

“ L’uso dell’eritropoietina  
nelle anemizzazioni del  
paziente critico”

## Sommario.

L'eritropoietina e la regolazione della massa eritroide .....	5
Un ormone la cui crescita e' strettamente regolata.....	5
Il recettore di EPO: struttura e funzione.....	6
Meccanismo e azione di EPO sui precursori eritroidi....	12
Epoetina alfa come molecola naturale...	13
Posologia ed efficacia clinica...	16
Posologia ed efficacia clinica.....	15
L'anemia nel paziente critico.....	19
Eziologia....	19
Rischi, alternative, indicazioni alla trasfusione di sangue allogenico.....	27
Eta' del sangue ...	28
Rischi infettivi....	30
Reazioni emolitiche ...	30
Rischi immunologici...	30
Problematiche sociali...	34
Indicazioni alla trasfusioni....	34
Pazienti e rischio....	36
Trasfusion Related Acute Lung Injury : evento avverso nella terapia trasfusionale.....	41
Uso ed efficacia dell'eritropoietina nei pazienti in ICU.....	47
Studio clinico.....	57
Obiettivi...	58
Materiali e metodi....	59
Analisi statistica....	62
Risultati....	63
Discussione.....	68
Conclusione.....	75
Bibliografia.....	74

## **L'eritropoietina e la regolazione della massa eritroide.**

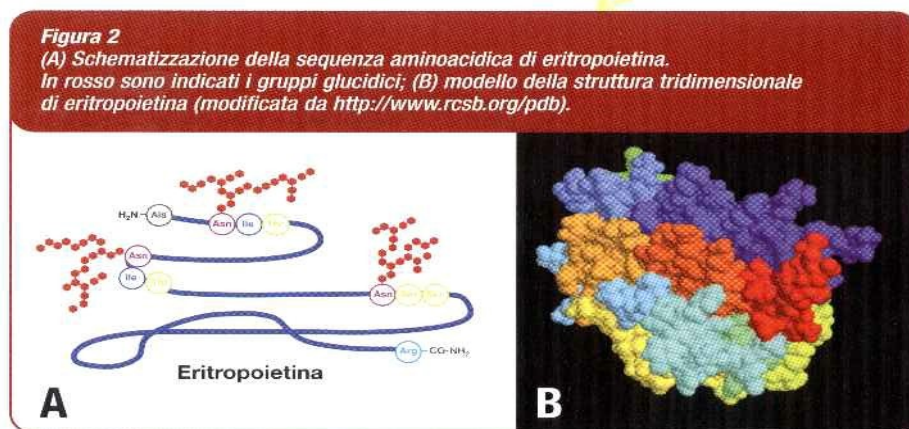
L'eritropoietina è il principale regolatore dell'eritropoiesi poiché stimola la crescita, previene l'apoptosi e promuove la differenziazione dei progenitori eritroidi.

Non solo l'EPO è stato il primo fattore di crescita emopoietico, ma è anche quello del quale si conoscono i dettagli dei meccanismi che ne controllano la produzione e le modalità di interazione con il recettore cellulare.

Questa conoscenza rappresenta la base per comprendere la complessa regolazione omeostatica della produzione degli eritrociti in condizioni normali e patologiche per l'utilizzo dell'eritropoietina come presidio terapeutico.

**Eritropoietina : un ormone la cui produzione è strettamente regolata.**

L'eritropoietina è una glicoproteina a catena singola da 165 aminoacidi, il 40% del suo peso è rappresentato da carboidrati: 3 catene glucidiche N-associate alle posizioni 24,38,83 e uno zucchero O associato alla posizione 126.



Nell'adulto è prodotta principalmente nel rene stimolato da un sistema a feedback che modula la secrezione di questo ormone da parte delle cellule interstiziali peritubulari in base alla minore o maggiore ossigenazione tissutale (tensione di ossigeno), esso regola la produzione quotidiana di globuli rossi da parte del midollo osseo necessaria per mantenere in condizioni fisiologiche un adeguato apporto di ossigeno ai tessuti periferici. (1)

La regolazione della produzione di EPO avviene attraverso una maggiore sintesi genica evidenziata dall'aumento dell'mRNA.

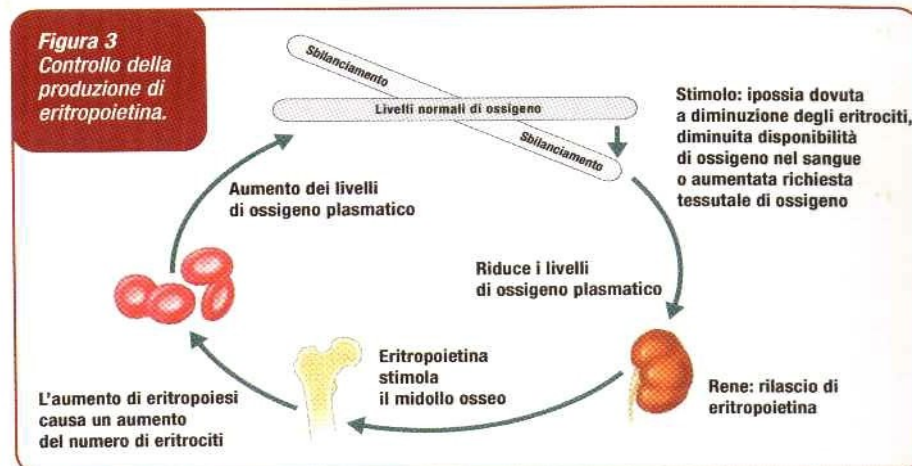
Infatti non esistono riserve intracellulari di EPO, la produzione di mRNA avviene entro 1 ora dall'anemizzazione o dall'ipossia, e aumenta progressivamente nelle successive 4 ore.

La rimozione dello stimolo ipossico causa una rapida diminuzione dell'espressione genica e quindi dell'mRNA.

La riduzione della tensione di ossigeno tissutale stimola l'espressione del gene per l'EPO mediante due meccanismi :

- attivazione trascrizionale.
- stabilizzazione dell'mRNA.

L'ipossia infatti, determina l'aumento di espressione del fattore trascrizionale HIF 1 (hipoxia inducibile factor)



,che è in grado di legarsi a sequenze specifiche (hipoxia responsive elements HRE) presenti all'estremità 3' del gene EPO, questo permette il reclutamento della polimerasi e la trascrizione del gene EPO.(2)

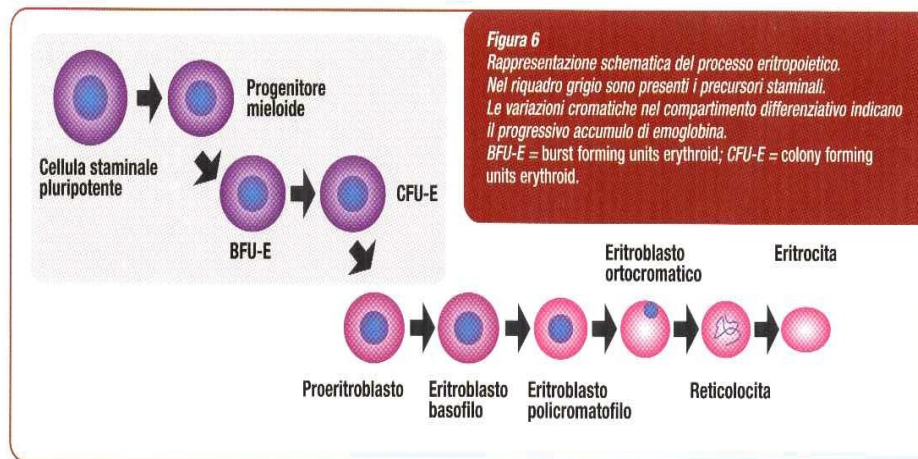
L'ipossia non è l'unica condizione che stimola la produzione di tale ormone, l'ipoglicemia, l'aumento del calcio intracellulare, il rilascio di insulina, di estrogeni, di androgeni, e varie citochine hanno un effetto analogo.

In condizioni fisiologiche, le concentrazioni di EPO sieriche sono comprese tra le 6 e le 32 U/L e meno del 10 % di EPO è secreta nelle urine.

L'emivita plasmatica dell'ormone può variare tra le 2 e le 13 ore e il volume di distribuzione è analogo a quello del volume del plasma.

La rapida comparsa e la successiva rapida clearance dell'EPO dal plasma sono indispensabili per garantire l'aumento di produzione degli eritrociti solo quando questa è necessaria.

L'azione biologica di EPO consiste nella stimolazione, proliferazione, maturazione e differenziamento terminale dei precursori eritroidi midollari.



Le cellule bersaglio principali sono le CFU-E (colony forming unit erythroid) e in minore parte anche le BFU-E (burst forming unit erythroid) che vengono differenziate a loro volta in CFU-E.

Il meccanismo di azione di questo ormone dipende dalla presenza di recettori specifici sulla superficie delle cellule sensibili nei confronti dei quali l'ormone si comporta da agonista.

## **Il recettore di EPO : struttura e funzione.**

Il recettore di EPO (EPOR) appartiene alla famiglia dei recettori delle citochine.

(EPOR) è espresso nei tessuti emopoietici, ma anche nelle cellule epatiche, endoteliali, dell'utero, del sistema nervoso centrale e periferico.

EPOR è in grado di modulare l'attivazione della sua via di trasduzione, che infatti ritorna a livelli basali dopo circa 30-60 minuti dalla stimolazione.

Nel caso della coppia EPO/EPOR, è stato dimostrato in un recente studio di Verdier et Al (3), che in seguito al legame con il suo ligando agonista, il recettore per EPO è rapidamente ubiquinato e il suo dominio C terminale rapidamente degradato dal proteosoma direttamente al livello della membrana plasmatica prevenendo ogni ulteriore traduzione di segnale intracellulare come affermano anche Beckam et Al. nei loro studi.



In assenza di EPO, EPOR esposto sulla membrana cellulare ha un'emivita di 3 ore, ma in presenza del ligando, circa il 75 % dei recettori scompare dalla superficie cellulare in 30 minuti circa.

### **Meccanismo di azione di EPO sui precursori eritroidi**

Il recettore di EPO è espresso sui precursori eritroidi e sulle cellule staminali totipotenti, infatti i progenitori mieloidi non presentano quantità rilevanti di recettori per EPO.

Un basso numero di recettori compare allo stato differenziativo di BFU-E, ma il livello massimo di espressione è su CFU-E e tende progressivamente a scomparire completamente nei reticolociti.

Il principale effetto dell'EPO sulle cellule responsive è prevenirne l'apoptosi aumentandone quindi la sopravvivenza.(4) (5)

Come conseguenza un numero maggiore di cellule entrano nel compartimento differenziativo e iniziano a sintetizzare l'emoglobina.

L'effetto anti-apoptotico è così importante, che per ottenere l'aumento del numero di eritrociti non è necessario che EPO promuova in modo diretto la capacità proliferativa e differenziativa dei precursori eritroidi.(6)

Il controllo preciso dei livelli di EPO sierici e dell'attivazione di EPOR è critico per mantenere costante il numero di eritrociti e prevenire sia l'anemia sia la policitemia.(7)

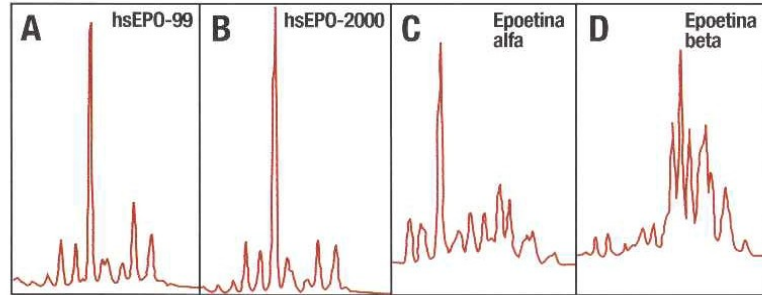
Il segnale portato da EPO, infatti viene tradotto nelle cellule eritroidi da un recettore che è al tempo stesso attivatore di un segnale positivo per l'effetto anti-apoptotico e di uno negativo per la fine della responsività a EPO.

