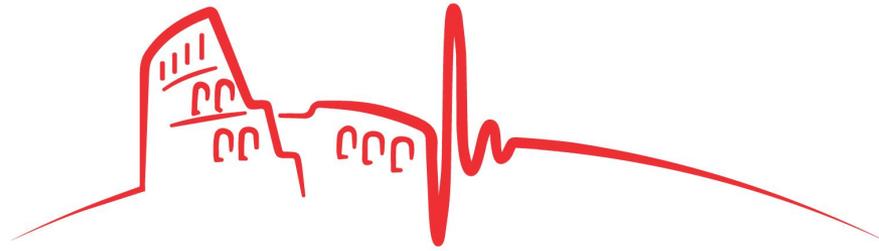


25/05/2018



XI congresso nazionale

simeu

ROMA 24-26 MAGGIO 2018

AKI e disfunzione mitocondriale

un nuovo modello di sepsi

What is Sepsis?

- La sepsi è una sindrome eterogenea, un costrutto artificiale creato dai medici per i medici per riuscire a capirsi.
- NCEPOD (2015) ha sottolineato come la sepsi sia una delle principali cause di morte, causando più morti della combinazione dei tumori di mammella, colon e prostata
- 58% dei medici non la riconoscevano come una possibile causa di morte
- Tra i medici solo il 17% aveva definito la sepsi in modo più o meno comparabile
- In UK, l'età media dei pazienti settici era 77 anni.

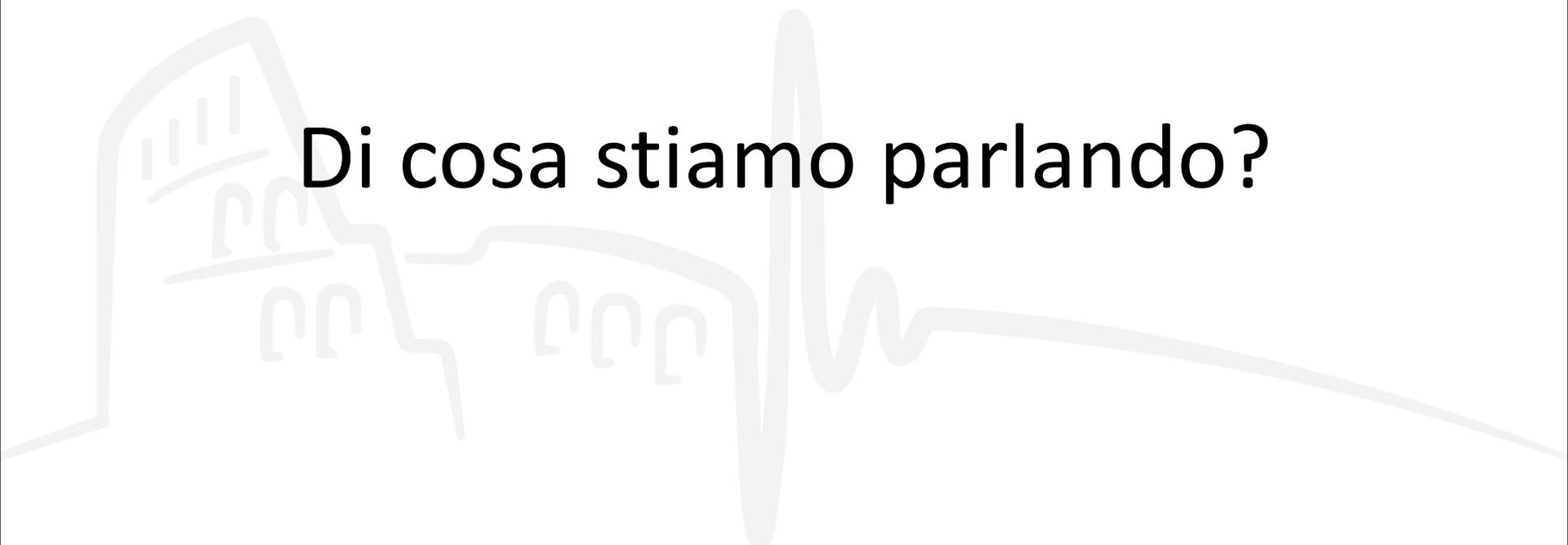


XI congresso nazionale

simeu

ROMA 24-26 MAGGIO 2018





Di cosa stiamo parlando?



