ALR 2004;13:97-106

ARTICOLO SU INVITO
INVITED ARTICLE

Chirurgia senza sangue: le ragioni di una ricerca

Bloodless surgery: the reasons for a research

L.M. SARTESCHI, R. FIORITO*
Curatore del sito *Bloodless Medicine Research* dell'Università di Pisa, Consulente esterno del Corso di Strategie Alternative in Chirurgia, Scuola di Specializzazione in Chirurgia Generale, Università "Tor Vergata" di Roma; * Coordinatore didattico, Scuola di Specializzazione in Chirurgia Generale, Università "Tor Vergata" di Roma

Definizione

La chirurgia senza sangue, o *bloodless surgery* degli Autori inglesi, è una disciplina emergente, che originata negli ospedali statunitensi, sta progressivamente destando l'interesse di molti centri medico-chirurgici anche nel Vecchio Continente.
Nella prospettiva della chirurgia senza sangue vi è un accurato bilancio fra i rischi e i benefici della pratica trasfusionale, una conoscenza ad ampio spettro delle tecnologie e delle strategie disponibili per minimizzare l'uso del sangue omologo e un'utilizzazione sapiente delle alternative miranti all'impiego del sangue autologo.

Perché abbiamo bisogno di alternative

In questo articolo prenderemo in considerazioni le principali ragioni per la ricerca di alternative alle trasfusioni di sangue omologo (Tab. I).

Tab. I. Ragioni per la ricerca di alternative alle trasfusioni di sangue omologo.

- Rischi acuti non infettivi
- Trasmissione di malattie infettive
- Aumento dei costi
- Immunomodulazione
- Efficacia terapeutica
- Scarse riserve
- Rispetto per i donatori
- Rispetto per gli obiettori
- Trattamento di casi rari

Rischi non infettivi

Reazioni emolitiche trasfusionali acute

Le reazioni emolitiche trasfusionali (*Hemolitic Transfusion Reactions* – HTR) sono la conseguenza clinica della distruzione immuno-mediata dei globuli rossi trasfusi. Le forme acute di HTR si sviluppano entro 24h dall'esposizione a sangue ABO incompatibile; sono largamente dovute a emolisi intravascolare, provocata dal complemento legato agli anticorpi IgM. Reazioni emolitiche acute meno gravi possono svilupparsi in pazienti portatori di IgG anti-D e anti-K precedentemente sensibilizzati da trasfusioni o gravidanze. In questi casi l'emolisi è extra-vascolare.

Tab. II. Rischi non infettivi.

Complicazioni immunologiche acute

- Reazioni trasfusionali emolitiche (HTR), intra- od extravascolari
- Reazioni febbrili non emolitiche
- Reazioni allergiche, cutanee (urticarioidi) e diffuse (anafilattoidi)
- *Transfusion Related Acute Lung Injury* (TRALI)

Reazioni trasfusionali ritardate (sviluppantisi giorni, settimane o mesi dopo la trasfusione)

- Reazioni trasfusionali emolitiche ritardate (DHTR)
- *Graft Versus Host Disease* (GVHD)
- *Post Transfusional Purpura* (PTP)

La trasfusione di sangue incompatibile è oggi la causa più comune di morbilità e mortalità acuta legata alla trasfusione [1]. Questi gravi errori possono essere fatti al momento della raccolta, dentro il laboratorio, al momento della richiesta del sangue alla banca, così come al letto del paziente.

Reazioni febbrili non emolitiche

Sono gli effetti collaterali più comuni delle trasfusioni, dovute solitamente alla reazione degli anticorpi anti globuli bianchi presenti nel plasma del paziente con i leuciti presenti nel sangue trasfuso. Quando il sangue trasfuso non è stato leuco-ridotto o leuco-depleto, o quando sono trasfuse piastrine, questa reazione si sviluppa nell'1% e nel 5-10% dei casi, rispettivamente [2]. Sembra tuttavia che anche le proteine plasmatiche possano avere un ruolo etiologico nelle Reazioni febbrili non emolitiche (FNHTRS) [3].

Reazioni allergiche cutanee e anafilassi

Queste reazioni si verificano in risposta alle proteine plasmatiche presenti nell'emocomponente somministrato, hanno un'incidenza dell'1-3%, e rappresentano una

tipica risposta di ipersensibilità di tipo 1, ovverosia una reazione allergica (IgE mediata) conseguente ad un secondo od ulteriore contatto con l'antigene. L'intensità della risposta può variare dalla semplice urticaria all'anafilassi [4].
Le reazioni anafilattiche sono molto rare, verificandosi con la stessa incidenza delle reazioni alla penicillina. Le cause non sono state ancora sufficientemente chiarite. In alcuni casi sono responsabili anticorpi anti-IgA (in pazienti IgA deficienti che sono trasfusi con prodotti ematici contenenti IgA); in altri sono invece gli anticorpi anti- aptoglobina ad essere chiamati in causa. Dato però che le reazioni anafilattiche sono più frequenti con le trasfusioni di piastrine che non con quelle di plasma fresco congelato, si suppone un possibile ruolo di microparticelle piastriniche o membrane piastriniche attivate [5].

Transfusion Related Acute Lung Injury

La *Transfusion Related Acute Lung Injury* (TRALI) è un edema polmonare acuto non cardiogenico, correlato dal punto di vista temporale all'impiego di emotrasfusioni.
La reale incidenza della TRALI non è nota poichè si tratta di una complicanza ancora notevolmente sottostimata [6]. Troppo spesso l'ipossia che si sviluppa dopo la terapia trasfusionale è ascritta al sovraccarico circolatorio e trattata con diuretici. Dati recenti indicano un'incidenza variabile fra lo 0,04 e lo 0,16% dei pazienti trasfusi [7] ed ha una mortalità che varia tra il 5 e l'8% dei casi.
Dal punto di vista clinico si manifesta con una costellazione di sintomi che includono dispnea, cianosi, ipertensione, brividi e febbre, insieme a segni obbiettivi di edema polmonare bilaterale.
I sintomi tipicamente iniziano 1-2 ore dopo la trasfusione e comunque quasi sempre entro 6 ore da essa; la loro gravità è variabile a seconda dell'ipossia che si determina nel paziente.
Tutti gli emocomponenti possono provocare una TRALI, con prevalenza del sangue intero, dei concentrati di globuli rossi, delle piastrine e del plasma secco congelato.
La patogenesi di questa grave complicanza post-trasfusionale è oggi individuata nell'ipotesi del *double hit*: su una preesistente condizione infiammatoria legata all'intervento o sopravvenuta in unità di terapia intensiva (*Intensive Unit Care* – ICU), interviene un secondo insulto arrecato da anticorpi anti-HLA o anti-neutrofili passivamente trasmessi o dalla infusione di lipidi biologicamente attivi provenienti dalla degradazione dei prodotti cellulari durante la conservazione del sangue [8]. Gli studi autoptici dimostrano un massivo edema polmonare con aggregazione dei granulociti nel microcircolo polmonare e stravaso negli alveoli [9]. Le donatrici di sangue multipare sono più frequentemente implicate nel determinismo della TRALI nei pazienti trasfusi, verosimilmente a causa della sensibilizzazione anti-HLA sviluppantesi durante le gravidanze [10].
Per prevenire questa complicanza alcuni avrebbero suggerito di escludere dal pool dei donatori le multipare, ma altri hanno trovato sconcertante quest'idea, dato che proprio queste donne sono tra le più motivate donatrici. Inoltre, come già abbiamo visto, la genesi anticorpale è solo una delle ipotesi patogenetiche della TRALI. Forse una più ragionevole misura precauzionale sarebbe quella di non utilizzare nelle unità di terapia intensiva i prodotti ematici di più lunga conservazione [11].

Reazioni trasfusionali emolitiche ritardate

Le reazioni emolitiche trasfusionali ritardate (*Delayed Hemolitic Transfusion Reactions* – DHTR) si sviluppano dopo 5-8 giorni dalla trasfusione in pazienti precedentemente sensibilizzati, con il risultato di un'emolisi extravascolare. L'incidenza di questa complicanza è stata valutata intorno allo 0,12% dei pazienti [12]. Scarsa tuttavia è la rilevanza clinica: nonostante la frequente evidenza sierologica di reazione trasfusionale ritardata (comparsa di anticorpi in pazienti precedentemente negativi), raramente si evidenzia una sintomatologia significativa [13].