### **Epoetina alfa come molecola naturale.**

Epoetina alfa è una glicoproteina di 165 aminoacidi, con un contenuto di carboidrati del 40% e un peso molecolare di 30.400 dalton .

È prodotta mediante l'utilizzo della tecnologia del DNA ricombinante da cellule di mammifero nelle quali è stato introdotto il gene dell'eritropoietina umana.

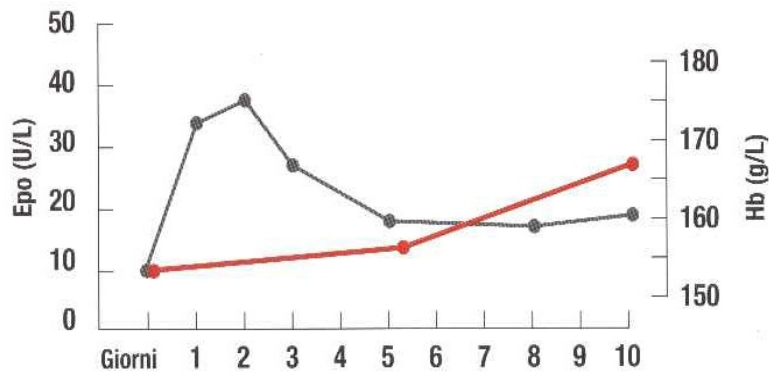
**Figura 15**  
Somiglianza strutturale tra eritropoietina endogena (A, B), epoetina alfa (C) ed epoetina beta (D).  
Profili glucidici ottenuti mediante analisi con HPLC (modificata da<sup>(22)</sup>).  
HPLC = high performance liquid chromatography, cromatografia liquida ad alta pressione.



Epoetina alfa ha la stessa struttura molecolare, peso, contenuto in acido sialico e carboidrati dell'eritropoietina endogena ed uguale meccanismo di azione.(8) (9)

L'utilizzo di Epoetina alfa causa la differenziazione di un numero elevato di precursori eritroidi, determinando un incremento di Hb di un 1g/dl in meno di 4 settimane, senza tuttavia causare fenomeni di resistenza e di desensibilizzazione.

**Figura 18**  
Correlazione tra concentrazione plasmatica di EPO endogena e incrementi di emoglobina  
(modificata da<sup>[10]</sup>).



Epoetina alfa è comunemente utilizzata per il trattamento di dell'anemia, e il suo utilizzo suggerito dalle linee guida di importanti organizzazioni internazionali: American Society Of Haematology, American Society Of Nefrology, American Society Of Anaesthesiology ect.

Attualmente in Italia l'utilizzo di EPO è indicato nel trattamento dell'anemia dovuta a nefropatie, nei pazienti oncologici, nei programmi di predonazione in previsione di interventi chirurgici, in chirurgia ortopedica per ridurre le trasfusioni di sangue allogenico e nei reparti di terapia intensiva come alternativa all'uso di sangue allogenico nelle anemizzazione del paziente critico.

### **Profilo di sicurezza.**

Per cio' che riguarda il profilo di sicurezza, è stato dimostrato che il mantenimento di livelli di emoglobina  $\uparrow$  di 12 g/dl contribuisce ad un lieve aumento del rischio di eventi trombotici cardiovascolari.

Pertanto si dovrebbe cercare di modulare la terapia con eritropoietina in modo da non determinare incrementi di Hb  $\uparrow$  0.5 g/dl a settimana tali da mantenere livelli medi di Hb non  $\uparrow$  di 12 g/dl. In termini di sopravvivenza, i risultati delle metanalisi hanno dimostrato un possibile ma non definitivo, effetto positivo nei pazienti trattati con EPO rispetto ai controlli. (11) (12)

### **Posologia ed efficacia clinica**

Un altro aspetto oggi molto dibattuto è la frequenza di somministrazione con la quale somministrare EPO.

Infatti la commercializzazione dell'eritropoietina long-term, ha permesso di valutare l'opzione della somministrazione mono-settimanale o addirittura quindicennale ipotizzando una maggiore comodità'.(13)

Epoietina alfa è stata originariamente somministrata per via endovenosa, successivamente si è arrivati alla somministrazione sottocutanea.

I dati di farmaco cinetica hanno indicato una efficienza maggiore del farmaco nella somministrazione sottocutanea, perché per ottenere lo stesso effetto terapeutico erano necessarie quantità del farmaco minori utilizzando la via sottocutanea rispetto a quella endovena.(14)

Da recenti acquisizioni è emerso che l'efficacia dell'EPO dipende solo in parte dal timing della somministrazione, ed è invece pesantemente condizionata da numerosi fattori, tra i quali :

- lo stato marziale e vitaminico.
- lo stato nutrizionale.
- lo stato infiammatorio.

- il pattern genetico dei pazienti.

In particolare è stato dimostrato che l'efficacia clinica dipende soprattutto dallo stato marziale del paziente, infatti un assetto marziale adeguato consente un risparmio del farmaco del 20 % circa.(14)

In termini di binomio dose-frequenza di somministrazione dell'eritropoietina per esempio le linee guida della Società Italiana di Nefrologia sostengono che per l'attivazione dell'eritropoiesi è sufficiente una somministrazione intermittente, in quanto sufficiente per picco e durata da superare la soglia midollare individuale, stimata in accordo con i modelli di farmaco cinetica e farmaco dinamica in 200- 600mU/ml.

Le stesse linee guida indicano una personalizzazione della terapia in base ad una curva dose-riposta individuale.(15)

Un altro aspetto da considerare nella valutazione del trattamento antianemico è la stabilità dei valori di Hb: oltre al raggiungimento del valore medio di Hb tra 11 e 12 g/dl, target universalmente accettato, è decisamente importante minimizzare le oscillazioni dei valori Hb durante la terapia.

Da un punto di vista fisiologico, il controllo delle oscillazioni è fondamentale in quanto variazioni eccessive sono causa di stress al sistema cardiovascolare del paziente.(16)

A tale proposito lo studio di Goldsmith et Al. dimostrano un controllo estremamente importante nelle fluttuazioni di Hb. (17)

Alcuni studi dimostrano che il trattamento antianemico con eritropoietina migliora l'outcome cardiovascolare dei pazienti in ICU e che il gold standard del trattamento sia proprio, non solo il raggiungimento dei target di Hb, ma soprattutto la loro stabilizzazione nel tempo.(18)

### **Conclusioni.**

L'anemia è associata a numerose situazioni patologiche nel paziente critico e rappresenta un importante problema terapeutico che incide molto sulla qualità della vita dei pazienti.

Storicamente l'anemia è stata corretta con la trasfusione di sangue allogeneo, ma i rischi connessi ad esso sono divenuti sempre più evidenti ed importanti.

L'utilizzo dell'eritropoietina ricombinante, capace di attivare i meccanismi fisiologici di produzione degli elementi eritroidi,



rappresenta una alternativa interessante ed importante nel migliorare l'efficacia della terapia e della sopravvivenza e qualita' della vita del paziente.

## **L'anemia nel paziente critico.**

### **Eziologia.**

L'anemia e' una condizione caratterizzata da una diminuzione della capacita' di trasporto di ossigeno da parte del sangue.

Dal momento che questa capacita' del sangue è associata alla massa di eritrociti circolanti,l'anemia puo' essere definita una diminuzione della massa circolante eritrocitaria.

L'anemia e' un problema comune nei pazienti critici,infatti almeno il 95% dei pazienti ammessi nelle unita' di terapia intensiva

sviluppano l'anemia entro 3 giorni come evidenziano gli studi di Von Ahsen et Al.(19) (20) (21).

L'anemia nei pazienti in ICU puo' dipendere da molteplici cause :

### **1. sanguinamenti**

- Flebotomia
  - Trauma
  - Chirurgia
  - Sanguinamenti gastrointestinali
- 

### **2. diminuzione eritropoiesi**

- mielosoppressione da farmaci o tossine
- deficienze nutrizionali
  - ferro
  - folati
  - vitamina B 12

### **3. neoplasie**

- infiltrazione del midollo osseo

#### **4. relativa o assoluta deficienza di eritropoietina**

- insufficienza renale
- infiammazioni
- infezioni

#### **5. emolisi**

- farmaci
- tossine
- patologie

Come dimostrano Sallah S et Al. il volume di sangue perso associato alla chirurgia dipende dal tipo d'intervento, la presenza di comorbidity (alterazioni fattori della coagulazione), tipo di medicazioni (uso di anticoagulanti). (22)

L'anemia nei pazienti critici e' frequentemente associata a diminuzione dei livelli di eritropoiesi del midollo osseo, secondario a farmaci, tossine, deficienze dei fattori nutrizionali (ferro, vit

B12,folati),neoplasie infiltranti e fibrosi come identificano studi di Adamson J. et Al. (23)

Molteplici tipi di farmaci sono usati nelle unita' di terapia intensiva (antibiotici, corticosteroidi, antifungini, istamina, etc) i quali possono deprimere la funzionalita' del midollo,inoltre la deficienza di vitamina B 12 è frequente nei pazienti anziani affetti da alcolismo.(24)

L'anemia nei pazienti critici è frequentemente associata alla deficienza relativa o assoluta della produzione di eritropoietina,che puo' essere secondaria al "renal disease",oppure secondaria a processi infettivi o infiammatori che diminuiscono la risposta dell'eritropoiesi alle basse concentrazioni di emoglobina o di ossigeno nel sangue.(fallimento dell'ipossia nel sangue nello stimolare la produzione renale di eritropoietina).

Anche le citochine (interleuchina 1,interferone,TNF,TGF  $\beta$ ) prodotte dal processo infiammatorio ed infettivo contribuiscono all'instaurarsi dell'anemia inibendo la trascrizione del gene per l'eritropoietina nelle cellule renali iuxtaglomerulari e la risposta midollare all'eritropoietina nel midollo come dimostrano studi di Moliterno A. et Al. o anche quelli di Abramson S. et Al. (25) (26)

Inoltre le citochine incrementano il sequestro di ferro nei macrofagi, sopprimendo il rilascio da parte dei siti di immagazzinamento.

Nell'anemia nei pazienti critici l'eritropoietina è indosabile, invece i valori della concentrazione di ferro, di transferrina e di ferritina sono valutabili e identificano una diminuzione del ferro plasmatico e della capacità della transferrina di captarlo (TIBC), mentre la concentrazione di ferritina è aumentata, in accordo con gli studi di Abramson S.(26)

Invece nelle anemie croniche da mancanza di ferro, la concentrazione di ferro plasmatici è bassa ma la TIBC è alta e la ferritina è bassa come dimostrato da Adamson J.(23)

Il che ci fa capire il ruolo determinante delle infezioni e delle infiammazioni nelle anemie del paziente in ICU.

Studi di Dhaliwar et Al. identificano l'emolisi come fattore contribuente all'anemia nei reparti di ICU.(27)

Essa può essere causata da vari farmaci (certamente dagli antibiotici) e anche da tossine, oppure da processi autoimmuni o da difetti metabolici (deficienza di G6PD), o anche da alterazioni della membrana eritrocitaria (sferocitosi) e nelle microangiopatie (diabete).

Thomas et Al. includono i disordini endocrinologici tra le cause di anemia nei pazienti critici ( una riduzione della domanda di ossigeno e nella produzione eritropoietinica nell'ipotiroidismo e una alterata produzione dei progenitori eritroidi nell'iperparatiroidismo).(28)

Sempre Thomas et Al. vedono nel diabete associato a deterioramento renale un ulteriore causa di anemia nei pazienti in ICU.(28)

L'anemia puo' essere una grave complicanza nei pazienti con severi disturbi cardiovascolari e cerebrovascolari in ICU come dimostrano studi di Nelson et Al e di Carson et Al. (29) (30)

La diminuzione della viscosita' del sangue che si presenta nell'anemia,puo' incrementare il lavoro cardiaco, lo "stroke volume", l'indice cardiaco e il consumo miocardio di ossigeno.

I primi studi evidenziavano aumenti della gittata cardiaca a partire da valori di emoglobina al di sotto di 7g/dl ma studi piu' recenti hanno dimostrato che livelli di emoglobina anche molto piu' bassi fino a 4.5g/dl, tanto acuti quanto cronici, possono non essere accompagnati da aumenti della gittata cardiaca.(38)

Un'altra risposta compensatoria all'anemia che aiuta a mantenere l'ossigenazione tissutale è costituita da un aumento dell'estrazione di ossigeno a livello dei capillari.