XI congresso nazionale

simeu

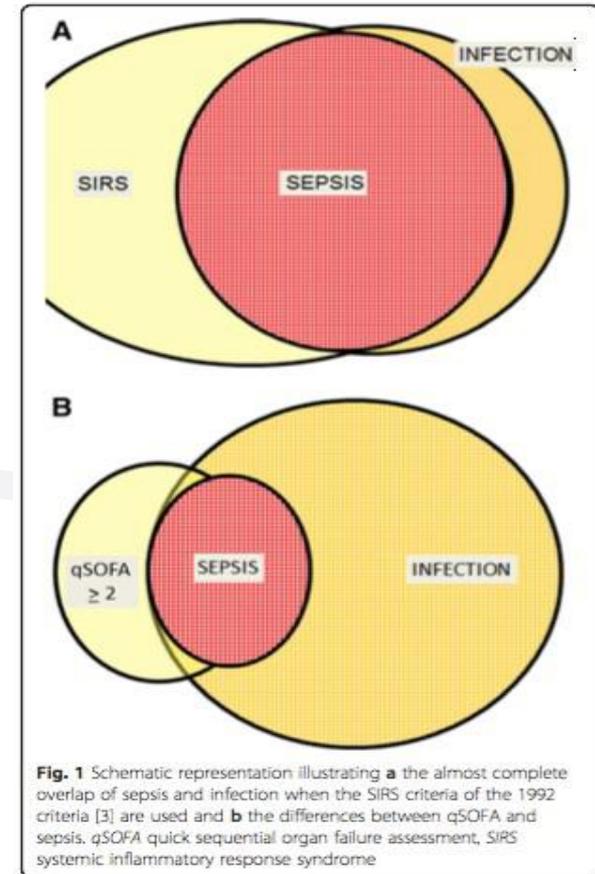
ROMA 24-26 MAGGIO 2018



The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3)

Mervyn Singer, MD, FRCP; Clifford S. Deutschman, MD, MS; Christopher Warren Seymour, MD, MSc; Manu Shankar-Hari, MSc, MD, FFICM; Djillali Annane, MD, PhD; Michael Bauer, MD; Rinaldo Bellomo, MD; Gordon R. Bernard, MD; Jean-Daniel Chiche, MD, PhD; Craig M. Coopersmith, MD; Richard S. Hotchkiss, MD; Mitchell M. Levy, MD; John C. Marshall, MD; Greg S. Martin, MD, MSc; Steven M. Opal, MD; Gordon D. Rubenfeld, MD, MS; Tom van der Poll, MD, PhD; Jean-Louis Vincent, MD, PhD; Derek C. Angus, MD, MPH, Giorgio Costantino, MD, ParCul, LupMan, GranPorc

JAMA. 2016;315(8):801-810



Sepsis-3

- Sepsis is a syndrome shaped by pathogen factors and host factors with characteristics that evolve over time. What differentiates sepsis from infection is an aberrant or dysregulated host response and the presence of organ dysfunction.
- Sepsis is now recognized to involve early activation of both pro- and anti-inflammatory responses, along with major modifications in non-immunologic pathways such as cardiovascular, neuronal, autonomic, hormonal, bioenergetics, metabolic and coagulation, all of which have prognostic significance.
- Organ dysfunction, even when severe, is not associated with substantial cell death.



XI congresso nazionale

simeu

ROMA 24-26 MAGGIO 2018



Sepsis should be defined as

life-threatening **organ dysfunction** caused

by a **dysregulated host response** to

infection.

JAMA. 2016;315(8):801-810



XI congresso nazionale
simeu
ROMA 24-26 MAGGIO 2018



Alcuni spunti di riflessione...



XI congresso nazionale

simeu

ROMA 24-26 MAGGIO 2018



- Il concetto che la sepsi sia associata con una ipossia tissutale non è provato e anzi probabilmente non è corretto.
- Numerosi studi hanno dimostrato che l'aumento dei valori di lattati nel sangue in corso di sepsi non sia causato da ipossia tissutale ma invece è indice di uno shift da un metabolismo aerobio verso uno anaerobio, come effetto di una risposta metabolica allo stress.
- Infatti, un aumento della delivery di ossigeno in questi pazienti non ne aumenta il consumo.



