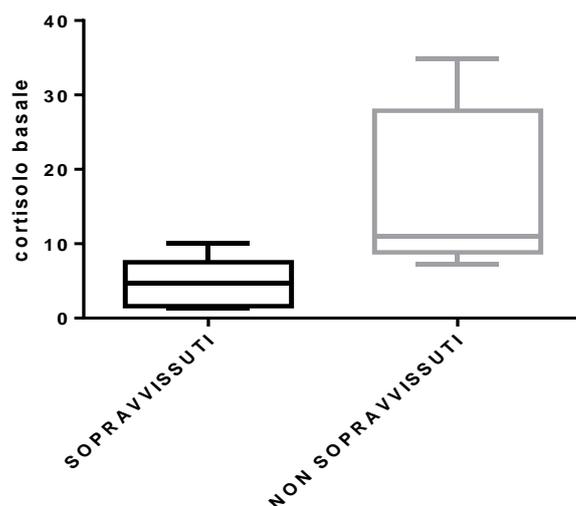


Grafico 5.2 Cortisolo basale nei pazienti sopravvissuti e non sopravvissuti.

Per quanto riguarda la MAP, tutti e 3 i pazienti che presentavano ipotensione sono morti, e media e mediana nei non sopravvissuti sono notevolmente inferiori rispetto ai sopravvissuti, ma la differenza non è risultata statisticamente significativa ( $P=0,2476$ ).

	SOPRAVVISSUTI	NON SOPRAVVISSUTI	CASI TOTALI
<b>MAP</b> (intervallo di riferimento 80-130 mm Hg Ipotensione = MAP < 60 mm hG)	122,0	148,0	
	130,0	127,0	
	139,0	95,0	
	88,0	53,0	
	92,0	108,0	
		57,0	
		45,0	
		102,0	
		101,0	
<b>MEDIA e <math>\sigma</math></b>	114,2 $\pm$ 22,94	92,89 $\pm$ 34,92	100,5 $\pm$ 32,01
<b>MEDIANA e RANGE</b>	122,0 (88-139)	101,0 (45-148)	101,5 (45-148)

Tabella 9: Valori di MAP nei singoli casi e media, deviazione standard, mediana e range nei pazienti trattati sopravvissuti e non sopravvissuti

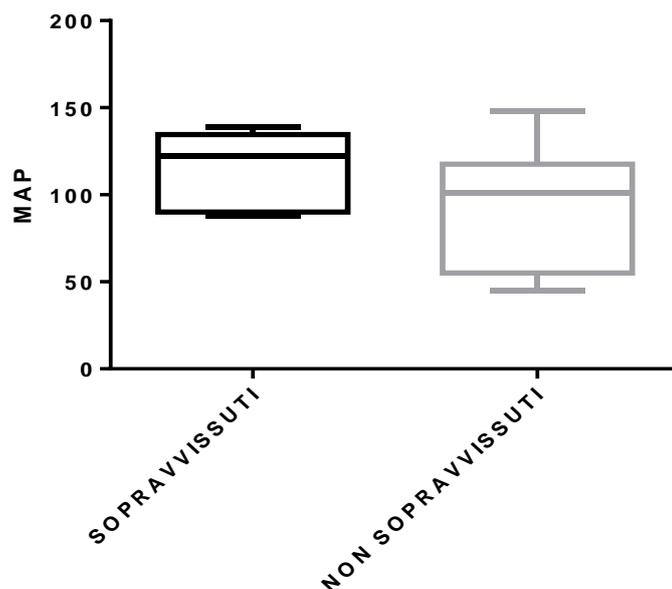


Grafico 5.3: MAP nei pazienti sopravvissuti e non sopravvissuti

Sono state quindi realizzate le curve di sopravvivenza prendendo in considerazione diverse condizioni oltre alla già valutata presenza di CIRCI.

Sono state riscontrate differenze significative fra le curve di sopravvivenza dei pazienti con e senza ipotensione ( $P=0,0041$ ), con e senza leucocitosi ( $P=0,0145$ ) e con e senza ipercortisolemia basale ( $P=0,0067$ ).

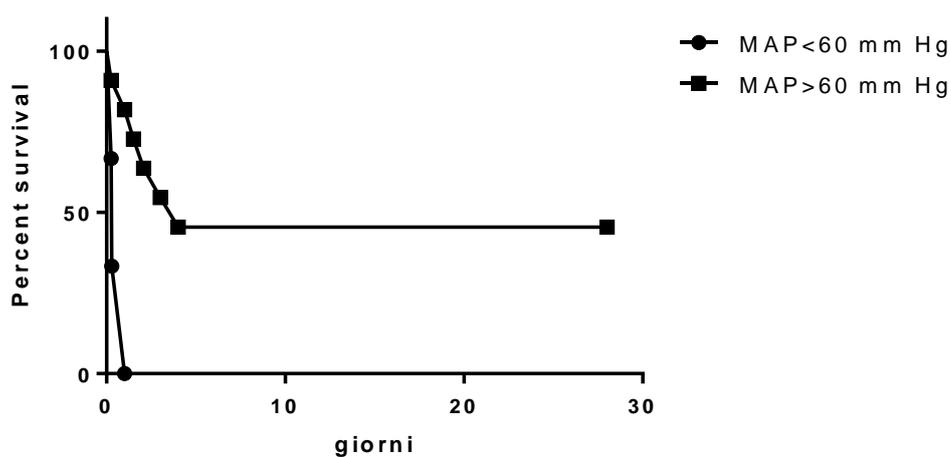


Grafico 6.2: Curva di sopravvivenza nei pazienti ipotesesi e non ipotesesi

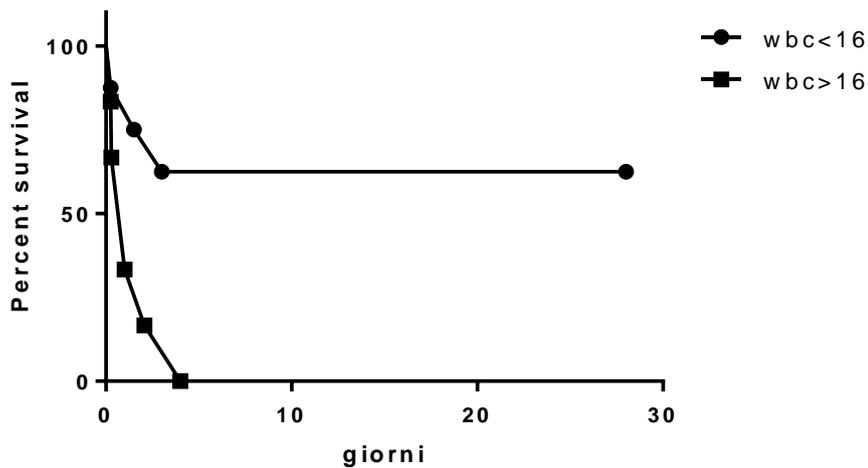


Grafico 6.3: Curva di sopravvivenza nei pazienti con e senza leucocitosi

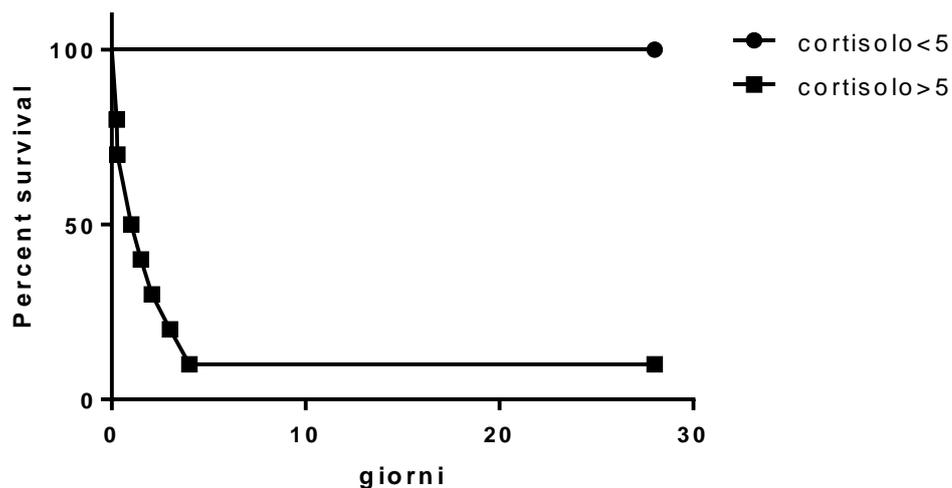


Grafico 6.4: Curva di sopravvivenza nei pazienti con e senza ipercortisolemia basale

Non sono state riscontrate invece differenze significative fra le curve di sopravvivenza dei pazienti con o senza ipercortisolemia post ACTH ( $P=0,1342$ ), aumento di cortisolo inferiore al 5% ( $P=0,7804$ ), leucopenia ( $P=0,1113$ ), presenza di neutrofili banda oltre il 3% ( $P=0,3467$ ), iperlattatemia ( $P=0,8135$ ), ipoglicemia ( $P=0,8027$ ). Non è stato eseguito il confronto fra le curve di sopravvivenza dei pazienti con e senza aumento della CRP perché un solo paziente nello studio non presentava un aumento della sua concentrazione, e non aveva quindi senso confrontare un solo caso con i restanti pazienti.

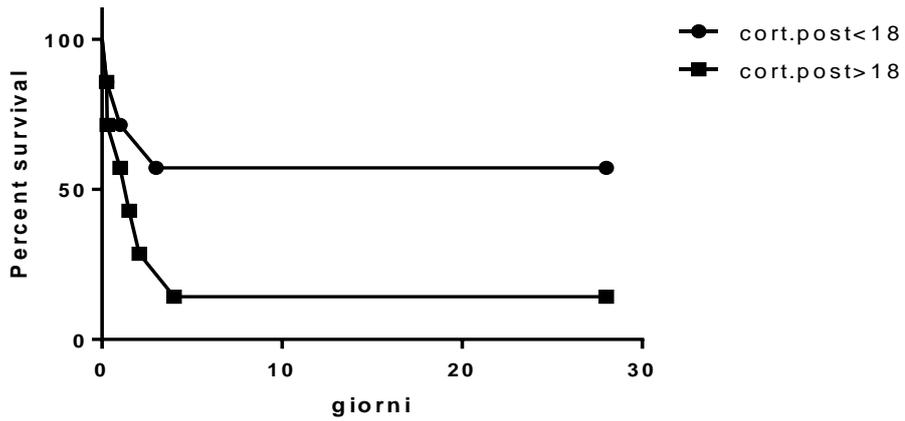


Grafico 6.5: Curva di sopravvivenza nei pazienti con e senza ipercortisolemia post ACTH

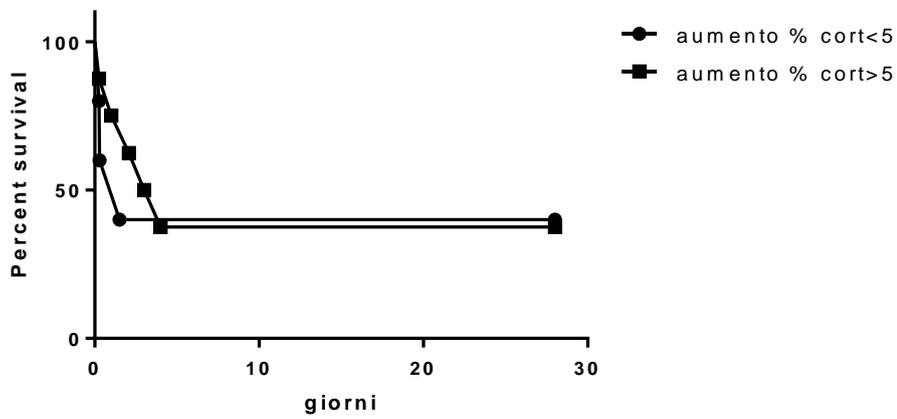


Grafico 6.6: Curva di sopravvivenza nei pazienti con o senza aumento % di cortisolo inferiore a 5 µg/dL

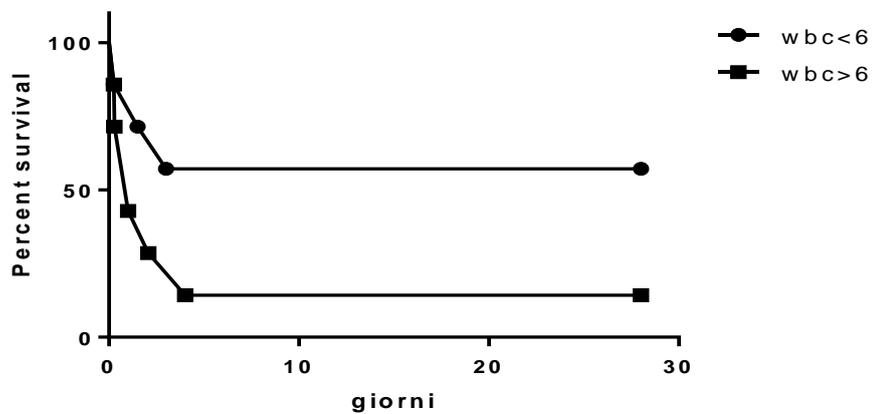


Grafico 6.7: curva di sopravvivenza nei pazienti con e senza leucopenia

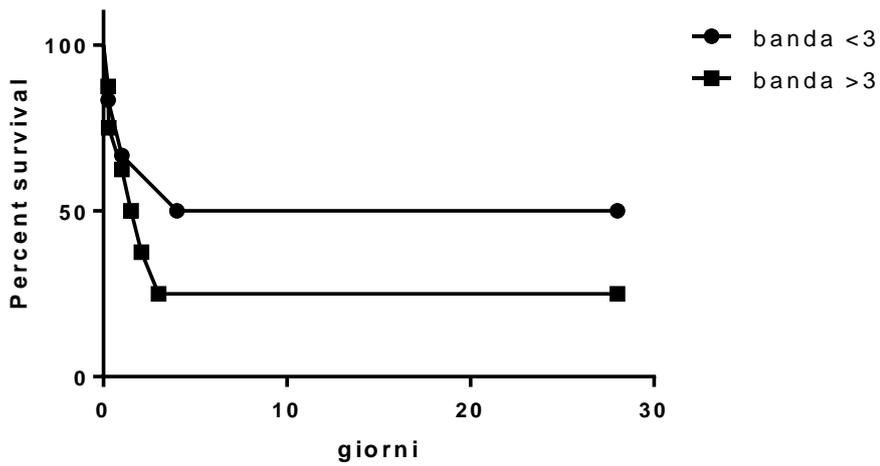


Grafico 6.8: Curva di sopravvivenza nei pazienti con e senza Neutrofili banda > 3 %

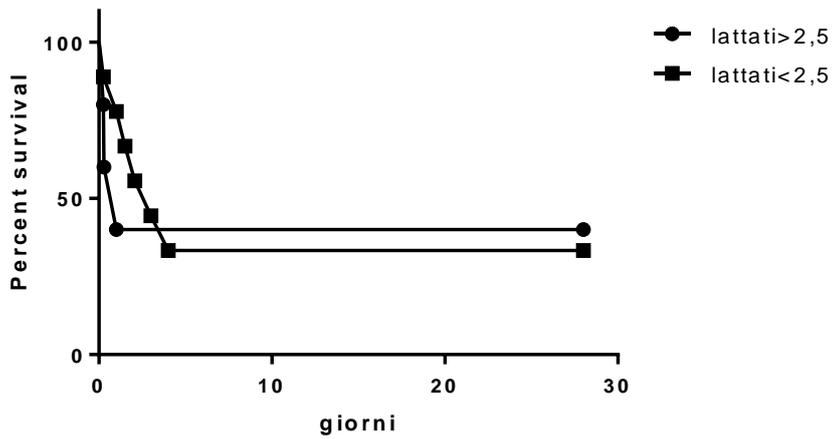


Grafico 6.9: Curva di sopravvivenza nei pazienti con e senza iperlattatemia

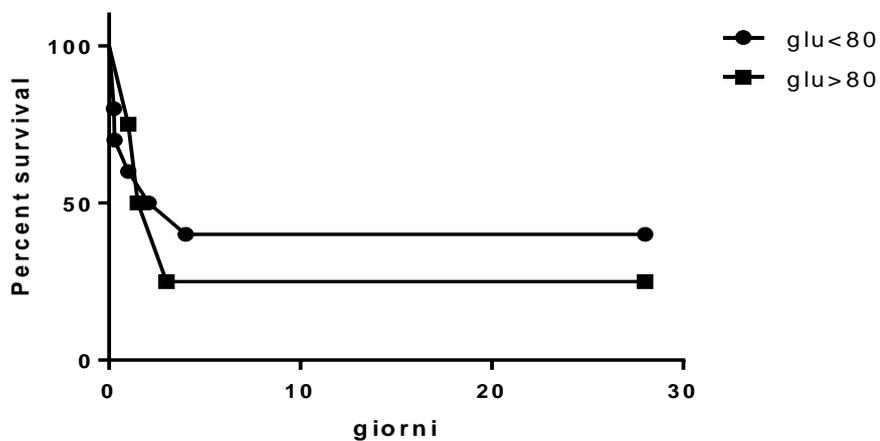
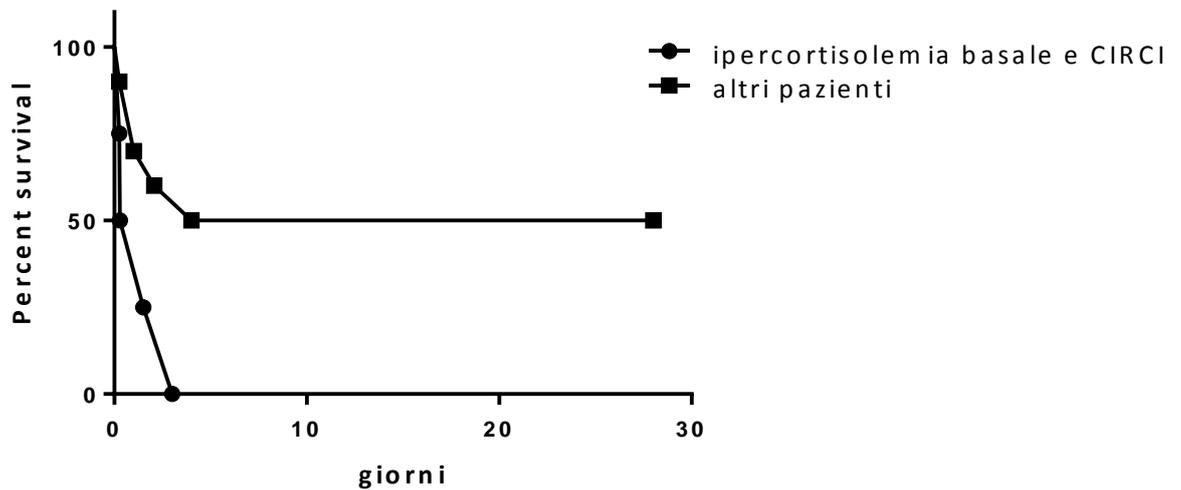


Grafico 6.10: Curva di sopravvivenza nei pazienti con e senza ipoglicemia

Infine sono stati presi in considerazione quei pazienti che manifestavano contemporaneamente una condizione di CIRCI e un' ipercortisolemia basale ed è stato notato che questo sottogruppo di pazienti presentava una mortalità del 100%; è stato quindi valutato se la loro curva di sopravvivenza fosse significativamente diversa da quella dei restanti pazienti.

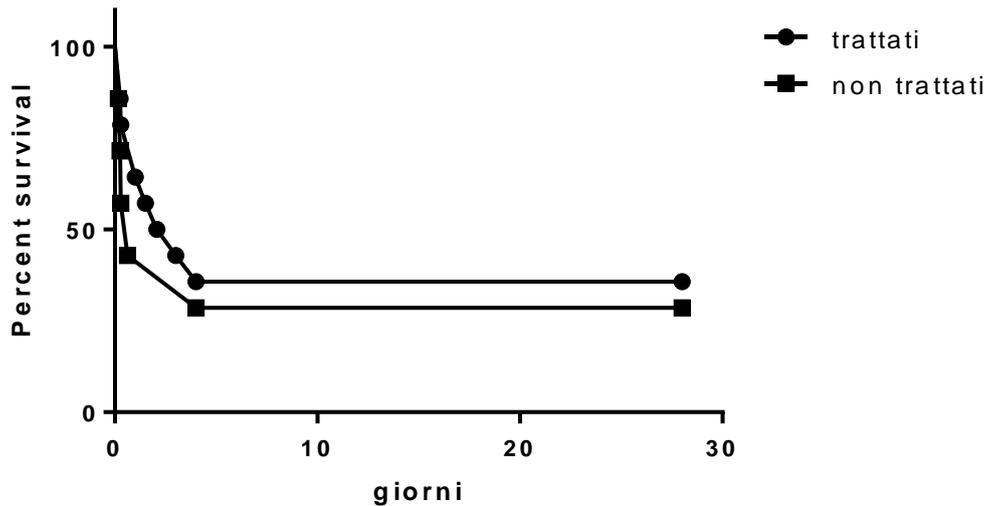


*Grafico 6.11: Curva di sopravvivenza dei pazienti con contemporanea ipercortisolemia basale e CIRCI*

È stato quindi dimostrato che i pazienti che presentano ipercortisolemia basale e CIRCI contemporaneamente hanno una minor sopravvivenza rispetto a quelli che non la presentano e il dato ha raggiunto la significatività statistica ( $P=0,0366$ )

### 3.3.3 OUTCOME NEI PAZIENTI TRATTATI E NON TRATTATI

Infine è stata confrontata la curva di sopravvivenza dei 14 pazienti inclusi nello studio e trattati con idrocortisone e dei 7 pazienti appartenenti al gruppo di controllo. Nel gruppo di studio la sopravvivenza è stata del 35,7%. Nel gruppo di controllo sono sopravvissuti 2 pazienti su 7 (sopravvivenza 28,6%). Non sono state riscontrate differenze statisticamente significative fra le due curve di sopravvivenza ( $P=0,5428$ ).



*Grafico 8: Curva di sopravvivenza nei pazienti trattati inclusi nello studio e nei pazienti non trattati appartenenti al gruppo di controllo*

### 3.4 DISCUSSIONI

Il presente studio ha previsto come criterio d'inclusione pazienti che richiedevano ricovero con cure intensive e rientravano nei parametri di SIRS, adottando i criteri diagnostici proposti nel 1997 da Hauptman et al<sup>(2)</sup>, visto che sono state dimostrate una buona sensibilità (97%) e specificità (64%)<sup>(2)</sup>, oltre ad essere quelli adottati nella maggior parte degli studi più recenti riguardanti la SIRS, citati nei libri di medicina d'urgenza<sup>(20)</sup> e nel recente congresso di medicina d'urgenza svolto a Praga nel 2014<sup>(109)</sup>.