Quando l'ematocrito scende al di sotto del normale, vi è una diminuzione del trasporto sistemico di ossigeno ( $DO_2$ ), ma aumenta l'estrazione di ossigeno ( $O_2er$ ), questo aiuta a mantenere costante l'assunzione di ossigeno ( $VO_2$ ) all'interno dei tessuti.

Quando però l'ematocrito scende sotto il 10% (ematocrito soglia del 10% corrispondente ad una concentrazione di emoglobina del 3%) l'aumento di estrazione di ossigeno non è più sufficiente a mantenere un  $VO_2$  costante e l'ossigenazione tissutale comincia a diminuire.

Tutto questo peggiora gli outcomes cardiovascolari nei pazienti critici.

L'abilità nel tollerare la situazione anemica dipende dallo stato della circolazione, pazienti con un adeguato volume di sangue ed una situazione emodinamica stabile possono tollerare concentrazioni emoglobiniche basse (sotto 6/7 g/dl di Hb) rispetto a pazienti ipovolemici. (29) (30)

Le linee guida ed il protocollo per il "management" nel paziente critico dell'anemia sono basati sulla trasfusione di sangue allogenico, terapia con eritropoietina e supplemento di ferro.

Studi di Adamson J et Al. (23) hanno evidenziato che il supplemento di ferro e' raccomandato per correggere l'anemia da deficienza di ferro nei pazienti critici e per migliorare l'efficienza della terapia con EPO nell'incrementare la produzione di reticolociti.

Van et Al. hanno condotto studi randomizzati in pazienti critici sottoposti a trattamento con EPO in cui si somministravano 20 mg al giorno e.v. di ferro per 14 giorni piu' 1 mg al giorno di folati per due giorni.(31)

Essi evidenziarono un netto incremento di reticolociti nei pazienti trattati con EPO con piu' ferro e piu' folati.

Patruta S. ha dimostrato inoltre che il ferro e' richiesto per la crescita microbica,le citochine infiammatorie incrementano la sintesi di ferritina che serve come protezione per diminuire l'utilizzo del ferro dai fattori di crescita batterica.(32)

Un eccesso di ferro terapia puo' interferire con questo meccanismo protettivo anti- microbico.

Rudis et Al. hanno evidenziato che un sovraccarico di ferro altera negativamente la risposta cellulo mediata e inibisce la fagocitosi mediata dai neutrofili,aumentando il rischio d'infezione nei pazienti critici in ICU.(33)



Per concludere diciamo che l'Ohio State University Medical Center ha affermato, in base a studi randomizzati condotti in 25 "bed-medical center" e in 45 "bed-surgery center" che analizzavano e raffrontavano le terapie con EPO e con "RBC trasfusione", che il trattamento con eritropoietina, in codificate condizioni, da effettivi benefici nel migliorare gli outcome dei pazienti in ICU.

## **Rischi , alternative , e indicazioni alle trasfusioni di sangue allogenico.**

Nel 2001 (anno piu' recente utile per una completa analisi dei dati) negli Stati Uniti sono state raccolte piu' di 15 milioni di unita di RBC (red blood cells) e 4.9 milioni di pazienti negli U.S. hospitals hanno ricevuto 14 milioni di unita' e il numero di unita' si e' incrementato del 6% per anno.(34)

La trasfusione di sangue allogenico e' comunemente usata nei pazienti critici in ICU, studi di Von Ahsen et Al. dimostrano che su un campione di 24 centri medici americani il 77% dei pazienti nelle ICU di questi centri ricevono trasfusioni di sangue allogenico.(21)

La trasfusione di sangue allogenico viene usata per aumentare il volume di sangue circolante e per incrementare il numero di eritrociti nel sangue in situazioni come gravi emorragie e sanguinamenti acuti, e per alleviare i sintomi associati all'anemia (astenia e confusione).(35) (36)

Le trasfusioni di sangue allogenico RBC ( red blood cell ) hanno dei limiti importanti, sono associate a diversi fattori avversi, sono costose

e frequentemente incostanti nell'incremento della concentrazione di emoglobina e nella capacità di rilasciare O<sub>2</sub> ai tessuti; nel 1994 l'American Society Of Anesthesiologists ha costituito una task force sulle indicazioni e controindicazioni all'uso di trasfusioni di RBC nelle ICU, con il risultato che livelli di emoglobina sotto 6 g/dl giustificavano la trasfusione mentre per valori sopra 10 g/dl le trasfusioni non sono giustificate tranne in casi particolari.(38)

Carson et Al. dimostrarono che su un totale di 1586 pazienti, 787 trasfusi con trigger di 9.7 g/dl ( range tra 9 e 10 ), 781 con trigger trasfusionale di 7.5 g/dl ( range tra 7 e 9 ) il primo gruppo riceveva 4.4 unità di RBC mentre il secondo riceveva 2.3 unità di RBC, inoltre nel primo gruppo si contavano 120 decessi mentre nel secondo 94, dimostrando che per valori di emoglobina intorno a 7 g/dl le trasfusioni avevano un outcome migliore verso mortalità e quantità di unità di sangue trasfuso.(37)

#### • età' del sangue

Come ha dimostrato Offner et Al. durante lo "storage" (immagazzinamento) le riserve di 2,3 DPG e di ATP sono consumate

facendo diminuire il carico di ossigeno dell'eritrocita e di conseguenza la capacita' di rilasciare ossigeno ai tessuti da parte dell'eritrocita .(39)

Dopo due settimane di immagazzinamento degli RBC inoltre, si identifica un incremento e un'attivazione dei neutrofili, innescati dalle sostanze prodotte dai globuli rossi piu' vecchi, contribuendo all'evoluzione dei fenomeni infiammatori. (40) (43)

Rudis M. e Jacobi H. hanno evidenziato nei loro studi come all'eta' dell'eritrocita e' correlata una minore deformabilita' e una maggiore rigidita' determinando un'alta probabilita' di "sludging" nel microcircolo e un'alta probabilita' di danno d'organo. (33)

Marik. e Sibbald. hanno identificato anche una significativa ischemia splancnica e altri episodi di ostruzione microcapillare se si usavano RBC "immagazzinati " da piu' 15 giorni. (41)

Rao S. e Jolls J. hanno dimostrato un incremento della mortalita' nei pazienti in ICU con problemi cardiovascolari (stenosi coronaria).(42)

Questo dimostra una correlazione tra l' eta' dei globuli rossi trasfusi e un outcome negativo dei pazienti, anche negli studi presi in considerazione da. Napoletano R. et Al. (44)

- **rischi infettivi**

Gli agenti infettivi piu' comuni e piu' severi trasmissibili con le trasfusioni sono HIV,HBV,HCV, infezioni parassitarie,malaria, prioni,HGV,TT virus e herpes virus 8 associato a Sarcoma di Kaposi come descritto negli studi di Goodnough et Al. (45)

- **reazioni emolitiche acute**

Oggi grazie ai moderni standard di controllo non sono piu' comuni, comunque tali reazioni sono indotte dagli anticorpi del ricevente che si legano agli antigeni di superficie degli eritrociti del donatore.

Questi anticorpi fissano il complemento e possono portare ad una rapida lisi,la quale provoca una risposta infiammatoria sistemica grave che puo' portare a ipotensione e disfunzione multiorgano progressiva.

Questo tipo di reazione trasfusionale e' il risultato di una errata identificazione del tipo di sangue trasfuso con incompatibilita' ABO.

- **rischi immunologici**

Le trasfusioni di sangue allogenico inducono una immunomodulazione come propongono gli studi di Kleinmann S. et Al, oppure Marcucci C. et Al, che hanno dimostrato un incremento delle infezioni, sia nei pazienti non chirurgici, sia in quelli chirurgici, prolungando l'ospedalizzazione dei pazienti con relativo incremento dei costi della terapia. (46) (47) (48)

Carson J. E Altman D. hanno evidenziato l'esistenza di un rapporto tra numero di unita' di RBC trasfuse e indice percentuale di infezioni post operatorie. (49)

Sono due i meccanismi ipotizzati che producono l'instaurarsi della situazione di immunomodulazione: uno pro-infiammatorio e uno immunosoppressorio come dimostrato da Hebert et Al. (50)

Nei "trauma patients" l'effetto pro infiammatorio e' dominante, perche' i globuli rossi trasfusi liberando sostanze pro-infiammatorie mantengono e aumentano gli effetti infiammatori mediati dal trauma, che possono poi condurre fino ad un quadro complicato come il multiple organ failure (MOF). (52)

Mentre gli effetti immunosoppressori sono dominanti nelle infezioni post operatorie, nei pazienti neoplastici e nei pazienti con complicazioni renali come dimostrato da Blajckman M.(51)

In questo studio si evince che vi è una netta soppressione di linfociti T helper, una diminuzione di cellule natural killer, un difetto di presentazione dell'antigene e una riduzione "overall" dell'immunità cellulo- mediata.

Patrick D. et Al hanno identificato una soppressione dell'attività dei neutrofili dopo 24 dalla trasfusione, che si prolunga per sette giorni, esponendo il paziente a significativi rischi infettivi.(52)

Lo studio di Patrick et Al. dimostra che su un totale di 61 pazienti che avevano ricevuto 732 unità di RBC, in 32 di questi cioè il 52 % si identificava la presenza di infezioni polmonari durante il periodo in studio di 14 giorni.(52)

Inoltre nell'Annual Report of the Serious Hazards of trasfusione nel 2003 si descrivono 36 pazienti con un ulteriore problema secondario allo stato di immunomodulazione che può esistere in corso di RBC trasfusione: il TRALI.(53)

Secondo il sopra citato gruppo si è evidenziato 1 paziente con TRALI ogni 529.000 unità di RBC trasfuse.

Kleinmann S. e Chan P. hanno dimostrato un rischio di 1.4 per 100,000 unita' di RBC trasfuse.(46)

Kopko P. e Holland P. descrivono il TRALI come una serie di eventi clinici come dispnea, febbre, edema polmonare bilaterale non cardiogeno, due o quattro ore dopo la trasfusione, e se non complicato risolvibile in quattro giorni. (54)

Proprio per i sintomi e' difficile comunque differenziarlo dall'ARDS o dalli " overload volume" o dal " congestive heart failure ".

La deplezione leucocitaria puo' mitigare l'immunomodulazione.

Ci sono alcuni studi che lo confermano come quelli condotti da Van de Watering et Al. dove si identifica un diminuzione della mortalita' ma solo se i pazienti avevano ricevuto almeno 3 unita' di RBC. (55)

Mentre Opelz G. et Al. non hanno trovato significative differenze con il trattamento di deplezione leucocitaria.(56)

Recentemene Ferguson et Al. hanno valutato che la deplezione leucocitaria non porta miglioramenti a tutti i sottogruppi di pazienti.(57)

Per esempio quelli sottoposti a chirurgia cardiaca mostrano un outcome migliore di mortalita'e di rischio infettivo, di contro i



pazienti sottoposti a chirurgia ortopedica oppure gastrointestinale non hanno evidenziato miglioramenti.

Per cui il concetto è che il trattamento di deplezione leucocitaria non si può ancora definire ottimale e non si può neppure standardizzare su tutti i gruppi di pazienti sottoposti a terapia trasfusionale con sangue allogenico.

- **problematiche sociali**

Si deve inoltre considerare ulteriori rischi nella sfera socio-culturale dei pazienti critici in ICU come il problema trasfusionale che si presenta di fronte ai “ testimoni di Jeova” che rifiutano sangue allogenico, problema che può risultare fatale nei casi d'emergenza.

Altro fattore da prendere in considerazione è il costo della terapia trasfusionale, compreso anche di quello indiretto che può seguire ad un trattamento prolungato in caso di sviluppo d'infezioni secondarie alla trasfusione.

Per finire anche il problema della non sempre facile reperibilità del sangue soprattutto in condizioni d'emergenza.