- L'assenza di cellule necrotiche e apoptotiche nelle biopsie degli organi durante sepsi, inclusi cuore – fegato – reni e cervello, conferma l'assenza di una significativa ipossia tissutale.
- Infatti, nonostante la presenza e la persistenza di una iperlattatemia conferisca una cattiva prognosi, è probabile che questa sia dovuta a una ASSOCIAZIONE più che un vero marker di ipoperfusione.
- Una teoria interessante che unisce una disfunzione del microcircolo con la multi-organ failure (MOF) è l'induzione di uno SHUTDOWN metabolico delle cellule simile all'IBERNAZIONE in modo da preservare la vitalità delle cellule e ridurre la necessità di apporto di ossigeno.



- I meccanismi di shunt del microcircolo con ibernazione delle cellule potrebbe rappresentare un aspetto dell'immunità innata.
- Durante la sepsi, le anomalie del microcircolo potrebbero riflettere una risposta adattativa all'infezione e all'infiammazione, anche e soprattutto per limitare il danno ossidativo.
- L'apporto di ossigeno in un contesto di «ibernazione» può essere infatti non solo inutile ma anche dannoso.
- Attualmente le misure emodinamiche e di oxygen-delivery sono ancora troppo insensibili per definire effettivamente cosa accade a livello cellulare.