Per quanto riguarda questi criteri di SIRS, l'anormalità riscontrata più frequentemente nel gruppo di studio è stata l'alterazione della conta leucocitaria, riscontrabile nel 100 % dei pazienti, seguita dall'alterazione della temperatura rettale nell'85,75 % dei pazienti e poi da tachicardia e tachipnea riscontrabili entrambe nel 76,19 % dei cani; i dati collimano con quanto riportato in letteratura, anche se le percentuali delle suddette alterazioni in questo studio sono leggermente maggiori di quanto riportato dalla maggior parte degli studi<sup>(2,9,558,466)</sup>. Per quanto concerne l'inquadramento generale del paziente la sintomatologia e le alterazioni laboratoristiche riscontrate nei nostri pazienti si sovrappongono con quanto riportato in letteratura; sono riscontrati nella totalità dei casi sintomi aspecifici di anoressia e abbattimento, a conferma del risentimento sistemico del paziente, elevata frequenza di segni gastroenterici e dolore addominale, sia perché la patologia scatenante era nella maggioranza dei casi gastroenterica sia perché questo apparato nel cane è quello che più risente delle alterazioni della perfusione in questi stati, considerato infatti in questa specie l'organo dello shock. Spesso i pazienti alla presentazione mostravano già segni di shock, quali assenza di polso e mucose pallide o congeste, frequentemente associati a stupor e tetraparesi. Tutti i pazienti presentavano alterazioni della formula leucocitaria, con leucocitosi (e neutrofilia) e leucopenia (e neutropenia) più o meno equamente rappresentate; la leucocitosi neutrofilica può essere dovuta al reclutamento di neutrofili maturi dal pool marginale al pool circolante, alla mobilitazione di neutrofili maturi e immaturi dal midollo osseo e a un'umentata leucopoiesi, mentre la leucopenia può essere il risultato di una deplezione dei precursori dei granulociti nel midollo osseo, di un arresto nella maturazione dei granulociti e di una migrazione nel sito di infezione di un numero eccessivo di leucociti rispetto alla capacità di rinnovo del midollo osseo. Frequentemente si è riscontrato un leucogramma da stress, caratterizzato da neutrofilia, eosinopenia, linfopenia e monocitosi, al contrario di quanto si verifica nell'ipoadrenocorticismo assoluto in cui si ha spesso eosinofilia e linfocitosi. Anche anemia e trombocitopenia si sono verificate in un elevato numero di pazienti, compatibilmente con i meccanismi patogenetici di SIRS (perdita ematica, ridotta produzione, aumentata distruzione, sviluppo di CID). Fra le alterazioni biochimiche più frequenti abbiamo riscontrato aumento della CRP, ipoglicemia e

iperlattatemia, discusse in seguito, così come ipoproteinemia e in particolare ipoalbuminemia, compatibile sia con lo stato infiammatorio che con le possibili perdite gastroenteriche o nel terzo spazio, e iperazotemia, aumento di enzimi epatici e bilirubina, indicativi della comparsa di disfunzioni epatiche e renali. Dall'esame emogas analitico è emersa la netta prevalenza di acidosi metabolica, compatibile con l'ipoperfusione tissutale; per quanto riguarda gli squilibri elettrolitici prevalgono l'ipokaliemia e l'ipocalcemia, probabilmente per le consistenti perdite, esempio a livello gastroenterico, in atto in questi pazienti, mentre iperkaliemia e iponatremia erano molto rare.

Fra le conseguenze di una SIRS/sepsi frequente è lo sviluppo di MODS e fra le funzioni organiche che possono andare incontro a compromissione vi è anche quella surrenalica, con il quadro clinico della CIRCI. Nel nostro studio l'incidenza di CIRCI è stata del 48 %. Nello studio di Burkitt risalente al 2007 su 33 cani in sepsi<sup>(466)</sup> l'incidenza valutata con lo stesso criterio diagnostico era del 48 %, quindi sovrapponibile con il nostro risultato. In entrambi gli studi è stato adottato come criterio diagnostico un  $\Delta$  cortisolo  $\leq 3\mu\text{g/dL}$ . Non ci sono studi che stabiliscano un valore di riferimento per il  $\Delta$  cortisolo né nei pazienti sani né nei pazienti affetti da patologie non surrenaliche, ma lo stesso studio di Burkitt ha dimostrato che più della metà dei cani settici aveva un  $\Delta$  cortisolo inferiore al più basso livello di  $\Delta$  cortisolo riscontrato nel gruppo di controllo costituito da cani sani (con mediana di delta cortisolo nei cani settici  $4,3\mu\text{g/dL}$  e range di delta cortisolo nei cani di controllo  $5,7-12,9\mu\text{g/dL}$ ). Inoltre nello stesso studio si rileva che il cut-off di  $\Delta$  cortisolo di  $3\mu\text{g/dL}$  era il più accurato nel predire ipotensione, sopravvivenza alle dimissioni e sopravvivenza a 28 g, per cui è stato proposto come criterio diagnostico di CIRCI. Burkitt aveva scelto di adottare il delta cortisolo come criterio diagnostico di CIRCI basandosi sulla medicina umana; ad oggi non è stato ancora raggiunto un pieno accordo sui criteri diagnostici per identificarla<sup>(404)</sup>, sebbene il consenso del 2008 dell'American College of Critical Care Medicine<sup>(401)</sup> proponga come criteri diagnostici di CIRCI concentrazioni di  $\Delta$  cortisolo  $\leq 9\mu\text{g/dL}$ . Nello studio di Martin del 2008 su 31 cani in sepsi, torsione di stomaco e traumatizzati<sup>(467)</sup> è riportato che il 55 % dei pazienti presentava almeno un'anormalità biochimica suggestiva di insufficiente funzione surrenalica o pituitaria, e un  $\Delta$  cortisolo  $\leq 3\mu\text{g/dL}$  veniva riscontrato nel 22,58% dei casi. Due studi precedenti a questi avevano indagato la funzione surrenale nei cani critici<sup>(464)</sup> e nei cani affetti da patologie non surrenaliche<sup>(465)</sup> e non avevano identificato una disfunzione surrenalica, basandosi sul fatto che nessun cane presentava cortisolo post ACTH inferiore al limite di normalità, ma non avevano valutato il  $\Delta$  cortisolo; inoltre in uno studio solo il 40% dei cani erano critici acuti<sup>(64)</sup>, e anche nell'altro i pazienti erano tipicamente affetti da patologie croniche<sup>(465)</sup>.

Il nostro studio conferma quindi l'esistenza della condizione di CIRCI nei pazienti canini malati critici acuti, e in particolare nei pazienti in SIRS, ed è il primo studio ad oggi in cui questa

patologia viene ricercata nello specifico in pazienti in SIRS; i due studi precedenti infatti avevano dimostrato la patologia prima in corso di sepsi e poi in una popolazione che comprendeva pazienti settici, in torsione di stomaco e traumatizzati gravi.

Fra i pazienti in CIRCI nessuno aveva cortisolo basale inferiore al range di normalità e solo il 20 % aveva cortisolo post ACTH inferiore al range di normalità e ciò fa capire come la valutazione del solo cortisolo basale, e nella maggior parte dei casi anche del cortisolo basale e del cortisolo post ACTH congiunti, non sia sufficiente per identificare i pazienti critici con una potenziale disfunzione surrenalica, ma si rende necessario valutare il  $\Delta$  cortisolo. Il 70 % dei pazienti in CIRCI presentava un incremento percentuale di cortisolo inferiore a 5, a indicare che questo parametro individua invece una buona percentuale di pazienti in CIRCI, ma comunque inferiore rispetto al  $\Delta$  cortisolo. Anche negli studi sopracitati nessun paziente aveva mai mostrato un valore di cortisolo basale inferiore al range di riferimento. Come afferma il Consensus umano del 2008 sulla CIRCI<sup>(401)</sup> infatti, l'insufficienza corticosteroidica correlata a malattie critiche è un'attività corticosteroidica inadeguata per la gravità del processo patologico del paziente, non un'insufficienza surrenalica, e non esclude quindi la presenza di normali o elevati livelli ematici di cortisolo, che possono essere però insufficienti per quel paziente per fronteggiare il grado di stress in quel momento. In effetti nel nostro studio l'ipercortisolemia basale era presente nel 76,19 % e l'ipercortisolemia post ACTH nel 57,14 % dei pazienti. Anche lo studio di Martin riporta un'elevata frequenza di ipercortisolemia basale (61,29%) e nel suo studio tutti e 7 i cani con assenza di risposta al test di stimolazione con ACTH ( $\Delta$  cortisolo  $\leq 3$   $\mu\text{g/dL}$ ) presentavano anche livelli elevati di cortisolo basale (nel nostro studio 7/10). Questa mancanza di risposta al test di stimolazione surrenalica congiunta all'ipercortisolemia basale identificata nei nostri pazienti e in precedenti studi suggerisce che una stimolazione surrenale endogena massimale era probabilmente già avvenuta e le riserve surrenaliche e la capacità di risposta erano ormai esaurite, come ampiamente documentato in medicina umana<sup>(387,391,519,559)</sup>.

In medicina umana la presenza di CIRCI è associata a ipotensione<sup>(388,390-392,397,548,560)</sup>. Questo risultato è stato riscontrato anche in medicina veterinaria nello studio di Burkitt del 2007<sup>(466)</sup>, in cui il  $\Delta$  cortisolo era significativamente associato a ipotensione. L'anno successivo Martin<sup>(467)</sup> ha riscontrato che nel suo studio i cani con delta cortisolo  $\leq 3$   $\mu\text{g/dL}$  avevano un rischio 5,7 volte maggiore di ricevere vasopressori. Nel nostro studio le medie e le mediane delle MAP dei pazienti in CIRCI sono inferiori rispetto a quelle dei pazienti non in CIRCI, ma il dato non raggiunge significatività statistica; anche la correlazione fra valori di  $\Delta$  cortisolo e MAP non ha raggiunto la significatività statistica. La mancanza di un'associazione significativa tra i due parametri nel nostro studio potrebbe essere dovuta al numero di casi relativamente ridotto e inferiore rispetto ai due studi veterinari precedenti.

Negli studi che hanno riscontrato tale associazione, ipotizzano che la CIRCI sia associata a ipotensione per svariati motivi: il cortisolo è importante per la produzione delle catecolamine e per un'appropriata funzione dei recettori adrenergici e potenzia quindi l'azione vasocostrittoria delle catecolamine<sup>(561,562)</sup>, riduce la produzione di ossido nitrico a effetto vasodilatatorio e i suoi effetti cardiovascolari mantengono il tono vascolare, l'integrità endoteliale e la distribuzione dei fluidi nello spazio vascolare<sup>(405)</sup>. Bisogna però tenere presente che ci sono molti altri meccanismi che possono portare a ipotensione in pazienti in SIRS indipendentemente dalla presenza di CIRCI per cui non deve stupire che anche pazienti CIRCI negativi nel nostro studio presentassero ipotensione. Innanzitutto in SIRS si assiste a una perdita del tono vascolare dovuta all'eccessiva produzione di un precursore del rilascio dell' NO, la sintetasi inducibile dell'ossido nitrico (Inos)<sup>(28)</sup>, un'isoforma dell' enzima ossido nitrico sintetasi che non si trova normalmente nelle cellule quiescenti ma la cui produzione può essere indotta da numerose citochine infiammatorie e da prodotti batterici come l'LPS all'interno del citosol di numerose cellule dell'organismo. Inoltre i pazienti in SIRS vanno spesso incontro a deficienza di vasopressina, ormone vasocostrittore molto potente che fa sì che il sangue sia dirottato verso i distretti più importanti e che, se carente, può rendere l'ospite incapace di compensare e portare allo shock vasodilatatorio; i meccanismi che possono portare a deficienza di vasopressina sono: la deplezione delle scorte di vasopressina a livello ipofisario dopo il rilascio massivo della stessa nelle fasi iniziali di shock settico, una disfunzione autonoma nei pazienti in shock settico, l'aumentato rilascio di NO da parte degli endoteli vascolari all'interno dell'adenoipofisi che porta a una down regulation della produzione di vasopressina<sup>(30)</sup>. Anche la distruzione della barriera endoteliale da parte delle citochine infiammatorie, portando alla fuoriuscita di liquidi dallo spazio intravascolare, concorre al crollo pressorio<sup>(31-33)</sup>. Infine, specie negli stadi finali di SIRS/sepsi, si può andare incontro a una depressione miocardica che porta a una riduzione della gittata cardiaca, e va a fallire quindi il compenso cardiaco che si mette in genere in atto nello stato iperdinamico iniziale di SIRS e shock per contrastare la riduzione delle resistenze vascolari sistemiche e del precarico<sup>(18,40)</sup>; in particolare il TNF-  $\alpha$  e altri mediatori infiammatori sono inotropi negativi diretti e contribuiscono allo sviluppo di uno shock cardiogeno<sup>(41)</sup>, mentre la trombosi locale e l'ipossia miocardica vanno a esacerbare ulteriormente la disfunzione sistolica<sup>(42)</sup>.

Alcuni pazienti in CIRCI nel nostro studio erano normotesi, e ciò è già riportato anche nello studio di Burkitt<sup>(466)</sup> in cui l'ipotensione, per quanto associata significativamente alla CIRCI, era riscontrata nel 21,21% dei casi pur essendo l'incidenza di CIRCI del 48%; il dato è simile a quello ottenuto nel nostro studio, in cui l'ipotensione è stata riscontrata nel 33,33% dei pazienti, a fronte della stessa incidenza di CIRCI . I motivi possibili per cui si possono riscontrare pazienti normotesi nonostante una condizione di CIRCI sono per esempio la presenza di dolore,

frequente nei pazienti ospedalizzati e presente in tutti i pazienti in CIRCI non ipotesi nel nostro studio, che tendono ad aumentare anche notevolmente la pressione sistemica, oppure la presenza di comorbidità in cui l'ipertensione può essere frequente (esempio un' insufficienza renale).

Nel nostro studio si è voluto valutare anche un'eventuale associazione fra CIRCI e ipoglicemia, data la nota funzione iperglicemizzante dei corticosteroidi e la possibilità di un'ipoglicemia nei pazienti in SIRS: gli effetti metabolici dei corticosteroidi specialmente la stimolazione della gluconeogenesi e della glicogenolisi favoriscono la disponibilità continua di substrati energetici<sup>(405)</sup>; è quindi ragionevole pensare che un'inadeguata attività corticosteroidica porti più facilmente questi pazienti a sviluppare ipoglicemia. In realtà nel nostro studio questo riscontro non è stato possibile, perché benché l'ipoglicemia sia stata rilevata con elevata frequenza (61,90%), le glicemie dei pazienti in CIRCI e non in CIRCI erano sostanzialmente sovrapponibili e molti pazienti fra i CIRCI negativi hanno sviluppato ipoglicemia. Bisogna tenere presente che molti sono i meccanismi ulteriori che possono causare ipoglicemia nei pazienti critici in SIRS/sepsi indipendentemente dalla funzione corticosteroidica: ridotto intake, eccessiva utilizzazione per consumo batterico, aumentato consumo indotto da citochine infiammatorie come il TNF- $\alpha$ , leucocitosi, ipotensione e ipossiemia che stimolano un eccessivo consumo di glucosio incrementando la glicolisi anaerobia, ridotta produzione per la presenza o lo sviluppo di disfunzioni epatiche<sup>(563)</sup>. Per contro ci sono molti meccanismi che possono portare negli stessi pazienti a una condizione di iperglicemia, e ciò può spiegare perché alcuni pazienti nonostante l'inadeguata attività corticosteroidica presentassero normoglicemia. Nelle fasi precoci di SIRS altri ormoni infatti oltre al cortisolo (epinefrina, ormone della crescita) causano glicogenolisi, aumenta il rapporto glucagone/insulina e si ha uno shift dall'ossidazione del glucosio al metabolismo degli acidi grassi. In ogni caso il nostro studio evidenzia che l'ipoglicemia nei pazienti in CIRCI è un'evenienza possibile e anzi frequente, a differenza di quanto affermato finora per i pazienti veterinari in CIRCI<sup>(406,466,467,472-474)</sup>. In medicina umana invece l'ipoglicemia, seppur non frequente, viene segnalata nei pazienti in CIRCI<sup>(384,410,422)</sup>.

Il presente studio ha valutato anche alcuni parametri infiammatori alla ricerca di eventuali differenze significative fra pazienti CIRCI positivi e CIRCI negativi. L'eziopatogenesi della CIRCI infatti, pur non essendo ancora pienamente conosciuta, è attribuibile a 2 meccanismi principali in cui gioca un ruolo preponderante la flogosi<sup>(404,406)</sup>:

- ridotta sintesi di glicocorticoidi per alterazioni dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene; ciò può avvenire principalmente per un danno fisico a ipotalamo ipofisi o surrene (necrosi, trombi, emorragie), per azione delle citochine proinfiammatorie (in particolare TNF- $\alpha$  e

IL- $\beta$ ) o per l'azione di svariati farmaci che possono ridurre o bloccare la secrezione ormonale dell'asse

- ridotta attività dei glicocorticoidi, per ridotto accesso dei glicocorticoidi ai tessuti e alle cellule target (per esempio per riduzione della CBG e dell'albumina) e per resistenza dei recettori per i glicocorticoidi (GR), dovuta a riduzione del numero e dell'attività dei GR causata principalmente dalle citochine infiammatorie, e al blocco dell'enzima 11 $\beta$  idrossilasi 2 (11 $\beta$ -HSD-2) che converte il cortisolo nel metabolita inattivo cortisone da parte di alcune interleuchine come IL-2, IL-4 e IL-13.

Nei nostri pazienti non è stata eseguita una necropsia o una diagnostica per immagini avanzata che potesse confermare la presenza di alterazioni strutturali all'asse ipotalamo-ipofisurrene, sono state però eseguite in quasi la totalità dei pazienti delle ecografie addominali che non hanno riscontrato alterazioni alle ghiandole surrenali. Per quanto riguarda i numerosi farmaci che possono influenzare l'asse determinando una possibile riduzione della sintesi di cortisolo gli unici usati nei nostri pazienti sono stati gli oppioidi (metadone), talvolta somministrati subito all'accettazione del paziente, ma la valutazione surrenalica ormonale avveniva pressochè contestualmente. L'azione delle citochine infiammatorie è quindi una causa verosimile di CIRCI nei pazienti del nostro studio.

Per quanto riguarda la conta leucocitaria totale, i pazienti in CIRCI avevano maggiore frequenza di leucopenia che di leucocitosi e medie e mediane di WBC notevolmente inferiori rispetto a quelle dei pazienti non in CIRCI e il dato si avvicina molto alla significatività statistica anche se non la raggiunge. Oltre che per la grave flogosi si può ipotizzare un legame fra WBC e CIRCI anche per le stesse funzioni che il cortisolo svolge: livelli di cortisolo aumentati sono di solito associati a leucocitosi, in particolare per aumento di neutrofili e monociti, a causa dell'aumentata demarginazione capillare di queste cellule causata dal cortisolo stesso, che ostacola inoltre la fuoriuscita delle cellule dal circolo<sup>(564)</sup>; nei pazienti stressati e critici è infatti frequente il cosiddetto leucogramma da stress, caratterizzato da leucocitosi con neutrofilia, eosinopenia, linfopenia e talvolta monocitosi, lo stesso che si ritrova tipicamente nell'iperadrenocorticismo. L'elevata frequenza di leucopenia nei pazienti in CIRCI del nostro studio potrebbe essere causata anche da una riduzione di questo tipo di risposta nei pazienti con inadeguata funzione surrenalica. Per quanto riguarda la formula leucocitaria finora nessuno studio riporta la presenza di eosinofilia e linfocitosi, tipiche alterazioni riscontrabili in corso di insufficienza surrenale assoluta. Nel nostro studio un paziente leucopenico in CIRCI presentava linfocitosi, ma si trattava di un paziente affetto da parvovirus, e la neutropenia causata dal virus ha sicuramente pesato molto sulla formula leucocitaria del paziente; l'eosinofilia non è stata riscontrata in nessun cane nemmeno nel nostro studio, anzi si è riscontrata eosinopenia nella quasi totalità dei pazienti.

I pazienti in CIRCI nel nostro lavoro presentavano una neutrofilia banda più elevata rispetto ai pazienti non in CIRCI, con un risultato che si avvicina alla significatività statistica, compatibilmente con la patogenesi della CIRCI in cui l'infiammazione gioca un ruolo preponderante.

Per quanto riguarda la CRP, questa risulta significativamente più elevata nei pazienti in CIRCI e questo confermerebbe quanto detto sopra a proposito dello stretto legame fra flogosi e CIRCI.

L'iperlattatemia è una condizione che si è verificata abbastanza frequentemente nei nostri pazienti, indipendentemente dalla presenza di CIRCI, infatti fra i CIRCI positivi e i CIRCI negativi non sono state riscontrate differenze significative. L'iperlattatemia nei pazienti in SIRS/sepsi si può verificare per svariati motivi riconducibili sia all'iperlattatemia di tipo A che all'iperlattatemia di tipo B. L'iperlattatemia di tipo A, la più comune, è dovuta ad un aumento della produzione di lattato dovuta all'ipossia tissutale per uno shift dalla glicolisi aerobia alla glicolisi anaerobia, che può avvenire per ipoperfusione tissutale (per ipovolemia o ridotta frequenza cardiaca) come avviene in shock ipovolemico, settico o cardiogeno; ridotto contenuto di ossigeno arterioso come in anemia; ridotta abilità dei tessuti a mobilizzare l'ossigeno dal letto capillare come nelle condizioni di edema; condizioni di ipermetabolismo come una flogosi. L'iperlattatemia di tipo B avviene invece per una ridotta clearance dei lattati, un'alterata funzione mitocondriale o un alterato metabolismo dei carboidrati<sup>(565)</sup>.

Nei pazienti umani la presenza di CIRCI è risultata associata ad aumentata mortalità in corso di sepsi, shock settico e in una serie di altre patologie critiche<sup>(388,390-392,397,548,560)</sup>. Il significato clinico della presenza di CIRCI in medicina veterinaria, peraltro per ora poco indagata, è ancora da dimostrare, tuttavia, questo risultato è stato riscontrato anche nello studio di Burkitt del 2007<sup>(466)</sup>, in cui i pazienti con  $\Delta$  cortisolo  $\leq 3\mu\text{g/dL}$  avevano un tasso di mortalità 4,1 volte maggiore rispetto agli altri pazienti. Invece nello studio di Martin l'outcome fra i cani con  $\Delta$  cortisolo  $\leq 3\mu\text{g/dL}$  e i cani con  $\Delta$  cortisolo  $> 3\mu\text{g/dL}$  non differiva in modo significativo, anche se il dato era molto vicino alla significatività statistica e ciò collima maggiormente con i nostri risultati che non ci evidenziano differenze significative fra le curve di sopravvivenza dei pazienti con e senza CIRCI, né un'aumentata probabilità di morte né differenze significative nei valori di  $\Delta$  cortisolo fra i due gruppi.