Transfusion associated graft versus host disease

La *Transfusion Associated Graft Versus Host Disease* (TA-GVHD) è il risultato dell'attecchimento di T-linfociti vitali del donatore in un ricevente che non è in grado di riconoscerli o di distruggerli. Questa grave complicanza, il cui tasso di mortalità è maggiore del 90% dei casi, si verifica solitamente in pazienti immunodepressi e nei neonati prematuri, ma può anche svilupparsi in pazienti immunocompetenti che ricevono sangue da parenti di primo grado [14]. I linfociti trasfusi attaccano le cellule emopoietiche dell'ospite, la pelle, il fegato e l'epitelio delle vie biliari. Il decesso in genere avviene per infezione o per emorragia conseguente a pancitopenia. Data la scarsa efficacia delle misure terapeutiche a nostra disposizione, la prevenzione è la migliore risorsa. Mentre la leuco-deplezione non è sufficiente perché non è in grado di eliminare tutti i linfociti nel sangue trasfuso, l'uso di sangue da donatori non geneticamente correlati e l'irradiazione con almeno 25 Gy è in grado di proteggere il ricevente, rendendo non vitali i linfociti trasfusi [15].

Post Trasfusional Purpura

La *Post Trasfusional Purpura* (PTP) è una rara condizione caratterizzata da grave trombocitopenia sviluppantesi da 5 a 10 giorni dopo la trasfusione di sangue intero, globuli rossi, plasma fresco congelato o piastrine.
Questi pazienti hanno anticorpi antipiastrine che si sono sviluppati per precedenti trasfusioni o gravidanze. La piastrinopenia può raggiungere livelli estremamente bassi (< 10.000/ml), con grave rischio emorragico.
La concentrazione piastrinica recupera solitamente entro due settimane [16].

Trasmissione di malattie infettive

L'accurata selezione dei donatori e l'utilizzazione delle tecniche di amplificazione genica per la ricerca dei virus nella cosiddetta "fase finestra" hanno quasi azzerato nell'ultimo decennio il rischio di contrarre l'AIDS o le epatiti tramite le trasfusioni nel mondo occidentale [17]. Tuttavia tutti i metodi per il rilevamento del rischio infettivo residuo contengono degli errori sistematici che possono risultare in una sottostima di esso [18]. In ogni caso nello

studio SHOT si sono rilevati 12 casi di infezione da agenti noti, sei virali, tre batterici e tre parassitari [1]. Inoltre la qualità e la sicurezza delle trasfusioni di sangue costituiscono ancora motivo di grave preoccupazione nei Paesi in via di sviluppo, dove vive l'82% della popolazione mondiale. Il peso delle malattie e delle perdite di vite umane causate dal sangue non sicuro è devastante in queste aree del pianeta [19].
Il problema infettivologico deve tuttavia essere riconsiderato alla luce delle esperienze remote ed attuali; sono infatti le malattie infettive emergenti (o riemergenti) che possono in ogni momento mettere in pericolo la sicurezza del sangue [20], con il rischio di una conseguente drammatica riduzione delle scorte [21].
Gli agenti infettanti possono essere distinti in emergenti, riemergenti o subemergenti. Bisogna poi distinguere fra agenti emergenti e problemi emergenti.
Un agente infettante può emergere ex novo per mezzo di una mutazione, oppure per il superamento della barriera della specie, con il passaggio dagli animali all'uomo. L'HIV e il prione responsabile della encefalopatia spongiforme trasmissibile (TSE) sono esempi di agenti infettanti realmente emergenti.
Il *West Nile Virus* (WNV) è un esempio di agente riemergente. Questo virus è noto da molto tempo, ma rappresentava un problema distante e sostanzialmente inoffensivo come rischio trasfusionale finché i mutamenti climatici e i viaggi intercontinentali non lo hanno portato in vaste aree di popolazioni suscettibili.
I virus epatotropi recentemente scoperti, i flavivirus GBV-C/HGV e i circovirus TTV/SENV rientrano nella categoria dei subemergenti. Si tratta cioè di agenti emergenti come cause potenziali di epatite, per i quali però allo stato attuale non è stato possibile dimostrare una sicura patogenicità.
Un esempio di problema emergente (non di agente emergente) è infine quello della contaminazione batterica delle piastrine, la seconda causa di episodi fatali legati alle trasfusioni. In questo caso agenti noti (i batteri) emergono come problema come conseguenza dell'incremento delle trasfusioni piastriniche e a causa delle condizioni di conservazione di esse [22].

Un esempio di agente emergente: l'encefalopatia spongiforme trasmissibile

Il primo caso di encefalopatia spongiforme bovina (BSE) è stato riconosciuto in Inghilterra nel 1987. I bovini si erano infettati consumando frattaglie contenti il tessuto nervoso di pecore affette da scrapie. L'agente infettante (prione) ha poi ulteriormente superato la barriera della specie raggiungendo quella umana nel 1996. Quasi tutti i 147 casi di questa fatale malattia neurodegenerativa identificati in Inghilterra si sono contaminati consumando carne bovina infetta.
Nell'agosto del 1999, con un tempismo che dimostra il clima d'allerta sviluppatosi nel mondo della sanità dopo la pandemia dell'AIDS, le autorità sanitarie statunitensi ritennero opportuno proibire la donazione del sangue da parte degli americani che avevano vissuto in Gran Bretagna e consumato carne di mucca per almeno 6 mesi nel periodo che andava dal 1980 al 1996 (gli anni del picco dell'epidemia di BSE) [23]. Da allora più casi di BSE sono stati riportati in Europa, con nuovi casi in Spagna, Italia, Germania, Repubblica Ceca, Grecia, Slovacchia, Slovenia, Austria e Finlandia. Più recentemente la malattia si è presentata anche in Giappone. Per tale motivo nel giugno 2001 la *Food and Drugs Administrator* (FDA) ha dato un ulteriore giro di vite alle restrizioni sulle donazioni di sangue: non poteva essere più accettato il sangue di chi avesse vissuto per almeno 5 anni in qualsiasi nazione europea a partire dal 1980 e di chi avesse ricevuto una trasfusione in Inghilterra a partire da quella data [24]. Tale misura restrittiva è stata considerata esagerata da alcuni e potenzialmente dannosa per l'ulteriore restrizione imposta alle donazioni di sangue [25]. Fino ad allora infatti nessuna sicura trasmissione umana della Malattia di Creutzfeldt-Jakob (*Creutzfeldt-Jakob Disease* – CJD) era stata dimostrata come conseguenza di trasfusioni e pertanto il rischio rimaneva solamente teorico. Nel settembre del 2000 però veniva pubblicato il primo studio in cui si dimostrava che l'infezione era stata trasmessa mediante sangue trasfuso da pecore malate a pecore sane [26]. Era la prova che il sangue poteva agire da vettore dell'infezione prionica. Ma bisognava attendere il dicembre 2003 per avere il primo caso dimostrato di CJD trasmesso da donatore umano infetto ad un giovane paziente britannico [27 28]. A questo punto alcuni Autori si sono posti la domanda se non fosse doveroso includere il rischio di infezione da prioni nei moduli di consenso informato alla trasfusione [29]. Alla fine di luglio 2004 veniva confermato dalle autorità sanitarie britanniche il secondo caso di infezione umana. Benché in quella data il numero totale dei casi, sia morti che viventi, ammontasse a solo 147, le autorità britanniche hanno ritenuto opportuno restringere ulteriormente le limitazioni alle donazioni di sangue, nello sforzo di ridurre il rischio di trasmissione della malattia [30].

Un esempio di agente riemergente: il West Nile Virus

I mutamenti climatici e la rapidità con cui nel mondo moderno ci si trasferisce da una nazione ad un'altra hanno provocato l'insorgenza di infezioni riemergenti in sedi diverse dalle aree endemiche.
Questo è il caso del WNV. Dopo la sua comparsa nell'estate 1999 a New York in USA, l'epidemia della meningo-encefalite, gravata da un alto tasso di mortalità (8-12%), si è estesa in quasi tutti gli stati americani. Immediatamente è stata presa in considerazione la possibilità che tale virus, solitamente trasmesso tramite le puntura delle zanzare, potesse mettere in pericolo le scorte di sangue. Nel 2002 un paziente deceduto per incidente aveva donato i suoi organi a quattro riceventi, tutti i quali svilupparono la meningo-encefalite. Il donatore aveva ricevuto sangue infetto prima di morire. Nel 2003 è stato applicato il test di amplificazione genica ai donatori per scoprire gli eventuali infettati in "fase finestra". Nel controllo di 4,1 milioni di donazioni la Croce Rossa Americana è riuscita ad individuare 415 donatori infet-

ti, poi confermati positivi (0,01%). Se però il tasso globale di incidenza era da stimarsi intorno ad 1:10.000, l'incidenza per singoli stati rivelava il dato sorprendente di 1:175 nel Nebraska e di 1:243 nel Kansas. Questi due stati avrebbero avuto conseguenze devastanti in assenza di screening per il riconoscimento della "fase finestra" [22].