- **indicazioni alla trasfusione**

Per anni si e' creduto che i due targets cardini per una emotrasfusione fossero una concentrazione di emoglobina sotto 10 g/dl e un ematocrito sotto 30 %, ma sia i cambiamenti di concentrazione dell'ematocrito che dell'emoglobina possono essere fuorvianti, dal momento che possono non costituire un riflesso di corrispondenti cambiamenti della capacita' di trasporto di ossigeno da parte del sangue (un aumento del volume plasmatico da idratazione, per esempio, fara' scendere l'ematocrito e l'emoglobina dando l'impressione di un'anemia in corso di sviluppo o in peggioramento, anche se la capacita' del trasporto di ossigeno da parte del sangue rimanga invariata).

Per quello che si e' appena detto il livello di ematocrito e di emoglobina non puo' venir impiegato come indicazione alla trasfusione per tutti i pazienti in UTI.

I segni di insufficiente rilascio di ossigeno ai tessuti dovrebbero essere piu' affidabili dell'emoglobina e dell'ematocrito nel fornire un'indicazione alla trasfusione per i singoli pazienti nelle unita' di terapia intensiva.

Spahn et Al. (58,59,60) hanno indicato che una globale insufficienza di ossigenazione tissutale puo'essere svelata dai seguenti segni :

- instabilita' emodinamica ( tachicardia ed ipotensione ).
- concentrazione Hb sotto 6 g/dl.
- estrazione di ossigeno maggiore del 50 %.
- saturazione di ossigeno venoso sotto 50 % SvO<sub>2</sub>.
- pressione parziale di ossigeno venoso sotto 32 mmHg.
- decremento ossigeno consumato VO<sub>2</sub> ( ↑ 10 % ).
- iperlattacidemia.
- tratto ST nel ECG sottoslivellato ↑ 0.1 mV per piu' di un mi  
minuto de novo.
- tratto ST sopralivellato ↑ 0.2 mV per piu' di un minuto de  
novo.

Inoltre ricordiamo che come l'anemia puo' produrre un'aumento della gittata cardiaca riducendo la viscosita' ematica,la correzione dell'anemia puo' ridurre la gittata cardiaca aumentando la viscosita' ematica.

Sempre secondo l'American College of Physicians (Clinical Practice Guideline on Elective Red Blood Cell Trasfusion) le trasfusioni di RBC non sono indicate per:

- correggere una concentrazione di emoglobina inferiore a 10g/dl in pazienti che non presentino evidenza di ischemia tissutale in atto.(angina,ictus ischemico,o iperlattacidemia)
- correggere un'anemia di qualunque grado in pazienti che non presentino disfunzione cardiaca,malattia arteriosa coronaria o malattia cerebrovascolare)

### **Pazienti e rischio.**

#### *Pazienti con accidenti cardiovascolari.*

Carson et Al. osservarono 1958 pazienti affetti da complicanze cardiache che ricevevano trasfusioni di RBC .(61)

Lo studio dimostro' che i pazienti con una concentrazione di emoglobina di circa 10/11 g/dl sviluppavano un tasso di mortalita' elevato dopo il trattamento.

Rao et al. hanno analizzato 24.112 pazienti con patologie cardiovascolari e hanno descritto una associazione tra la trasfusione di RBC in soggetti con un ematocrito del 25% ed un'incremento della mortalità nei 30 giorni dello studio.(42)

Un'analisi effettuata dal Trasnfusion Requirements in Critical Care (TRICC) indica che un trigger trasfusionale di 7g/dl di Hb è ben tollerato dai pazienti con rischio cardiovascolare.

Spahn D et Al. e Levy et Al. hanno dimostrato che pazienti con accidenti cardiovascolari coesistenti all'anemia possono essere non trasfusi ad uno specifico valore di emoglobina ma al comparire dei segni d'insufficienza d'ossigenazione.(63)

Carson J. e Noveck H. hanno evidenziato che un trattamento con unità di RBC in pazienti con rischio cardiovascolare possono ridurre l'anemia ma far comparire episodi di ischemia miocardica.(64)

*Pazienti nel periodo post-operatorio.*

Leung J. e Weiskopf R. hanno evidenziato che la tachicardia insieme ad un tratto ecocardiografico ST sottoslivellato è comune nei pazienti post-operatori ammessi alle unità di terapia intensiva.(65)

In questi pazienti la tachicardia in presenza di una anemizzazione diventa critica e può sfociare in una ischemia miocardica, per cui il

trattamento con trasfusione di unita' di sangue allogenico puo' essere necessario,ma puo' essere evitato se si mantiene una " heart rate" accettabile.

*Pazienti critici.*

Nel TRICC ( Trasfusion Requirements in Critical Care) trial Hebert P. e Wells G. in uno studio condotto su 838 pazienti in ICU hanno dimostrato che trattando un gruppo con trigger trasfusionale di 7 g/dl e un altro con trigger trasfusionale di 10 g/dl , nel primo si aveva una percentuale di mortalita' pari al 19 % mentre nel secondo una di 23 % . (36)

Questo dimostrava che i pazienti critici con rischi cardiovascolari tolleravano una moderata anemia (8/9g/dl) in assenza di trasfusione.

In Anemia and Blood Trasfusion in the Critically Ill ( ABC ) studi di Vincent J. E Baron J. condotti in 146 Western Intensive Care Units, esaminando gli outcome di 3.534 pazienti in relazioni a RBC trasfusion,si analizzo' che con valori pre-trasfusionali di 8.4 g/dl,nei pazienti trasfusi si identificava il 19 % di mortalita'contro il 10 % dei non trasfusi.(66)

Negli Stati Uniti nel 2004 studi di Corwin et Al.. includevano 4.892 pazienti di cui un 44 % trattati con "RBC trasfusion" con un trigger

di emoglobina di 8.6 g/dl,confermavano i risultati del TRICC trial di Herbert et Al. e gli ABC study di Vincent et Al. dimostrando che l'uso di trasfusione di sangue allogenico peggiora l'outcome dei pazienti in ICU con alterazioni cardiovascolari in termini di comorbidity',timing di permanenza in ospedale e mortalita'.(67)

*Pazienti settici.*

Un sottogruppo di pazienti in ICU sono settici e anemici,anemia che insorge secondariamente a emorragie,flebotomie,alterazioni della coagulazione e circuiti extracorporei.

In studi condotti da Dellinger et Al. in questo sottogruppo di pazienti i globuli rossi sono danneggiati da meccanismi non immunitari ma secondari alla "disseminated intravascular coagulation" (DIC).(68)

Alcuni pazienti settici possono aver bisogno di alte concentrazione di emoglobina in certe condizioni come accidenti cardiaci o accidenti polmonari acuti,ma prima di trasfondere il paziente le emorragie devono essere controllate,le flebotomie minimizzate,l'ossigenazione ottimizzata e la normovolemia stabilizzata.

La "Society Critical Care Medicine" in " Practice Parameters for Emodynamic Support of Sepsis in Adult Patients in Sepsis ",

suggerisce che la concentrazione di Hb può essere tollerata a circa 8/10g/dl nei pazienti in stato settico.(69)

Abbiamo analizzato come le trasfusioni di sangue allogenico sono associate a diverse condizioni non favorevoli, come limitata disponibilità, alti costi, multipli rischi e severi effetti collaterali.

Più avanti vedremo come l'uso di eritropoietina può essere un'adeguata e vantaggiosa alternativa all'emotrasfusione.

**Transfusion-Related Acute Lung Injury : evento avverso nelle terapie trasfusionali.**



Transfusion –related acute lung injury (TRALI) fu coniato da Popovsky nel 1983, termine riferito ad un edema polmonare non cardiogenico secondario ad una terapia trasfusionale.(70)

La sindrome era stata già prima denominata come una reazione da ipersensibilità polmonare Thompson J. et Al. oppure come edema polmonare allergico da Kernoff P. et Al o anche come edema polmonare non cardiogeno da Carilli A. et Al. e infine come una reazione di agglutinazione leucocitaria polmonare da Ward H. et Al. (71) (72) (73) (74) (75)

Barnard già nel 1951 aveva individuato un evento edematoso polmonare fatale secondario ad una trasfusione.(76)

Reese e Suasuna et Al. dimostrano che l'evoluzione del TRALI è associata con tutti i plasma-containing blood products,ma più comunemente si può inquadrare con il plasma fresco congelato,con le unità di sangue allogenico,con le piastrine,crioprecipitati e infine fattore IV.(77) (78)

Il TRALI presenta come sintomi più comuni dispnea,tosse e febbre.(79) (80)

Kopko. Et Al. evidenziano che i sintomi che si presentano in corso di TRALI possono essere fulminanti, oppure manifestanti dopo 1 o 2

ore, piu' in generale occorrono comunque 6 ore dall'inizio della trasfusione per l'evoluzione completa dei sintomi.(80) (82) (81)

Il primo, e ancora unico ampio studio sul TRALI, è stato pubblicato da Popovsky. e Moore, questi analizzarono 36 casi di TRALI che rilevarono una mortalità del 6%.

Questo 6 % era estrapolato da una percentuale di mortalità molto più consistente perché comprendeva anche patologie come ALI/ARDS, che si associavano al quadro sindromico.(79) (83)

Silliman et al. nei loro studi hanno riportato una incidenza di TRALI per unità di RBC trasfuse dello 0.09 % e per paziente dello 0.08 %.  
(82)

TRALI è la terza complicanza percentualmente dimostrata che si associa alla pratica trasfusionale dopo l'incompatibilità e le epatiti come dimostrato da Salama K. Et Al. (84) (85)

La Food. and Drug. Administration. Center. Biologics. Evaluation. ha rilevato che i più frequenti casi di TRALI si sono osservati nelle sale operatorie e nei reparti di terapia intensive.(86)

L'ipotesi più verosimile sul TRALI sembra essere la produzione di fattori dannosi associati alla trasfusione di sangue allogeneico in studi condotti da Ravinovic et Al. (87) (88)

Si e' individuato una reazione mediata da neutrofili verso l'endotelio dei capillari polmonari, con associata la rottura dei capillari e conseguente a questa la formazione dell'edema polmonare. ( Wyaman T. e Bjornesen A. Am. J. Cell. Physiol. 2002 N. 283 ).

I maggiori candidati allo sviluppo di TRALI sono i pazienti chirurgici, settici, traumatici e trasfusi. (82)

Massive trasfusioni possono produrre infiammazioni sistemiche che secondariamente allo sviluppo del TRALI possono approdare alla comparsa del MOF (multi organ failure ), come evidenziato da Sauaia et Al. e da Moore et Al. (89)

La teoria basata sulla reazione anticorpale rimane tuttora la piu' accreditata eziologia sul TRALI, dimostrato da studi condotti sempre da Moore et Al. (90)

Davoren et Al. ha dimostrato che gli anticorpi presenti nell'emocomplemento del donatore attaccano determinati antigeni sulle membrane dei capillari dell'endotelio polmonare del ricevente dando il via alla formazione di stravasamento e trasudazione di liquido ricco in proteine nel polmone. (91) (92) (93) (94) (95)

Anticorpi citotossici sono stati identificati in almeno il 72% dei casi nello studio di Popovsky et al.

Specificatamente vengono colpiti i granulociti 5b, che si trovano nel 90 % della popolazione dimostrato da Kopko P. et Al. (90)

Il TRALI puo' essere sospettato nei casi post trasfusionali in cui si presenta dispnea e ipossia e conseguente insufficienza respiratoria.

Un attenta valutazione strumentale, come ecocardiografia con eventualmente l'ausilio di un catetere venoso centrale, ci puo' escludere un edema cardiogeno oppure un sovraccarico di volume.

Spesso si associa una leucopenia in corso di TRALI, che presenta una oscillazione dinamica, secondaria al sequestro dei leucociti nella circolazione polmonare, seguita poi da una compensazione da parte del midollo, situazione identificata negli studi di Yomtovan R. et Al. (96)

Levy et Al. (97) suggerisce che se identificati sintomi (dispnea, tosse e febbre) comparsi durante la trasfusione o dopo 6 ore dalla stessa di una possibile esistenza di ACUTE LUNG INJURY si deve accertare l'esclusione di un edema cardiogeno o un overload volume tramite :

- esami clinici e radiografia del torace.
- se necessario ecocardiografia .
- se necessario posizionare in arteria polmonare uno Swanz – Ganz.