E' necessario precisare però che sia nello studio di Burkitt che nello studio di Martin i pazienti non erano stati trattati con idrocortisone a basse dosi come nel nostro caso, e più in generale non avevano ricevuto corticosteroidi. In medicina umana il cosiddetto studio francese di Annane del 2002<sup>(397)</sup> ha dimostrato che pazienti in shock settico che sviluppano una CIRCI sottoposti a terapia con idrocortisone hanno prognosi e severità della malattia sovrapponibili a quelle dei pazienti che non sviluppano CIRCI, come risulta anche nel nostro studio. Questa ipotesi è solo

uno spunto di riflessione che dovrà essere ovviamente indagata su un numero maggiore di pazienti sia in CIRCI che non in CIRCI, sia trattati che non trattati.

L'assenza di una differenza tra le sopravvivenze dei pazienti CIRCI positivi e CIRCI negativi trattati, oltre che al limitato numero di casi, può essere dovuta al fatto che il diagnosticare questa condizione solo in base ai test ormonali non identifica necessariamente tutti i pazienti in CIRCI, perché anche pazienti con  $\Delta$  cortisolo  $> 3 \mu\text{g/dL}$  potrebbero essere insufficienti a causa di una resistenza recettoriale.

Nel nostro studio abbiamo valutato anche le curve di sopravvivenza dei pazienti in funzione di altre variabili ed in particolare sono risultate significativamente diverse le curve di sopravvivenza dei pazienti con e senza ipercortisolemia basale (come era prevedibile dato che dei 10 pazienti con ipercortisolemia basale soltanto uno è sopravvissuto, mentre i pazienti con cortisolo basale nella norma sono tutti sopravvissuti).

Interessante è anche notare come sia risultata significativa la differenza fra le curve di sopravvivenza dei pazienti che presentavano ipercortisolemia basale associata a CIRCI e pazienti che non presentavano questa condizione. Questo risultato è simile a quanto riportato in uno studio umano di Annane del 2000<sup>(391)</sup>: nei 189 pazienti in shock settico inclusi nello studio sono risultati fattori predittivi di mortalità indipendenti a un'analisi multivariata un valore di cortisolo basale  $>$  di  $34 \mu\text{g/dl}$  e un  $\Delta$  cortisolo  $\leq 9 \mu\text{g/dl}$ . Un più recente studio del 2013<sup>(555)</sup> ha confermato che pazienti in shock settico con cortisolo basale  $\geq 34 \mu\text{g/dL}$  e delta cortisolo  $\leq 9 \mu\text{g/dL}$  hanno una prognosi peggiore (mortalità 50 %, significativamente maggiore rispetto ad altri pazienti inclusi nello studio), così come quelli con cortisolo basale  $> 65 \mu\text{g/dL}$  (62,5%), mentre la presenza di CIRCI non costituiva un fattore prognostico negativo in questo studio.

Anche le curve di sopravvivenza dei pazienti con e senza ipotensione sono risultate differenti in modo statisticamente significativo confermando che l'ipotensione è un fattore prognostico negativo nei pazienti critici come quelli in SIRS come riscontrato in medicina umana<sup>(108,141)</sup> e veterinaria<sup>(110)</sup>.

Per quanto riguarda la leucocitosi, i pazienti che presentavano questa condizione hanno una curva di sopravvivenza inferiore rispetto a quelli che non la presentavano, probabilmente perché un aumento dei WBC, che in molti dei nostri pazienti è stato molto marcato, è indice di una maggiore intensità e gravità dell'infezione. Dati gli effetti del cortisolo sui globuli bianchi, la leucocitosi è correlabile anche con l'ipercortisolemia basale, risultata anch'essa associata a una minore sopravvivenza nei nostri pazienti. È ragionevole pensare che allo stesso modo una grave leucopenia, indice anch'essa di intensità e gravità dell'infezione, sia un fattore prognostico negativo, come è riportato in medicina umana<sup>(357)</sup>, come anche la neutrofilia banda,

ma nel nostro gruppo non si sono riscontrate tali associazioni, probabilmente per il ridotto numero di casi.

Altri fattori prognostici negativi già riscontrati in letteratura sia umana che veterinaria sono l'ipoglicemia<sup>(566-570)</sup> e l'iperlattatemia<sup>(141,157,162,163,168,159,169)</sup>; il nostro studio non sembra confermare questi dati in quanto le curve di sopravvivenza dei pazienti con e senza queste condizioni non differivano significativamente, probabilmente per la scarsa numerosità del campione e per i numerosi fattori che possono influire su questi due parametri analitici.

Quattordici dei nostri pazienti in SIRS/sepsi e quindi potenzialmente a rischio di CIRCI sono stati trattati con idrocortisone a basse dosi. Il noto e potente effetto anti-infiammatorio dei glicocorticoidi e il ruolo fondamentale che i glicocorticoidi endogeni giocano in corso di malattie critiche e stress acuto, in particolare a livello emodinamico, ha portato da sempre a considerarli fra le opzioni terapeutiche in corso di SIRS e sepsi. I primi studi hanno investigato il trattamento con corticosteroidi a alte dosi per breve tempo nei pazienti in sepsi e in ARDS, comunemente praticato fino agli anni 90'. Da studi clinici e meta-analisi risulta che la supplementazione di corticosteroidi ad alte dosi non porta ad alcun beneficio nell'outcome (in termini di morbidità, rapidità di risoluzione dello shock e mortalità) e anzi è stata associata a una maggior incidenza di complicazioni<sup>(513-517)</sup>. La dimostrazione dell'esistenza di una condizione di CIRCI come fattore aggravante in corso di sepsi e shock settico hanno portato a riconsiderare il trattamento con questi ormoni. L'uso di idrocortisone a basse dosi e a dosi fisiologiche (o *stress doses*) è stato in seguito indagato in una molteplicità di studi, fra cui i due più influenti sono il cosiddetto "studio francese" di Annane et al. del 2002<sup>(397)</sup> e il CORTICUS study del 2008<sup>(486)</sup>. Il primo, un trial randomizzato controllato multicentrico su 300 pazienti in shock settico con ipotensione refrattaria, ha dimostrato una significativa risoluzione dello shock settico e una significativa riduzione della mortalità a 28 giorni nei pazienti in CIRCI (definita come delta cortisolo  $\leq 9$   $\mu\text{g}/\text{dl}$ ) trattati con idrocortisone a 50 mg ev ogni 6 h e fludrocortisone a 50  $\mu\text{g}$  PO ogni 24 h rispetto ai pazienti non trattati<sup>(397)</sup>.

Altri trials randomizzati controllati su un numero minore di pazienti hanno dimostrato significativi benefici della terapia steroidea nella risoluzione dello shock<sup>(519-522)</sup>. Alla luce di tutti questi risultati fu realizzato lo studio CORTICUS<sup>(486)</sup>, il più grande trial multicentrico randomizzato, controllato, in doppio cieco riguardante la funzione dell'asse ipotalamo-ipofisurrene e la terapia steroidea nei pazienti in shock; su 499 pazienti inclusi nello studio, non sono state riscontrate differenze significative nella mortalità a 28 giorni nè fra il gruppo trattato con idrocortisone e il gruppo di controllo con placebo, né fra i pazienti responsivi al test di stimolazione con ACTH e quelli non responsivi; l'idrocortisone determinava però una più rapida risoluzione dello shock settico, indipendentemente dal valore di delta cortisolo.

La marcata differenza fra i due studi è spiegabile innanzitutto con il diverso stadio di gravità dei pazienti inclusi nei due trials: basandosi su un punteggio mediano maggiore di Simplified Acute Physiology Score II e su un più alto tasso di mortalità nel gruppo di controllo, la popolazione nello studio di Annane del 2002 aveva un grado di criticità maggiore di quella dello studio CORTICUS; inoltre lo studio francese ha incluso una popolazione di pazienti critici più acuti, entro le 8 h, mentre nello studio CORTICUS sono stati inclusi pazienti fino a 72 h dallo sviluppo di shock settico, e pazienti che sopravvivono per 72 h a uno shock settico hanno probabilmente maggiori possibilità in generale di sopravvivere a questa condizione; quindi essendo la popolazione dello studio CORTICUS più stabile, era meno probabile che beneficiasse del trattamento con idrocortisone, che quindi sembrerebbe avere il maggior beneficio se somministrato tempestivamente dopo l'onset dello shock settico. Inoltre, lo studio CORTICUS è stato condotto dopo che furono pubblicate le linee guida della SSC del 2004, che contenevano la raccomandazione di somministrare l'idrocortisone a quei pazienti in shock settico che richiedevano l'uso di vasopressori per sostenere la pressione sistemica nonostante la fluidoterapia adeguata. Molti medici potrebbero quindi aver escluso dal CORTICUS trial i propri pazienti più gravemente malati e a rischio CIRCI per assicurarsi che ricevessero l'idrocortisone, tanto che lo studio ha fallito nel rispettare il target di 800 pazienti che si era posto, e questo può aver costituito un notevole bias del lavoro<sup>(523-525)</sup>. Per quanto riguarda gli effetti collaterali, questi potrebbero essere stati più numerosi nel CORTICUS trial rispetto allo studio francese a causa della somministrazione del glicocorticoide a pazienti meno critici in cui il rapporto rischio/beneficio può essere un po' sbilanciato verso il rischio. È quindi bene tenere presente che pur essendo finora il più grande studio mai realizzato in materia, il CORTICUS trial ha numerosi limiti, che possono aver inficiato notevolmente sui risultati ottenuti, come affermano alcuni autori<sup>(384,526)</sup>.

Nel 2011 sono stati pubblicati i risultati di un'analisi prestabilita sui dati di outcome del CORTICUS trial che hanno dimostrato una riduzione dello score di gravità SOFA nei pazienti trattati con idrocortisone a basse dosi, principalmente per un miglioramento nel punteggio cardiovascolare ed epatico<sup>(527)</sup>. Un dato importante è che comunque in entrambi gli studi la somministrazione di idrocortisone si è associata a una maggior rapidità nella risoluzione dello shock, e questo suggerisce che c'è una popolazione di pazienti con ipotensione refrattaria che, anche indipendentemente dalla funzionalità dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene come nel CORTICUS trial, risponde alla somministrazione di idrocortisone a basse dosi.

Negli ultimi anni sono state pubblicate diverse review sistematiche sull'utilizzo dell'idrocortisone a basse dosi nello shock settico: una sembra dimostrare una significativa riduzione della mortalità a 28 giorni nei pazienti in shock settico trattati con basse dosi di corticosteroidi<sup>(528)</sup>, mentre un'altra non individua differenze significative nella mortalità<sup>(529)</sup>;

entrambe le review hanno riscontrato un miglioramento significativo nella risoluzione dello shock nei pazienti sottoposti a terapia steroidea; l'ultima review del 2012<sup>(530)</sup> ha affermato che in pazienti a basso rischio l'uso di idrocortisone non apporta benefici sull'outcome, mentre nei pazienti ad alto rischio il trattamento con idrocortisone porta a una riduzione della mortalità, anche se il valore non arriva a raggiungere la significatività statistica. Appare quindi evidente che sono necessari ulteriori ampi studi che continuino a indagare il beneficio del trattamento corticosteroidico nei pazienti in SIRS/sepsi, shock settico, tanto che è partito a Febbraio del 2013 un trial multicentrico su larga scala per investigare l'uso di idrocortisone nei pazienti in shock settico<sup>(554)</sup>. Sarebbe auspicabile anche che venissero condotti studi specifici per indagare i benefici del trattamento corticosteroidico nella condizione di CIRCI, per la quale ad oggi non esistono specifiche raccomandazioni terapeutiche. Le raccomandazioni terapeutiche della SSC<sup>(85)</sup> e del consensus sulla CIRCI del 2008<sup>(401)</sup>, che consigliano il trattamento con idrocortisone a basse dosi in pazienti con ipotensione refrattaria a fluidoterapia e vasopressori, si riferiscono infatti ai pazienti in sepsi severa e shock settico; sia la SSC che il consensus del 2008 raccomandano di non utilizzare i test ormonali come base per stabilire quali pazienti debbano ricevere i corticosteroidi.

In medicina veterinaria non sono state stabilite linee guida sul trattamento della CIRCI nei pazienti critici e la letteratura è veramente scarsa. In 2 case report è stata ottenuta con successo la risoluzione dello shock e dell'ipotensione refrattaria in un cane<sup>(478)</sup> e in un gatto<sup>(479)</sup>, trattati rispettivamente con idrocortisone e desametasone, e in entrambi gli animali è stato possibile riscontrare la presenza di una CIRCI tramite il test di stimolazione con ACTH e la valutazione del  $\Delta$  cortisolo. Nel 2011 al Veterinary Emergency and Critical Care Symposium sono stati presentati i risultati di uno studio realizzato per investigare il beneficio del trattamento con corticosteroidi nei pazienti canini settici<sup>(551)</sup>. Lo studio è multicentrico, randomizzato, in doppio cieco, placebo-controllato su pazienti canini in shock settico (definito come ipotensione refrattaria a fluidoterapia e vasopressori in pazienti con SIRS secondaria a una sepsi); un gruppo viene trattato con idrocortisone a 1 mg/kg ogni 6 h, l'altro con soluzione fisiologica come placebo, e la presenza di CIRCI viene definita come un delta cortisolo  $\leq 3$   $\mu\text{g/dl}$ . Lo studio si era posto come obiettivo l'inclusione di 90 pazienti in un anno. Purtroppo, però, in 3 anni solo 8 cani sono rientrati nello studio: in 6 cani (75 %) è stata diagnosticata una CIRCI, 3 cani sono deceduti, 3 sono stati sottoposti a eutanasia e 2 sono sopravvissuti; i due cani in cui non era stata diagnosticata una CIRCI sono stati sottoposti a eutanasia (1 è stato trattato con idrocortisone e l'altro no), e i due cani che sono sopravvissuti avevano entrambi un delta cortisolo  $\leq 3$   $\mu\text{g/dl}$  (1 aveva subito il trattamento con idrocortisone e l'altro no). Ovviamente la scarsità del numero non permette di fare analisi statistiche e da questo trial non è possibile determinare se la supplementazione di idrocortisone nei pazienti in CIRCI abbia effetti sull'outcome o meno;

L'unica conclusione che può essere fatta è che la CIRCI è un'evenienza che si verifica nei pazienti canini in shock settico.

Nel nostro studio l'idrocortisone è stato somministrato a tutti i 14 pazienti del gruppo di studio indipendentemente dai risultati dei test ormonali, e questo è in linea con le raccomandazioni emesse in medicina umana e con quanto riportato nei più recenti testi e review veterinarie<sup>(403,406)</sup> ed è dovuto al fatto che tramite i test ormonali non è possibile identificare quei pazienti insufficienti a livello recettoriale e si rischierebbe di escludere pazienti che potrebbero beneficiare del trattamento. Il trattamento è stato però eseguito in tutti i pazienti (che si presentavano comunque sempre in SIRS/sepsi severa e in 7 casi in shock) e non sono su quelli che presentavano ipotensione refrattaria a fluidoterapia e vasopressori; fermo restando che il dibattito è ancora in corso, le funzioni del cortisolo sono molteplici oltre a quella di sostegno pressorio ed è quindi lecito pensare che, indipendentemente dal valore pressorio, i pazienti con inadeguata attività corticosteroidica possano beneficiare del trattamento. Inoltre il trattamento con corticosteroidi nei pazienti in sepsi è recentemente stato proposto anche per i benefici teorici e dimostrati da alcuni studi, riguardo le alterazioni del glicocalice, lo strato superficiale che ricopre le cellule endoteliali di tutto l'organismo; in corso di sepsi infatti il glicocalice è target di mediatori infiammatori e leucociti che degradandolo portano a un'alterazione della barriera endoteliale; i corticosteroidi riducono la flogosi e quindi il danno infiammatorio all'endotelio e in particolare quello causato dal TNF- $\alpha$  inibendone la sintesi<sup>(571)</sup>, e infatti uno studio dimostra una riduzione di microalbuminuria, marker di degradazione del glicocalice, nei pazienti trattati con idrocortisone a basse dosi, suggerendo un effetto protettivo sul glicocalice renale<sup>(572)</sup>.

Nel nostro studio la sopravvivenza complessiva è stata del 33,33%; nel gruppo dei pazienti trattati è stata del 35,7%, nel gruppo di controllo del 28,6%. Gli studi riportano un tasso di sopravvivenza per i pazienti in SIRS e sepsi molto variabile, tra il 36 e il 73 %<sup>(8,10,21,47,62,64,71,89,161,281,368-376)</sup>. E' necessario considerare però che i nostri cani erano un sottogruppo di pazienti in SIRS/sepsi estremamente gravi, con elevata frequenza di shock e ipotensione refrattaria e probabile frequente sviluppo di MODS, e il tasso di sopravvivenza in corso di MODS nei pazienti veterinari si abbassa drasticamente e va dallo 0 al 40%<sup>(47,48,257,378)</sup>.

La differenza fra le sopravvivenze fra i trattati e i non trattati non è statisticamente significativa e è troppo ridotta per poter affermare che il trattamento con idrocortisone a basse dosi abbia un effetto benefico in questi pazienti. Tuttavia questo studio offre spunto per realizzare trials in proposito su un maggior numero di pazienti.

Infine, per quanto riguarda la funzione mineralcorticoide nei pazienti in CIRCI, anche se la sua valutazione non rientrava negli obiettivi dello studio, nei nostri pazienti non si è mai verificata

l'associazione di iponatremia e iperkaliemia tipica dell'insufficienza surrenalica assoluta, in linea con la letteratura ad oggi. Si è riscontrata iponatremia in 3 pazienti su 21; finora iponatremia e iperkaliemia non mai state riportate nei pazienti in CIRCI <sup>(406,466,467,472-474)</sup>, mentre sono state riportate in umana anche se sono rare <sup>(384,410,422)</sup>, e questo dato collima con quanto verificato nel nostro studio. È bene rimarcare che in nessun caso l' iponatremia era associata all'iperkaliemia, e inoltre l'entità dell'alterazione elettrolitica era sempre lievissima, appena sotto il range di riferimento. Per valutare la funzione mineralcorticoide in CIRCI sarebbero però necessari studi specifici per valutare anche i valori di aldosteronemia basale e post ACTH e il  $\Delta$  aldosterone.

Questo studio presenta numerosi limiti, primo fra tutti il limitato numero di pazienti coinvolti, sia per quanto riguarda il gruppo di studio che il gruppo di controllo. Un numero maggiore di pazienti ci avrebbe permesso di indagare più nel dettaglio la sottopopolazione dei pazienti in CIRCI, individuandone meglio il profilo clinico patologico e la presenza di eventuali fattori prognostici, e soprattutto avrebbe permesso di confrontare adeguatamente l'outcome dei pazienti in CIRCI trattati con idrocortisone rispetto a quelli in CIRCI ma non trattati.

Altro limite è rappresentato dal fatto che non è stato eseguito un test di misurazione dell'ACTH endogeno, che avrebbe fornito un quadro più completo dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene. Inoltre il test di stimolazione con ACTH è stato eseguito una sola volta al momento dell'inclusione: nonostante i pazienti dimessi siano stati seguiti per un follow up di 28 giorni e abbiano mostrato una piena guarigione clinica, un altro test dell'ACTH avrebbe permesso di confermare il ritorno alla normalità della funzione surrenale; una sola esecuzione del test con ACTH durante il periodo di ospedalizzazione rappresenta anch'essa un limite, perché alcuni pazienti potrebbero aver avuto un risultato diverso a tempi diversi da T0 ed essere quindi stati classificati erroneamente come CIRCI positivi o CIRCI negativi; tuttavia praticare ripetuti prelievi ematici e ripetuti test di stimolazione a tale scopo in pazienti estremamente critici come quelli del nostro studio sarebbe stato discutibile dal punto di vista etico.

Un altro punto debole si può rintracciare nel fatto che sono stati inclusi nello studio pazienti critici non solo strettamente acuti, ma anche cronici riacutizzati o comunque pazienti con compresenza di patologie e in cui la stessa SIRS poteva essere legata a differenti percorsi patogenetici.

Un altro aspetto discutibile è che secondo le più recenti linee guida umane sul trattamento con idrocortisone nei pazienti in sepsi e shock settico si consiglia di somministrare l'idrocortisone solo ai pazienti con ipotensione refrattaria a fluidoterapia e vasopressori, mentre nel nostro studio tutti i pazienti critici in SIRS sono stati sottoposti a questo trattamento. Tuttavia, come detto sopra, se il dibattito è ancora aperto in medicina umana, ancor di più lo è in medicina

veterinaria, dove non sono state emesse ancora simili raccomandazioni basate su evidenza scientifica, e visto che non ci sono studi che dimostrino che un trattamento a basse dosi di idrocortisone possa risultare dannoso in tali pazienti veterinari, rimane un'opzione terapeutica ragionevole e da esplorare.

Altri studi comprendenti un maggior numero di animali sono quindi necessari in ambito veterinario sulla CIRCI, in particolare per stabilire un consensus sulla sua diagnosi, per caratterizzare meglio le alterazioni clinicopatologiche di questa sindrome e per verificare se il trattamento con idrocortisone a basse dosi possa portare a un miglioramento dell'outcome in pazienti che ne sono affetti.

### 3.5 CONCLUSIONI

Da questo studio è emerso che la CIRCI è un'evenienza abbastanza comune nei pazienti canini in SIRS. Il significato clinico di questa sindrome in corso di SIRS rimane però ancora non chiaro, e il nostro studio non ha potuto confermare una sua associazione generale con la mortalità, sebbene nel sottogruppo dei soggetti in CIRCI con ipercortisolemia basale l'outcome sia peggiore. Inoltre marker infiammatori importanti quali CRP, neutrofili in banda e leucopenia correlano con la presenza di CIRCI. Per quanto riguarda il trattamento con basse dosi di idrocortisone, il presente lavoro non può dimostrare che apporti un beneficio significativo ai pazienti in SIRS, ma rimane un'opzione terapeutica da continuare a esplorare aumentando la casistica.