Virus epatotropi

Attualmente si stima che dal 10 al 20% dei casi di epatite possano essere dovuti ad agenti virali non-ABC, così come il 30% dei casi di epatite cronica e la maggioranza dei casi di epatite fulminante associata ad anemia aplastica. La presunzione dell'esistenza di ulteriori agenti causali per l'epatite ha condotto a molti programmi di ricerca [22].

Diversi virus sono stati posti recentemente sotto scrutinio (GBV-A, GBV-B, GBV-C, HGV, TTV e SENV), ma c'è ancora molta incertezza circa la reale patogenicità di questi agenti infettivi [31-33].

Restano da spiegare i casi di epatite a patogenesi ignota [34] e resta la spada di Damocle della eterogeneità genotipica di alcuni dei ceppi virali apparentemente innocui [35], che induce a temere l'emergenza nel tempo di qualche mutante manifestamente patogeno.

L'importanza delle odierne rigorose strategie di vigilanza, che potrebbero apparire esagerate chi si basasse solo sul rischio attuale, è comunque da valutare alla luce della storia delle epatiti post-trasfusionali. Non si deve dimenticare infatti che tra la metà degli anni '70 e la metà degli anni '90 si è avuto un incremento del 70% del carcinoma epatico negli Stati Uniti e che tale impressionante aumento è legato al dilagare delle epatiti B e C, come conseguenza delle strategie trasfusionali ultra-liberali antecedenti alla crisi dell'AIDS [36 37].

Quanto precede, dunque, dovrebbe servire da monito per chi confidasse eccessivamente nell'alto livello di sicurezza raggiunto negli ultimi anni dai prodotti ematici. Le scorte di sangue sono costantemente minacciate da agenti patogeni emergenti *ex novo* o riemergenti e il numero dei donatori potrebbe improvvisamente ridursi sensibilmente per restrizioni dovute alla comparsa di nuovi agenti patogeni trasmissibili per via ematica [38 39].

Per concludere il capitolo relativo al pericolo di contaminazione da agenti patogeni non si può non considerare l'aspetto economico. Il prezzo della maggiore sicurezza del sangue è stato pagato con una progressiva crescita dei costi dei prodotti ematici [40]. È molto difficile stabilire il costo reale del sangue nel nostro Paese; negli USA il prezzo della singola sacca di sangue è stato recentemente stimato intorno ai $ 500 alla prima unità e ai $ 350 per le unità successive [41]. Se però consideriamo i costi aggiuntivi nella gestione dei pazienti trasfusi, derivanti dalla somma dei trattamenti delle complicanze e del prolungamento dei periodi di ospedalizzazione [42], è stato stimato che il non riscorso alle emotrasfusioni riduca i costi totali di trattamento in chirurgia addominale e ortopedica di circa $ 5.000 per paziente [43].

Aspetti immunomodulatori delle emotrasfusioni

L'evidenza emergente da tutta una serie di fonti suggerisce che la trasfusione allogenica alteri le risposte immunitarie del ricevente, rendendolo più vulnerabile alle infezioni, alle recidive tumorali e alla riattivazione di virus latenti. Questo fenomeno è stato definito "immunomodulazione".

Nei pazienti trasfusi con sangue di donatore sono state descritte numerose alterazioni nelle cellule ematiche circolanti: riduzione del numero dei linfociti, modificazioni del rapporto T-helper/suppressor, cambiamenti nella funzione delle cellule B, sotto-regolazione delle cellule che presentano l'antigene (APC) e attivazione di cellule immunitarie. Alcuni di questi cambiamenti persistono per mesi dopo la trasfusione [44].

Le osservazioni pubblicate da Opelz nel 1973 avevano da tempo provveduto l'evidenza che la trasfusione allogenica precedente i trapianti renali migliorava la sopravvivenza dei riceventi [45]. Per di più l'effetto appariva essere dose-dipendente [46].

Studi su animali hanno dimostrato che il sangue trasfuso ha un'attività favorente la crescita tumorale [47].

Per cercar di capire cosa possa succedere con la trasfusione di sangue nell'organismo ricevente sarà utile ripassare brevemente i possibili destini delle cellule mononucleate trasfuse. Tali cellule vengono sequestrate inizialmente nel polmone, nel fegato, nella milza e forse in altri tessuti del sistema reticolo-endoteliale. In genere il loro destino è quello della eliminazione, secondo il modello del rigetto del trapianto. Il alcune circostanze però, specialmente se il ricevente e il donatore sono strettamente apparentati dal punto di vista della tipizzazione HLA e se il ricevente è immunodepresso, i linfociti trasfusi possono attecchire, proliferare e generare quindi una GVHD. Una terza circostanza, interessante area di interesse per il nostro studio, è quella in cui le cellule mononucleate persistono, attecchiscono, proliferano e circolano nell'ospite per molti mesi o anche anni. Questo rappresenta un fenomeno di tolleranza immunitaria. Il ruolo di tali cellule nel determinismo delle recidive tumorali o delle infezioni è ancora da determinare. Comunque, alcuni Autori hanno recentemente osservato che linfociti allogenici (CD4, CD8, CD15 e CD19) contenuti nel sangue trasfuso hanno continuato a circolare per più di un anno in alcuni pazienti traumatizzati politrasfusi (microchimerismo) [48]. L'osservazione che cellule mononucleate trasmesse durante la gravidanza alla madre per mezzo della circolazione fetale possano circolare per oltre 20 anni suggerisce che la tolleranza alle cellule trasfuse può persistere per molto tempo dopo l'esposizione al sangue del donatore. Preoccupante a questo riguardo è stata l'associazione riscontrata fra queste cellule e la sclerosi sistemica anni dopo la gravidanza [49]. Un microchimerismo è stato anche recentemente associato con la cirrosi biliare [50], la sindrome di Sjogren [51], alcune miositi ed il lupus eritematoso sistemico [52].

Il ruolo della componente cellulare delle trasfusioni nel determinismo dell'effetto immunomodulatorio delle tra-