- se presente, analisi escreato tramite tubo endotracheale e matched plasma sample per analisi delle proteine.

Dopo aver escluso le suddette cause si dovrà procedere all'analisi delle sacche di sangue utilizzate per la trasfusione:

- notifica alla banca del sangue.
- trattenere tali sacche e spedirle alla banca del sangue.
- prelevare sangue del paziente ed inviare alla banca del sangue.

il primo step del trattamento del TRALI è certamente una diagnosi esatta, perché se la diagnosi viene disconosciuta ed il paziente viene trattato con diuretici si sviluppa una grave ipotensione.

Casi severi di TRALI sono stati anche trattati con cortisonici ma non esistono in questo caso studi randomizzati che hanno potuto far ipotizzare una terapia standard, anzi le complicanze dei farmaci cortisonici e la frequente self-limited del TRALI non si dimostrano come punti fermi nella terapia della patologia come dimostrano Yomtovan R. et Al.(97)

Il TRALI è quindi un ulteriore problema per i pazienti siti in ICU e sottoposti a trasfusioni di sangue, soprattutto perché tali pazienti

spesso sono già in situazioni ventilatorie severe, ed lo sviluppo di un TRALI proprio per le sue caratteristiche di sviluppo, può aggravare le condizioni dei pazienti come riportato in The Acute. Respiratory. Di stress. Sindrome. Network. In NEJM. 2000 .

## **Uso ed efficacia dell'eritropoietina nel paziente in ICU.**

L'anemia è comune in pazienti delle unità di terapia intensiva, e spesso i pazienti trattati con trasfusione di sangue allogeneo mostrano un peggioramento nella prognosi clinica.

Vincent J. e Baron F. hanno evidenziato in alcuni loro studi che approssimativamente il 40% dei pazienti ammessi nelle unità di terapia intensiva ricevono almeno una trasfusione con una unità di sangue allogeno. (99)

Le cause eziologiche dell'anemia nel paziente critico sono molteplici: emorragie, sanguinamenti cronici e acuti, diminuzione dell'eritropoiesi, deficienze nutrizionali, neoplasie del midollo, disordini endocrinologici, insufficienza renale, emolisi, come abbiamo visto nel precedente paragrafo del nostro lavoro.

Un efficace e completo studio condotto da Howard L. Corwin M.D. e Andrei Gettinger M.D. e pubblicato sul New England Journal of Medicine 2007, ci presenta l'eritropoietina come un trattamento alternativo all'uso del sangue in UTI che ipotizza un futuro uso su larga scala al fine di ottenere la diminuzione delle unità di RBC trasfuse e i problemi ad esse connesse. (100)

In questa prospettiva, lo studio, randomizzato, prende in considerazione la somministrazione di eritropoietina alfa 40.000 unità ad un gruppo di pazienti, trattati da un minimo di una settimana ad un massimo di tre (da una dose ad un massimo di tre), VS un

gruppo di controllo con simili caratteristiche ma che non ricevono il farmaco.

Comparata con l'uso del placebo l'utilizzo di EPO alfa mostrava una significativa riduzione della mortalità, che tendeva ad essere più bassa nel gruppo trattato con EPO (95% CI 0.56 vs 1.10) sia al giorno 29 che al giorno 140 (8.5% vs 11.4%).

In questo caso la diminuzione di mortalità non è correlata alla diminuzione delle unità di trasfusioni ma segue all'incremento del tasso di emoglobina che si ossigena dopo la somministrazione di EPO alfa.

Probabilmente il tasso di mortalità diminuisce non per un effetto eritropoietico ma preservando le cellule dall'ipossia e dall'ischemia.(100)

Infatti lavori recenti come quelli di Coleman T. e Brines M. oppure di Malese K. E Li F. mostrano come l'eritropoietina alfa abbia un effetto antiapoptotico. (101) (102)

Proprio questa attività antiapoptotica può rendere importante l'uso dell'eritropoietina nel paziente critico.



Molte patologie del paziente critico come la sepsi ,il MOF (multiple organe failure ) hanno nell'apoptosi cellulare il determinante finale del danno come Brines et Al dimostrano.(103)

I mediatori infiammatori presenti durante la sepsi hanno un ruolo determinante nell'interferenza della risposta eritropoietinica all'anemia del paziente critico: TNF(tumoral necrosis factor), interleukina 6,interleukina 1,inibiscono o comunque diminuiscono la secrezione dell'eritropoietina endogena.

Inoltre attenuano la risposta del midollo osseo all' EPO stessa, oltre a ridurre la sopravvivenza eritrocitaria.

Inoltre le citochine incrementano il sequestro di ferro nei macrofagi sopprimendo il rilascio da parte dei siti di immagazzinamento, come dimostrano studi di Abramson S et Al.(25)

Colemann T. et Al. o anche Corwin H. et Al. hanno dimostrato come la somministrazione di concentrazioni sovralfisiologiche di EPO alfa possa controbilanciare l'effetto inibitorio dell'IFN $\gamma$  sulle CFU-E, promuovendo la risposta dell'eritrogenesi.

Inoltre studi di Krafte-Jacobse B. e Levetown L. si e' analizzato come ci sia una stretta correlazione tra anemia e ipossiemia con la concentrazione plasmatici dell'eritropoietina.(104)

Qui si dimostra una correlazione opposta tra la concentrazione di EPO e l'emoglobina in situazione di anemia acuta (piu' frequente nei reparti ICU) e anemia cronica, come ci indicano Jelkman et Al. e Erslev et Al. (105) (106) (107)

Nel primo caso la concentrazione dell'EPO aumenta nei primi minuti e costantemente nelle prime 33 ore dopo l'emorragia, con un incremento della produzione di mRNA dell'EPO entro 1.5 ore dall'evento acuto mentre nel secondo questo non avviene, come dimostrano Steinberg et Al. (108)

Wesley J. et Al. Nei suoi lavori mostra che infatti la sintesi delle proteine ed il catabolismo sono alterati nei pazienti critici, dimostrando come i mediatori della infiammazione in questi soggetti hanno un effetto negativo sull'espressione genica dell'EPO. (109)

Inoltre Krafte-Jacobs B e Levetown L. notarono che nei pazienti critici questo meccanismo non avviene. (104)

Sempre Corwin et Al (100) in uno studio condotto in 65 centri terapeutici statunitensi su un totale di 1302 pazienti, di cui un gruppo trattati con EPO 40.000 unita' (110) e un altro gruppo non riceventi EPO hanno dimostrato come la somministrazione di EPO determinava:

- una diminuzione delle unita' di sangue allogenico trasfuso nel gruppo trattato con EPO rispetto al gruppo controllo (1590 unita' di RBC contro 1960 con un decremento percentuale del 19 %).
- L'incremento dei valori medi di emoglobina (1.32g/dl contro 0.94g/dl, relativi alla quota iniziale della somministrazione).
- La diminuzione dei giorni trascorsi nelle unita' di terapia intensiva.
- Diminuzione della mortalita'.
- Diminuzione di incidenza eventi infettivi.

In altri studi come quelli di Silver M. et Al.(111) si e' rimarcato il beneficio di EPO in termini di :

- aumento concentrazione emoglobina( $10\pm 2$  nei casi contro  $9.4\pm 1.5$  nei controlli).
- diminuzione trasfusione di sangue allogenico(31% de casi contro il 61% dei controlli).

Si evince da questo il rilevante aspetto pro-ematopoietico dell'eritropoietina,oltre che quello anti apoptotico .

Howard L et Al ha dimostrato che l'incremento della concentrazione di emoglobina (tra due gruppi di pazienti, di cui uno trattato con EPO

e uno ricevente solo placebo) e' significativa solo fino al 29 giorno di trattamento e che comunque l'incremento maggiore si ha nelle prime due settimane di trattamento.(112)

Dopo il 29 giorno del trattamento nei due gruppi non risulta esserci un incremento significativo della concentrazione,anche i reticolociti seguono lo stesso trend.

Per cio' che riguarda il profilo di sicurezza Dammacco F.e Luccarelli G. hanno dimostrato che il mantenimento dei livelli di emoglobina maggiori di 12 g/dl contribuisce ad un lieve incremento di rischio trombotico cardiovascolare.(113)

Si dovrebbe evitare incrementi di Hb maggiori di 0.5g/dl a settimana e mantenere i livelli medi di Hb non superiori a 12g/dl.

Sempre nello studio di Corwin. et Al si è dimostrato un incremento di eventi trombotici vascolari nei pazienti trattati con eritropoietina rispetto al gruppo placebo.(16.5% contro 11.5%).(112)

L'incremento di questi episodi trombotici risulta maggiore nei pazienti che ricevono tre dosi da 40.000 unita' di EPO(22.8% contro 16%).

Tuttavia il rischio di eventi trombotici,come hanno dimostrato gli studi di Henke M. et Al. O anche quelli di Leyland B. et Al,che si

realizzano per valori di emoglobina sopra 12g/dl, e sono dosi dipendenti (tre o più) impone l'uso di epo solo in condizioni codificate.

Gli studi fatti da Georgopoulos. D. et Al. (114) escludevano dall'uso di EPO :

- precedente uso di EPO.(entro tre mesi)
- pazienti in dialisi.
- tempo in ICU minore di 48 ore.
- gravidanze.
- precedenti episodi trombotici.
- ematocrito sopra 38%.
- concentrazione emoglobina sopra 12g/dl.
- ipertensione non controllata.

La protezione al danno d'organo che si manifesta in seguito alla somministrazione di eritropoietina trova le sue teorie in meccanismi anti apoptotici secondari ad una somministrazione sovrafisiologica dell'EPO.

Alcuni autori come Coleman et Al. o anche Corwin et Al. hanno evidenziato come la somministrazione di EPO riduca le dimensioni

dell'area infartuate,l'apoptosi dei carboidrati ed il danno da  
riperfusione,che si traduce in un miglioramento della funzione  
contrattile.(101) (112)

L'effetto si realizza anche se il trattamento avviene durante  
l'episodio ischemico.

L'effetto anti-apoptotico e citoprotettivo è tanto piu' evidente quanto  
piu' precocemente la dose di eritropoietina viene somministrata.

Colemann et Al hanno dimostrato come la somministrazione precoce  
(entro ore dall'evento) sia necessaria al fine di attivare gli EPO  
recettori espressi nella "penombra of injure" e ridurre il danno  
neurologico in corso di stroke.(101)

Dati pre-clinici inoltre suggeriscono come le concentrazioni richieste  
per esprimere un effetto protettivo cellulare siano piu' alte di quelle  
richieste per la eritrogenesi aggirandosi nell'ordine di 300/500  
unita'pro kg per via endovenosa.

Nei pazienti settici inoltre l'EPO potrebbe favorire il bilancio tra  
disponibilita' e consumo di ossigeno,riducendo il danno d'organo e  
quindi la mortalita'.

Rayrond et Al. ha infatti evidenziato in studi sperimentali su animali  
come la somministrazione di eritropoietina alfa induca un incremento

nella perfusione capillare in topi settici e diminuisca i livelli di NADH mitocondriale, a testimonianza del metabolismo cellulare .

Altro uso dell'eritropoietina è il miglioramento dell'anemia nei pazienti in ICU affetti da insufficienza renale cronica .

L'anemia qui è di origine multifattoriale ma il fattore principale è la carenza di eritropoietina endogena o la parziale inefficacia della stessa a livello midollare .(115)

Gli studi di Eschbach J et Al e di Winearls C. (116) (117), dimostrano l'efficacia dell'EPO in questi pazienti e inoltre anche qui si è evidenziata una forte associazione con il miglioramento dei parametri di funzionalità cardiovascolare, come attestato anche negli studi di MacDougall I. et Al e di Deniston O. et Al. (118) (119)

Alla luce di queste considerazioni appare sempre più evidente come la somministrazione di EPO stia progressivamente diventando più importante come protettore cellulare oltre che come semplice stimolatore dell'eritrogenesi.

Inoltre l'utilizzo di EPO alfa si sta affermando sempre con maggior forza nei trattamenti dei pazienti nei reparti di ICU ( intensive care unit ) come alternativa alle trasfusioni di unità di sangue allogenico.