## **Bibliografia**

1. Bone RC, Balk RA, Cerra FB, et al: Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. ACCP/SCCM Consensus Conference Committee, Chest 101:1644, 1992
2. Hauptman JG, Walshaw R, Olivier NB: Evaluation of the sensitivity and specificity of diagnostic criteria for sepsis in dogs, Vet Surg 26:393, 1997
3. Brady CA, Otto CM, Van W, et al: Severe sepsis in cats: 29 cases (1986-1998), J Am Vet Med Assoc 217:531, 2000
4. Costello MF, Drobatz KJ, Aronson L, et al: Underlying cause, pathophysiologic abnormalities, and response to treatment in cats with septic peritonitis: 51 cases (1990-2001), J Am Vet Med Assoc 225(6):897, 2004
5. Davies MG, Hagen PO : Systemic inflammatory response syndrome. Br J Surg 84 : 920-935, 1997.
6. Evans T: The role of macrophages in septic shock. Immunobiology 195:655-659, 1996
7. Angus J, Jang S, Hirsh D: Microbiological study of transtracheal aspirates from dogs with suspected lower respiratory tract disease: 264 cases (1989-1995). JAVMA 210:55-58, 1997
8. Dow S, Curtis C, Jones R, et al: Bacterial culture of blood from critically ill dogs and cats: 100 cases (1985-1987). JAVMA 195:113-117, 1989
9. Hardie EM: Life threatening bacterial infection. Compend Contin Educ Pract Vet 17:290-302, 1995
10. King LG: Postoperative complications and prognostic indicators in dogs and cats with septic peritonitis: 23 cases (1989-1992). JAVMA 204:407-414, 1994
11. Sriskandan S, Cohen J: Gram-positive sepsis. Mechanisms and differences from gramnegative sepsis. Infect Dis Clin North Am 13:397-412, 1999
12. Miller C, Prescott J, Mathews K, et al: Streptococcal toxic shock syndrome in dogs. JAVMA 209:1421-1426, 1996
13. Prescott J, Miller C, Mathews K, et al: Update on canine streptococcal toxic shock syndrome and necrotizing fasciitis. Can Vet J 38:241-242, 1997
14. Glauser MP : Pathophysiologic basis of sepsis: Consideration for future strategies of intervention. Crit Care Med 28(suppl)S4-8, 2000
15. Hess R, Saunders H, van Winkle T, et al: Clinical, clinicopathologic, radiographic, and ultrasonographic abnormalities in dogs with fatal acute pancreatitis: 70 cases (1986--1995). JAVMA 213:665-670, 1998
16. Giroir B: Pancreatitis, cytokines, and SIRS: Deja vu all over again? Crit Care Med 27:680-681, 1999.
17. Brivet FG, Emilie D, Galanaud P: Pro- and anti-inflammatory cytokines during acute severe pancreatitis: An early and sustained response, although unpredictable of death. Crit Care Med 27:749-455, 1999
18. Fabio Viganò : Medicina d'urgenza e terapia intensiva del cane e del gatto. Elsevier Masson, 2004.
19. Bianchi ME. DAMPs, PAMPs and alarmins : all we need to know about danger. J Leucok Biol 2007; 81:1-5
20. De Laforcade A. Systemic inflammatory response syndrome. In: Silverstein DC, Hopper K, eds. Small Animal Critical Care Medicine. St. Louis, MO: Saunders Elsevier; 2014.
21. Otto CM. Sepsis. In: Wingfield W, Raffae M, eds. *The Veterinary ICU Book*. Jackson Hole, WY: Teton NewMedia; 2002:695-706
22. Bone RC. Immunologic dissonance : a continuing evolution in our understanding of the systemic inflammatory response syndrome (SIRS) and the multiple organ dysfunction syndrome (MODS). Ann Intern Med 1996; 125:680-687
23. Ward NS, Casserly B, Ayala A. The compensatory anti-inflammatory response syndrome (CARS) in critically ill patients. Clin Chest Med 2008; 29:617-687
24. Lewis DH, Chan DL, Pinnheiro D, et al. The immunopathology of sepsis: pathogen recognition, systemic inflammation, the compensatory anti-inflammatory response and regulatory T cells. J Vet Intern Med 2012 ; 26:457-482

25. Van der Poll T, van Deventer SJH: Cytokines and anticytokines in the pathogenesis of sepsis, *Infect Dis Clin N Am* 13:312, 1999
26. Van der Poll T: Immunotherapy of sepsis, *Lancet Infect Dis* 1:165, 2001.
27. Kox WJ, Volk T, Kox S, et al: Immunomodulatory therapies in sepsis, *Int Care Med* 26(S1):S124, 2000
28. Nakamura RK. Myocardial dysfunction in sepsis. In: *Proceedings of IVECCS*; 2009:461–462.
29. Fügen Aktan : iNOS-mediated nitric oxide production and its regulation. *Life Sciences Volume 75, Issue 6, 25 June 2004, Pages 639–653*
30. Cheryl L. Holmes, et al : *Physiology of Vasopressin Relevant to Management of Septic Shock, Critical Care Reviews, CHEST, 2001*
31. Trepels T, Zeiher AM, Fichtlscherer S: The endothelium and inflammation, *Endothelium* 13(6):423, 2006
32. Harbrecht BG: Therapeutic use of nitric oxide scavengers in shock and sepsis, *Curr Pharm Des* 12(27):3543, 2006
33. Angela Randels, SIRS, in *Proceedings of : international veterinary emergency and critical care symposium 2013*
34. Mesters RM, Helterbrand J, Utterback BG, et al: Prognostic value of protein C concentrations in neutropenic patients at high risk of severe septic complications, *Crit Care Med* 28:2209, 2000.
35. Vary TC, Kimball SR: Regulation of hepatic protein synthesis in chronic inflammation and sepsis, *Am J Physiol* 262:C445, 1992
36. Levi M, van der poll T. : Inflammation and coagulation, *Crit Care Med* 2010
37. Esmon CT : The interactions between inflammation and coagulation, *Br J Haematol.* 2005
38. Levi M, van der poll T. : Bidirectional relationship between inflammation and coagulation. *American heart association, 2004.*
39. Ten Cate H: Pathophysiology of disseminated intravascular coagulation in sepsis. *Crit Care Med* 28(suppl):S9-11, 2000
40. Brady CA, Otto CM: Systemic inflammatory response syndrome, sepsis and multiple organ dysfunction. *Vet clin North Am Small Anim Pract*, 31:1147, 2001.
41. Yokoyama T, Vaca L, Rossen R, et al: Cellular basis for the negative inotropic effects of TNF-alpha in the adult mammalian heart. *J Clin Invest* 92:2303-2312, 1993
42. Natanson C, Fink MP, Ballantyne HK, et al: Gram-negative bacteremia produces both severe systolic and diastolic cardiac dysfunction in a canine model that simulates human septic shock. *J Clin Invest* 78:259-270, 1986
43. Natanson C., Danner R. L. et al. Antibiotic versus cardiovascular support in canine model of human septic shock. *Am. J. Physiol* 1990.259: H1440-1447
44. Osterbur K., Mann F.A., Kuroki K. And DeClue A. : Multiple Organ Dysfunction Syndrome in Humans and Animals. *J Vet Inter Med*, 2014; 28:1141-1151
45. Deitch EA. Multiple organ failure. Pathophysiology and potential future therapy. *Ann surg* 1992;216:117-134
46. Tran DD, Groeneveld AB, van der Meulen J, et al. Age, chronic disease, sepsis, organ system failure and mortality in a medical intensive care unit. *Crit Care Med* 1990;18:474-479
47. Kenney EM, Rozanski EA, Rush JE, et al. Association between outcome and organ system dysfunction in dogs with sepsis: 114 cases (2003-2007). *J Am Vet Med Assoc* 2010;236:83-87
48. Simpson SA, Syring R, Otto CM. Severe blunt trauma in dogs: 235 cases (1997-2003). *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio)* 2009;19:588-602
49. Goggs R.A.N., Lewis D.H. Multiple Organ Dysfunction Syndrome In: Silverstein DC, Hopper K, eds. *Small Animal Critical Care Medicine*. St Louis, MO : Saunders Elsevier; 2014
50. Mizock BA. The multiple organ dysfunction syndrome. *Dis Mon* 2009;55:476-526
51. Fernandes D, Assreuy J: Nitric oxide and vascular reactivity in sepsis, *Shock* 30(Suppl 1):10,2008
52. Aird WC: The hematologic system as a marker of organ dysfunction in sepsis, *Mayo Clin Proc* 78(7):869,2003

53. De Laforcade A. Shock In: Silverstein DC, Hopper K, eds. *Small Animal Critical Care Medicine*. St Louis, MO : Saunders Elsevier; 2014
54. Goyette RE, Key NS, Wesley EE : Hematologic Changes in Sepsis and their Therapeutic Implications; *Seminars in respiratory and critical care medicine*, vol 25, num 6, 2004
55. Rozanski E. Systemic inflammatory cat. In: *Proceedings of IVECCS*; 2009:111-113
56. Shibazaki M. et al. Complement dependent accumulation and degradation of platelets in the lung and liver induced by injection of lipopolysaccharides. *Infect immun* 1999;67:5186-5191
57. Tsujikawa A, Kiryo J, Yamashiro K et al. Interactions between blood cells and retinal endothelium in endotoxic sepsis. *Hypertension* 2000;36:250-258
58. Salat A, Murabito M, Boehem D et al. Endotoxin enhances in vitro platelets aggregability in whole blood. *Thromb res* 1999;93:145-148
59. Stephan F, Cheffi MA, Kaplan C et al. Autoantibodies against platelets glycoproteins in critically ill patients with thrombocytopenia. *Am J Med* 2000; 108:544-560
60. Otto CM, Rieser TM, Brooks MR, et al: Evidence of hypercoagulability in dogs with parvoviral enteritis, *J Am Vet Med Assoc* 217(10):1500, 2000
61. Bauer N, Moritz A: Coagulation response in dogs with and without systemic inflammatory response syndrome—preliminary results, *Res Vet Sci* 94:122, 2013
62. DeLaforcade AM, Freeman LM, Shaw SP, et al: Hemostatic changes in dogs with naturally occurring sepsis, *J Vet Intern Med* 17:674, 2003
63. Bentley AM, Mayhew PD, Culp WT, et al: Alterations in the hemostatic profiles of dogs with naturally occurring septic peritonitis, *J Vet Emerg Crit Care* 23(1):14, 2013
64. DeLaforcade AM, Rozanski EA, Freeman LM, et al: Serial evaluation of protein C and antithrombin in dogs with sepsis, *J Vet Intern Med* 22(1):26,2008
65. Bolder U, Ton-Nu HT, Schteingart CD: Hepatocyte transport of bile acids and organic anions in endotoxemic rats: Impaired uptake and secretion. *Gastroenterology* 112:214-225, 1997
66. Green R, Beier D, Gollan JL: Regulation of hepatocyte bile salt transporters by endotoxin and inflammatory cytokines in rodents. *Gastroenterology* 111:193-198, 1996
67. Schaefer H, Kohn B, Schweigert FJ, et al: Quantitative and qualitative urine protein excretion in dogs with severe inflammatory response syndrome, *J Vet Intern Med* 25:1292, 2011.
68. Fransson BA, Lagerstedt AS, Bergstrom A, et al. C-reactive protein, tumor necrosis factor  $\alpha$ , and interleukin-6 in dogs with pyometra and SIRS. *J Vet Emerg Crit Care* 2007; 17(4):373–381
69. Ceron JJ, Eckersall PD, Martynez-Subiela S. Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives. *Vet Clin Pathol* 2005; 34(2):85–99
70. Eckersall PD, Bell R. Acute phase proteins: biomarkers of infection and inflammation in veterinary medicine. *Vet J* 2010; 185(1):23–27.
71. Giunti M, Troia R, Bergamini FP, Dondi F. Prospective evaluation of the acute patient physiologic and laboratory evaluation score and an extended clinicopathological profile in dogs with systemic inflammatory response syndrome. *J Vet Emerg Crit Care* 25(2) 2015:226-233
72. Li J, Carr B, Goyal M, et al. Sepsis: The inflammatory foundation of pathophysiology and therapy, *Hosp Pract (Minneap)* 39(3):99, 2011
73. Wan L, Bellomo R, May CN: The effect of normal saline resuscitation on vital organ blood flow in septic sheep, *Intensive Care Med* 32(8):1238,2006
74. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, et al: 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS international sepsis definitions conference, *Crit Care Med* 31(4):1250,2003
75. Boller EM, Otto C. Sepsis and septic shock In: Silverstein DC, Hopper K, eds. *Small Animal Critical Care Medicine*. St Louis, MO : Saunders Elsevier; 2014
76. Pova P, Almeida E, Moreira P, et al: C-reactive protein as an indicator of sepsis, *Int Care Med* 24:1052, 1998
77. Pepys MB, Hirschfield GM: C-reactive protein: a critical update, *J Clin Invest* 111:1805, 2003
78. Hoffmann G, Totzke G, Smolny M, et al: In vitro modulation of inducible nitric oxide synthase gene expression and nitric oxide synthesis by procalcitonin, *Crit Care Med* 29(1):112, 2001

79. Assicot M, Gendrel D, Carsin H, et al: High serum procalcitonin concentrations in patients with sepsis and infection, *Lancet* 341:515, 1993
80. Jekarl DW, Lee SY, Lee J, et al. Procalcitonin as a diagnostic marker and IL-6 as a prognostic marker for sepsis, *Diagn Microbiol Infect Dis* [http:// dx.doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2012.12.011](http://dx.doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2012.12.011), 2013
81. Georgopolous AP, Savva A, Giamarellos-Bourboulis EJ, et al: Early changes in procalcitonin may advise about prognosis and appropriateness of antimicrobial therapy in sepsis, *J Crit Care* 26(3):331e1, 2011
82. Giunti M, Peli A, Battilani M, et al. Evaluation of CALC-I Gene (CALCA) expression in tissues of dogs with signs of the systemic inflammatory response syndrome. *J Vet Emerg Crit Care* 2010;20:523–527
83. Kuzi S, Aroch I, Peleg K, et al. Canine procalcitonin messenger RNA expression. *J Vet Diagn Invest* 2008;20:629–633
84. Floras ANK et al. Investigation of a Commercial ELISA for the Detection of Canine Procalcitonin *J Vet Intern Med* 2014;28:599–602
85. Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, Annane D, Gerlach H, Opal SM, Sevransky JE, Sprung CL, Douglas IS, Jaeschke R, Osborn TM, Nunnally ME, Townsend SR, Reinhart K, Kleinpell RM, Angus DC, Deutschman CS, Machado FR, Rubenfeld GD, Webb S, Beale RJ, Vincent JL, Moreno R; Surviving Sepsis Campaign Guidelines Committee including The Pediatric Subgroup. Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Severe Sepsis and Septic Shock: 2012 *Send to: Intensive Care Med.* 2013 Feb;39(2):165-228. doi: 10.1007/s00134-012-2769-8. Epub 2013 Jan 30
86. Rivers E, Nguyen B, Havstad S, Ressler J, Muzzin A, Knoblich B, Peterson E, Tomlanovich M; Early Goal-Directed Therapy Collaborative Group. Early goal-directed therapy in the treatment of severe sepsis and septic shock. *N Engl J Med.* 2001 Nov 8;345(19):1368-77
87. Early Goal-Directed Therapy Collaborative Group of Zhejiang Province: The effect of early goal-directed therapy on treatment of critical patients with severe sepsis/septic shock: A multi-center, prospective, randomized, controlled study [in Chinese]. *Zhongguo Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue* 2010; 6:331-334
88. Silverstein D: Tornadoes, sepsis, and goal-directed therapy in dogs, *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio)* 22(4):395, 2012
89. Conti-Patara A, de Araujo Caldeira J, de Mattos-Junior E, et al: Changes in tissue perfusion parameters in dogs with severe sepsis/septic shock in response to goal-directed hemodynamic optimization at admission to ICU and the relation to outcome, *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio)* 22(4):409, 2012.
90. Butler AL: Goal-directed therapy in small animal critical illness, *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 41(4):817, vii, 2011
91. Gelman S. venous function and central venous pressure. *Anesthesiology* 2008; 108(4):735–48
92. Aldrich J, Haskins S. Monitoring the critically ill patient. In: Bonagura J, Kirk R, editors. *Current veterinary therapy*. Philadelphia: WB Saunders; 1995. p. 98–105
93. Hayashi Y, Maruyama K, Takaki O, et al. Optimal placement of CVP catheter in paediatric cardiac patients. *Can J Anaesth* 1995;46(6):479–82
94. Chow R, Kass P, Haskins S. Evaluation of peripheral and central venous pressure in awake dogs and cats. *Am J Vet Res* 2006;67(12):1987–91
95. Dalrymple P. Central venous pressure monitoring. *Anaesth Intensive Care* 2006; 7(3):91–2.
96. Barbeito A, Mark J. Arterial and central venous pressure monitoring. *Anesthesiol Clin* 2006;24(4):717–35
97. Magder S, Bafaqeeh F. The clinical role of central venous pressure measurement. *J Intensive Care Med* 2007;22(1):44–51

98. Lichtwarck-Aschoff M, Beale R, Pfeiffer U. Central venous pressure, pulmonary artery occlusion pressure, intrathoracic blood volume, and right ventricular end-diastolic volume as indicators of cardiac preload. *J Crit Care* 1996;11(4):180–8.
99. Wiesenack C, Fiegl C, Keyser A, et al. Continuously assessed right ventricular end-diastolic volume as a marker of cardiac preload and fluid responsiveness in mechanically ventilated cardiac surgical patients. *Crit Care* 2005;9(3):R226–33.
100. Silverstein D. Goal directed therapy in veterinary medicine, in Proceedings 13<sup>th</sup> EVECCS congress Prague, June 2014
101. Marino PL: Arterial blood pressure. In Marino P, editor: *The ICU book*, ed 3, Philadelphia, 2006, Lippincott, Williams & Wilkins
102. Cooper E. Hypotension. In: Silverstein DC, Hopper K, eds. *Small Animal Critical Care Medicine*. St Louis, MO : Saunders Elsevier; 2014
103. Scheer B, Perel A, Pfeiffer U. Clinical review: complications and risk factors of peripheral arterial catheters used for haemodynamic monitoring in anaesthesia and intensive care medicine. *Crit Care* 2002;6(3):198–204
104. Bosiack AP, Mann FA, Dodam JR, et al. Comparison of ultrasonic Doppler flowmonitor oscillometric, and direct arterial blood pressure measurements in ill dogs. *J Vet Emerg Crit Care* 2010;20(2):207–15
105. Shih A, Robertson S, Vigani A, et al. Evaluation of an indirect oscillimetric blood pressure monitor in normotensive and hypotensive anesthetized dogs. *J Vet Emerg Crit Care* 2010;20(3):313–8
106. Acierno M, Seaton D, Mitchell MA, et al. Agreement between directly measured blood pressure and pressures obtained with three veterinary-specific oscillometric units in cats. *J Am Vet Med Assoc* 2010;237:402–6
107. Caulkett NA, Cantwell SL, Houston DM: A comparison of indirect blood pressure monitoring techniques in the anesthetized cat, *Vet Surg* 27:370,1998
108. Varpula M, Tallgren M, Saukkonen K, et al: Hemodynamic variables related to outcome in septic shock. *Intensive Care Med* 2005;31:1066-1071
109. Silverstein DC, Ryan MJ. SIRS, MODS and sepsis: treatment options; in Proceedings 13<sup>th</sup> EVECCS congress Prague, June 2014
110. Silverstein DC, Wininger FA, Shofer FS, King LG. Relationship between Doppler blood pressure and survival or response to treatment in critically ill cats: 83 cases (2003-2004). *J Am Vet Med Assoc*. 2008 Mar 15;232(6):893-7. doi: 10.2460/javma.232.6.893
111. Kellum J. Acute kidney injury. *Crit Care Med* 2008;36(4S):S141–5
112. Chertow GM, Christiansen CL, Cleary PD, et al. Prognostic stratification in critically ill patients with acute renal failure requiring dialysis. *Arch Intern Med* 1995;155:1505–1511
113. Chertow GM, Lazarus JM, Paganini EP, et al. Predictors of mortality and the provision of dialysis in patients with acute tubular necrosis. The Auriculin Anaritide Acute Renal Failure Study Group. *J Am Soc Nephrol* 1998;9:692–698
114. Metnitz PG, Krenn CG, Steltzer H, et al. Effect of acute renal failure requiring renal replacement therapy on outcome in critically ill patients. *Crit Care Med* 2002;30:2051–2058
115. Mehta RL, Pascual MT, Gruta CG, et al. Refining predictive models in critically ill patients with acute renal failure. *J Am Soc Nephrol* 2002;13:1350–1357
116. Wang HE, Muntner P, Chertow GM, et al. Acute kidney injury and mortality in hospitalized patients. *Am J Nephrol* 2012;35:349–355
117. Uchino S, Kellum JA, Bellomo R, et al. Acute renal failure in critically ill patients: A multinational, multicenter study. *J Am Med Assoc* 2005;294:813–818
118. Bagshaw SM, Lapinsky S, Dial S, et al. Acute kidney injury in septic shock: Clinical outcomes and impact of duration of hypotension prior to initiation of antimicrobial therapy. *Intensive Care Med* 2009;35:871–881

119. Thoen ME, Kerl ME. Characterization of acute kidney injury in hospitalized dogs and evaluation of a veterinary acute kidney injury staging system. *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio)* 2012;21:648–657
120. Mehta R, Kellum JA, Shah SV, et al. Acute Kidney Injury Network: report of an initiative to improve outcomes in acute kidney injury. *Crit Care* 2007;11(3):R31
121. Bellomo R, Ronco C, Kellum JA, et al. Acute renal failure—definition, outcome measures, animal models, fluid therapy and information technology needs: the Second International Consensus Conference of the Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI) Group. *Crit Care* 2004;8(2):R204-12
122. Srisawat N, Hoste E, Kellum J. Modern classification of acute kidney injury. *Blood Purif* 2010;29(3):520–4.
123. Cerda J, Sheinfeld G, Ronco C. Fluid overload in critically ill patients with acute kidney injury. *Blood Purif* 2010;29(4):331–8.
124. Bagshaw S, Brophy PD, Cruz D, et al. Fluid balance as a biomarker: impact of fluid overload on outcome in critically ill patients with acute kidney injury. *Crit Care* 2008;12(4):169
125. Bouchard J, Soroko SB, Chertow GM, et al. Fluid accumulation, survival and recovery of kidney function in critically ill patients with acute kidney injury. *Kidney Int* 2009;76(4):422–7
126. Payen D, de Pont AC, Sakr Y, et al. A positive fluid balance is associated with a worse outcome in patients with acute renal failure. *Crit Care* 2008;12(3):R74–81.
127. Schrier R. Fluid administration in critically ill patients with acute kidney injury. *Clin J Am Soc Nephrol* 2010;5(4):733–9
128. Prowle J, Echeverri JE, Ligabo EV, et al. Fluid balance and acute kidney injury. *Nat Rev Nephrol* 2010;6:107–15
129. Lauschke A, Teichgraber UK, Frei U, et al. ‘Low-dose’ dopamine worsens renal perfusion in patients with acute renal failure. *Kidney Int* 2006;69:1669–74
130. Bellomo R, Chapman M, Finfer S, et al. Low-dose dopamine in patients with early renal dysfunction: a placebo-controlled randomised trial. *Lancet* 2000;356:2139–43
131. Ho K, Sheridan D. Meta-analysis of furosemide to prevent or treat acute renal failure. *Br Med J* 2006;333(7565):420.
132. Bagshaw S, Delaney A, Haase M, et al. Loop diuretics in the the management of acute renal failure: a systematic review and meta-analysis. *Crit Care Resusc* 2007;9(1):60–8.
133. Solomon R, Werner C, Mann D, et al. Effects of saline, mannitol, and furosemide to prevent acute decreases in renal function induced by radiocontrast agents. *N Engl J Med* 1994;331(21):1416–20
134. Kellum JA, M Decker J: Use of dopamine in acute renal failure: A meta-analysis. *Crit Care Med* 2001; 29:1526-1531
135. Marx G, Reinhart K: Venous Oximetry, *Curr Opin Crit Care* 12(3):263,2006
136. Scheinman M, Brown M, Rapaport E: Critical assessment of use of central venous oxygen saturation as a mirror of mixed venous oxygen in severely ill cardiac patients, *Circulation* 40:165, 1969.
137. Lee J, Wright F, Barber R: Central venous oxygen saturation in shock: A study in man. *Anesthesiology* 36:472, 1972.
138. Reinhart K, Kuhn H, Hartog C, et al: Continuous central venous and pulmonary artery oxygen saturation monitoring in the critically ill, *Intensive Care Med* 30:1572, 2004.
139. Pope J, Jones AE, Gaieski DF, et al. Multicenter study of central venous oxygen saturation (ScvO<sub>2</sub>) as a predictor of mortality in patients with sepsis. *Ann Emerg Med* 2010;55(1):40–6.
140. Lima A, van Bommel J, Jansen TC, et al. Low tissue oxygen saturation at the end of early goal-directed therapy is associated with worse outcome in critically ill patients. *Crit Care* 2009;13(S5):S13
141. Levy MM, Dellinger RP, Townsend SR, et al; Surviving Sepsis Campaign: The Surviving Sepsis Campaign: Results of an international guideline-based performance improvement program targeting severe sepsis. *Crit Care Med* 2010; 38:367-374