XI congresso nazionale

simeu

ROMA 24-26 MAGGIO 2018

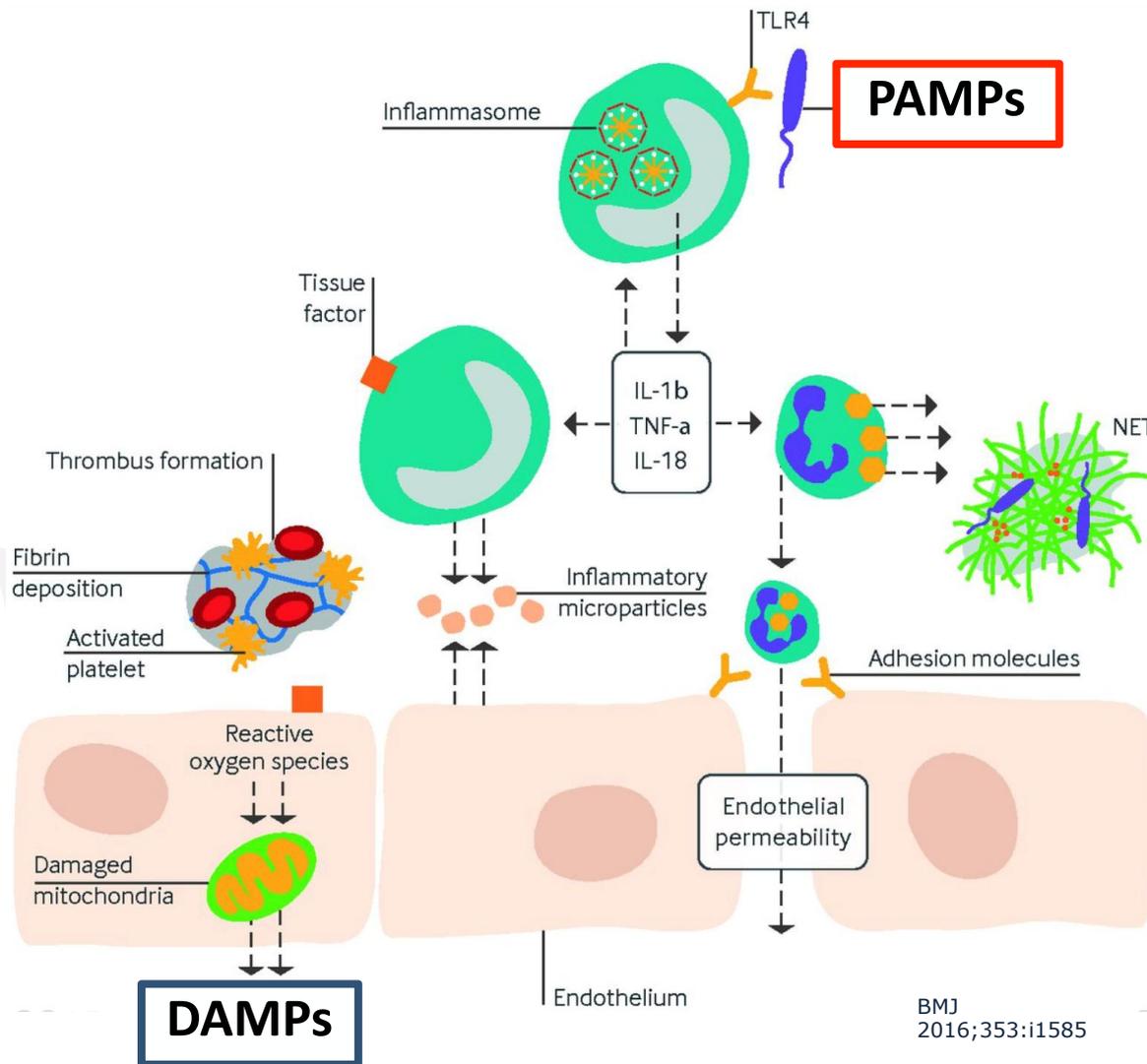


Recognition of pathogen-associated molecular patterns (**PAMPs**) related to microorganisms and/or release of intracellular damage-associated molecular patterns (**DAMPs**) from injured cells, such as mitochondria, **triggers a systemic inflammatory host response.**

DAMPs (danger associated molecular patterns) sono rilasciati da cellule danneggiate, lesionate, morte, apoptotiche e possono influenzare tutto il microenvironment ma anche la risposta immunitaria.

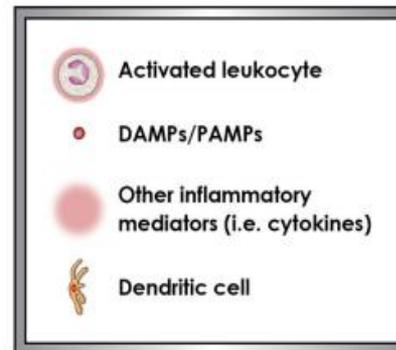
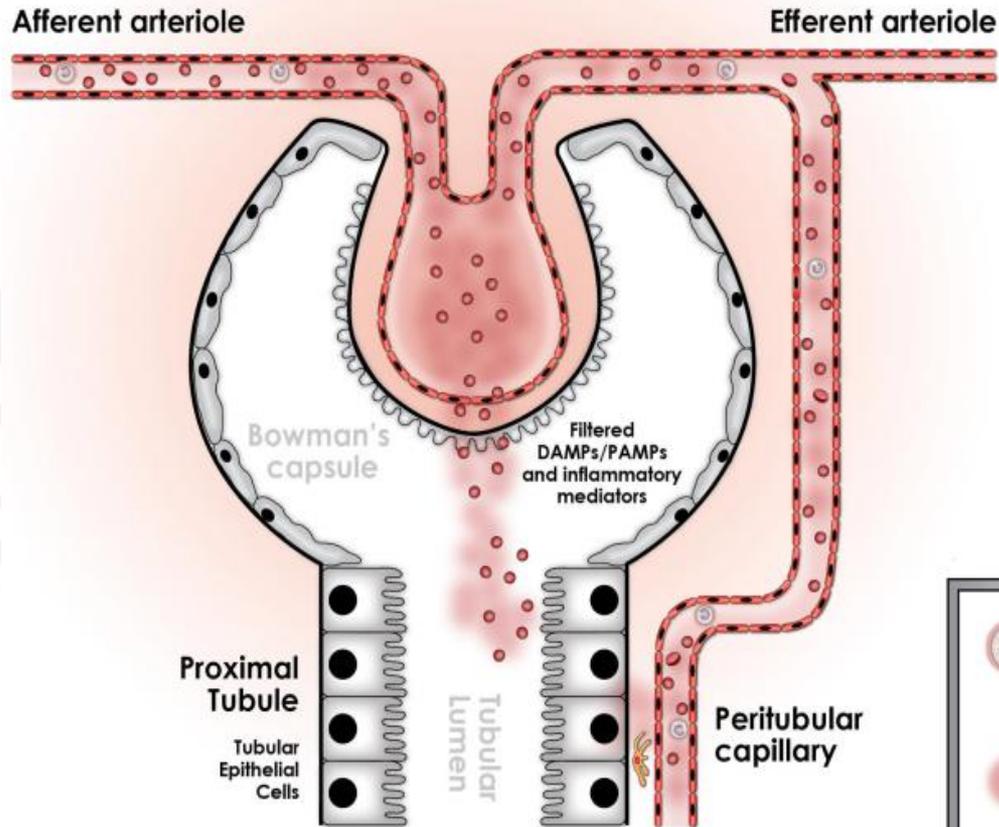
PAMPs invece sono correlati con le molecole rilasciate dai patogeni.