## **Studio clinico**



Studio prospettico non randomizzato sul ruolo dell'eritropoietina nelle anemizzazioni del paziente critico, come valida ed efficiente alternativa all'utilizzo di unita' di sangue allogenico.

## **Obiettivi**

Obiettivo del presente lavoro di tesi sarà analizzare le variazioni dei valori di emoglobina,ematocrito,reticolociti,unita' di sangue allogenico trasfuso,incidenza di eventi infettivi,incidenza di mortalita'e durata del periodo di degenza, nei pazienti trattati con eritropoietina alfa rispetto ad un gruppo di controllo, ricoverati presso l'Unità di Terapia Intensiva polivalente dell'Ospedale S.ta Chiara di Pisa.

## **Materiali e Metodi**

### **Materiali**

Sono stati arruolati per lo studio i pazienti ricoverati presso l'Unità di Terapia Intensiva polivalente dell'Ospedale S.ta Chiara di Pisa, suddivisi in un gruppo di studio trattati con una dose settimanale di eritropoietina alfa 40.000 unita' s.c.(EPREX) fino ad un massimo di 2 dosi, e un secondo gruppo di studio non trattati con eritropoietina alfa.

Inoltre ai pazienti inclusi nel primo gruppo veniva somministrata una dose di 150 mg e.v. di ferro (FERROGRAD) in associazione all'eritropoietina.

## **Metodi**

I criteri d'inclusione utilizzati per lo studio sono :

1. ricoverati in UTI.
2. concentrazione emoglobina  $\leq 8.5$ g/dl.
3. eta'  $\geq 18$  anni.

I criteri di esclusione per lo studio sono :

1. precedente utilizzo di EPO alfa.
2. aspettativa di vita inferiore a 7 giorni.
3. ipertensione: sist.  $\geq 200$  diast.  $\geq 110$  mmHg.
4. IMA in atto.
5. gravi ustioni.
6. gravidanza o allattamento.
7. rischio eventi trombotici.

Lo studio ha avuto una durata di 14 giorni (periodo di osservazione per singolo paziente), ai pazienti di entrambi i gruppi di studio venivano valutati al tempo T0(basale) per i seguenti parametri: ematocrito, emoglobina, reticolociti, eritrociti, formula leucocitaria, ferro, ferritina, transferrina, enzimi cardiaci, enzimi epatici, fattori della coagulazione, saps II all'ingresso, sofa.

Gli stessi parametri venivano poi valutati al 3, 7, 11, 14, giorno di studio su un totale di 14.

La somministrazione di eritropoietina alfa (EPREX) veniva eseguita s.c. mono-settimanalmente.

La somministrazione di ferro (FERROGRAD) in dosi di 150 mg veniva effettuata e.v. associata alla somministrazione di eritropoietina.

## **Analisi statistica**

Per l'analisi statistica si è utilizzato il test t di Student e i risultati sono stati considerati significativi tra i due gruppi per valori di  $P < 0.05$ .

Si è calcolato medie e deviazioni standard di tutti i parametri ai tempi T0, T3, T7, T11, T14, ed inoltre per gli stessi parametri si è calcolato anche le variazioni percentuali ai tempi T3, T7, T11, T14, rispetto al valore T0.

Si sono confrontati tutti i parametri tra i due gruppi misurati ai tempi T0, T3, T7, T11, T14, e per tutte le variazioni percentuale, rispetto al valore basale, degli stessi parametri. (es: le variazioni percentuali di Hb a T3, T7, T11, T14, rispetto a T0 del gruppo EPO, sono state confrontate con le variazioni percentuali di Hb a T3, T7, T11, T14, rispetto a T0, del gruppo controllo).

## Risultati

E' risultata significativa la differenza tra il gruppo di studio EPO e gruppo di studio controllo per:

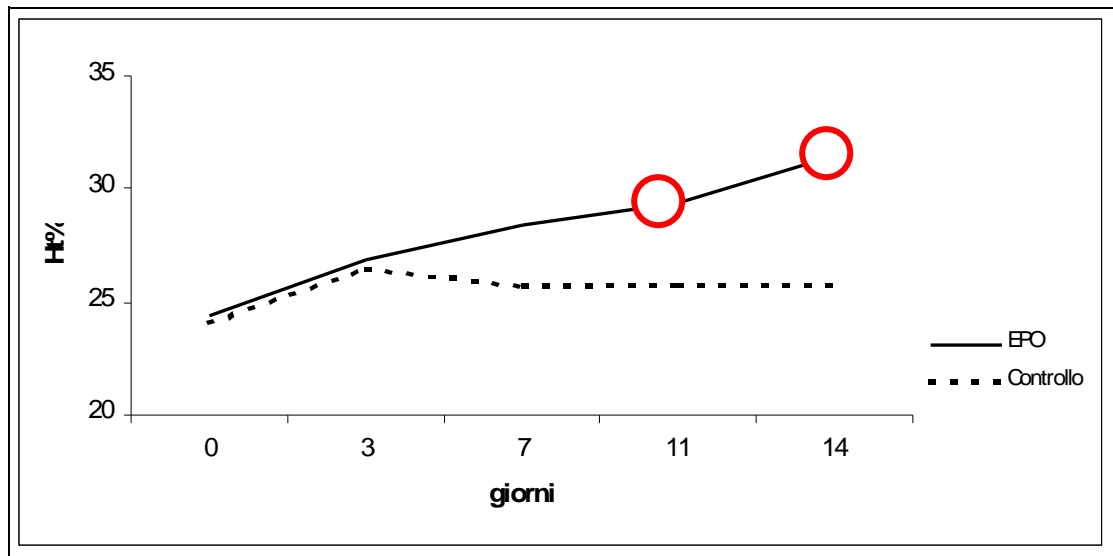
1. **ematocrito:** in media a T11 e T14 rispetto a T0 (  $29.4 \pm 3.7$  e  $31.5 \pm 2.5$  VS  $25.8 \pm 2.9$  e  $25.7 \pm 2.6$  ) e per le variazioni percentuali del valore T11 e T14 rispetto a T0 (20.9% e 30.0% VS 7.93% e 7.62% ).
2. **Hb:** in media a T11 e T14 (  $9.7 \pm 0.9$  e  $10.4 \pm 1.1$  VS  $8.6 \pm 1.0$  e  $8.5 \pm 1.0$  ) e per le variazioni percentuali del valore T11 e T14 rispetto a T0 ( 22.7% e 31.4% VS 7.76% 5.37%).
3. **Reticolociti:** in media a T11 e T14 rispetto a T0 (  $4.6 \pm 3.2$  e  $5.6 \pm 3.2$  VS  $1.8 \pm 0.8$  e  $1.7 \pm 0.9$  ) e per le variazioni percentuali del valore T3,

T11 e T14 rispetto a T0 ( 49.9%, 125.2% e 219.4% VS 1.30%, 11.34% e 3.21% ).

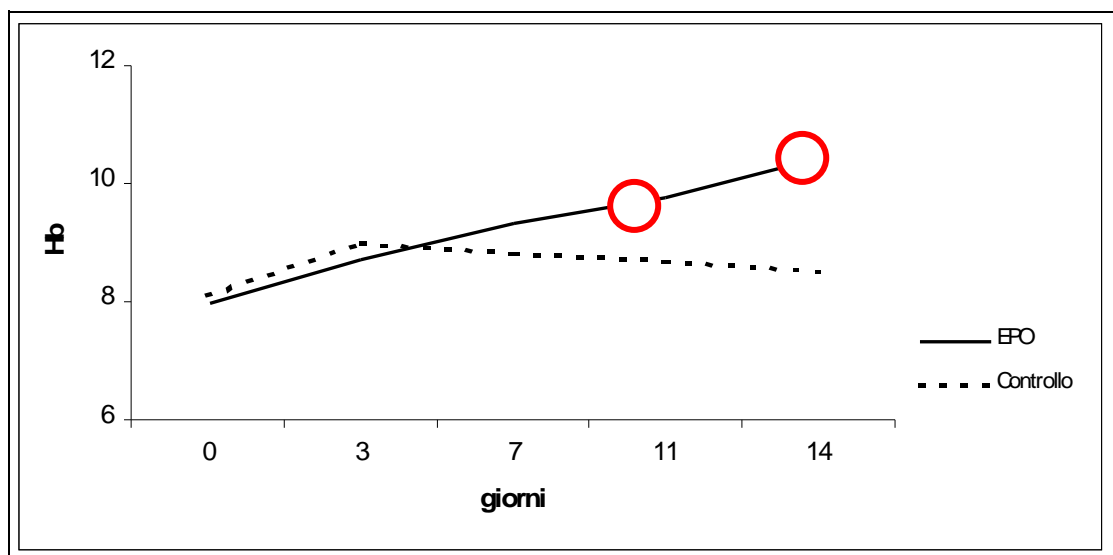
4. **Eritrociti:** in media a T14 (  $3.8 \pm 0.4$  VS  $2.9 \pm 0.3$  ).
  
5. **Giorni degenza in UTI:** in media 35 per il gruppo EPO e 54.5
  
6. **Sacche sangue trasfuse:** i media 0.4 gruppo EPO e 1.6 gruppo controllo.
  
7. **Decremento incidenza mortalita' :** zero decessi nei casi rispetto ad uno nei controlli.
  
8. **Decremento eventi infettivi:** in media nei casi  $0.2 \pm 0.4$  VS  $0.6 \pm 0.4$  nei controlli, con un T test di 0.03 differenza significativa tra i due gruppi.