142. Hayes GM, Mathews K, Boston S, et al: Low central venous oxygen saturation is associated with increased mortality in critically ill dogs, *J Small Anim Pract* 52(8):433, 2011
143. Kisielewicz C, Self I, Bell R. Assessment of clinical and laboratory variables as a guide to packed red blood cell transfusion of euvoletic anemic dogs. *J Vet Intern Med* 2014;28:576–82
144. Tsai AG, Intaglietta M. High viscosity plasma expanders: volume restitution fluids for lowering the transfusion trigger. *Biorheology* 2001;38:229–37
145. Vamvakas E, Blajchman M. Transfusion-related immunomodulation (TRIM): an update. *Blood Rev* 2007;21(6):327–48
146. Vamvakas E, Blajchman M. Transfusion-related mortality: the ongoing risks of allogeneic blood transfusion and the available strategies for their prevention. *Blood* 2009;113(15):3406–17
147. Marik P, Corwin H. Acute lung injury following blood transfusion: expanding the definition. *Crit Care Med* 2008;36(11):3080–4
148. Swanson K, Dwyre DM, Krochmal J, et al. Transfusion-related acute lung injury (TRALI): current clinical and pathophysiologic considerations. *Lung* 2006;184(3):177–85
149. Karagiannis MH, Reniker AN, Kerl ME, et al. Lactate measurement as an indicator of perfusion. *Comp Cont Educ Pract Vet* 2006;28(4):287–99.
150. Pang DS, Boysen S. Lactate in veterinary critical care: pathophysiology and management. *J Am Anim Hosp Assoc* 2007;43(5):270–9
151. Prittie J. Optimal endpoints of resuscitation and early goal-directed therapy. *J Vet Emerg Crit Care* 2006;16(4):329–39
152. Lagutchik MS, Ogilvie GK, Wingfield WE, et al. Lactate kinetics in veterinary critical care: a review. *J Vet Emerg Crit Care* 1996;6(2):81–95
153. Jones AE, Puskarich MA. Sepsis-induced tissue hypoperfusion. *Crit Care Clin* 2009;25(4):769–79
154. Fink M. Bench-to-bedside review: cytopathic hypoxia. *Crit Care* 2002;6(6):491–9
155. Thomas GW, Mains CW, Slone DS, et al. Potential dysregulation of the pyruvate dehydrogenase complex by bacterial toxins and insulin. *J Trauma* 2009;67(3):628–33
156. Arnold RC, Sahpiro NI, Jones AE, et al. Multicenter study of early lactate clearance as a determinant of survival in patients with presumed sepsis. *Shock* 2009;32(1):35–9
157. Nguyen HB, Rivers EP, Knoblich BP, et al. Early lactate clearance is associated with improved outcome in severe sepsis and septic shock. *Crit Care Med* 2004;32(8):1637–42
158. Donnino MW, Miller J, Goyal N, et al. Effective lactate clearance is associated with improved outcome in post-cardiac arrest patients. *Resuscitation* 2007;75(2):229–34
159. Stevenson CK, Kidney BA, Duke T, et al. Serial blood lactate concentrations in systemically ill dogs. *Vet Clin Pathol* 2007;36(3):234–9
160. Pang DS, Boysen S. Lactate in veterinary critical care: pathophysiology and management. *J Am Anim Hosp Assoc* 2007;43(5):270–9
161. Butler A, Campbell VL, Wagner AE, et al. Lithium dilution cardiac output and oxygen delivery in conscious dogs with systemic inflammatory response syndrome. *J Vet Emerg Crit Care* 2008;18(3):248–57
162. Ateca LB, Dombrowski SC, Silverstein DC. Survival analysis of critically ill dogs with hypotension with or without hyperlactatemia: 67 cases (2006-2011) *J Am Vet Med Assoc*. 2015 Jan 1;246(1):100-4. doi: 10.2460/javma.246.1.100.
163. Puskarich MA, Trzeciak S, Shapiro NI, et al: Prognostic value and agreement of achieving lactate clearance or central venous oxygen saturation goals during early sepsis resuscitation. *Acad Emerg Med* 19(3):252, 2012
164. Mikkelsen ME, Miltiades AN, Gaieski DF, et al: Serum lactate is associated with mortality in severe sepsis independent of organ failure and shock, *Crit Care Med* 37(5):1670, 2009
165. Napoli AM, Seigel TA. The role of lactate clearance in the resuscitation bundle, *Crit Care* 15(5):199, 2011

166. Nguyen HB, Loomba M, Yang JJ, et al: Early lactate clearance is associated with biomarkers of inflammation, coagulation, apoptosis, organ dysfunction and mortality in severe sepsis and septic shock, *J Inflamm (Lond)*7:6, 2010
167. Puskarich MA, Trzeciak S, Shapiro NI, et al: Association between timing of antibiotic administration and mortality from septic shock in patients treated with a quantitative resuscitation protocol, *Crit Care Med* 39(9):2066, 2011
168. Tian HH, Han SS, Lv CJ, et al: The effect of early goal lactate clearance rate on the outcome of septic shock patients with severe pneumonia, *Zhongguo Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue* 24(1):42, 2012
169. Butler A, Campbell VL, Wagner AE, et al. Lithium dilution cardiac output and oxygen delivery in conscious dogs with systemic inflammatory response syndrome. *J Vet Emerg Crit Care* 2008;18(3):248–57
170. Rivers EP, Elkin R, Cannon CM: Counterpoint: should lactate clearance be substituted for central venous oxygen saturation as goals of early severe sepsis and septic shock therapy? No, *Chest* 140(6):1408; discussion 1413, 2011
171. Jones AE, Shapiro NI, Trzeciak S, et al; Emergency Medicine Shock Research Network (EMShockNet) Investigators: Lactate clearance vs central venous oxygen saturation as goals of early sepsis therapy: A randomized clinical trial. *JAMA* 2010; 303:739–746
172. Jansen TC, van Bommel J, Schoonderbeek FJ, et al; LACTATE study group: Early lactate-guided therapy in intensive care unit patients: A multicenter, open-label, randomized controlled trial. *Am J Respir Crit Care Med* 2010; 182:752–761
173. Englehart M, Schreiber M. Measurement of acid-base resuscitation endpoints: lactate, base deficit, bicarbonate or what? *Curr Opin Crit Care* 2006;12(6):259–574
174. Chawla L, Jagasia D, Abell LM, et al. Anion gap, anion gap corrected for albumin, and base deficit fail to accurately diagnose clinically significant hyperlactatemia in critically ill patients. *J Intensive Care Med* 2008;23(2):122–7
175. Park M, Azevedo LC, Maciel AT, et al. Evolutive standard base excess and serum lactate level in severe sepsis and septic shock patients resuscitated with early goal-directed therapy: still outcome markers? *Clinics (Sao Paulo)*2006;61(1):47–52
176. Surbatovic M, Radakovic S, Jevtic M, et al. Predictive value of serum bicarbonate, arterial base deficit/excess and SAPS III score in critically ill patients. *Gen Physiol Biophys* 2009;28(Spec No):271–6
177. Rixen D, Raum M, Bouillon B, et al. Base deficit development and its prognostic significance in posttrauma critical illness: an analysis by the trauma registry of the Deutsche Gesellschaft für Unfallchirurgie. *Shock* 2001;15(2):83–9
178. Rutherford E, Morris JA, Reed GW, et al. Base deficits stratifies mortality and determines therapy. *J Trauma* 1992;33(3):417–23
179. Hume D, Drobotz K, Hess R. Outcome of dogs with diabetic ketoacidosis: 127 dogs (1993–2003). *J Vet Intern Med* 2006;20(3):547–55
180. Hagman R, Reezigt BJ, Bergstrom Ledin H, et al. Blood lactate levels in 31 female dogs with pyometra. *Acta Vet Scand* 2009;51:2–12.
181. Weinstein MP, Reller LB, Murphy JR, et al: The clinical significance of positive blood cultures: A comprehensive analysis of 500 episodes of bacteremia and fungemia in adults. I. Laboratory and epidemiologic observations. *Rev Infect Dis* 1983; 5:35–53
182. Blot F, Schmidt E, Nitenberg G, et al: Earlier positivity of central-venous-versus peripheral-blood cultures is highly predictive of catheter-related sepsis. *J Clin Microbiol* 1998; 36:105–109
183. Mermel LA, Maki DG: Detection of bacteremia in adults: Consequences of culturing an inadequate volume of blood. *Ann Intern Med* 1993; 119:270–272
184. Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, et al: Epidemiology of severe sepsis in the United States: Analysis of incidence, outcome, and associated costs of care, *Crit Care Med* 29(7):1303, 2001

185. Dellinger RP, Levy MM, Carlet JM, et al: Surviving sepsis campaign: International guidelines for management of severe sepsis and septic shock:2008, *Crit Care Med* 36(1):296, 2008
186. Giamarellos-Bourboulis EJ, Giannopoulou P, Grecka P, et al: Should procalcitonin be introduced in the diagnostic criteria for the systemic inflammatory response syndrome and sepsis? *J Crit Care* 2004;19:152-157
187. Uzzan B, Cohen R, Nicolas P, et al: Procalcitonin as a diagnostic test for sepsis in critically ill adults and after surgery or trauma: A systematic review and meta-analysis. *Crit Care Med* 2006; 34:1996-2003
188. Tang BM, Eslick GD, Craig JC, et al: Accuracy of procalcitonin for sepsis diagnosis in critically ill patients: Systematic review and metaanalysis. *Lancet Infect Dis* 2007; 7:210-217
189. Tenover FC: Rapid detection and identification of bacterial pathogen using novel molecular technologies: Infection control and beyond. *Clin Infect Dis* 2007; 44:418-423
190. Klouche M, Schröder U: Rapid methods for diagnosis of bloodstream infections. *Clin Chem Lab Med* 2008; 46:888-908
191. Tissari P, Zumla A, Tarkka E, et al: Accurate and rapid identification of bacterial species from positive blood cultures with a DNAbased microarray platform: An observational study. *Lancet* 2010; 375:224-230
192. Kumar A, Roberts D, Wood KE, et al: Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock. *Crit Care Med* 2006; 34:1589-1596
193. Morrell M, Fraser VJ, Kollef MH: Delaying the empiric treatment of candida bloodstream infection until positive blood culture results are obtained: A potential risk factor for hospital mortality. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49:3640-3645
194. Ferrer R, Artigas A, Suarez D, et al; Edusepsis Study Group: Effectiveness of treatments for severe sepsis: A prospective, multicenter, observational study. *Am J Respir Crit Care Med* 2009; 180:861-866
195. Barie PS, Hydo LJ, Shou J, et al: Influence of antibiotic therapy on mortality of critical surgical illness caused or complicated by infection. *Surg Infect (Larchmt)* 2005; 6:41-54
196. Castellanos-Ortega A, Suberviola B, García-Astudillo LA, et al: Impact of the Surviving Sepsis Campaign protocols on hospital length of stay and mortality in septic shock patients: Results of a three-year followup quasi-experimental study. *Crit Care Med* 2010; 38:1036-1043
197. El Solh AA, Akinnusi ME, Alsawalha LN, et al: Outcome of septic
198. shock in older adults after implementation of the sepsis “bundle” . *J Am Geriatr Soc* 2008; 56:272-278
199. Gurnani PK, Patel GP, Crank CW, et al: Impact of the implementation of a sepsis protocol for the management of fluid-refractory septic shock: A single-center, before-and-after study. *Clin Ther* 2010; 32:1285-1293
200. Larsen GY, Mecham N, Greenberg R: An emergency department septic shock protocol and care guideline for children initiated at triage. *Pediatrics* 2011; 127:e1585-e1592
201. Barochia AV, Cui X, Vitberg D, et al: Bundled care for septic shock: An analysis of clinical trials. *Crit Care Med* 2010; 38:668-678
202. Gaieski DF, Mikkelsen ME, Band RA, et al: Impact of time to antibiotics on survival in patients with severe sepsis or septic shock in whom early goal-directed therapy was initiated in the emergency department, *Crit Care Med* 38(4):1045, 2010
203. Kumar A, Ellis P, Arabi Y, et al: Initiation of inappropriate antimicrobial therapy results in a fivefold reduction of survival in human septic shock, *Chest* 136(5):1237, 2009
204. Silverstein DC, Kleiner J, Drobatz KJ: Effectiveness of intravenous fluid resuscitation in the emergency room for treatment of hypotension in dogs: 35 cases (2000-2010), *J Vet Emerg Crit Care* 22(6):666-673, 2012

205. Leibovici L, Shraga I, Drucker M, et al: The benefit of appropriate empirical antibiotic treatment in patients with bloodstream infection. *J Intern Med* 1998; 244:379-386
206. Ibrahim EH, Sherman G, Ward S, et al: The influence of inadequate antimicrobial treatment of bloodstream infections on patient outcomes in the ICU setting. *Chest* 2000; 118:146-155
207. Heyland DK, Johnson AP, Reynolds SC, et al: Procalcitonin for reduced antibiotic exposure in the critical care setting: A systematic review and an economic evaluation. *Crit Care Med* 2011; 39:1792-1799
208. Carr JA, Procalcitonin-guided antibiotic therapy for septic patients in the surgical intensive care unit. *J Intensive Care*. 2015 Aug 4;3(1):36. doi: 10.1186/s40560-015-0100-9. eCollection 2015
209. Jensen JU, Hein L, Lundgren B, et al; Procalcitonin And Survival Study (PASS) Group: Procalcitonin-guided interventions against infections to increase early appropriate antibiotics and improve survival in the intensive care unit: A randomized trial. *Crit Care Med* 2011; 39:2048-2058
210. Najafi A et al. The Comparison of Procalcitonin Guidance Administer Antibiotics with Empiric Antibiotic Therapy in Critically Ill Patients Admitted in Intensive Care Unit. *Acta Med Iran*. 2015;53(9):562-7.
211. Jimenez MF, Marshall JC; International Sepsis Forum: Source control in the management of sepsis. *Intensive Care Med* 2001; 27 Suppl 1:S49-S62
212. Moss RL, Musemeche CA, Kosloske AM: Necrotizing fasciitis in children: Prompt recognition and aggressive therapy improve survival. *J Pediatr Surg* 1996; 31:1142-1146
213. Boyer A, Vargas F, Coste F, et al: Influence of surgical treatment timing on mortality from necrotizing soft tissue infections requiring intensive care management. *Intensive Care Med* 2009; 35:847-853
214. Mier J, León EL, Castillo A, et al: Early versus late necrosectomy in severe necrotizing pancreatitis. *Am J Surg* 1997; 173:71-75
215. van Santvoort HC, Besselink MG, Bakker OJ, et al; Dutch Pancreatitis Study Group: A step-up approach or open necrosectomy for necrotizing pancreatitis. *N Engl J Med* 2010; 362:1491-1502
216. Bufalari A, Giustozzi G, Moggi L: Postoperative intraabdominal abscesses: Percutaneous versus surgical treatment. *Acta Chir Belg* 1996; 96:197-200
217. O'Grady NP, Alexander M, Dellinger EP, et al: Guidelines for the prevention of intravascular catheter-related infections. Centers for Disease Control and Prevention. *MMWR Recomm Rep* 2002; 51(RR-10):1-29
218. O'Grady NP, Alexander M, Dellinger EP, et al: Guidelines for the prevention of intravascular catheter-related infections. *Clin Infect Dis* 2002; 35:1281-1307
219. Evans A, Winslow EH: Oxygen saturation and hemodynamic response in critically ill, mechanically ventilated adults during intrahospital transport. *Am J Crit Care* 1995; 4:106-111
220. Myburgh JA, Mythen MG. Resuscitation fluids. *N Engl J Med* 2013; 369(13):1243-1251
221. Cotton BA, Guy JS, Morris JA, et al. The cellular, metabolic and systemic consequences of aggressive fluid resuscitation strategies. *Shock* 2006; 26(2):115-121
222. Cazzoli D, Prittie J. The crystalloid-colloid debate: Consequences of resuscitation fluid selection in veterinary critical care. State of art review
223. Mobley A, Sullivan L. Retrospective determination of fluid overload in critically ill dogs (Abstr). *J Vet Emerg Crit Care* 2012; 22(S2):S8
224. Santry HP, Alam HB. Fluid resuscitation: past, present and future. *Shock* 2010; 33(3):229-241
225. Shaw AD, Bagshaw SM, Goldstein SL, et al. Major complications, mortality, and resource utilization after open abdominal surgery: 0.9% saline compared to Plasma-Lyte. *Ann Surg* 2012; 255(5):821-829
226. Yunos NM, Bellomo R, Hegarty C, et al. Association between a chloride-liberal vs chloride-restrictive intravenous fluid administration strategy and kidney injury in critically ill adults. *J Am Med Assoc* 2012; 308(15):1566-1572

227. Raghunathan K, Shaw A, Nathanson B, et al. Association between the choice of IV crystalloid and in-hospital mortality among critically ill adults with sepsis. *Crit Care Med* 2014; 42(7):1585–1591
228. Raghunathan K, Shaw AD, Bagshaw SM. Fluids are drugs: type, dose and toxicity. *Curr Opin Crit Care* 2013; 19(4):290–298
229. Chappell D, Jacob M, Hofmann-Kiefer K, et al. A rational approach to perioperative fluid management. *Anesthesiology* 2008; 109(4):732–740
230. Hartog CS, Bauer M, Reinhart K. The efficacy and safety of colloid resuscitation in the critically ill. *Anesth Analg* 2011; 112(1):156–164.
231. Brunkhorst FM, Engel C, Bloos F, et al. Intensive insulin therapy and pentastarch resuscitation in severe sepsis. *N Engl J Med* 2008; 358(2):125–139
232. Perner A, Haase N, Guttormsen AB, et al. Hydroxyethyl starch 130/0.42 versus Ringer's acetate in severe sepsis. *N Engl J Med* 2012; 367(2):124–134
233. Myburgh JA, Finfer S, Bellomo R, et al. Hydroxyethyl starch or saline for fluid resuscitation in intensive care. *N Engl J Med* 2012; 367(20):1901–1911
234. Haase N. Hydroxyethyl starch in sepsis. *Dan Med J* 2014; 61:B4764.
235. Guidet B, Martinet O, Boulain T, et al. Assessment of hemodynamic efficacy and safety of 6% hydroxyethylstarch 130/0.4 vs 0.9% NaCl fluid replacement in patients with severe sepsis: the CRYSTMAS study. *Crit Care* 2012; 16(3):R94
236. Silverstein DC, Aldrich J, Haskins SC, et al. Assessment of changes in blood volume in response to resuscitative fluid administration in dogs. *J Vet Emerg Crit Care* 2005; 15(3):185–192
237. Gauthier V, Holowaychuk MK, Kerr CL, et al. Effect of synthetic colloid administration on hemodynamic and laboratory variables in healthy dogs and dogs with systemic inflammation. *J Vet Emerg Crit Care* 2014; 24(3):251–258
238. Annane D, Siami S, Jaber S, et al. Effects of fluid resuscitation with colloids vs crystalloids on mortality in critically ill patients presenting with hypovolemic shock: the CRISTAL randomized trial. *J Am Med Assoc* 2013; 310(17):1809–1817
239. Reinhart K, Perner A, Sprung CL, et al. Consensus statement of the ESICM task force on colloid volume therapy in critically ill patients. *Intensive Care Med* 2012; 38(3):368–383
240. Perel P, Roberts I, Ker K. Colloids versus crystalloids for fluid resuscitation in critically ill patients. *Cochrane Database Syst Rev* 2013: CD000567
241. Mutter TC, Ruth CA, Dart AB. Hydroxyethyl starch (HES) versus other fluid therapies: effects on kidney function. *Cochrane Database Syst Rev* 2013: CD007594
242. Zarychanski R, Abou-Setta AM, Turgeon AF, et al. Association of hydroxyethyl starch administration with mortality and acute kidney injury in critically ill patients requiring volume resuscitation: a systematic review and meta-analysis. *J Am Med Assoc* 2013; 309(7):678–688
243. Mazzaferro EM, Rudloff E, Kirby R. The role of albumin replacement in the critically ill veterinary patient. *J Vet Emerg Crit Care* 2002; 12(2):113–124
244. SAFE Study Investigators. A comparison of albumin and saline for fluid resuscitation in the intensive care unit. *N Engl J Med* 2004; 350(22):2247–2256
245. Delaney AP, Dan A, McCaffrey J, et al: The role of albumin as a resuscitation fluid for patients with sepsis: A systematic review and metaanalysis. *Crit Care Med* 2011; 39:386–391
246. Caironi P, Tognoni G, Masson S, et al. Albumin replacement in patients with severe sepsis or septic shock. *N Engl J Med* 2014; 370(15):1412–1421
247. Shertel ER, Allen DA, Muir WW, et al: Evaluation of a hypertonic sodium chloride/dextran solution for treatment of traumatic shock in dogs, *J Am Vet Med Assoc* 208:366, 1996
248. Fantoni DT, Auler JO Jr, Futema F, et al: Intravenous administration of hypertonic sodium chloride solution with dextran or isotonic sodium chloride solution for treatment of septic shock secondary to pyometra in dogs, *J Am Vet Med Assoc* 215:1283, 1999
249. Brooks MB. Transfusion of plasma products. In: Schalm's veterinary hematology, 6<sup>th</sup> edition. Wiley Blackwell. Iowa (USA) 2012, pp744-745