sfusioni rimane ancora da determinare con sicurezza; tuttavia se i leucociti allogenici, i linfociti, i monociti o le cellule dendritiche giocassero effettivamente qualche ruolo in esso, l'introduzione della leuco-deplezione universale dei componenti cellulari, pur innalzando ulteriormente i costi del sangue [53], potrebbe far decrescere o eliminare questo rischio.
Esistono però altre ipotesi sull'etiopatogenesi della immunomodulazione post-trasfusionale.
L'infusione di sangue allogenico è associata con lo sviluppo di anticorpi anti-idiotipici e *suppressor cells* nel ricevente (inibitori della risposta immunitaria) [54].
Inoltre è stato dimostrato che durante la conservazione dei prodotti ematici si accumulano vari fattori proangiogenetici (*Vascular Endothelial Growth Factor* – VEGF) [55-58], mentre si riducono i fattori antiangiogenetici (endostatina). Il risultato finale costituisce una pericolosa miscela di fattori che hanno il potere di stimolare sia le cellule cancerose che le cellule endoteliali [59].
Ancora, è noto che durante la conservazione del sangue si accumulano diverse citochine ed altri mediatori dell'infiammazione [60 61] e che tali tali sostanze sono presenti anche nel sangue autologo predepositato [62]. Studi in vitro hanno dimostrato che le sostanze bioattive originanti dalla degenerazione, sia dei leucociti, che dei globuli rossi durante la conservazione del sangue intero, sopprimono la produzione del tumor necrosis factor alfa (TNF-α, citochina proinfiammatoria), mentre stimolano la produzione della interleuchina 10 (IL10, citochina anti-infiammatoria), con la conseguenza di uno sbilanciamento della risposta immunitaria [63]. Tale sregolazione dell'immunità naturale, con conseguente desensibilizzazione allo stimolo lipopolisaccaridico (proprio dei germi gram negativi), risulta in una pericolosa esposizione alle infezioni ospedaliere [64]. La leuco-deplezione sarebbe in grado di ridurre, ma non di eliminare questo effetto.
Altri studi in vitro hanno dimostrato che il plasma di GR conservati stimola significativamente i polimorfonucleati a rilasciare interleuchina 8 (IL-8) e fosfolipasi A2 secretoria (sPLA2) [65]. Il plasma derivante dai GR conservati, anche se sottoposto a leuco-riduzione, ritarda l'apoptosi e attiva i polimorfonucleati, innescando di fatto la distruzione dei tessuti neutrofilo-mediata. L'effetto diventa evidente a partire dal 21° giorno di conservazione del sangue e peggiora progressivamente fino alla scadenza del prodotto (42° giorno) [66].
Uno studio in vivo, su pazienti sottoposti ad interventi di cardiochirurgia, ha dimostrato un significativo incremento della proteina incrementante la permeabilità (*Bacterial Permeability-Inducing Protein* – BPI) nei pazienti riceventi trasfusioni di globuli rossi concentrati. Durante il trauma chirurgico si assiste costantemente ad un aumento dei markers della risposta infiammatoria non infettiva o markers della fase acuta: BPI, interleuchina 6 (IL6), proteina C reattiva (CRP) e proteina legante i lipopolisaccaridi (LBP). Gli Autori ritengono che le sostanze bioattive presenti nei concentrati eritrocitari (in particolare in questo studio, il BPI) sarebbero responsabili di un secondo insulto infiammatorio che andrebbe ad amplificare quello iniziale. Come conseguenza i tempi di divezzamento dalla ventilazione assistita, i tempi di permanenza nell'unità di terapia intensiva e la durata dell'ospedalizzazione risultavano significativamente più lunghi nei pazienti trasfusi [67].
Infine, come abbiamo visto precedentemente, il sangue allogenico può contenere virus di significato per il momento sconosciuto, come l'HGV, il TTV, il SENV ed altri agenti non ancora identificati. Alcuni di essi potrebbero esercitare un effetto immunodepressivo (cfr. AIDS). È anche noto che la stimolazione allogenica può riattivare una varietà di agenti infettivi latenti, incluso l'HIV, l'Epstein Barr e il citomegalovirus nel ricevente [68].
Ciascuno o una combinazione dei fattori sopra menzionati può essere coinvolto nell'immunomodulazione post-trasfusionale.
Anche se non vi è un accordo unanime, la portata dell'attività immunomodulatoria nel campo della patologia neoplastica sembra ampiamente documentata dai molteplici Lavori indicanti un maggior tasso di recidiva e quindi una peggiore prognosi per i pazienti trasfusi [69-78].
Anche l'incidenza delle infezioni post-operatorie è stata ampiamente ricondotta all'uso del sangue omologo [79-83] e, sia la durata delle degenze ospedaliere [84 85], che la sopravvivenza dei pazienti sottoposti a chirurgia maggiore [86] e trapianto di fegato risultano influenzati dall'impiego di prodotti ematici nel periodo perioperatorio [87 88].
In ambito intensivistico ha suscitato grande stupore il lavoro pubblicato da Hebert et al. nel 1999, nel quale una strategia trasfusionale restrittiva (trigger trasfusionale a 7 g/dl di Hb) risultava più sicura ed efficace di quella liberale (trigger trasfusionale a 10 g/dl di Hb), ad eccezione dei pazienti cardiopatici [89]. Evidentemente il minore ricorso alle emotrasfusioni risulta benefico ai fini prognostici nei pazienti critici. È stato anche dimostrato che trasfondere sangue per raggiungere livelli normali di concentrazione emoglobinica non migliora il decorso clinico dei pazienti ricoverati in ICU [90].
Ancora più sorprendente è stata l'analisi retrospettiva di tre grandi trials internazionali su pazienti con sindrome acuta coronarica (ACS). I risultati dello studio hanno dimostrato che le trasfusioni di sangue durante le ospedalizzazioni per ACS sono associate con un significativo incremento della mortalità a 30 giorni [91].
Ma una particolare preoccupazione è emersa negli ultimi anni dai dati relativi all'associazione riscontrata tra trasfusioni e insufficienza acuta multi organo (*Multi Organ Failure* – MOF) [92-94]. L'evidenza clinica che la trasfusione di sangue allogenico, indipendentemente dalla gravità dello shock risulta essere una causa indipendente di prognosi infausta nei soggetti traumatizzati [95], ha indotto a suggerire un più oculato uso del sangue in questa categoria di pazienti [96]. Forse è alla luce di quanto precede che si può comprendere il paradossale risultato del raffronto fra la popolazione dei testimoni di Geova e quella di individui di altre religioni per quanto concerne la sopravvivenza dopo trauma maggiore. L'analisi statistica ha sorprendentemente portato alla conclusione che i Testimoni hanno un incremento non significativo di decessi post-traumatici (pur rifiutando le emotrasfusioni) [97].

Per interpretare questi dati è probabile però che si debba guardare oltre gli effetti negativi derivanti dalla probabile immunomodulazione.

Influenza della conservazione sulle proprietà del sangue

Studi sperimentali hanno dimostrato che la trasfusione di globuli rossi conservati non incrementa adeguatamente l'ossigenazione tessutale [98-100]. In uno studio comparativo è stato dimostrato che i GR e la ventilazione iperossica (inalazione di ossigeno al 100% ad 1 atmosfera), sono entrambi in grado di aumentare la DO2, ma utilizzando sensori intramuscolari è stato possibile evidenziare che solo con la ventilazione iperossica si ha un corrispondente trasporto di ossigeno ai tessuti [101].
Il mancato effetto benefico della trasfusione di emazie conservate potrebbe essere particolarmente evidente nei pazienti settici, laddove la scarsa deformabilità delle emazie potrebbe essere addirittura responsabile di occlusioni microcircolatorie, con ischemia in alcuni organi [102]. In questi pazienti la trasfusione di globuli rossi conservati, non solo non migliorerebbe l'utilizzazione globale o regionale dell'ossigeno, ma ostacolerebbe l'eiezione del ventricolo destro provocando l'aumento dell'indice di resistenza vascolare nel circolo polmonare [103].
La trasfusione di sangue intero o di emazie concentrate viene somministrata principalmente per provvedere al fabbisogno di ossigeno dei tessuti. I globuli rossi freschi sono costituiti pressoché totalmente da emoglobina, che lega l'ossigeno a livello polmonare, lo trasporta nel circolo arterioso e lo rilascia a livello capillare. Ci si aspetterebbe che i globuli rossi conservati fossero in grado di trasportare l'ossigeno e di distribuirlo come quelli freschi, ma non è così. Recentemente Berezina et al. hanno pubblicato un interessante lavoro nel quale sono state dimostrate le alterazioni a cui va incontro il sangue durante la sua conservazione [104]. I globuli rossi (GR) di nove donatori sono stati depositati per 42 giorni in una banca del sangue, in condizioni standard di conservazione. L'età dei donatori variava dai 20 ai 57 anni; nessuno di loro aveva una storia di diabete, ipertensione grave od altre patologie che potessero significativamente interferire con le proprietà reologiche del sangue. I campioni di emazie venivano ritirati per analisi al 5°, al 7°, al 14°, al 21°, al 35° e al 42° giorno di conservazione. Su tali campioni veniva studiata la deformabilità delle cellule, la morfologia, l'entità di emolisi, il pH, l'eccesso di basi, il tempo di coagulazione e la viscosità. Fino al 7° giorno la forma dei GR era dominata dai comuni discociti. A partire dal 14° giorno il numero di GR normoconformati subiva un progressivo, significativo decremento, con un raddoppiamento delle forme anomale, sia reversibili che irreversibili. Il numero delle forme anomale continuava ad aumentare fino al 42° giorno, dove la percentuale di esse superava il 76%. L'indice di deformabilità dei GR rimaneva normale fino al 7° giorno di conservazione, ma diminuiva significativamente a partire dal 14° giorno. Il tasso di emolisi gradualmente incrementava a partire dal 14° giorno e raggiungeva il 7% al 42° giorno. In modo analogo si assisteva ad un progressivo decremento del pH a partire dal giorno 14, con una concomitante riduzione dell'eccesso di basi. Il tempo di coagulazione diveniva sempre più lungo a partire dal 21° giorno, verosimilmente a causa dell'esaurimento dei fattori plasmatici procoagulanti. La viscosità non subiva significative variazioni nel tempo.
I cambiamenti della deformabilità dei GR hanno serie conseguenze in relazione alla risposta dei capillari all'ipossia. È noto infatti che lo stimolo ipossico provoca il reclutamento di una gran numero di capillari e che tale meccanismo compensatorio è di fondamentale importanza per assicurare il trasporto di ossigeno ai tessuti. La perdita di deformabilità delle emazie comporta l'esclusione di esse dal circolo capillare amplificato ed il loro reindirizzamento attraverso i canali centrali, meno deputati allo scambio di ossigeno con i tessuti [105]. Per di più, gli studi eseguiti con emazie marcate hanno dimostrato che i GR con ridotta deformabilità tendono a rimanere intrappolati nel microcircolo, con conseguenti importanti riduzioni di flusso ed elevazione delle resistenze [106].
Se si tiene conto che i pazienti traumatizzati hanno già una precoce riduzione di deformabilità delle proprie emazie, che persiste per alcuni giorni ed è aggravata dallo stato settico [107], è abbastanza intuitivo che ogni ulteriore apporto di globuli rossi alterati non possa che aggravare la funzione degli organi.
Per di più la conservazione dei GR induce cambiamenti che sono associati con un incremento della loro aggregabilità [108]. Poiché la trasfusione di sangue è data routinariamente in pazienti con livelli di fibrinogeno normale o elevato (il fibrinogeno è il principale fattore aggregante nel plasma), essa può indurre un incremento di aggregazione in vivo, in misura dipendente dal tempo di conservazione. Questo fenomeno dovrebbe essere preso in considerazione particolarmente in quei pazienti, come quelli critici, in cui sono prevedibili disordini del microcircolo [109].
Recentemente, tuttavia, è emersa una nuova ipotesi per spiegare gli effetti negativi delle trasfusioni di GR conservati. È stato infatti dimostrato che durante la conservazione l'emoglobina libera da stromi aumenta progressivamente nel tempo. L'elastasi liberata dai leucociti polimorfonucleati ne sarebbe la causa principale [110]. La presenza nel plasma, dopo trasfusione di emazie conservate, di emoglobina ferrosa libera, sarebbe responsabile della rapida distruzione dell'ossido nitrico per mezzo dell'ossidazione a metaemoglobina e nitrato. Il nistrossido reagisce almeno 1.000 volte più rapidamente con l'emoglobina libera che con gli eritrociti. La limitata biodisponibilità di nitrossido genera una vasocostrizione regionale e sistemica, che può causare disfunzione di organo [111 112]. È stato infatti rilevato che lo sviluppo di vasospasmo dimostrato angiograficamente dopo emorragia subaracnoidea è associato con le trasfusioni postoperatorie e che il peggior decorso è associato con le trasfusioni intraoperatorie [113].
Nonostante alcuni studi pubblicati abbiano fornito risultati contrastanti [114], sembra evidente che l'età dei globuli rossi conservati costituisca un importante e forse sot-