BMJ
2016;353:i1585





Proximal tubule Segments

S1

S2

S3

Distal nephron

Filtered DAMPs/PAMPs and inflammatory mediators

TLR-4

TNF α

Paracrine signaling

Circulating DAMPs/PAMPs & Inflammatory mediators

Peritubular capillary
Microcirculatory dysfunction

Sluggish peritubular flow

Increased time of exposure to activated leukocytes + decrease O₂ availability

-  Activated leukocyte
-  DAMPs/PAMPs
-  Other inflammatory mediators (i.e. cytokines)
-  Activated endothelium
Expression of ICAM, VCAM
-  Dendritic cell
-  Alarm signal



Mitochondria in sepsis

- Ruolo dei mitocondri: produzione di ATP production, generazione di calore, regolazione intracellulare di calcio, produzione dei ROS, produzione di ormoni (cortisol, t3 and estrogen) e la biosintesi dell'eme e delle proteine ferro-zolfo, regolazione del pathway di morte (rilascio del cytochrome C) e regolazione della fase G1/S del ciclo cellulare.
- Nitric oxide (NO), carbon monoxide (CO) e hydrogen sulfide (H₂S) sono importanti regolatori del signalling mitocondriale. La concentrazione di questi gas generati durante la sepsi hanno effetti inibitori sulla respirazione mitocondriale e la generazione di ROS.
- I mitocondri hanno meccanismi intrinseci per proteggersi contro il danno indotto dai ROS (SOD, GSH, thioredoxina).



XI congresso nazionale

simeu

ROMA 24-26 MAGGIO 2018



Metabolic consequences

- Gli effetti sui mitocondri – inibizione, danno e diminuito turnover – riducono la generazione di ATP.
- Come conseguenza, vi è una aumentata produzione di ATP attraverso l'attività della glicolisi anaerobia
- La disfunzione mitocondriale causa una deplezione di ATP ed è uno dei determinanti principali dello shock settico e soprattutto del concetto di NON-REVERSIBILITA' dello stesso (rispetto alla fase iniziale di sepsi).
- Durante la mancanza di ATP, le cellule ritornano a uno stato primitivo di attività, spendendo energia solo per il supporto delle attività che sono essenziali per la sopravvivenza della cellula.
- Questo a spese dell'omeostasi dell'organismo in quanto le cellule non effettuano più le loro funzioni specializzate che sono necessarie per una corretta stabilità omeostatica inter-organo.



XI congresso nazionale

simeu

ROMA 24-26 MAGGIO 2018



Acute Kidney Injury

- AKI sopraggiunge in circa 1-35% dei pazienti ospedalizzati ed è associata ad una alta mortalità.
- AKI è generalmente suddivisa in 3 grandi macrocategorie:
 - pre-renal
 - renal
 - post-renal
- Fino a poco tempo fa, sepsis-induced AKI era considerata una malattia dovuta a una malattia della macrocircolazione risultante in una ischemia renale, danno cellulare e necrosis tubulare acuta (ATN). Tuttavia, sempre più evidenze, stanno suggerendo come AKI spesso si manifesti in assenza di hypoperfusion.
- Istologicamente, sepsis-induced AKI è stata tipizzata con un danno eterogeneo delle cellule tubulari con apical vacuolization ma in assenza di necrosis tubulare e senza neppure segni estensivi di apoptosis.



XI congresso nazionale

simeu

ROMA 24-26 MAGGIO 2018



- Clinicamente, sepsis-induced AKI si manifesta come un peggioramento acuto e drammatico del GFR associate a una disfunzione tubulare di entità variabile.
- AKI non è indotta esclusivamente da una riduzione del Renal-Blood-Flow (RBF) ma, al contrario, può anche associarsi a situazioni con aumentato RBF (come la prima fase della sepsis – hyperdinamic).
- Usando colture cellulari, in cui lo stato emodinamico e del RBF non sono rilevanti, è stato dimostrato che la maggior parte dei danni tipici della sepsis-induced AKI potevano essere riprodotti sottoponendo le cellule tubulari renali al siero proveniente da pazienti settici.