250. Mathews KA, Barry M. The use of 25% human serum albumin: outcome and efficacy in raising serum albumin and systemic blood pressure in critically ill dogs and cats. *J Vet Emerg Crit Care* 2005; 15(2):110–118
251. Trow AV, Rozanski EA, deLaforcade AM, et al. Evaluation of the use of human albumin in critically ill dogs: 73 cases (2003–2006). *J Am Vet Med Assoc* 2008; 233(4):607–612
252. Vigano F, Perissinotto L, Bosco VRF. Administration of 5% human serum albumin in critically ill small animal patients with hypoalbuminemia: 418 dogs and 170 cats (199–2008). *J Vet Emerg Crit Care* 2010; 20(2):237–243
253. Francis AH, Martin LG, Haldorson GJ, et al. Adverse reactions suggestive of type III hypersensitivity in six healthy dogs given human albumin. *J Am Vet Med Assoc* 2007; 230(6):873–879
254. Cohn LA, Kerl ME, Lenox CE, et al. Response of healthy dogs to infusions of human serum albumin. *Am J Vet Res* 2007; 68(6):657–663
255. Martin LG, Luther TY, Alperin DC, et al. Serum antibodies against human albumin in critically ill and healthy dogs. *J Am Vet Med Assoc* 2008; 232(7):1004–1009
256. Powell C, Thompson L, Murtaugh RJ. Type III hypersensitivity reaction with immune complex deposition in 2 critically ill dogs administered human serum albumin. *J Vet Emerg Crit Care* 2013; 23(6):598–604
257. Craft EM, Powell LL. The use of canine-specific albumin in dogs with septic peritonitis. *J Vet Emerg Crit Care* 2012; 22(6):631–639
258. Holcomb JB, Jenkins D, Rhee P, et al: Damage control resuscitation: directly addressing the coagulopathy of trauma, *J Trauma* 62:307, 2007
259. Duchesne JC, McSwain NE, Cotton BA, et al: Damage control resuscitation: the new face of damage control, *J Trauma Inj Infect Crit Care* 69:976, 2010
260. Morrison AC, Carrick MM, Normal MA, et al: Hypotensive resuscitation strategy reduces transfusion requirements and severe postoperative coagulopathy in trauma patients with hemorrhagic shock: preliminary results of a randomized controlled trial, *J Trauma Inj Infect Crit Care* 70:652, 2011
261. Balakrishnan A, Silverstein DC. Shock fluids and fluid challenge. In: Silverstein DC, Hopper K, eds. *Small Animal Critical Care Medicine*. St Louis, MO : Saunders Elsevier; 2014
262. Martin C, Viviani X, Leone M, et al: Effect of norepinephrine on the outcome of septic shock. *Crit Care Med* 2000; 28:2758–2765
263. Ruokonen E, Takala J, Kari A, et al: Regional blood flow and oxygen transport in septic shock. *Crit Care Med* 1993; 21:1296–1303
264. Marik PE, Mohedin M: The contrasting effects of dopamine and norepinephrine on systemic and splanchnic oxygen utilization in hyperdynamic sepsis. *JAMA* 1994; 272:1354–1357
265. Patel GP, Grahe JS, Sperry M, et al: Efficacy and safety of dopamine versus norepinephrine in the management of septic shock. *Shock* 2010; 33:375–380
266. De Backer D, Biston P, Devriendt J, et al; SOAP II Investigators: Comparison of dopamine and norepinephrine in the treatment of shock. *N Engl J Med* 2010; 362:779–789
267. Puskarich MA: Emergency management of severe sepsis and septic shock, *Curr Opin Crit Care* 18(4):295, 2012
268. De Backer D, Aldecoa C, Njimi H, et al: Dopamine versus norepinephrine in the treatment of septic shock: a meta-analysis\*, *Crit Care Med* 40(3):725, 2012
269. Vasu TS, Cavallazzi R, Hirani A, et al: Norepinephrine or dopamine for septic shock: systematic review of randomized clinical trials, *J Intensive Care Med* 27(3):172, 2012
270. Haskins SC, Catecholamines, In: Silverstein DC, Hopper K, eds. *Small Animal Critical Care Medicine*. St Louis, MO : Saunders Elsevier; 2014
271. Long K, Kirby R. An update on cardiovascular adrenergic receptor physiology and potential pharmacological applications in veterinary critical care. *J Vet Emerg Crit Care* 2008;18(1):2–25

272. Wohl J, Clark T. Pressor therapy in critically ill patients. *J Vet Emerg Crit Care* 2000;10(1):21–34
273. Schenarts P, Sagraves SG, Bard MR, et al. Low-dose dopamine: a physiologically based review. *Curr Surg* 2006;63(3):219–25
274. Levy B, Bollaert PE, Charpentier C, et al: Comparison of norepinephrine and dobutamine to epinephrine for hemodynamics, lactate metabolism, and gastric tonometric variables in septic shock: A prospective, randomized study. *Intensive Care Med* 1997; 23:282–287
275. Annane D, Vignon P, Renault A, et al; CATS Study Group: Norepinephrine plus dobutamine versus epinephrine alone for management of septic shock: A randomised trial. *Lancet* 2007; 370:676–684
276. Seguin P, Bellissant E, Le Tulzo Y, et al: Effects of epinephrine compared with the combination of dobutamine and norepinephrine on gastric perfusion in septic shock. *Clin Pharmacol Ther* 2002;71:381–388
277. Myburgh JA, Higgins A, Jovanovska A, et al; CAT Study investigators: A comparison of epinephrine and norepinephrine in critically ill patients. *Intensive Care Med* 2008; 34:2226–2234
278. Morelli A, Ertmer C, Rehberg S, et al: Phenylephrine versus norepinephrine for initial hemodynamic support of patients with septic shock: A randomized, controlled trial. *Crit Care* 2008; 12:R143
279. Sharshar T, Blanchard A, Paillard M, et al: Circulating vasopressin levels in septic shock. *Crit Care Med* 2003; 31:1752–1758
280. Silverstein DC, Vasopressin. In: Silverstein DC, Hopper K, eds. *Small Animal Critical Care Medicine*. St Louis, MO : Saunders Elsevier; 2014
281. Bentley A, Otto C, Shofer F. Comparison of dogs with septic peritonitis: 1988–1993 versus 1999–2003. *J Vet Emerg Crit Care* 2007;17(4):391–8
282. Corwin HL, Gettinger A, Rodriguez RM, et al: Efficacy of recombinant human erythropoietin in the critically ill patient: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Crit Care Med* 1999; 27:2346–2350
283. Corwin HL, Gettinger A, Pearl RG, et al; EPO Critical Care Trials Group: Efficacy of recombinant human erythropoietin in critically ill patients: A randomized controlled trial. *JAMA* 2002; 288:2827–2835
284. Walden AP, Young JD, Sharples E. Bench to bedside: A role for erythropoietin in sepsis *Crit Care*. 2010; 14(4): 227
285. Patel NSA, Collino M, Yaqoob MM, Thiemermann C. Erythropoietin in the intensive care unit: beyond treatment of anemia. *Ann Intensive Care*. 2011; 1: 40
286. Abdel-Wahab OI, Healy B, Dzik WH: Effect of fresh-frozen plasma transfusion on prothrombin time and bleeding in patients with mild coagulation abnormalities. *Transfusion* 2006; 46:1279–1285
287. Stanworth SJ, Walsh TS, Prescott RJ, et al; Intensive Care Study of Coagulopathy (ISOC) investigators: A national study of plasma use in critical care: Clinical indications, dose and effect on prothrombin time. *Crit Care* 2011; 15:R108
288. Warren BL, Eid A, Singer P, et al; KyberSept Trial Study Group: Caring for the critically ill patient. High-dose antithrombin III in severe sepsis: A randomized controlled trial. *JAMA* 2001; 286:1869–1878
289. Wiedermann CJ, Hoffmann JN, Juers M, et al; KyberSept Investigators: High-dose antithrombin III in the treatment of severe sepsis in patients with a high risk of death: Efficacy and safety. *Crit Care Med* 2006; 34:285–292
290. Schiffer CA, Anderson KC, Bennett CL, et al; American Society of Clinical Oncology: Platelet transfusion for patients with cancer: Clinical practice guidelines of the American Society of Clinical Oncology. *J Clin Oncol* 2001; 19:1519–1538

291. Liumbruno G, Bennardello F, Lattanzio A, et al; Italian Society of Transfusion Medicine and Immunohaematology (SIMTI) Work Group: Recommendations for the transfusion of plasma and platelets. *Blood Transfus* 2009; 7:132-150
292. Guidelines for the use of platelet transfusions. *Br J Haematol* 2003; 122:10-23
293. Agnoli C, Dondi F. Terapie trasfusionali nel cane parte II. Indicazioni cliniche, valutazioni pretrasfusionali, modalità di somministrazione e reazioni avverse. *Veterinaria*, anno 29, n 5, 2015
294. Abraham E, Anzueto A, Gutierrez G, et al: Double-blind randomized controlled trial of monoclonal antibody to human tumour necrosis factor in treatment of septic shock, *Lancet* 351:929, 1998
295. Panacek EA, Marshall J, Fischkoff S, et al: Neutralization of TNF by a monoclonal antibody improves survival and reduces organ dysfunction in human sepsis: results of the MONARCS trial, *Chest* 118:88S, 2000
296. Opal S, Laterre PF, Abraham E: Recombinant human platelet-activating factor acetylhydrolase for treatment of severe sepsis: results of a phase III, multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled, clinical trial, *Crit Care Med* 32(2):332, 2004
297. Opal SM, Fisher CJ Jr, Dhainaut JF, et al: Confirmatory interleukin-1 receptor antagonist trial in severe sepsis: a phase III, randomized, doubleblind, placebo-controlled, multicenter trial, *Crit Care Med* 133:94, 1997
298. Bernard GR, Wheeler AP, Russell JA, et al: The effects of ibuprofen on the physiology and survival of patients with sepsis. The Ibuprofen in Sepsis Study Group, *N Engl J Med* 336(13):912, 1997
299. Luce JM, Montgomery AB, Marks JD, et al: Ineffectiveness of high-dose methylprednisolone in preventing parenchymal lung injury and improving survival in patients with septic shock, *Am Rev Resp Dis* 138:62, 1998
300. Kruger P, Fitzsimmons K, Cook D, et al: Statin therapy is associated with fewer deaths in patients with bacteraemia, *Int Care Med* 32(1):75, 2006
301. Kruger P, Bailey M, Bellomo R. A multicentre randomized trial of atorvastatin therapy in intensive care patients with severe sepsis, *Am J Respir Crit Care Med* doi:10.1164/rccm.201209-1718OC, 2013
302. Abraham E, Laterre PF, Garg R, et al; Administration of Drotrecogin Alfa (Activated) in Early Stage Severe Sepsis (ADDRESS) Study Group: Drotrecogin alfa (activated) for adults with severe sepsis and a low risk of death. *N Engl J Med* 2005; 353:1332–1341
303. Nadel S, Goldstein B, Williams MD, et al; REsearching severe Sepsis and Organ dysfunction in children: a gLobal perspective (RESOLVE) study group: Drotrecogin alfa (activated) in children with severe sepsis: A multicentre phase III randomised controlled trial. *Lancet* 2007; 369:836–843
304. <http://www.fda.gov/Drugs/DrugSafety/DrugSafetyPodcasts/ucm277212.htm>. Accessed December 18, 2011
305. Peberdy MA, Callaway CW, Neumar RW, et al: Part 9: post-cardiac arrest care: 2010 American Heart Association Guidelines for Cardiopulmonary Resuscitation and Emergency Cardiovascular Care. *Circulation* 2010; 122(18 Suppl 3):S768-S786
306. Qaseem A, Humphrey LL, Chou R, et al; Clinical Guidelines Committee of the American College of Physicians: Use of intensive insulin therapy for the management of glycemic control in hospitalized patients: A clinical practice guideline from the American College of Physicians. *Ann Intern Med* 2011; 154:260-267
307. Moghissi ES, Korytkowski MT, DiNardo M, et al; American Association of Clinical Endocrinologists; American Diabetes Association: American Association of Clinical Endocrinologists and American Diabetes Association consensus statement on inpatient glycemic control. *Diabetes Care* 2009; 32:1119-1131
308. Jacobi J, Bircher N, Krinsley J, et al: Guidelines for the use of an insulin infusion for the management of hyperglycemia in critically ill patients. *Crit Care Med* 2012; 40:3251-3276

309. Torre DM, DeLaforcade AM, Chan DL. Incidence and Clinical Relevance of Hyperglycemia in Critically Ill Dogs *J Vet Intern Med* 2007;21:971–975
310. Knieriem M, Otto CM, Macintire D. Hyperglycemia in critically ill patients. *Compend Contin Educ Vet.* 2007 Jun;29(6):360-2, 364-72
311. Taylor P. Pain management in dog and cats-more causes and location to contemplate *Veterinary Journal*, 186-187; 2003
312. Hansen BD, Analgesia and sedation in the critically ill. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care* 15(4) 2005, pp 285^294
313. Hansen BD, Analgesia for the Critically Ill Dog or Cat : An Update. *Vet Clin Small Anim* 38 (2008) 1353–1363
314. Olgivie G.K. Fulfilling the first commandment: providing analgesia and compassionate care. 29th World Congress of the WSAVA, 2004, Rhodes, Greece (<http://www.vin.com/proceedings/Proceedings.plx?CID=WSAVA2004&PID=8572&Category=1248&O=Generic>)
315. Grant D. Evidence that animals feel pain and its consequences. In: D. Grant, Pain management in small animals. Butterworth Heinemann Elsevier, London, 21-38; 2006
316. Georgiou E, Hadjibalassi M, Lambrinou E, Andreou P, Papathanassoglou E.D.E, The Impact of Pain Assessment on Critically Ill Patients' Outcomes: A Systematic Review. Hindawi Publishing Corporation *BioMed Research International* Volume 2015, Article ID 503830, 18 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2015/503830> *Crit Care.* 2014; 18(5): R160.
317. Chanques G, Pohlman A, Kress JP, Molinari N, De Jong A, Jaber S, Hall JB, Psychometric comparison of three behavioural scales for the assessment of pain in critically ill patients unable to self-report *Crit Care.* 2014; 18(5): R160
318. Mathews K, Kronen PW, Lascelles D, Nolan A, Robertson S, Steagall PVM, Wright B, Yamashita K, WSAVA GUIDELINES FOR RECOGNITION, ASSESSMENT AND TREATMENT OF PAIN, *Jsap*, 2014
319. Mazzaferro EM, Oxygen therapy. In: Silverstein DC, Hopper K, eds. *Small Animal Critical Care Medicine.* St. Louis, MO: Saunders Elsevier; 2014
320. Hopper K, Basic mechanical ventilation. In: Silverstein DC, Hopper K, eds. *Small Animal Critical Care Medicine.* St. Louis, MO: Saunders Elsevier; 2014
321. Ralph AG, Brainard BM, Hypercoagulable states. In: Silverstein DC, Hopper K, eds. *Small Animal Critical Care Medicine.* St. Louis, MO: Saunders Elsevier; 2014
322. Langston CE, Eatroff AE, Acute Kidney Injury. In: Silverstein DC, Hopper K, eds. *Small Animal Critical Care Medicine.* St. Louis, MO: Saunders Elsevier; 2014
323. Sanfilippo F, Santonocito C, Morelli A, Foex P; Beta-blocker use in severe sepsis and septic shock: a systematic review. *Curr Med Res Opin.* 2015;31(10):1817-25
324. Coppola S, Froio S, Chiumello D;  $\beta$ -blockers in critically ill patients: from physiology to clinical evidence. *Critical Care* (2015) 19:119
325. Orbezogo Cortes D, Njimi H, Dell'Anna AM, Taccone FS; Esmolol for septic shock: more than just heart rate control? *Minerva anestesiologica*, 2014
326. Martin GS, Mannino DM, Eaton S, Moss N. The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. *Engl J Med.* 2003;348(16):1546
327. Kaukonen KM, Bailey M, Suzuki S, Pilcher D, Bellomo R: Mortality related to severe sepsis and septic shock among critically ill patients in Australia and New Zealand, 2000-2012. *JAMA.* 2014;311(13):1308
328. Dombrovskiy VY, Martin AA, Sunderram J, Paz HL: Rapid increase in hospitalization and mortality rates for severe sepsis in the United States: a trend analysis from 1993 to 2003. *Crit Care Med.* 2007;35(5):1244
329. Padkin A, Goldfrad C, Brady AR, Young D, Black N, Rowan K : Epidemiology of severe sepsis occurring in the first 24 hrs in intensive care units in England, Wales, and Northern Ireland. *Crit Care Med.* 2003;31(9):2332

330. Vincent JL, Sakr Y, Sprung CL, Ranieri VM, Reinhart K, Gerlach H, Moreno R, Carlet J, Le Gall JR, Payen D : Sepsis in European intensive care units: results of the SOAP study. Sepsis Occurrence in Acutely Ill Patients Investigators Crit Care Med. 2006;34(2):344
331. Dombrovskiy VY, Martin AA, Sunderram J, Paz HL: Facing the challenge: decreasing case fatality rates in severe sepsis despite increasing hospitalizations. Crit Care Med. 2005;33(11):2555
332. Winters BD, Eberlein M, Leung J, Needham DM, Pronovost PJ, Sevransky JE: Long-term mortality and quality of life in sepsis: a systematic review. Crit Care Med. 2010;38(5):1276
333. Miller RR 3rd, Dong L, Nelson NC, Brown SM, Kuttler KG, Probst DR, Allen TL, Clemmer TP Multicenter implementation of a severe sepsis and septic shock treatment bundle. Am J Respir Crit Care Med. 2013 Jul;188(1):77-82
334. Pavon A, Biquet C, Kara F, Martinet O, Ganster F, Navellou JC, Castelain V, Barraud D, Cousson J, Louis G, Perez P, Kuteifan K, Noirod A, Badie J, Mezher C, Lessire H, Quantin C, Abrahamowicz M, Quenot JP: Profile of the risk of death after septic shock in the present era: an epidemiologic study. EPIdemiology of Septic Shock (EPISS) Study Group. Crit Care Med. 2013;41(11):2600
335. ProCESS Investigators, Yealy DM, Kellum JA, Huang DT, Barnato AE, Weissfeld LA, Pike F, Terndrup T, Wang HE, Hou PC, LoVecchio F, Filbin MR, Shapiro NI, Angus DC: A randomized trial of protocol-based care for early septic shock. Engl J Med. 2014;370(18):1683
336. Liu V, Escobar GJ, Greene JD, Soule J, Whippy A, Angus DC, Iwashyna TJ: Hospital deaths in patients with sepsis from 2 independent cohorts. JAMA. 2014;312(1):90
337. Leligdowicz A, Dodek PM, Norena M, Wong H, Kumar A, Kumar A, Co-operative Antimicrobial Therapy of Septic Shock Database Research Group: Association between source of infection and hospital mortality in patients who have septic shock. Am J Respir Crit Care Med. 2014;189(10):1204
338. Kaukonen KM, Bailey M, Pilcher D, Cooper DJ, Bellomo R: Systemic inflammatory response syndrome criteria in defining severe sepsis. N Engl J Med. 2015 Apr;372(17):1629-38. Epub 2015 Mar 17
339. Rangel-Frausto MS, Pittet D, Costigan M, Hwang T, Davis CS, Wenzel RP: The natural history of the systemic inflammatory response syndrome (SIRS). A prospective study. JAMA. 1995;273(2):117
340. Comstedt P, Storgaard M and Lassen AT: The Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS) in acutely hospitalised medical patients: a cohort study. Scandinavian Journal of Trauma, Resuscitation and Emergency Medicine 2009, 17:67
341. Pittet D, Rangel-Fausto MS, Li N. Systemic inflammatory response syndrome, sepsis, severe sepsis and septic shock: incidence, morbidities and outcomes in surgical ICU patients. Int Care Med. 1995. 21:302-309
342. Sinning JM, Scheer AC, Adenauer V, Ghanem A, Hammerstingl C, Schueler R, et al. Systemic inflammatory response syndrome predicts increased mortality in patients after transcatheter aortic valve implantation. *Eur Heart J*. January 2012. pending:1-10
343. Nfor TK, Walsh TS, Prescott RJ. The impact of organ failures and their relationship with outcome in intensive care: Analysis of a prospective multicentre database of adult admissions. *Anaesthesia* 2006;61:731–738
344. Umegaki T, Ikai H, Imanaka Y. The impact of acute organ dysfunction on patients' mortality with severe sepsis. *J Anaesthesiol Clin Pharmacol* 2011;27:180–184
345. Typpo KV, Petersen NJ, Hallman DM, et al. Day 1 multiple organ dysfunction syndrome is associated with poor functional outcome and mortality in the pediatric intensive care unit. *Pediatr Crit Care Med* 2009;10:562–570
346. Lagu T, Rothberg MB, Shieh MS, Pekow PS, Steingrub JS, Lindenauer PK: Hospitalizations, costs, and outcomes of severe sepsis in the United States 2003 to 2007. Crit Care Med. 2012;40(3):754

347. Stevenson EK, Rubenstein AR, Radin GT, Wiener RS, Walkey AJ: Two decades of mortality trends among patients with severe sepsis: a comparative meta-analysis\*. *Crit Care Med.* 2014 Mar;42(3):625-31
348. Cannon CM, Holthaus CV, Zubrow MT, Posa P, Gunaga S, Kella V, Elkin R, Davis S, Turman B, Weingarten J, Milling TJ Jr, Lidsky N, Coba V, Suarez A, Yang JJ, Rivers EP: The GENESIS project (GENeralized Early Sepsis Intervention Strategies): a multicenter quality improvement collaborative. *J Intensive Care Med.* 2013;28(6):355
349. ARISE Investigators, ANZICS Clinical Trials Group, Peake SL, Delaney A, Bailey M, Bellomo R, Cameron PA, Cooper DJ, Higgins AM, Holdgate A, Howe BD, Webb SA, Williams P: Goal-directed resuscitation for patients with early septic shock. *N Engl J Med.* 2014;371(16):1496
350. Levy MM, Rhodes A, Phillips GS, Townsend SR, Schorr CA, Beale R, Osborn T, Lemeshow S, Chiche JD, Artigas A, Dellinger RP Surviving Sepsis Campaign: association between performance metrics and outcomes in a 7.5-year study. *Intensive Care Med.* 2014 Nov;40(11):1623-33. Epub 2014 Oct 1
351. Rhodes A, Phillips G, Beale R, Cecconi M, Chiche JD, De Backer D, Divatia J, Du B, Evans L, Ferrer R, Girardis M, Koulenti D, Machado F, Simpson SQ, Tan CC, Wittebole X, Levy M: The Surviving Sepsis Campaign bundles and outcome: results from the International Multicentre Prevalence Study on Sepsis (the IMPreSS study). *Intensive Care Med.* 2015 Sep;41(9):1620-8. Epub 2015 Jun 25
352. Poutsika DD, Davidson LE, Kahn KL, Bates DW, Snyderman DR, Hibberd PL: Risk factors for death after sepsis in patients immunosuppressed before the onset of sepsis. *Scand J Infect Dis.* 2009;41(6-7):469-79
353. Tolsma V, Schwebel C, Azoulay E, Darmon M, Souweine B, Vesin A, Goldgran-Toledano D, Lugosi M, Jamali S, Cheval C, Adrie C, Kallel H, Descorps-Declere A, Garrouste-Orgeas M, Bouadma L, Timsit JF Sepsis severe or septic shock: outcome according to immune status and immunodeficiency profile. *Chest.* 2014 Nov;146(5):1205-13
354. O'Brien JM Jr, Lu B, Ali NA, Martin GS, Aberegg SK, Marsh CB, Lemeshow S, Douglas IS Alcohol dependence is independently associated with sepsis, septic shock, and hospital mortality among adult intensive care unit patients. *Crit Care Med.* 2007;35(2):345
355. Danai PA, Moss M, Mannino DM, Martin GS The epidemiology of sepsis in patients with malignancy. *Chest.* 2006;129(6):1432
356. Knaus WA, Sun X, Nystrom O, Wagner DP Chest Evaluation of definitions for sepsis. 1992;101(6):1656
357. Kreger BE, Craven DE, McCabe WR: Gram-negative bacteremia. IV. Re-evaluation of clinical features and treatment in 612 patients. *Am J Med.* 1980;68(3):344
358. Peres Bota D, Lopes Ferreira F, Mélot C, Vincent JL: Body temperature alterations in the critically ill. *Intensive Care Med.* 2004;30(5):811
359. Neyra JA, Canepa-Escaro F, Li X, Manllo J, Adams-Huet B, Yee J, Yessayan L, Acute Kidney Injury in Critical Illness Study Group Association of Hyperchloremia With Hospital Mortality in Critically Ill Septic Patients *Crit Care Med.* 2015 Sep;43(9):1938-44
360. Haase N, Ostrowski SR, Wetterslev J, Lange T, Møller MH, Tousi H, Steensen M, Pott F, Sørensen P, Nielsen J, Hjortrup PB, Johansson PI, Perner A: Thromboelastography in patients with severe sepsis: a prospective cohort study. *Intensive Care Med.* 2015 Jan;41(1):77-85
361. Heffner AC, Horton JM, Marchick MR, Jones AE. Etiology of illness in patients with severe sepsis admitted to the hospital from the emergency department. *Clin Infect Dis.* 2010 Mar 15. 50(6):814-20
362. Shorr AF, Tabak YP, Killian AD, Gupta V, Liu LZ, Kollef MH: Healthcare-associated bloodstream infection: A distinct entity? Insights from a large U.S. database. *Crit Care Med.* 2006;34(10):2588