tovalutato elemento da considerare nella terapia del paziente critico [115]. Questo dato diventa particolarmente preoccupante se si tiene conto che uno studio ha dimostrato che l'età media dei GR trasfusi negli USA è di 21 giorni [116].
Allo stato attuale si possono trarre le seguenti conclusioni:

1. la trasfusione di GR conservati non migliora il consumo tessutale di ossigeno in maniera consistente, sia a livello globale, che di microcircolazione;
2. la trasfusione di GR non è associata con un miglioramento del decorso clinico di pazienti critici e può peggiorarne la prognosi in alcuni;
3. fattori specifici che identifichino i pazienti che possono beneficiare del trattamento trasfusionale sono difficili da identificare;
4. la mancanza di efficacia dei globuli rossi è probabilmente correlata a tempo di conservazione, all'incremento di aderenza endoteliale dei GR conservati, al legame del NO con l'emoglobina libera nei GR conservati, alla risposta infiammatoria dell'ospite e alla ridotta deformabilità delle cellule [117].

Quanto precede dovrebbe servire a riconsiderare la reale efficacia clinica del sangue conservato. Continuando a ragionare in termini di ossigenazione tessutale, abbiamo già visto come la respirazione di ossigeno al 100% ad 1 atmosfera sia più efficiente della trasfusione di GR. Ma è anche stato sperimentalmente dimostrato che in condizioni di reale dipendenza dall'apporto di ossigeno dei tessuti, un'altra forma standard di trattamento, come l'incremento del flusso ematico, che aumenta l'area di capillari perfusi, è equivalente ai globuli rossi freschi (quindi non alterati dalla conservazione) nel ristabilire l'ossigenazione tessutale [118].

Ulteriori ragioni per la ricerca di strategie alternative alle emotrasfusioni

Il rischio dell'esaurimento delle scorte ematiche

Al di là delle persistenti ansietà derivanti dagli effetti indesiderati delle trasfusioni, indipendentemente dalla reale efficacia clinica in ambito chirurgico del sangue allogenico, lo studio delle strategie alternative si fonda anche su altre preoccupazioni.
Prima di tutto c'è il pericolo di non essere preparati a far fronte ad un'eventuale drammatica riduzione delle scorte di sangue. Allo stato attuale una scarsa disponibilità di prodotti ematici si verifica solo sporadicamente, durante i periodi estivi e in occasione delle festività. Ma l'intero sistema sanitario mondiale potrebbe essere messo in crisi dall'improvvisa comparsa di agenti infettanti emergenti o riemergenti che obbligherebbe ad una massiva restrizione dei potenziali donatori [21].
Quanto precede costituisce una condizione teorica, ad alta probabilità, ma pur sempre non attuale. Di rilevante attualità è invece il progressivo assottigliamento del rapporto fra donazioni e bisogno trasfusionale [119]. Già nella metà degli anni '90 ci si lamentava del fatto che ogni anno negli USA dovevano essere scartati circa 500.000 donatori [120]; le più recenti disposizioni per prevenire TSE e WNV hanno ulteriormente ridotto la disponibilità di donatori qualificati.
Altri fattori però, come l'aumento delle richieste per l'invecchiamento della popolazione nel mondo occidentale [121], non seguito da un corrispondente aumento delle donazioni ha ridotto sensibilmente il margine di autosufficienza [122]. In base alle proiezioni effettuate da alcuni ricercatori, ci si aspetta che entro il 2030 verranno a mancare ogni anno 4 milioni di unità di sangue negli USA [123].

Il buon uso del sangue

Dato che il sangue è il prodotto di una donazione volontaria, un adeguato senso di responsabilità dovrebbe impegnare i medici al corretto impiego clinico di questa risorsa. A questo riguardo sono sorprendenti i risultati di una revisione della pratica trasfusionale in 43 ospedali di 10 Paesi dell'Unione Europea (studio SANGUIS): l'uso di componenti ematici in 5 procedure chirurgiche comuni (emicolectomia, by-pass aorto-coronarico, aneurismectomia dell'aorta addominale, resezione transuretrale della prostata e artroprotesi d'anca) variava dall'0 all'80% di interventi per il sangue intero, dallo 0 al 50% per il plasma fresco congelato e dallo 0 al 15% per le piastrine [124]. È evidente da questi dati che molto sangue viene sprecato per inappropriata utilizzazione [125].

Quando il sangue non è disponibile o non può essere utilizzato

Esistono infine situazioni rare in cui il sangue non è disponibile [126-128], o non può essere usato perché controindicato (anemie emolitiche autoimmunitarie) [129] o perchè il paziente lo rifiuta a motivo delle sue convinzioni religiose (testimoni di Geova) [130].
È indubitabile che in questi casi la perizia del medico è messa a dura prova. Solo una conoscenza approfondita di tutte le strategie e tecnologie disponibili può permettere di risolvere situazioni che potrebbero altrimenti risultare drammatiche.

Conclusioni

Esistono dunque valide ragioni per affrontare la sfida dell'educazione circa le alternative alle emotrasfusioni ed investire in quelle tecnologie capaci di ridurre la nostra dipendenza dal sangue dei donatori. Dovremmo rendere un servizio responsabile ai nostri pazienti trasfondendo solo quando è assolutamente necessario nei pazienti che accettano il sangue ed essendo preparati ad utilizzare tutte le risorse possibili nei pazienti che lo rifiutano.
Infine dovremmo promuovere protocolli in grado di garantire una buona pratica trasfusionale ("buon uso") e corsi di formazione in grado di educare staff medici affiatati, capaci di realizzare e mantenere efficienti futuri centri di "chirurgia senza sangue" (*bloodless centers*).

Bibliografia

1 Williamson LM, Lowe S, Love EM, Cohen H, Soldan K, McClelland DB, et al. *Serious hazards of transfusion (SHOT) initiative:analysis of the first two annual reports.* BMJ 1999;319:16-9.

2 Vengelen-Tyler V. *Technical Manual.* 12th Ed. Bethesda, MD: Am Assoc Blood Banks 1996:369.

3 Heddle NM, Klama LN, Griffith L, Roberts R, Shukla G, Kelton JG. *A prospective study to identify the risk factors associated with acute reactions to platelet and red cell transfusions.* Transfusion 1993;33:794-7.