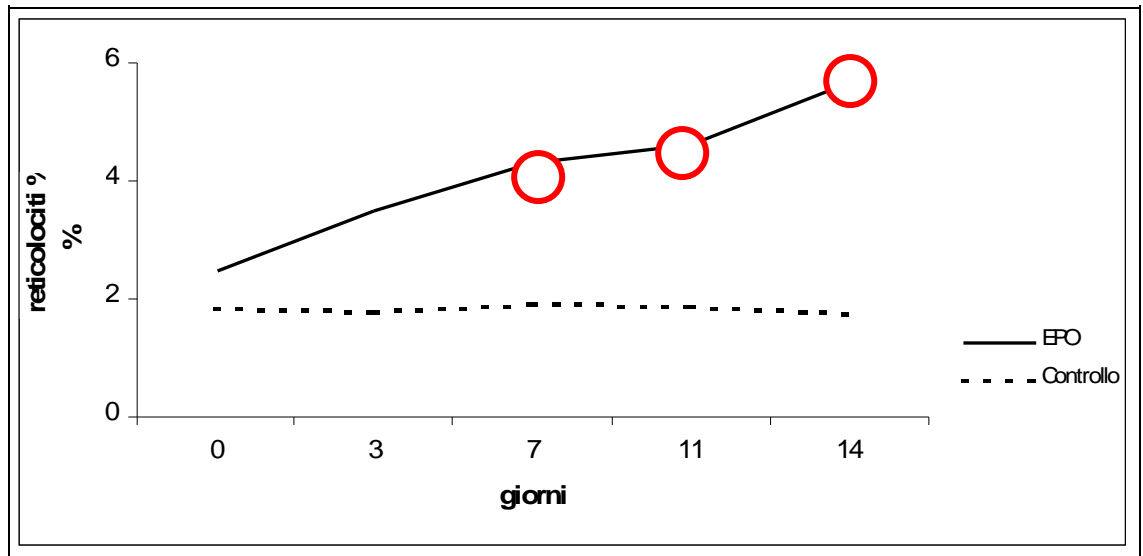
## Ematocrito



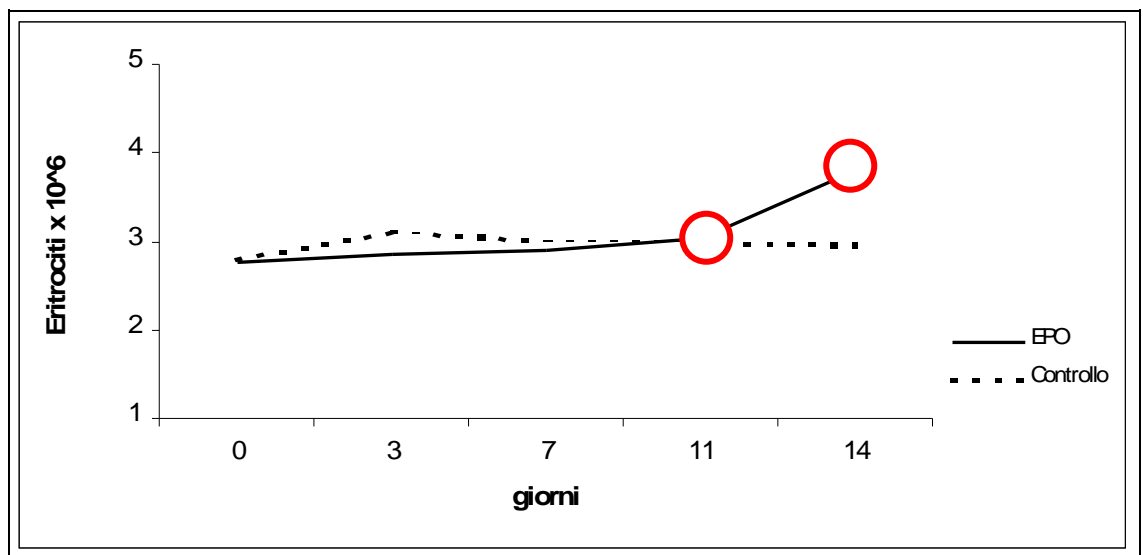
## Emoglobina



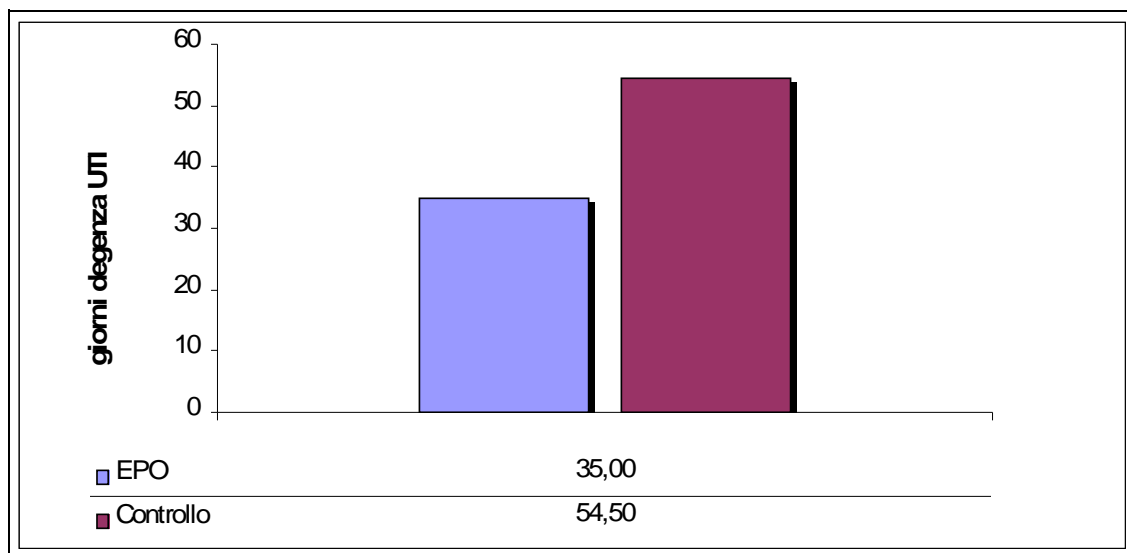
## Reticolociti



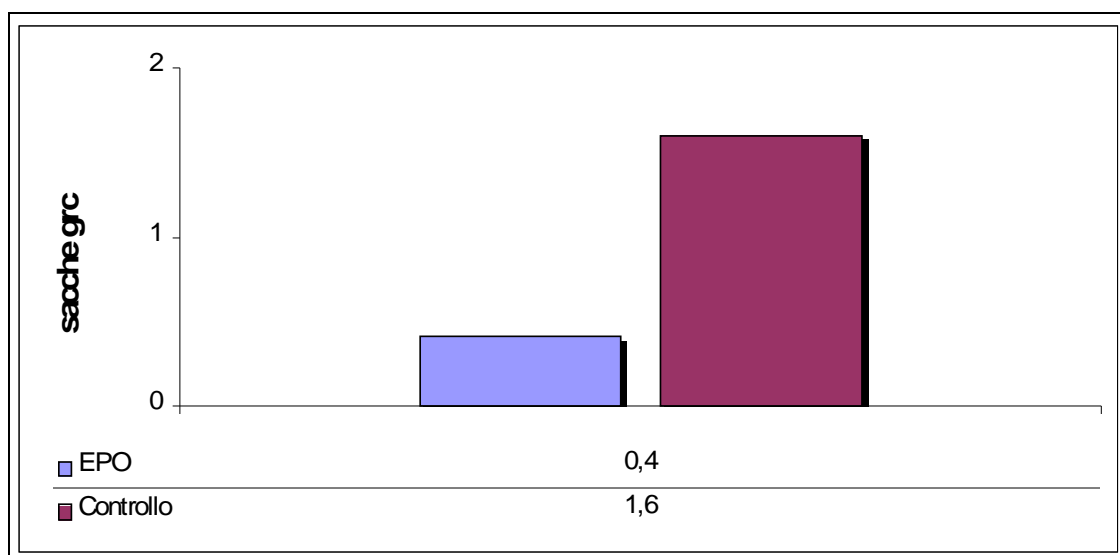
## Eritrociti



## Giorni degenza UTI



## Unita' sacche sangue trasfuso



## Discussione

Nella letteratura, come abbiamo indicato nel nostro lavoro, si evince un orientamento deciso verso l'indirizzo di strategie alternative alla trasfusione di sangue allogenico nei reparti di terapia intensiva.

Il fulcro di queste indicazioni è il ruolo dell'eritropoietina nelle anemizzazioni dei pazienti critici.

Il nostro studio ha ripercorso le tappe caratteristicamente riportate in letteratura, ossia un'analisi volta a quantificare il miglioramento di parametri noti (emoglobina, ematocrito, reticolociti, unità di RBC trasfusi, giorni degenza in ICU) nel trattamento del paziente critico con sostituti del sangue allogenico come appunto l'EPO.

Per quanto riguarda l'incremento di emoglobina noi abbiamo rilevato un incremento in media del  $9.7 \pm 0.9$  e del  $10.4 \pm 1.1$  al giorno 11 e 14 nei casi rispetto al  $8.6 \pm 1.1$  e  $8.5 \pm 1.0$  nei controlli rispetto ai valori basali di T0 di 8.5g/dl di emoglobina, per cui un incremento della concentrazione di emoglobina nei pazienti trattati con EPO.

In accordo con i dati della letteratura come si osserva negli studi di Silver M et Al dove l'incremento casi vs. controlli era del  $10\pm 2$  VS  $9.4\pm 2$  al giorno 21 di trattamento, oppure in quelli di Georgopoulos et Al.  $11.6\pm 1.6$  VS  $9.9\pm 1.5$ ; in ambedue gli studi la forbice basale di emoglobina era tra 7g/dl e 9g/dl.

Il nostro trattamento però include due dosi di EPO in due settimane mentre nello studio di Silver et Al. anche in quello di Georgopoulos et Al. le dosi erano state tre in tre settimane.

Inoltre Howard L. et Al. ha dimostrato che l'incremento della concentrazione di emoglobina tra casi e controlli (schemi terapeutici di 40.000 unità di EPO per settimana) è significativa solo fino al 29 giorno di trattamento e che comunque l'incremento maggiore si ha dopo le prime due settimane di trattamento.

Si evince che probabilmente il diverso utilizzo di ferro nel nostro protocollo terapeutico abbia migliorato e accelerato l'incremento di Hb, perché noi abbiamo dimostrato un aumento di Hb significativo all'11 e al 14 giorno di trattamento per cui in anticipo rispetto ai dati della letteratura.

Le nostre dosi risultano di 150 mg a settimana (2 dosi) somministrate lo stesso giorno dell'EPO mentre per esempio Georgopoulos ne

somministra 4 dosi per quattro settimane, mentre Silver 150 mg al giorno.

Per cui la spiegazione potrebbe essere indicata nell'imputare al sovradosaggio di ferro, (ferro richiesto per la crescita microbica, infatti le citochine infiammatorie incrementano la sintesi di ferritina che serve come protezione per diminuire l'utilizzo del ferro dai fattori di crescita batterica e un eccesso di ferro della terapia può interferire con questo meccanismo protettivo anti microbico) abbia un ruolo di mantenimento dell'infezione microbica e favorisca l'azione dei fattori d'infiammazione nei pazienti settici i quali fattori possono poi inibire o diminuire l'eritropoiesi nel paziente critico.

Naturalmente la nostra è solo un'ipotesi che meriterebbe di essere ampliata da altri studi più mirati.

Ci siamo inoltre concentrati sulla funzione bio-molecolare caratterizzante l'eritropoietina: la differenziazione dei progenitori eritroidi con la stimolazione eritrocitaria, aspetto poco rappresentato nelle pubblicazioni.

Abbiamo dimostrato esserci un incremento in media a T3, T11 e T14 rispetto a T0 (  $3.4 \pm 3.9$ ,  $4.6 \pm 3.2$  e  $5.6 \pm 3.2$  VS  $1.8 \pm 0.8$ ,  $1.8 \pm 0.8$  e  $1.7 \pm$

0.9 ) e per le variazioni percentuali del valore T3, T11 e T14 rispetto a T0 ( 49.9%, 125.2% e 219.4% VS 1.30%, 11.34% e 3.21% )

A seguito di questo incremento reticolocitario anche l'ematocrito si incrementa in media a T11 e T14 rispetto a T0 (  $29.4 \pm 3.7$  e  $31.5 \pm 2.5$  VS  $25.8 \pm 2.9$  e  $25.7 \pm 2.6$  ) e per le variazioni percentuali del valore T11 e T14 rispetto a T0 (20.9% e 30.0% VS 7.93% e 7.62% ).

Proprio l'aumento della viscosita' del sangue che puo' determinare accidenti trombotici cardiovascolari avversi, possono rappresentare i limiti del trattamento con EPO, ma solo se si raggiungono valori elevati di Hb, superiori a 12g/dl.

Nel nostro studio abbiamo evidenziato un solo evento trombotico avverso nei casi rispetto ai controlli; mentre in letteratura Corwin et Al evidenziano un 16.5% VS 11.5% di eventi trombotici avversi, ma su un campione di 1302 pazienti rispetto pero' ai nostri dieci; invece Silver et Al. identificano una percentuale di eventi clinici avversi del 38% VS. 36% su un totale di 86 pazienti, che risulta essere non significativa, con un solo caso di trombosi nei pazienti trattati con EPO.

Altro parametro importante identificato nel nostro studio e' la diminuzione delle unita' di sangue allogenico trasfuse tra i casi e i

controllo: in media 0.4 VS. 1.6, con 4 sacche utilizzate nei casi rispetto alle 12 utilizzate nei controlli, con una diminuzione delle unita' di RBC trasfuse del 66,67%.

In accordo con i dati della letteratura, infatti Corwin. et Al. identificano una diminuzione totale del 19% di trasfusione di sangue allogenico tra casi e controlli con  $4.5\pm 4.6$  VS  $4.3\pm 4.8$  per numero di unita' trasfuse, mentre Silver un utilizzo di RBC del 31% nei casi e del 60% nei controlli e un numero di unita' di sangue allogenico trasfuse di 73 VS.113.

Questo dato e' indice di un piu' veloce raggiungimento dei parametri di emoglobina soddisfacenti e di ematocrito senza l'utilizzo di ulteriori unita' di RBC, a testimonianza del fatto che è piu' efficiente agire sui precursori eritroidi naturali che immetterne de novo.

Abbiamo dimostrato una netta diminuzione dei tempi di degenza in UTI dei pazienti trattati con EPO rispetto ai controlli, in media di 35 giorni contro 54, conseguenza del fatto che i miglioramenti del tasso di emoglobina si riflette sulla condizione di ossigenazione del paziente, sulla condizioni di ventilazione e su un miglioramento del danno d'organo e quindi sulla dimittibilita' dei pazienti, con una diminuzione dei costi di gestione sia diretti che indiretti.