363. Labelle A, Juang P, Reichley R, Micek S, Hoffmann J, Hoban A, Hampton N, Kollef M The determinants of hospital mortality among patients with septic shock receiving appropriate initial antibiotic treatment. *Crit Care Med.* 2012;40(7):2016
364. Bassetti M, Righi E, Ansaldi F, Merelli M, Cecilia T, De Pascale G, Diaz-Martin A, Luzzati R, Rosin C, Lagunes L, Treccarichi EM, Sanguinetti M, Posteraro B, Garnacho-Montero J, Sartor A, Rello J, Rocca GD, Antonelli M, Tumbarello M: A multicenter study of septic shock due to candidemia: outcomes and predictors of mortality. *Intensive Care Med.* 2014 Jun 40(6):839-45
365. Urinary tract etiology of bloodstream infections in hospitalized patients. Krieger JN, Kaiser DL, Wenzel RP *J Infect Dis.* 1983;148(1):57
366. Yentis SM, Soni N, Sheldon J. C-reactive protein as an indicator of resolution of sepsis in the intensive care unit. *Intensive Care Med* 1995; 21(7):602–605
367. Bomela HN, Ballot DE, Cory BJ, et al. Use of C-reactive protein to guide duration of empiric antibiotic therapy in suspected early neonatal sepsis. *Pediatr Infect Dis J* 2000; 19(6):531–535
368. Greenfield CL, Walshaw R. Open peritoneal drainage in the treatment of contaminated peritoneal cavity and septic peritonitis in dogs and cats: 24 cases (1980–1986). *J Am Vet Med Assoc* 1987; 191(1):100–105
369. King LG, Wohl JS, Manning AM, Hackner SG, Raffe MR, Maislin G. Evaluation of the survival prediction index as a model of risk stratification for clinical research in dogs admitted to intensive care units at four locations. *Am J Vet Res.* 2001;62:948–954
370. King LG, Stevens MT, Ostro ENS, Diserens D, Shankar JR. A model for prediction of survival in critically ill dogs. *J Vet Emerg Crit Care.* 1994;4:85–99
371. Lanz OI, Ellison GW, Bellah JR, Weichman G, VanGilder J. Surgical treatment of septic peritonitis without abdominal drainage in 28 dogs. *J Am Anim Hosp Assoc.* 2001;37:87–92
372. Hardie EM, Rawlings CA, Calvert CA. Severe sepsis in selected small animal surgical patients. *J Am Anim Hosp Assoc.* 1986;22:33–41
373. DeClue AE, Sharp CR, Harmon M. Plasma inflammatory mediator concentrations at ICU admission in dogs with naturally developing sepsis. *J Vet Intern Med* 2012; 26(3):624–630
374. Kocaturk M, Martinez S, Eralp O, et al. Prognostic value of serum acute-phase proteins in dogs with parvoviral enteritis. *J Small Anim Pract* 2010; 51(9):478–483
375. Gebhardt C, Hirschberger J, Rau S, et al. Use of C-reactive protein to predict outcome in dogs with systemic inflammatory response syndrome or sepsis. *J Vet Emerg Crit Care* 2009; 19(5):450–458
376. Luschni MA, Fletcher DJ, Schoeffler GL. Incidence of ionized hypocalcemia in septic dogs and its association with morbidity and mortality: 58 cases (2006–2007). *J Vet Emerg and Crit Care* 2010; 20(4):406–412
377. Kilpatrick IS, Dreistadt M, Frowde P, Powell R, Milne E, Smith S, Morrison L, Gow AG, Handel I, Mellanby RJ: Presence of Systemic Inflammatory Response Syndrome Predicts a Poor Clinical Outcome in Dogs with a Primary Hepatitis. *PLoS One.* 2016; 11(1): e0146560
378. Matijatko V, Kis I, Torti M, et al. Systemic inflammatory response syndrome and multiple organ dysfunction syndrome in canine babesiosis. *Veterinarski Arhiv* 2010;80:611–626
379. Torrente C, Manzanilla EG, Bosch L, Fresno L, Del Alamo MR, Andaluz A, Saco Y, De Gopegui RR: Plasma iron, C-reactive protein, albumin, and plasma fibrinogen concentrations in dogs with systemic inflammatory response syndrome. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care* 25(5) 2015, pp 611–619
380. Rau S, Kohn B, Richter C, Fenske N, Küchenhoff H, Hartmann K, Härtle S, Kaspers B, Hirschberger J: Plasma interleukin-6 response is predictive for severity and mortality in canine systemic inflammatory response syndrome and sepsis. *Veterinary clinical Pathology*, vol. 36. No. 3, 2007
381. Holowaychuk M.K, Hansen B.D, DeFrancesco T.C and Marks S.L: Ionized Hypocalcemia in Critically Ill Dogs. *J Vet Intern Med* 2009;23:509–513 D.L.

382. Chan, Rozanski E.A. and Freeman L. M: Relationship among Plasma Amino Acids, C-Reactive Protein, Illness Severity, and Outcome in Critically Ill Dogs. *J Vet Intern Med* 2009;23:559–563
383. Hamacher L, Dörfelt R, Müller M, Wess G: Serum cardiac troponin I concentrations in dogs with systemic inflammatory response syndrome. *J Vet Intern Med*, 2015 Jan;29(1):164-70
384. Marik PE. Critical illness-related corticosteroid insufficiency . *Chest* 2009;135(1):181-93
385. Arlt W, Allolio B: Adrenal insufficiency. *Lancet* 2003; 361: 1881–1893
386. Gomez-Sanchez CE: Adrenal dysfunction in critically ill patients. *N Engl J Med* 2013; 368:1547–1549
387. Sibbald WJ, Short A, Cohen MP, et al. Variations in adrenocortical responsiveness during severe bacterial infections. Unrecognized adrenocortical insufficiency in severe bacterial infections. *Ann Surg* 1977; 186:29–33
388. Rothwell PM, Udawadia ZF, Lawler PG. Cortisol response to corticotropin and survival in septic shock. *Lancet* 1991; 337:582–583
389. Span LF, Hermus AR, Bartelink AK, et al. Adrenocortical function: an indicator of severity of disease and survival in chronic critically ill patients. *Intensive Care Med* 1992; 18:93–96
390. Soni A, Pepper GM, Wyrwinski PM, et al. Adrenal insufficiency occurring during septic shock: incidence, outcome, and relationship to peripheral cytokine levels. *Am J Med* 1995; 98:266–271
391. Annane D, Sebille V, Troche G, et al. A 3-level prognostic classification in septic shock based on cortisol levels and cortisol response to corticotropin. *JAMA* 2000; 283:1038–1045
392. Schroeder S, Wichers M, Klingmuller D, et al. The hypothalamic-pituitary-adrenal axis of patients with severe sepsis: altered response to corticotropin-releasing hormone. *Crit Care Med* 2001; 29:310–316
393. Beishuizen A, Thijs LG. Relative adrenal failure in intensive care:an identifiable problem requiring treatment? *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2001; 15:513–531
394. Briegel J, Schelling G, Haller M, et al. A comparison of the adrenocortical response during septic shock and after complete recovery. *Intensive Care Med* 1996; 22:894–899
395. Marik PE, Zaloga GP. Adrenal insufficiency in the critically ill: a new look at an old problem. *Chest* 2002; 122:1784–1796
396. Marik PE, Zaloga GP. Adrenal insufficiency during septic shock. *Crit Care Med* 2003; 31:141–145
397. Annane D, Sebille V, Charpentier C, et al. Effect of treatment with low doses of hydrocortisone and fludrocortisone on mortality in patients with septic shock. *JAMA* 2002; 288:862–871
398. Mokhlesi B. Corticosteroids for patients with septic shock. *JAMA* 2003; 289:43; author reply 43–44
399. Prigent H, Maxime V, Annane D. Science review: mechanisms of impaired adrenal function in sepsis and molecular actions of glucocorticoids. *Crit Care* 2004; 8(4):243–252
400. Marik PE. Mechanisms and clinical consequences of critical illness associated adrenal insufficiency. *Curr Opin Crit Care* 2007; 13:363–369
401. Marik PE, Pastores SM, Annane D, et al. Recommendations for the diagnosis and management of corticosteroid insufficiency in critically ill adult patients: consensus statements from an international task force by the American College of Critical Care Medicine. *Crit Care Med* 2008; 36:1937–1949
402. Venkatesh B, Cohen J: Adrenocortical (dys)function in septic shock - A sick euadrenal state . *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism* 25 (2011) 719–733
403. Burkitt Creedon JM: Critical Illness Related Corticosteroid Insufficiency. In: Silverstein DC, Hopper K, eds. *Small Animal Critical Care Medicine*. St. Louis, MO: Saunders Elsevier; 2014
404. Marik PE. Critical illness-related corticosteroid insufficiency. *Chest* 2009;135(1):181–93
405. Levy-Shraga Y, Pinhas-Hamiel O: Critical Illness-Related Corticosteroid Insufficiency in Children. *Horm Res Paediatr* 2013;80:309-217
406. Martin L.G: Critical Illness-Related Corticosteroid Insufficiency in Small Animals. *Vet Clin Small Anim* 41 (2011) 767-782

407. Burkitt Creedon: Controversies surrounding critical illness-related corticosteroid insufficiency in animals. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care* 00(0) 2014, pp 1–6
408. Carrasco GA, Van de Kar LD: Neuroendocrine pharmacology of stress. *Eur J Pharmacol* 2003; 463: 235–272
409. Gonzalez H, Nardi O, Annane D: Relative adrenal failure in the ICU: an identifiable problem requiring treatment. *Crit Care Clin* 2006;22: 105–118, vii
410. Zaloga GP, Marik P. Hypothalamic-pituitary-adrenal insufficiency. *Crit Care Clin* 2001;17(1):25–41
411. Hamrahian AH, Oseni TS, Arafah BM: Measurements of serum free cortisol in critically ill patients. *N Engl J Med* 2004; 350: 1629–1638
412. Ho JT, Al-Musalhi H, Chapman MJ, et al. Septic shock and sepsis: a comparison of total and free plasma cortisol levels. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91:105–114
413. Dimopoulou I, Alevizopoulou P, Dafni U, et al. Pituitary-adrenal response to human corticotropin-releasing hormone in critically ill patients. *Intensive Care Med* 2007; 33:454–459
414. Hammond GL, Smith CL, Paterson NA, et al. A role for corticosteroid-binding globulin in delivery of cortisol to activated neutrophils. *J Clin Endocrinol Metab* 1990;71(1):34–9
415. Franchimont D, Martens H, Hagelstein MT, et al. Tumor necrosis factor alpha decreases, and interleukin-10 increases, the sensitivity of human monocytes to dexamethasone: potential regulation of the glucocorticoid receptor. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84(8):2834–9
416. Tomlinson JW, Moore J, Cooper MS, et al. Regulation of expression of 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 in adipose tissue: tissue-specific induction by cytokines. *Endocrinology* 2001; 142:1982–1989
417. Cai TQ, Wong B, Mundt SS, et al. Induction of 11 $\beta$ hydroxysteroid dehydrogenase type 1 but not -2 in human aortic smooth muscle cells by inflammatory stimuli. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2001; 77:117–122
418. Venkatesh B, Mortimer RH, Couchman B, Hall J: Evaluation of random plasma cortisol and the low dose corticotropin test as indicators of adrenal secretory capacity in critically ill patients: a prospective study. *Anaesth Intensive Care* 2005; 33: 201–209
419. Bornstein SR, Engeland WC, Ehrhart-Bornstein M, Herman JP: Dissociation of ACTH and glucocorticoids. *Trends Endocrinol Metab* 2008; 19: 175–180
420. Boonen E, Vervenne H, Meersseman P, Andrew R, Mortier L, Declercq PE, Vanwijngaerden YM, Spriet I, Wouters PJ, Vander Perre S, Langouche L, Vanhorebeek I, Walker BR, Van den Berghe G: Reduced cortisol metabolism during critical illness. *N Engl J Med* 2013; 368: 1477–1488
421. Sharshar T, Annane D, Lorin de la Grandmaison G, et al. The neuropathology of septic shock: a prospective case-control study. *Brain Pathol* 2004;14(1):21–33
422. Cooper MS, Stewart PM. Corticosteroid insufficiency in acutely ill patients. *N Engl J Med* 2003;348(8):727–34
423. Annane D, Bellissant E, Bollaert PE, et al. The hypothalamo-pituitary axis in septic shock. *Br J Intens Care* 1996;6:260–8
424. Oelkers W. Adrenal insufficiency. *N Engl J Med* 1996;335(16):1206–12
425. Hinshaw LB, Beller BK, Chang ACK, et al. Corticosteroid/antibiotic treatment of adrenalectomized dogs challenged with lethal *E. coli*. *Circ Shock* 1985;16(3):265–77
426. Larsen PJ, Jessop D, Patel H, et al. Substance P inhibits the release of anterior pituitary adrenocorticotrophin via a central mechanism involving corticotrophin-releasing factor-containing neurons in the hypothalamic paraventricular nucleus. *J Neuroendocrinol* 1993;5(1):99–105
427. Sharshar T, Gray F, de la Grandmaison GL, et al. Apoptosis of neurons in cardiovascular autonomic centres triggered by inducible nitric oxide synthase after death from septic shock. *Lancet* 2003;362(9398):1799–805
428. Gaillard RC, Turnill D, Sappino P, et al. Tumor necrosis factor alpha inhibits the hormonal response of the pituitary gland to hypothalamic releasing factors. *Endocrinology* 1990;127(1):101–6

429. Jaattela M, Ilvesmaki V, Voutilainen R, et al. Tumor necrosis factor as a potent inhibitor of adrenocorticotropin-induced cortisol production and steroidogenic P450 enzyme gene expression in cultured human fetal adrenal cells. *Endocrinology* 1991;128(1):623–9
430. Kwon Y. S. et al: Serum cytokines and critical illness related corticosteroid insufficiency. *Intensive Care Med* (2010) 36:1845–1851
431. Tominaga T, Fukata J, Voutilainen R, et al. Effects of corticostatin-I on rat adrenal cells in vitro. *J Endocrinol* 1990;125(2):287–92
432. Yaguchi H, Tsutsumi K, Shimono K, et al. Involvement of high density lipoprotein as substrate cholesterol for steroidogenesis by bovine adrenal fasciculo-reticularis cells. *Life Sci* 1998; 62:1387–1395
433. Chien JY, Jerng JS, Yu CJ, et al. Low serum level of high-density lipoprotein cholesterol is a poor prognostic factor for severe sepsis. *Crit Care Med* 2005; 33:1688–1693
434. van Leeuwen HJ, Heezius EC, Dallinga GM, et al. Lipoprotein metabolism in patients with severe sepsis. *Crit Care Med* 2003; 31:1359–1366
435. van der Voort PH, Gerritsen RT, Bakker AJ, et al. HDLcholesterol level and cortisol response to synacthen in critically ill patients. *Intensive Care Med* 2003; 29:2199–2203
436. Roy-Byrne PP, Cowley DS, Hommer D, et al. Neuroendocrine effects of diazepam in panic and generalized anxiety disorders. *Biol Psychiatry* 1991;30(1):73–80
437. Benyamin R, Trescot AM, Datta S, et al. Opioid complications and side effects. *Pain Physician* 2008;11(2):S105–20
438. Hall GM, Lacoumenta S, Hart GR, et al. Site of action of fentanyl in inhibiting the pituitary-adrenal response to surgery in man. *Br J Anaesth* 1990;65(2):251–3
439. Oltmanns KM, Fehm HL, Peters A. Chronic fentanyl application induces adrenocortical insufficiency. *J Intern Med* 2005;257(5):478–80
440. Kanat M, Serin E, Tunckale A, et al. A multi-center, open label, crossover designed prospective study evaluating the effects of lipid lowering treatment on steroid synthesis in patients with type 2 diabetes (MODEST Study). *J Endocrinol Invest* 2009;32(10):852–6
441. Thomas Z, Bandali F, McCowen K, et al. Drug-induced endocrine disorders in the intensive care unit. *Crit Care Med* 2010;38(6):S219–30
442. Absalom A, Pledger D, Kong A. Adrenocortical function in critically ill patients 24 h after a single dose of etomidate. *Anaesthesia* 1999;54(9):861–7
443. Dodam JR, Kruse-Elloitt KT, Aucoin DP, et al. Duration of etomidate-induced adrenocortical suppression during surgery in dogs. *Am J Vet Res* 1990;51(5):786–8
444. Kruse-Elliott KT, Swanson CR, Aucoin DP. Effects of etomidate on adrenocortical function in canine surgical patients. *Am J Vet Res* 1987;48(7):1098–100
445. Moon PF. Cortisol suppression in cats after induction of anesthesia with etomidate, compared with ketamine-diazepam combination. *Am J Vet Res* 1997; 58(8):868–71
446. Lionakis MS, Samonis G, Kontoyiannis DP. Endocrine and metabolic manifestations of invasive fungal infections and systemic antifungal treatment. *Mayo Clin Proc* 2008;83(9):1046–60. *CIRCI in Small Animals* 779
447. Albert SG, DeLeon MJ, Silverberg AB. Possible association between high-dose fluconazole and adrenal insufficiency in critically ill patients. *Crit Care Med* 2001;29(3):668–70
448. Maze M, Virtanen R, Daunt D, et al. Effects of dexmedetomidine, a novel imidazole sedative-anesthetic agent, on adrenal steroidogenesis: in vivo and in vitro studies. *Anesth Analg* 1991;73(2):204–8
449. Malerba G, Romano-Girard F, Cravoisy A, Dousset B, Nace L, Levy B, Bollaert PE: Risk factors of relative adrenocortical deficiency in intensive care patients needing mechanical ventilation. *Intensive Care Med* 2005; 31: 388–392
450. Mealey KL, Gay JM, Martin LG, et al. Comparison of the hypothalamic-pituitaryadrenal axis in MDR1-1D and MDR1 wildtype dogs. *J Vet Emerg Crit Care* 2007; 17(1):61–6

451. Indyk JA, Candido-Vitto C, Wolf IM, Venkataraman S, Munoz R, Saladino RA, Witchel SF, Defranco DB: Reduced glucocorticoid receptor protein expression in children with critical illness. *Horm Res Paediatr* 2013; 79:169–178
452. Pariante CM, Pearce BD, Pisell TL, et al. The proinflammatory cytokine, interleukin-1alpha, reduces glucocorticoid receptor translocation and function. *Endocrinology* 1999;140(9):4359–66
453. Rook G, Baker R, Walker B, et al. Local regulation of glucocorticoid activity in sites of inflammation. Insights from the study of tuberculosis. *Ann N Y Acad Sci* 2000;917(1):913–22
454. Meduri GU, Muthiah MP, Carratu P, et al. Nuclear factor-B- and glucocorticoid receptor-mediated mechanisms in the regulation of systemic and pulmonary inflammation during sepsis and acute respiratory distress syndrome: evidence for inflammation-induced target tissue resistance to glucocorticoids. *Neuroimmunomodulation* 2005;12:321–338
455. Scammell JG, Denny WB, Valentine DL, et al. Overexpression of the FK506-binding immunophilin FKBP51 is the common cause of glucocorticoid resistance in three New World primates. *Gen Comparat Endocrinol* 2001; 124:152–165
456. Westberry JM, Sadosky PW, Hubler TR, et al. Glucocorticoid resistance in squirrel monkeys results from a combination of a transcriptionally incompetent glucocorticoid receptor and overexpression of the glucocorticoid receptor co-chaperone FKBP51. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2006; 100:34 – 41
457. Liu LY, Sun B, Tian Y, et al. Changes of pulmonary glucocorticoid receptor and phospholipase A2 in sheep with acute lung injury after high dose endotoxin infusion. *Am Rev Respir Dis* 1993; 148:878–881
458. Liu DH, Su YP, Zhang W, et al. Changes in glucocorticoid and mineralocorticoid receptors of liver and kidney cytosols after pathologic stress and its regulation in rats. *Crit Care Med* 2002; 30:623–627
459. Kino T, Ichijo T, Chrousos GP. FLASH interacts with p160 coactivator subtypes and differentially suppresses transcriptional activity of steroid hormone receptors. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2004; 92:357–363
460. Kino T, Chrousos GP. Tumor necrosis factor receptor and Fas-associated FLASH inhibit transcriptional activity of the glucocorticoid receptor by binding to and interfering with its interaction with p160 type nuclear receptor coactivators. *J Biol Chem* 2003; 278:3023–3029
461. Bhatia R, Muraskas J, Witek Janusek L, Mathews H: Measurement of the glucocorticoid receptor: Relevance to the diagnosis of critical illness–related corticosteroid insufficiency in children *Journal of Critical Care* 29 (2014) 691.e1–691.e5
462. Maxime V, Siami S, Annane D. Metabolism modulators in sepsis: The abnormal pituitary response. *Crit Care Med* 2007;35:S596–S601
463. Cohen J, Venkatesh B. Relative adrenal insufficiency in the intensive care population; background and critical appraisal of the evidence. *Anaesth Intensive Care* 2010;38:425–436
464. Prittie JE, Barton LJ, Peterson ME, et al. Pituitary ACTH and adrenocortical secretion in critically ill dogs. *J Am Vet Med Assoc* 2002;220(5):615–9
465. Kaplan AJ, Peterson ME, Kempainen RJ. Effects of disease on the results of diagnostic tests for use in detecting hyperadrenocorticism in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1995;207(4):445–51
466. Burkitt JM, Haskins SC, Nelson RW, et al. Relative adrenal insufficiency in dogs with sepsis. *J Vet Intern Med* 2007;21(2):226–31
467. Martin LG, Groman RP, Fletcher DJ, et al. Pituitary-adrenal function in dogs with acute critical illness. *J Am Vet Med Assoc* 2008;233(1):87–95
468. Boozer AL, Behrend EN, Kempainen RJ, et al. Pituitary-adrenal axis function in dogs with neoplasia. *Vet Comp Oncol* 2005;3(4):194–202
469. Schoeman JP, Ree P, Herrtage ME. Endocrine predictors of mortality in canine babesiosis caused by *Babesia canis rossi*. *Vet Parasitol* 2007;148(2):75–82