4 Greenberger PA. *Plasma anaphylaxis and immediate type reactions.* In: Rossi EC, Simon TL, Moss GS, Gould SA, (eds). *Principles of Transfusion Medicine. 2° Ed.* Baltimore:Williams & Wilkins 1996, pp. 765-771.

5 Gilstad CW. *Anaphylactic transfusion reactions.* Curr Opin Hematol 2003;10:419-23.

6 Wallis JP. *Transfusion-related acute lung injury (TRALI) – under-diagnosed and under-reported.* Br J Anaesth 2003;90:573-6.

7 Webert KE, Blajchman MA. *Transfusion-related acute lung injury.* Transfus Med Rev 2003;17:252-62.

8 Silliman CC, Boshkov LK, Mehdizadehkashi Z, Elzi DJ, Dickey WO, Podlosky L, et al. *Transfusion-related acute lung injury:epidemiology and a prospective analysis of etiologic factors.* Blood 2003;101:454-62.

9 Dry SM, Bechard KM, Milford EL, Churchill WH, Benjamin RJ. *The pathology of transfusion-related acute lung injury.* Am J Clin Pathol 1999;112:216-21.

10 Popovsky MA, Davenport RD. *Transfusion-related acute lung injury:femme fatale?* Transfusion 2001;41:312-5.

11 Looney MR, Gropper MA, Matthay MA. *Transfusion-related acute lung injury:a review.* Chest 2004;126:249-58.

12 Ness PM, Shirey RS, Thoman SK, Buck SA. *The differentiation of delayed serologic and delayed hemolytic transfusion reactions:incidence, long-term serologic findings, and clinical significance.* Transfusion 1990;30:688-93.

13 Heddle NM, Soutar RL, O'Hoski PL, Singer J, McBride JA, Ali MA, et al. *A prospective study to determine the frequency and clinical significance of alloimmunization post-transfusion.* Br J Haematol 1995;91:1000-5.

14 Anwar M, Bhatti FA. *Transfusion associated graft versus host disease.* J Ayub Med Coll Abbottabad 2003;15:56-8.

15 Brand A. *Immunological aspects of blood transfusions.* Transpl Immunol 2002;10:183-90.

16 Mueller-Eckhardt C. *Post-transfusion purpura.* Br J Haematol 1986;64:419-24.

17 Ness PM. *Transfusion medicine:an overview and update.* Clin Chem 2000;46:1270-6.

18 Caspari G. *Transfusion transmitted infection. Did authors systematically underestimate risks of transfusion?* BMJ 2000;321:704-5.

19 Dhingra N, Lloyd SE, Fordham J, Amin NA. *Challenges in global blood safety.* World Hosp Health Serv 2004;40:45-9, 51, 52.

20 Chamberland ME, Alter HJ, Busch MP, Nemo G, Ricketts M. *Emerging infectious disease issues in blood safety.* Emerg Infect Dis 2001;7(Suppl 3):552-3.

21 Dodd RY, Leiby DA. *Emerging infectious threats to the blood supply.* Annu Rev Med 2004;55:191-207.

22 Alter HJ. *Emerging, re-emerging and submerging infectious threats to the blood supply.* Vox Sang 2004;87(Suppl 2):56-61.

23 Gottlieb S. *FDA bans blood donation by people who have lived in UK.* BMJ 1999;319:535.

24 Mitka M. *FDA wants more restrictions on donated blood.* JAMA 2001;286:408.

25 Senior K. *New variant CJD fears threaten blood supplies.* Lancet 2001;358:304.

26 Houston F, Foster JD, Chong A, Hunter N, Bostock CJ. *Transmission of BSE by blood transfusion in sheep.* Lancet. 2000;356:999-1000.

27 Pincock S. *Patient's death from vCJD may be linked to blood transfusion. Committee to discuss need for further precautions to prevent possible vCJD transmission through blood.* Lancet 2004;363:43.

28 Llewelyn CA, Hewitt PE, Knight RS, Amar K, Cousens S, Mackenzie J, et al. *Possible transmission of variant Creutzfeldt-Jakob disease by blood transfusion.* Lancet 2004;363:417-21.

29 Hart J, Leier B, Nahirniak S. *Informed consent for blood transfusion:Should the possibility of prion risk be included?* Transfus Med Rev 2004;18:177-83.

30 Pincock S. *Government confirms second case of vCJD transmitted by blood transfusion.* BMJ 2004;329:251.

31 Merle P, Elghouzzi MH, Pradat P, Vidal F, Boiret E, Trepo C. *Hepatitis G virus and labile blood products: role of transfusional transmission.* Transfus Clin Biol 2004;11:75-80.

32 Yzebe D, Xueref S, Baratin D, Bouletreau A, Fabry J, Vanhems P. *TT virus. A review of the literature.* Panminerva Med 2002;44:167-77.

33 Sagir A, Kirschberg O, Heintges T, Erhardt A, Haussinger D. *SEN virus infection.* Rev Med Virol 2004;14:141-8.

34 Ben-Ari Z, Samuel D, Zemel R, Baruch Y, Gigou M, Sikuler E, et al. *Fulminant non-A-G viral hepatitis leading to liver transplantation.* Arch Intern Med 2000;160:388-92.

35 Hallett RL, Clewley JP, Bobet F, McKiernan PJ, Teo CG. *Characterization of a highly divergent TT virus genome.* J Gen Virol 2000;81:2273-9.

36 El-Serag HB, Mason AC. *Rising incidence of hepatocellular carcinoma in the United States.* N Engl J Med 1999;340:745-50.

37 Hassan MM, Frome A, Patt YZ, El-Serag HB. *Rising prevalence of hepatitis C virus infection among patients recently diagnosed with hepatocellular carcinoma in the United States.* J Clin Gastroenterol 2002;35:266-9.

38 Shan H, Zhang P. *Viral attacks on the blood supply: the impact of severe acute respiratory syndrome in Beijing.* Transfusion 2004;44:467-9.

39 Schmidt M, Brixner V, Ruster B, Hourfar MK, Drosten C, Preiser W, et al. *NAT screening of blood donors for severe acute respiratory syndrome coronavirus can potentially prevent transfusion associated transmissions.* Transfusion 2004;44:470-5.

40 Amin M, Fergusson D, Aziz A, Wilson K, Coyle D, Hebert P. *The cost of allogeneic red blood cells – a systematic review.* Transfus Med 2003;13:275-85.

41 Spence RK. *The cost of transfusion and alternatives.* Surgery 2002;131:236-7.

42 Carson JL, Altman DG, Duff A, Noveck H, Weinstein MP, Sonnenberg FA, et al. *Risk of bacterial infection associated with allogeneic blood transfusion among patients undergoing hip fracture repair.* Transfusion 1999;39:694-700.

43 Spahn DR, Casutt M. *Eliminating blood transfusions:new aspects and perspectives.* Anesthesiology 2000;93:242-55.

44 Klein HG. *The immunomodulatory effects of blood transfusion, Clinical Practice of Transfusion Medicine.* In: Petz LD, Swisher S, Kleinman S, Spence R, Strauss RG, eds. New York: Churchill Livingstone 1996, pp. 59-70.

45 Opelz G, Sengar DP, Mickey MR, Terasaki PI. *Effect of blood transfusions on subsequent kidney transplants.* Transplant Proc 1973;5:253-9.

46 Opelz G, Terasaki PI. *Dominant effect of transfusions on kidney graft survival.* Transplantation 1980;29:153-8.

47 Blajchman MA, Bordin JO. *The tumor growth-promoting effect of allogeneic blood transfusions.* Immunol Invest 1995;24:311-7.

48 Lee TH, Paglieroni T, Ohto H, Holland PV, Busch MP. *Survival of donor leukocyte subpopulations in immunocompetent transfusion recipients: frequent long-term microchimerism in severe trauma patients.* Blood 1999;93:3127-39.

49 Artlett CM, Smith JB, Jimenez SA. *Identification of fetal DNA and cells in skin lesions from women with systemic sclerosis.* N Engl J Med 1998;338:1186-91.

50 Fanning PA, Jonsson JR, Clouston AD, Edwards-Smith C, Balderson GA, Macdonald GA, et al. *Detection of male DNA in the liver of female patients with primary biliary cirrhosis.* J Hepatol 2000;33:690-5.

[51] Endo Y, Negishi I, Ishikawa O. *Possible contribution of microchimerism to the pathogenesis of Sjogren's syndrome.* Rheumatology 2002;41:490-5.