XI congresso nazionale

simeu

ROMA 24-26 MAGGIO 2018



Sepsis-induced tubular injury interferisce con il riassorbimento di Na^+ attraverso il cotrasportatore $\text{Na}/\text{K}/2\text{Cl}$ nel tubulo prossimale, incrementa il carico di Na percepito dalla macula densa causando il trigger per il tubuloglomerular feedback (TGF) → aumento della pressione idrostatica nel glomerulo → riduzione del GFR.



Mitochondrial and Kidney

- Per milligrammo di tessuto, solo il cuore supera il rene come quantità di mitocondri.
- La disfunzione mitocondriale sembra essere un hallmark per diverse forme di acute kidney injury (AKI).
- I segmenti del nefrone che svolgono le principali funzioni “biochimiche” sono anche le zone più densi di mitocondri (tubule prossima e ansa ascendente di Henle)

Tutto questo spiega anche la REVERSIBILITA' dell'AKI durante la sepsi.



Sepsis-induced Acute Kidney Injury

Possiamo sintetizzare la sepsis-induced AKI attraverso 3 differenti meccanismi:

- 1) Microvascular dysfunction
- 2) Oxidative and inflammatory damage
- 3) Tubular damage as a Bio-energetic adaptive response



XI congresso nazionale

simeu

ROMA 24-26 MAGGIO 2018



- Come spiegato precedentemente, durante la sepsi o altri stimoli infiammatori, inflammatory mediators derived from pathogens and activated immune cells (i.e. **LPS, cytokines, ecc DAMPs and PAMPs**), che guidano la risposta immunitaria “primordiale”, vengono prodotti e rilasciati dalle cellule.
- DAMPs and PAMPs possono influenzare la funzionalità renale dal momento che vengono filtrati attraverso il glomerulo e il nefrone ma anche attraverso il danno della “peritubular microcirculation”.



XI congresso nazionale

simeu

ROMA 24-26 MAGGIO 2018



Microvascular dysfunction

E' importante sottolineare due meccanismi principali:

- L'alterazione del microcircolo può creare aree di hypoperfusion localizzate che possono fare da trigger per una risposta adattativa di down-regolazione renale (OXYGEN CONFORMANCE) – infatti una delle lesioni istopatologiche caratteristiche è la vacuolizzazione apicale delle cellule tubulari sono in alcune aree del rene (ipoperfuse?).
- Inoltre il danno microvascolare reduce grandemente la velocità con cui il sangue passa attraverso il glomerulo e le diverse zone renali e questo provoca un maggior tempo di esposizione dell'endotelio e delle cellule tubulari alle citochine, DAMPs e PAMPs → amplificando il segnale pro-infiammatorio.



XI congresso nazionale

simeu

ROMA 24-26 MAGGIO 2018



Inflammation and Oxydative Stress

- DAMPs and PAMPs, riconosciuti principalmente dai TLR4 e TLR2 scatenando una “oxidative outburst” che viene interpretato dalle cellule vicine come un “signal of danger”. Di conseguenza, si avrà un danno diretto delle cellule tubulari da stress ossidativo.
- Durante la sepsis, aumenta la produzione di NO che influenza l’emodinamica renale e cause la “peroxynitrite-related tubular injury” attraverso la generazione di specie reattive del nitrogeno.



XI congresso nazionale

simeu

ROMA 24-26 MAGGIO 2018



Tubular metabolic down-regulation

- L'insulto iniziale delle cellule tubulari renali è causato da un danno infiammatorio e da un danno ossidativo → questo trigger genera una risposta adattativa caratterizzata da una diminuzione del turnover cellulare, down-regolazione del metabolismo attraverso una riprogrammazione della cellula a favore dei processi di **“cell survival”** (mantenimento del potenziale di membrane e arresto del ciclo cellulare) e a **discapito delle “kidney functions”** (assorbimento tubulare e secrezione di solute).
- Reprioritization of energy consumption
- Cell cycle arrest: regolazione mitocondriale dei checkpoint G1/S
- Questa risposta è “orchestrata” dai mitocondri, che limitano il danno ossidativo, prevengono il danneggiamento del DNA e mantengono il bilancio energetico.



Tubular Lumen