470. Schoeman JP, Herrtage ME. Adrenal response to the low dose ACTH stimulation test and the cortisol-to-adrenocorticotrophic hormone ratio in canine babesiosis. *Vet Parasitol* 2008;154(3):205–13
471. Schoeman JP. Endocrine changes during the progression of critical illness. In: Proceedings of the 27th American College of Veterinary Internal Medicine Forum and Canadian Veterinary Medical Association Convention. Montreal (Canada);2009. p. 405–7
472. Prittie JE, Barton LJ, Peterson ME, et al. Hypothalamo-pituitary-adrenal (HPA) axis function in critically ill cats [abstract 17]. In: Proceedings of the 9th International Veterinary Emergency and Critical Care Symposium. New Orleans (LA);2003. p. 771
473. Farrelly J, Hohenhaus AE, Peterson ME, et al. Evaluation of pituitary-adrenal function in cats with lymphoma. In: Proceedings of the 19th Annual Veterinary Cancer Society Conference. Wood's Hole (MA); 1999. p. 33
474. Costello MF, Fletcher DJ, Silverstein DC, et al. Adrenal insufficiency in feline sepsis [abstract 6]. In: Proceedings of the American College of Veterinary Emergency and Critical Care Postgraduate Course 2006: Sepsis in Veterinary Medicine. San Francisco (CA); 2006. p. 41
475. Hart K.A, Barton M.H: Adrenocortical Insufficiency in Horses and Foals. *Vet Clin North Am Equine Pract.* 2011 April ; 27(1): 19–34
476. Nelson R. W, Couto G.C: Patologie delle ghiandole surrenali. In: *Small Animal Internal Medicine*, 4<sup>th</sup> edition, Masson-elsevier 2010
477. Marik P.E: Critical illness related corticosteroid insufficiency. In: Proceedings of the American College of Veterinary Internal Medicine; Norfolk, VA (USA), 2012
478. Peyton JL, Burkitt JM. Critical illness-related corticosteroid insufficiency in a dog with septic shock. *J Vet Emerg Crit Care* 2009;19(3):262–8
479. Durkan S, de Laforcade A, Rozanski E, et al. Suspected relative adrenal insufficiency in a critically ill cat. *J Vet Emerg Crit Care* 2007;17(2):197–201
480. Arafah BM. Hypothalamic-pituitary adrenal function during critical illness: limitations of current assessment methods. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91:3725–3745
481. Cohen J, Ward G, Prins J, et al. Variability of cortisol assay can confound the diagnosis of adrenal insufficiency in the critically ill population. *Intensive Care Med* 2006; 32:1901–1905
482. Vogeser M, Briegel J, Jacob K. Determination of serum cortisol by isotope-dilution liquid-chromatography electrospray ionization tandem mass spectrometry with online
483. Bolland MJ, Chiu WW, Davidson JS, et al. Heterophile antibodies may cause falsely lowered serum cortisol values. *J Endocrinol Invest* 2005; 28:643–645
484. Moraes R.B, Czepielewski M.A, Friedman G, de Borba E.V: Diagnosis of adrenal failure in critically ill patients. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2011;55(5):295-302
485. Annane D, Maxime V, Ibrahim F, et al. Diagnosis of adrenal insufficiency in severe sepsis and septic shock. *Am J Respir Crit Care Med* 2006; 174:1319–1326
486. Sprung CL, Annane D, Keh D, et al; CORTICUS Study Group: Hydrocortisone therapy for patients with septic shock. *N Engl J Med* 2008; 358:111-124
487. Beishuizen A, Vermes I, Hylkema BS, Haanen C. Relative eosinophilia and functional adrenal insufficiency in critically ill patients. *Lancet.* 1999;353:1675-6
488. Siraux V, De Backer D, Yalavatti G, Melot C, Gervy C, Mockel J, et al. Relative adrenal insufficiency in patients with septic shock: comparison of low-dose and conventional corticotropin tests. *Crit Care Med.* 2005;33(11):2479-86
489. Hebbbar KB, Petrillo T, Fortenberry JD: Adrenal insufficiency and response to corticosteroids in hypotensive critically ill children with cancer. *J Crit Care* 2012; 27: 480–487
490. Menon K, Ward RE, Lawson ML, Gaboury I, Hutchison JS, Hebert PC: A prospective multicenter study of adrenal function in critically ill children. *Am J Respir Crit Care Med* 2010;182: 246–251

491. Hebbbar KB, Stockwell JA, Leong T, Fortenberry JD: Incidence of adrenal insufficiency and impact of corticosteroid supplementation in critically ill children with systemic inflammatory syndrome and vasopressor-dependent shock. *Crit Care Med* 2011; 39: 1145–1150
492. Coolens J, Baelen HV, Heyns W. Clinical use of unbound plasma cortisol as calculated from total cortisol and corticosteroid binding globulin. *J Steroid Biochem* 1987;26(2):197–202
493. Torpy DJ, Ho JT. Value of free cortisol measurement in systemic infection. *Horm Metab Res* 2007;39(6):439–44
494. Poomthavorn P, Lertbunriam R, Preutthipan A, et al. Serum free cortisol index, free cortisol, and total cortisol in critically ill children. *Intensive Care Med* 2009;35(7):1281–5
495. Bendel S, Karlsson S, Pettila V, Loisa P, Varpula M, Ruokonen E. Free cortisol in sepsis and septic shock. *Anesth Analg*. 2008;106(6):1813-9
496. Molenaar N, Groeneveld A.B.J, Dijstelbloem H.M, de Jong M.F.C, Girbes A.R.J, Heijboer A.C, Beishuizen A: Assessing adrenal insufficiency of corticosteroid secretion using free versus total cortisol levels in critical illness. *Intensive Care Med* (2011) 37:1986–1993
497. Arafah BM, Nishiyama FJ, Tlaygeh H, Hejal R. Measurement of salivary cortisol concentration in the assessment of adrenal function in critically ill subjects: a surrogate marker of the circulating free cortisol. *JCEM*. 2007;92(8):2965-71
498. Castro M, Moreira AC. Analise critica do cortisol salivar na avaliacao do eixo hipotalamo-hipofise-adrenal. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2003;47(4):358-67
499. Estrada-Y-Martin RM, Orlander PR: salivary cortisol can replace free serum cortisol measurements in patients with septic shock. *Chest*. 2011 Nov;140(5):1216-22
500. Gunnala V, Guo R, Minutti C, Durazo-Arvizu R, Laporte C, Mathews H, Kliethermis S, Bhatia R: Measurement of salivary cortisol level for the diagnosis of critical illness-related corticosteroid insufficiency in children. *Pediatr Crit Care Med*. 2015 May;16(4):e101-6
501. Cohen J, Deans R, Dalley A, Lipman J, Roberts MS, Venkatesh B: Measurement of tissue cortisol levels in patients with severe burns: a preliminary investigation. *Crit Care* 2009;13:R189
502. Cohen J, Venkatesh B: Assessment of tissue cortisol activity. *Crit Care Resusc* 2009; 11:287–289
503. Kwon YS, Suh GY, Jeon K, et al. Cytokine levels and dysfunction in the hypothalamus-pituitary-adrenal axis in critically-ill patients. *Intensive Care Med* 2010;36:1845–1851
504. Martin LG, Behrend EB, Mealey KL, et al. Effect of low doses of cosyntropin on serum cortisol concentrations in clinically normal dogs. *Am J Vet Res* 2007; 68(5):555–60
505. Martin LG, DeClue AE, Behrend EN, et al. Effect of low doses of cosyntropin on cortisol concentrations in clinically healthy cats. *J Vet Intern Med* 2009; 23(3):755
506. Martin LG, Behrend EN, Holowaychuk MK, et al. Comparison of low-dose and standard-dose ACTH stimulation tests in critically ill dogs by assessment of serum total and free cortisol concentrations. *J Vet Intern Med* 2010;24(3):685–6
507. Goy-Thollot I, Pouzot-Névoret C, Barthélémy A, Bonnet J.M, Pugeat M, Dechaud H, Fritsh T: Biologically Active Cortisol in Dogs with Septic Shock. In: *Proceedings of International Veterinary Emergency and Critical Care Symposium 2011*
508. Gold JR, Divers TJ, Barton MH, et al. Plasma adrenocorticotropin, cortisol, and adrenocorticotropin/cortisol ratios in septic and normal-term foals. *J Vet Intern Med* 2007; 21:791–796
509. Hurcombe SD, Toribio RE, Slovis N, et al. Blood arginine vasopressin, adrenocorticotropin hormone, and cortisol concentrations at admission in septic and critically ill foals and their association with survival. *J Vet Intern Med* 2008; 22:639–647
510. Dembek KA, Onasch K, Hurcombe SD, et al. Renin-angiotensinaldosterone system and hypothalamic-pituitary-adrenal axis in hospitalized newborn foals. *J Vet Intern Med* 2013; 27:331–338.

511. Armengou L, Jose-Cunilleras E, Rios J, et al. Metabolic and endocrine profiles in sick neonatal foals are related to survival. *J Vet Intern Med* 2013; 27:567–575
512. Hart KA, Slovis NM, Barton MH. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis dysfunction in hospitalized neonatal foals. *J Vet Intern Med* 2009; 23:901–912
513. Anonymous: Effect of high-dose glucocorticoid therapy on mortality in patients with clinical signs of systemic sepsis. The Veterans Administration Systemic Sepsis Cooperative Study Group. *N Engl J Med* 1987, 317:659-665
514. Bone RC, Fisher CJ Jr, Clemmer TP, Slotman GJ, Metz CA, Balk RA: A controlled clinical trial of high-dose methylprednisolone in the treatment of severe sepsis and septic shock. *N Engl J Med* 1987, 317:653-658
515. Cronin L, Cook DJ, Carlet J, Heyland DK, King D, Lansang MA, Fisher CJ Jr: Corticosteroid treatment for sepsis: a critical appraisal and meta-analysis of the literature. *Crit Care Med* 1995, 23:1430-1439
516. Annane D, Bellissant E, Bollaert PE, et al. Corticosteroids for severe sepsis and septic shock: a systematic review and meta-analysis. *BMJ* 2004; 329:480–489
517. Minneci PC, Deans KJ, Banks SM, et al. Meta-analysis: the effect of steroids on survival and shock during sepsis depends on the dose. *Ann Intern Med* 2004; 141:47–56
518. Schneider AJ, Voerman HJ. Abrupt hemodynamic improvement in late septic shock with physiological doses of glucocorticoids. *Intensive Care Med* 1991; 17:436–437
519. Bollaert PE, Charpentier C, Levy B, et al. Reversal of late septic shock with supraphysiologic doses of hydrocortisone. *Crit Care Med* 1998; 26:645–650
520. Briegel J, Forst H, Haller M, et al. Stress doses of hydrocortisone reverse hyperdynamic septic shock: a prospective, randomized, double-blind, single-center study. *Crit Care Med* 1999; 27:723–732
521. Chawla K, Kupfer Y, Tessler S. Hydrocortisone reverses refractory septic shock \_abstract . *Crit Care Med* 1999;27(suppl):A33
522. Oppert M, Schindler R, Husuang C, et al. Low-dose hydrocortisone improves shock reversal and reduces cytokine levels in early hyperdynamic septic shock. *Crit Care Med* 2005; 33:2457–2464
523. Marik PE: Glucocorticoids in sepsis: dissecting facts from fiction, *Crit Care* 15:158, 2011
524. Chaudhury P, Marshall JC, Solomkin JS: CAGS and ACS evidence based reviews in surgery. 35: Efficacy and safety of low-dose hydrocortisone therapy in the treatment of septic shock, *Can J Surg* 53:415, 2010
525. Lamontagne F, Meade MO: Low-dose hydrocortisone did not improve survival in patients with septic shock but reversed shock earlier, *ACP J Club* 148:6, 2008
526. Marik PE, Pastores SM, Kavanaugh BP. Selection bias negates conclusions from the CORTICUS study? *N Engl J Med* 2008; 358:2069–2070
527. Moreno R, Sprung CL, Annane D, et al: Time course of organ failure in patients with septic shock treated with hydrocortisone: results of the Corticus study, *Intensive Care Med* 37:1765, 2011
528. Annane D, Bellissant E, Bollaert PE, et al: Corticosteroids in the treatment of severe sepsis and septic shock in adults: A systematic review. *JAMA* 2009; 301:2362-2375
529. Sligl WI, Milner DA Jr, Sundar S, et al: Safety and efficacy of corticosteroids for the treatment of septic shock: A systematic review and meta-analysis. *Clin Infect Dis* 2009; 49:93-101
530. Patel GP, Balk RA: Systemic steroids in severe sepsis and septic shock. *Am J Respir Crit Care Med* 2012; 185:133-139
531. Yildiz O, Doganay M, Aygen B, et al: Physiological-dose steroid therapy in sepsis [ISRCTN36253388]. *Crit Care* 2002; 6:251-259
532. Huh JW, Choi HS, Lim CM, et al: Low-dose hydrocortisone treatment for patients with septic shock: A pilot study comparing 3 days with 7 days. *Respirology* 2011; 16:1088-1095

533. Confalonieri M, Urbino R, Potena A, et al: Hydrocortisone infusion for severe community-acquired pneumonia: A preliminary randomized study. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 171:242-248
534. Meijvis SC, Hardeman H, Remmelts HH, et al: Dexamethasone and length of hospital stay in patients with community-acquired pneumonia: A randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 2011; 377:2023-2030
535. Weber-Carstens S, Deja M, Bercker S, et al: Impact of bolus application of low-dose hydrocortisone on glycemic control in septic shock patients. *Intensive Care Med* 2007; 33:730-733
536. Annane D, Cariou A, Maxime V: Corticosteroid treatment and intensive insulin therapy for septic shock in adults: a randomized controlled trial. *JAMA* 2010; 303:341-348
537. Hebbar KB, Stockwell JA, Fortenberry JD: Clinical effects of adding fludrocortisone to a hydrocortisone-based shock protocol in hypotensive critically ill children. *Intensive Care Med* 2011; 37: 518-524
538. Meduri GU, Golden E, Freire AX, et al. Methyprednisolone infusion in patients with early severe ARDS: results of a randomized trial. *Chest* 2007; 131:954-963
539. Meduri GU, Marik PE, Chrousos GP, et al. Steroid treatment in ARDS: a critical appraisal of the ARDS network trial and the recent literature. *Intensive Care Med* 2008; 34:61-69
540. The Acute Respiratory Distress Syndrome Network. Efficacy and safety of corticosteroids for persistent acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med* 2006; 354:1671-1684
541. Meduri GU. There is no illumination is speculation: additional data in support of methyprednisolone treatment in ARDS. *Chest* 2007; 132:1097-1100
542. Sun et al: Effect of low-dose glucocorticoid on corticosteroid insufficient patients with acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease. *World J Emerg Med*, Vol 6, No 1, 2015
543. Zhao et al: Meta analysis Effects of glucocorticoids on traumatic brain injury related critical illness-related corticosteroid insufficiency. *Chin Med J* 2013;126 (19)
544. Yared JP, Starr NJ, Torres FK, et al. Effects of single dose, postinduction dexamethasone on recovery after cardiac surgery. *Ann Thorac Surg* 2000; 69:1420-1424
545. Yared JP, Bakri MH, Erzurum SC, et al. Effect of dexamethasone on atrial fibrillation after cardiac surgery: prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2007; 21:68-75
546. Halonen J, Halonen P, Jarvinen O, et al. Corticosteroids for the prevention of atrial fibrillation after cardiac surgery: a randomized controlled trial. *JAMA* 2007; 14:1562-1567
547. Kilger E, Weis F, Briegel J, et al. Stress doses of hydrocortisone reduce severe systemic inflammatory response syndrome and improve early outcome in a risk group of patients after cardiac surgery. *Crit Care Med* 2003; 31:1068-1074
548. Marik PE, Gayowski T, Starzl TE, et al. The hepatoadrenal syndrome: a common yet unrecognized clinical condition. *Crit Care Med* 2005; 33:1254-1259
549. Fernandez J, Escorsell A, Zabalza M, et al. Adrenal insufficiency in patients with cirrhosis and septic shock: effect of treatment with hydrocortisone on survival. *Hepatology* 2006; 44:1288-1295
550. Sullivan L, BurkittCreedon JM. Critical illness-related corticosteroid insufficiency. In: Bonagura JD, Twedt DC. eds. *Kirk's Current Veterinary Therapy XV*. St. Louis: Elsevier Saunders; 2014, pp. 78-79
551. Burkitt Creedon JM, Hopper K. Low-dose hydrocortisone in dogs with septic shock. In *Proceedings of the 17th International Veterinary Emergency and Critical Care Symposium*. 2011
552. Couetil LL, Hoffman AM. Adrenal insufficiency in a neonatal foal. *J Am Vet Med Assoc* 1998; 212:1594-1596
553. Hart KA, Barton MH. Adrenocortical insufficiency in horses and foals. *Vet Clin North Am Equine Pract* 2011; 27:19-34
554. Venkatesh B, Myburgh J, Finfer S, et al. The ADRENAL study protocol: adjunctive corticosteroid treatment in critically ill patients with septic shock. *Crit Care Resusc* 2013; 15:83-88

555. Burry L, Little A, Hallett D, Mehta S: Detection of critical illness related corticosteroid insufficiency using 1 µg adrenocorticotrophic hormone test. *Shock*. 2013 Feb;39(2):144-8
556. Lim SY, Kwon YS, Park MR, Han SG, Jeon K, Um SW, Koh WJ, Chung MP, Kim H, Kwon OJ, Suh GY: Prognostic significance of different subgroup classifications of critical illness-related corticosteroid insufficiency in patients with septic shock. *Shock*. 2011 Oct;36(4):345-9
557. De Jong MF, Beishuizen A, van Schijndel RJ, Girbes AR, Groeneveld AB: Risk factors and outcome of changes in adrenal response to ACTH in the course of critical illness. *J Intensive Care Med*. 2012 Feb;27(1):37-44
558. Purvis D, Kirby R: Systemic inflammatory response syndrome: Septic shock. *Vet Clin North Am* 24:1225-1247,1994
559. Rivers EP, Gaspari M, Saad GA, et al. Adrenal insufficiency in high-risk surgical ICU patients. *Chest* 2001;119:889–896
560. Annane D, Bellissant E, Seville V, et al. Impaired pressor sensitivity to noradrenaline in septic shock patients with and without impaired adrenal function reserve. *Br J Clin Pharmacol* 1998;46:589–597
561. Collins S, Caron MG, Lefkowitz RJ. Beta-adrenergic receptors in hamster smooth muscle cells are transcriptionally regulated by glucocorticoids. *J Biol Chem* 1988;263:9067–9070
562. Sakaue M, Hoffman BB. Glucocorticoids induce transcription and expression of the alpha 1B adrenergic receptor gene in DTT1 MF-2 smooth muscle cells. *J Clin Invest* 1991;88:385–389
563. Koenig A: Hypoglycemia. In: Silverstein DC, Hopper K, eds. *Small Animal Critical Care Medicine*. St. Louis, MO: Saunders Elsevier; 2014
564. Feldman EC, Nelson RW, Reusch CE, Scott Moncrieff JCR: *Canine and feline endocrinology*, fourth edition 2015, elsevier ed.
565. Allen ES, Holm JL: Lactate: physiology and clinical utility. *Journal of Vet Emerg and Crit Care* 18(2), 2008
566. Rattarasarn C: Hypoglycemia in sepsis: risk factors and clinical characteristics *J Med Assoc Thai*. 1997 Dec;80(12):760-6
567. Krinsley JS, Grover A: Severe hypoglycemia in critically ill patients: risk factors and outcomes. *Crit Care Med*. 2007 Oct;35(10):2262-7
568. Kagansky N, Levy S, Rimon E, Cojocar L, Fridman A, Ozer Z, Knobler H: Hypoglycemia as a predictor of mortality in hospitalized elderly patients *Arch Intern Med*. 2003 Aug 11-25;163(15):1825-9
569. Egi M, Bellomo R, E Stachowski, French CJ, Hart GH, Taori G, Hegarty C, Bailey M: Hypoglycemia and Outcome in Critically Ill Patients. *Mayo Clin Proc*. 2010 Mar; 85(3): 217–224
570. NICE-SUGAR Study Investigators: Finfer S, Liu B, Chittock DR, Norton R, Myburgh JA, McArthur C, Mitchell I, Foster D, Dhingra V, Henderson WR, Ronco JJ, Bellomo R, Cook D, McDonald E, Dodek P, Hébert PC, Heyland DK, Robinson BG: Hypoglycemia and risk of death in critically ill patients. *The New England Journal of Medicine* [2012, 367(12):1108-1118]
571. Chelazzi C, Villa G, Mancinelli C, De Gaudio AR, Adembri C: Glycocalyx and sepsis-induced alterations in vascular permeability. *Critical Care* (2015) 19:26
572. Rinaldi S, Adembri C, Grechi S, De Gaudio AR. Low-dose hydrocortisone during severe sepsis: effects on microalbuminuria. *Crit Care Med*. 2006;34:2334–9
573. Howell MD, Talmor D, Schuetz P, Hunziker S, Jones AE, Shapiro NI: Proof of principle: the predisposition, infection, response, organ failure sepsis staging system. *Crit Care Med*. 2011;39(2):322-7
574. Chen YX, Li CS: risk stratification and prognostic performance of the predisposition, infection, response and organ dysfunction (PIRO) scoring system in septic patients in the emergency department: a cohort study. *Crit Care* 2014;18(2):R74
575. Rathour S, Kumar S, Hadda V, Bhalla A, Sharma N, Varma S: PIRO concept: staging of sepsis. *J postgrad Med* 2015;61(4):235-42

576. Staffieri F et al: Noninvasive continuous positive airway pressure delivered using a pediatric helmet in dogs recovering from general anesthesia. *J Vet Emerg and Crit Care*, 24(5), 2014, pp 578-585
577. Briganti A, melanie P, Portela D, Bregi G, Mama K: Continuous positive airway pressure administered via face mask in tranquilized dogs. *J Vet Emerg and Crit Care*, 20(5),2010, pp 503-508