[52] Nelson JL. *HLA relationships of pregnancy, microchimerism and autoimmune disease.* J Reprod Immunol 2001;52:77-84.

[53] Berman KE. *Expensive blood safety technologies:understanding and managing cost and access-to-care issues.* Transfus Med Rev 2004;18:1-10.

[54] Klein HG. *Immunomodulatory aspects of transfusion:a once and future risk?* Anesthesiology 1999;91:861-5.

[55] Hoh H, Umpleby H, Cooper A, Taylor I. *Recurrence of colorectal cancer and perioperative blood transfusion. Is blood storage time important?* Dis Colon Rectum 1990;33:127-30.

[56] Nielsen HJ, Werther K, Mynster T, Brunner N. *Soluble vascular endothelial growth factor in various blood transfusion components.* Transfusion 1999;39:1078-83.

[57] Svendsen MN, Werther K, Nielsen HJ, Kristjansen PE. *VEGF and tumour angiogenesis. Impact of surgery, wound healing, inflammation and blood transfusion.* Scand J Gastroenterol 2002;37:373-9.

[58] Werther K, Christensen IJ, Nielsen HJ: Danish RANX05 Colorectal Cancer Study Group. *The association between preoperative concentration of soluble vascular endothelial growth factor, perioperative blood transfusion, and survival in patients with primary colorectal cancer.* Eur J Surg 2001;167:287-92.

[59] Nash GF, Chopada A, Patel A, Kakkar AK. *Stored blood products stimulate cancer growth.* Br J Surg 2002;89:16-9.

[60] Kristiansson M, Soop M, Saraste L, Sundqvist KG. *Cytokines in stored red blood cell concentrates: promoters of systemic inflammation and simulators of acute transfusion reactions?* Acta Anaesthesiol Scand 1996;40:496-501.

[61] Lin JS, Tzeng CH, Hao TC, Hu HY, Ho YT, Lyou JY, et al. *Cytokine release in febrile non-haemolytic red cell transfusion reactions.* Vox Sang 2002;82:156-60.

[62] Avall A, Hyllner M, Bengtson JP, Carlsson L, Bengtsson A. *Postoperative inflammatory response after autologous and allogeneic blood transfusion.* Anesthesiology 1997;87:511-6.

[63] Biedler AE, Schneider SO, Seyfert U, Rensing H, Grenner S, Girndt M, et al. *Impact of alloantigens and storage-associated factors on stimulated cytokine response in an in vitro model of blood transfusion.* Anesthesiology 2002;97:1102-9.

[64] Ertel W, Kremer JP, Kenney J, Steckholzer U, Jarrar D, Trentz O, et al. *Downregulation of proinflammatory cytokine release in whole blood from septic patients.* Blood 1995;85:1341-7.

[65] Zallen G, Moore EE, Ciesla DJ, Brown M, Biffl WL, Silliman CC. *Stored red blood cells selectively activate human neutrophils to release IL-8 and secretory PLA2.* Shock 2000;13:29-33.

[66] Biffl WL, Moore EE, Offner PJ, Ciesla DJ, Gonzalez RJ, Silliman CC. *Plasma from aged stored red blood cells delays neutrophil apoptosis and primes for cytotoxicity: abrogation by poststorage washing but not prestorage leukoreduction.* J Trauma 2001;50:426-31.

[67] Fransen E, Maessen J, Dentener M, Senden N, Buurman W. *Impact of blood transfusions on inflammatory mediator release in patients undergoing cardiac surgery.* Chest 1999;116:1233-9.

[68] Busch MP, Lee TH, Heitman J. *Allogeneic leukocytes but not therapeutic blood elements induce reactivation and dissemination of latent human immunodeficiency virus type 1 infection:implications for transfusion support of infected patients.* Blood 1992;80:2128-35.

[69] Motoyama S, Okuyama M, Kitamura M, Saito R, Kamata S, Murata K, et al. *Use of autologous instead of allogeneic blood transfusion during esophagectomy prolongs disease-free survival among patients with recurrent esophageal cancer.* J Surg Oncol 2004;87:26-31.

[70] Nosotti M, Rebulla P, Riccardi D, Baisi A, Bellaviti N, Rosso L, et al. *Correlation between perioperative blood transfusion and prognosis of patients subjected to surgery for stage I lung cancer.* Chest 2003;124:102-7.

[71] Park SJ, Kim SW, Jang JY, Lee KU, Park YH. *Intraoperative transfusion: is it a real prognostic factor of periampullary cancer following pancreatoduodenectomy?* World J Surg 2002;26:487-92.

[72] Hyung WJ, Noh SH, Shin DW, Huh J, Huh BJ, Choi SH, et al. *Adverse effects of perioperative transfusion on patients with stage III and IV gastric cancer.* Ann Surg Oncol 2002;9:5-12.

[73] Mynster T, Nielsen HJ: Danish RANX05 Colorectal Cancer Study Group. *Storage time of transfused blood and disease recurrence after colorectal cancer surgery.* Dis Colon Rectum 2001;44:955-64.

[74] Pysz M. *Blood transfusions in breast cancer patients undergoing mastectomy:possible importance of timing.* J Surg Oncol 2000;75:258-63.

[75] Makino Y, Yamanoi A, Kimoto T, El-Assal ON, Kohno H, Nagasue N. *The influence of perioperative blood transfusion on intrahepatic recurrence after curative resection of hepatocellular carcinoma.* Am J Gastroenterol 2000;95:1294-300.

[76] Santin AD, Bellone S, Palmieri M, Bossini B, Dunn D, Roman JJ, et al. *Effect of blood transfusion during radiotherapy on the immune function of patients with cancer of the uterine cervix: role of interleukin-10.* Int J Radiat Oncol Biol Phys 2002;54:1345-55.

[77] Wang J, Dai C, Liu S, Wang S, Dong H, Xie K. *Effects of blood transfusion on cellular immuno-function in patients with laryngeal carcinoma.* Lin Chuang Er Bi Yan Hou Ke Za Zhi 2001;15:103-5.

[78] Heal JM, Chuang C, Blumberg N. *Perioperative blood transfusions and prostate cancer recurrence and survival.* Am J Surg 1988;156:374-80.

[79] Chang H, Hall GA, Geerts WH, Greenwood C, McLeod RS, Sher GD. *Allogeneic red blood cell transfusion is an independent risk factor for the development of postoperative bacterial infection.* Vox Sang 2000;78:13-8.

[80] Chelemer SB, Prato BS, Cox PM Jr, O'Connor GT, Morton JR. *Association of bacterial infection and red blood cell transfusion after coronary artery bypass surgery.* Ann Thorac Surg 2002;73:138-42.

[81] Claridge JA, Sawyer RG, Schulman AM, McLemore EC, Young JS. *Blood transfusions correlate with infections in trauma patients in a dose-dependent manner.* Am Surg 2002;68:566-72.

[82] Offner PJ, Moore EE, Biffl WL, Johnson JL, Silliman CC. *Increased rate of infection associated with transfusion of old blood after severe injury.* Arch Surg 2002;137:711-6.

[83] Taylor RW, Manganaro L, O'Brien J, Trottier SJ, Parkar N, Veremakis C. *Impact of allogenic packed red blood cell transfusion on nosocomial infection rates in the critically ill patient.* Crit Care Med 2002;30:2249-54.

[84] Jamieson GG, Corbel L, Campion JP, Launois B. *Major liver resection without a blood transfusion:is it a realistic objective?* Surgery 1992;112:32-6.

[85] Vamvakas EC, Carven JH. *Allogeneic blood transfusion, hospital charges, and length of hospitalization:a study of 487 consecutive patients undergoing colorectal cancer resection.* Arch Pathol Lab Med 1998;122:145-51.

[86] Kooby DA, Stockman J, Ben-Porat L, Gonen M, Jarnagin WR, Dematteo RP, et al. *Influence of transfusions on perioperative and long-term outcome in patients following hepatic resection for colorectal metastases.* Ann Surg 2003;237:860-9.

[87] Cacciarelli TV, Keeffe EB, Moore DH, Burns W, Busque S, Concepcion W, et al. *Effect of intraoperative blood transfusion on patient outcome in hepatic transplantation.* Arch Surg 1999;134:25-9.

[88] Ramos E, Dalmau A, Sabate A, Lama C, Llado L, Figueras J, et al. *Intraoperative red blood cell transfusion in liver transplantation: influence on patient outcome, prediction of requirements, and measures to reduce them.* Liver Transpl 2003;9:1320-7.

[89] Hebert PC, Wells G, Blajchman MA, Marshall J, Martin C, Pagliarello G, et al. *A multicenter, randomized, controlled clinical trial of transfusion requirements in critical care. Transfusion Requirements in Critical Care Investigators, Canadian Critical Care Trials Group.* N Engl J Med 1999;340:409-17.

[90] Alvarez G, Hebert PC, Szick S. *Debate: transfusing to normal haemoglobin levels will not improve outcome.* Crit Care 2001;5:56-63.

[91] Rao SV, Jollis JG, Harrington RA, Granger CB, Newby LK, Armstrong PW, et al. *Relationship of blood transfusion and clinical outcomes in patients with acute coronary syndromes.* JAMA 2004;292:1555-62.

[92] Moore FA, Moore EE, Sauaia A. *Blood transfusion. An independent risk factor for postinjury multiple organ failure.* Arch Surg 1997;132:620-4.

[93] Zallen G, Offner PJ, Moore EE, Blackwell J, Ciesla DJ, Gabriel J, et al. *Age of transfused blood is an independent risk factor for postinjury multiple organ failure.* Am J Surg 1999;178:570-2.

[94] Aiboshi J, Moore EE, Ciesla DJ, Silliman CC. *Blood transfusion and the two-insult model of post-injury multiple organ failure.* Shock 2001;15:302-6.

[95] Malone DL, Dunne J, Tracy JK, Putnam AT, Scalea TM, Napolitano LM. *Blood transfusion, independent of shock severity, is associated with worse outcome in trauma.* J Trauma 2003;54:898-905.

[96] Silliman CC, Moore EE, Johnson JL, Gonzalez RJ, Biffl WL. *Transfusion of the injured patient:proceed with caution.* Shock 2004;21:291-9.

[97] Varela JE, Gomez-Marin O, Fleming LE, Cohn SM. *The risk of death for Jehovah's Witnesses after major trauma.* J Trauma 2003;54:967-72.

[98] Fitzgerald RD, Martin CM, Dietz GE, Doig GS, Potter RF, Sibbald WJ. *Transfusing red blood cells stored in citrate phosphate dextrose adenine-1 for 28 days fails to improve tissue oxygenation in rats.* Crit Care Med 1997;25:726-32.

[99] Sielenkamper AW, Chin-Yee IH, Martin CM, Sibbald WJ. *Diaspirin crosslinked hemoglobin improves systemic oxygen uptake in oxygen supply-dependent septic rats.* Am J Respir Crit Care Med 1997;156:1066-72.

[100] Tsai AG, Cabrales P, Intaglietta M. *Microvascular perfusion upon exchange transfusion with stored red blood cells in normovolemic anemic conditions.* Transfusion 2004;44:1626-34.

[101] Suttner S, Piper SN, Kumle B, Lang K, Rohm KD, Isgro F, et al. *The influence of allogeneic red blood cell transfusion compared with 100% oxygen ventilation on systemic oxygen transport and skeletal muscle oxygen tension after cardiac surgery.* Anesth Analg 2004;99:2-11.

[102] Marik PE, Sibbald WJ. *Effect of stored-blood transfusion on oxygen delivery in patients with sepsis.* JAMA 1993;269:3024-9.

[103] Fernandes CJ Jr, Akamine N, De Marco FV, De Souza JA, Lagudis S, Knobel E. *Red blood cell transfusion does not increase oxygen consumption in critically ill septic patients.* Crit Care 2001;5:362-7.

[104] Berezina TL, Zaets SB, Morgan C, Spillert CR, Kamiyama M, Spolarics Z, et al. *Influence of storage on red blood cell rheological properties.* J Surg Res 2002;102:6-12.

[105] Parthasarathi K, Lipowsky HH. *Capillary recruitment in response to tissue hypoxia and its dependence on red blood cell deformability.* Am J Physiol 1999;277:H2145-57.

[106] Simchon S, Jan KM, Chien S. *Influence of reduced red cell deformability on regional blood flow.* Am J Physiol 1987;253:H898-903.

[107] Berezina TL, Zaets SB, Machiedo GW. *Alterations of red blood cell shape in patients with severe trauma.* J Trauma 2004;57:82-7.

[108] Hovav T, Yedgar S, Manny N, Barshtein G. *Alteration of red cell aggregability and shape during blood storage.* Transfusion 1999;39:277-81.

[109] Hovav T, Yedgar S, Manny N, Barshtein G. *Alteration of red cell aggregability and shape during blood storage.* Transfusion 1999;39:277-81.

[110] Nishiyama T, Hanaoka K. *Hemolysis in stored red blood cell concentrates: modulation by haptoglobin or ulinastatin, a protease inhibitor.* Crit Care Med 2001;29:1979-82.

[111] Schechter AN, Gladwin MT. *Hemoglobin and the paracrine and endocrine functions of nitric oxide.* N Engl J Med 2003;348:1483-5.

[112] Reiter CD, Wang X, Tanus-Santos JE, Hogg N, Cannon RO 3rd, Schechter AN, et al. *Cell-free hemoglobin limits nitric oxide bioavailability in sickle-cell disease.* Nat Med 2002;8:1383-9.

[113] Smith MJ, Le Roux PD, Elliott JP, Winn HR. *Blood transfusion and increased risk for vasospasm and poor outcome after subarachnoid hemorrhage.* J Neurosurg 2004;101:1-7.

[114] Walsh TS, McArdle F, McLellan SA, Maciver C, Maginnis M, Prescott RJ, et al. *Does the storage time of transfused red blood cells influence regional or global indexes of tissue oxygenation in anemic critically ill patients?* Crit Care Med 2004;32:364-71.

[115] Offner PJ. *Age of blood:does it make a difference?* Crit Care 2004;8(Suppl 2):S24-6.

[116] Corwin HL, Gettinger A, Pearl RG, Fink MP, Levy MM, Abraham E, et al. *The CRIT Study: Anemia and blood transfusion in the critically ill – current clinical practice in the United States.* Crit Care Med 2004;32:39-52.

[117] Napolitano LM, Corwin HL. *Efficacy of red blood cell transfusion in the critically ill.* Crit Care Clin 2004;20:255-68.

[118] Van der Linden P, De Hert S, Belisle S, De Groote F, Mathieu N, d'Eugenio S, et al. *Comparative effects of red blood cell transfusion and increasing blood flow on tissue oxygenation in oxygen supply-dependent conditions.* Am J Respir Crit Care Med 2001;163:1605-8.

[119] Klein HG. *Will blood transfusion ever be safe enough?* JAMA 2000;284:238-40.

[120] Goodnough LT, Brecher ME, Kanter MH, AuBuchon JP. *Transfusion medicine. First of two parts – blood transfusion.* N Engl J Med 1999;340:438-47.

[121] Vamvakas EC. *Epidemiology of red blood cell utilization.* Transfus Med Rev 1996;10:44-61.

[122] Sullivan MT, McCullough J, Schreiber GB, Wallace EL. *Blood collection and transfusion in the United States in 1997.* Transfusion 2002;42:1253-60.

[123] Nucci ML, Abuchowski A. *Il sangue artificiale.* Le Scienze 1998;356:32-8.

[124] Sirchia G, Giovanetti AM, McClelland B, Fracchia GN. *Safe and good use of blood in surgery (SANGUIS).* European Commission Publisher 1994.

[125] Eaton L. *Chief medical officer warns that many blood transfusions are unnecessary.* BMJ 2004;329:308.

[126] Ehata T, Sugahara S, Ohshima T, Bito H, Fukuda I, Sato T. *Perioperative management of a patient with severe anemia caused by rare Jr (a-) blood Masui.* 1997;46:525-30.

[127] Gould SA, Moore EE, Hoyt DB, Ness PM, Norris EJ, Carson JL, et al. *The life-sustaining capacity of human polymerized hemoglobin when red cells might be unavailable.* J Am Coll Surg 2002;195:445-52.

[128] Franchini M, Gandini G, Lippi G, De Gironcoli M, Cantini M, Aprili G. *Clinical use of erythropoietin.* Recenti Prog Med 2004;95:129-36.

[129] Mullon J, Giacoppe G, Clagett C, McCune D, Dillard T. *Transfusions of polymerized bovine hemoglobin in a patient with severe autoimmune hemolytic anemia.* N Engl J Med 2000;342:1638-43.

[130] Sarteschi LM. *Jehovah's witnesses, blood transfusions and transplantations.* Transplant Proc 2004;36:499-501.

■ Corrispondenza: dott. Lelio Mario Sarteschi -
E-mail: sarteschil@checkupcenter.net