Per quanto riguarda l'incidenza delle infezioni noi abbiamo valutato nei pazienti trattati con EPO rispetto ai controlli una media dello  $0.2 \pm 0.4$  VS  $0.6 \pm 0.4$ , con una differenza significativa tra i due gruppi al T test dello 0.03 ( $p \leq 0.05$ ), e una percentuale tra casi e controlli del 20% VS 60%.

Abbiamo identificato due casi di polmonite insorte durante la degenza nei pazienti con EPO contro quattro casi di polmoniti e due casi d'infezioni alle vie urinarie sempre insorte in degenza nei pazienti controllo.

Questi dati sono per cui in accordo e anzi migliorano quanto analizzato nella letteratura, per esempio nello studio di Georgopoulos. si rilevano (su un totale di 148 pazienti contro i nostri 20) 21 infezioni nosocomiali nei casi rispetto alle 26 nei controlli.

Possiamo asserire che vi e' una netta diminuzione dell'incidenza delle infezioni nei pazienti in cui si somministra EPO rispetto a coloro che sottoponiamo a trasfusioni di sangue allogenico, decremento secondario sia alla diminuzione della trasmissibilita' di agenti microbici sia a quella di agenti immuno soppressori collegati alle trasfusioni di RBC.

Infine per quanto riguarda l'incidenza di mortalità nel nostro studio, abbiamo rilevato un solo caso di decesso nel gruppo non trattato con EPO rispetto a nessun decesso nei pazienti in cui si somministra EPO.

Questo dato, anche se per l'esiguo numero di pazienti, è in linea con quanto affermato in letteratura: Silver et Al. trovano un'incidenza di mortalità tra casi e controlli del 19% VS 29%, mentre Georgopoulos et Al del 14% VS 20%.

Questo dato si può ben spiegare, come abbiamo indicato nel nostro studio, con un effetto anti-apoptotico dell'EPO che preserva le cellule dall'ipossia e dall'ischemia, con la diminuzione dei rischi cardio e cerebro vascolari secondari al danneggiamento dei globuli rossi, con una migliore ossigenazione e ventilazione del paziente sottoposto ad EPO, con una più efficace difesa e prevenzione verso gli agenti microbici, con il decremento pari a zero dei problemi connessi all'incompatibilità del sangue ed ai casi di TRALI.

In generale con un miglioramento di tutti quei fattori che possono contribuire all'aggravamento delle condizioni cliniche del paziente critico.

## **Conclusioni**

Il nostro studio è una dimostrazione di come il ruolo dell'eritropoietina nelle anemizzazioni del paziente critico non sia solo un'alternativa alla pratica trasfusionale di sangue allogenico, ma si presenti come un importante ed efficace strumento terapeutico, dotato di una sua specifica importanza verso la situazione clinica del paziente nei reparti di terapia intensiva.

I miglioramenti nel trattamento con eritropoietina negli outcomes dei pazienti rispetto a quelli trattati tradizionalmente con unità di RBC(sangue allogenico) possono essere riassunti come segue:

1. aumento concentrazione emoglobina.
2. aumento concentrazione ematocrito.
3. aumento concentrazione reticolociti.
4. diminuzione unità di globuli rossi trasfusi.

5. diminuzione degli eventi infettivi.
6. diminuzione degenza dei pazienti in UTI.
7. diminuzione dell'incidenza di mortalita'.

## **Bibliografia.**

- (1) Jellkmann W. Erythropoietin: structure, control of production and function. *Physiol. Rev* 1992; N 72: 449-89.
- (2) Carrol VA, Ashcroft M. Targeting the molecular basis for tumour hypoxia. *Expert. Rev. Mol. Med* 2005; N 7:1-16.
- (3) Verdier F. Walrafen P. Proteasomeas regulate the duration of erythropoietin receptor activation by controlling down regulation of cell surface receptors. *J. Biol. Chem.* 2000; N 275: 18375-81.
- (4) Koury MJ. Bondurant MC. Erythropoietin retards DNA breakdown and prevents programmed death in erythroid progenitor cells. *Science* 1990; N.248: 378-381
- (5) Boyer SH. Bishop TR. Roles of erythropoietin insulin-like growth factor I and unidentified serum factors in promoting maturation of purified murine erythroid colony-forming units. *Blood* 1992; N. 80: 2503-12.
- (6) Koury ST. Koury MJ. Quantitation of erythropoietin producing cells in kidneys of mice by in situ hybridisation: correlation with

ematocrit, renal erythropoietin mRNA, and serum erythropoietin concentration. *Blood* 1989; N.74: 645-51.

- (7) Morreale A. Plowman B. Clinical and economic comparison of epoietina alfa and darbepoietin alfa. *Curr. Med. Res. Opin.* 2004; N. 20: 381-95.
- (8) Skibeil V. Nissen-Lien G. Sugar profiling proves that human serum erythropoietin differs from recombinant human erythropoietin. *Blood* 2001; N. 98: 3626-34.
- (9) Witzig TF. Silberstein TT. Phase III, Randomized, Double-blind Study of Erythropoietin alfa Compared with Placebo in Anemic Patients Receiving Chemotherapy. *JCO* 2005; N. 23: 2606-17.
- (10) Gabrilov JL. Cleeland CS. Clinical evaluation of once-week dosing of erythropoietin alfa in chemotherapy patients. Improvement in haemoglobin and quality of life are similar to three-times-weekly dosing. *J. Clin. Oncol.* 2001; N.19: 2875-82.
- (11) Dammaco F. Luccarelli G. The role of recombinant human erythropoietin alpha in the treatment of chronic anemia in multiple myeloma. *Rev. Clin. Exp. Hematol.* 2002; (supp 1): 32-8.
- (12) Koury ST. Koury MJ. Quantitation of erythropoietin producing cells in kidneys of mice by in situ hybridisation: correlation with ematocrit, renal erythropoietin mRNA, and serum erythropoietin concentration. *Blood* 1989; N.74: 645-51.
- (13) Barre' P. Reichel H. Efficacy of once-weekly epoietin alfa. *Clin. Nephrol.* 2004, N. 62: 440-8.
- (14) Besarab A. e Reyes C. Meta-analysis of subcutaneous versus intravenous epoietin in maintenance treatment of anemia in hemodialysis patients. *Am. J. Kidney. Dis.* 2002; N 40: 439-36.
- (15) Valderrabano F. Horl W. Pre dialysis survey on anemia management. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2003; N 18: 89-100.

- (16) Fishbane S. Berns J. Hemoglobin cycling in hemodialysis patients treated with recombinant human erythropoietin. *Kidney. Int.* 2005; N 68:1337-43.
- (17) Goldsmith D. ASN Congress 2005, Philadelphia, USA.
- (18) Santoro A. Erythropoietin therapy and the cardiovascular treatment. *Contrib. Nephrology.* 2002, N. 137:431-5.
- (19) Corwin H. e Parsonnet H. RBC transfusion in the ICU. *Chest.* 1995; N 108:767-71.
- (20) Corwin H. e Abraham E. Anemia and blood transfusion in the critically ill: current clinical practice in the US. *Crit. Care. Med.* 2001; N 29 (suppl 12).
- (21) Von Ahsen N. Muller C. Important role of non diagnostic blood loss and blunted erythropoietic response in the anemia of medical intensive care patients. *Crit. Care. Med.* 1999; N 27:2630-39.
- (22) Sallah S. Bobzien V. Bleeding problems in patients with liver disease: ways to management the many hepatic effects on coagulation. *Postgrad Med.* 1999; N 106:187-90 193-95.
- (23) Adamson JW. *Harrison's Principles of Internal Medicine.* 16 th ed. McGraw-Hill, 2005; 586-92.
- (24) Oh RC. Brown DL. Vitamin B 12 deficiency. *Am. Fam. Physician.* 2003; N 67: 979-86.
- (25) Moliterno AR: Spivak J. Anemia of cancer. *Hematol. Oncol. Clinic. North. Am.* 1996; N 10: 345-63.
- (26) Abramson SD. Abramson N. Common e uncommon anemias. *Am. Fam. Physician.* 1999, N 59:851-858.
- (27) Dhaliwall G. Cornett P. Hemolytic anemia. *Am. Fam. Physician.* 2004; N 69: 2599-606.

- (28) Thomas MC. MacIsaac R. Anemia in patients with type I diabetes. *J. Clinic. Endocrinol. Metab.* 2004; N 89: 4359-63.
- (29) Nelson AH. Fleisher L. Relationship between postoperative anemia and cardiac comorbidity in high risk vascular patients in the intensive care unit. *Crit. Care. Med.* 1993 N 21:860-866.
- (30) Carson JL. Chen AY. In search of the transfusion trigger. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 1998; N 357: 19-29.
- (31) Van Iperen CE. Gaillard CA. Respons of erythropoiesis and iron metabolism to recombinant human erythropoietin in intensive care unit patients. *Crit. Care. Med.* 2000; N 28: 2773-2778.
- (32) Patruta SI. Horl WH. Iron and infection. *Kidney. Int. Suppl.* 1999; N 69: 125-30.
- (33) Rudis MI. Jacobi H. Managing anemia in the critically ill patient. *Pharmacotherapy.* 2004; N 24: 229-47.
- (34) US. National Blood Data Resource Center 2006
- (35) Hebert P. e Wells G. Trasfusion requirements in critical care. *Canadian. Crit. Care. Group. JAMA* 1995; N 273:1439-44.
- (36) Hebert PC. Wells G. A multicenter, randomized, controlled clinical trial of trasfusion requirements in critical care investigators Canadian. *Critical. Care. Trials. Group. NEJM* 1999; N 340: 409-17.
- (37) Carson J. Hill S. Trasfusion triggers: a systematic review of the literature. *Trasf. Med. Rev.* 2002; N 16: 187-99.
- (38) Practice guidelines for blood component therapy: a report by the American. Society. of Anesthesiologists. Task. Force. on Blood. Component. Therapy. *Anesthesiology* 1996; N 84: 732-47.
- (39) Offner PJ. Age of blood: does it make a difference? *Crit. Care.* 2004; N 8: suppl. 2 S24-6.



- (40) Spahn DR. Strategies for transfusion therapy. *Best. Pract. Res. Clinic. Anesthesiology*. 2004; N 18: 661-73.
- (41) Marik PE. e Sibbad WJ. Effect of stored blood transfusion on oxygen delivery in patients with sepsis. *JAMA* 1993; N.269:3024-9.
- (42) Rao SV. Jolls JG. Relationship of blood transfusion and clinical outcomes in patient with acute coronary syndromes. *JAMA*. 2004; N 292:1555-62.
- (43) Spahn DR. Casutt M. Eliminating blood transfusion: new aspect and prospectives. *Anesthesiology*. 2000, N 93: 242-55.
- (44) Napoletano LM. e Corwin HL. Efficacy of blood transfusion in critically ill: does age of blood make a difference ? *Crit. Care. Med*. 2004 N.32:594-95.
- (45) Goodnough LT. Risk of Blood Transfusion in Crit Care 2003; N.31: S678-86
- (46) Kleinmann S. Chan P. Risks associated with transfusion of cellular blood components in Canada. *Trasf. Med. Rev*. 2003; N 17: 120-62.
- (47) Marcucci C. Madjdpour C. Allogenic blood transfusion: risks, benefit, and clinical indications in countries with a low or high human development index. *Br Med. Bull*. 2004 ; N 70: 15-28.
- (48) Madjdpour C. Spahn D. Allogenic red blood cell transfusion: efficacy, risks, alternatives and indications. *Br. J. Anesthesiology*. 2005; N 95: 33-42.
- (49) Carson JL. Altmann DG. Risk of bacterial infections associated with allogenic blood transfusion among patients undergoing hip fracture repair. *Trasfusion* 1999, N 39: 694-700.
- (50) Hebert PC. Fergusson DA. Revisiting transfusion practice in critically ill patients. *Crit. Care. Med*. 2005; N 33: 7-12; discussion 232.

- (51)Blajchman MA. Immunomodulation and blood transfusion. Am. J. Ther. 2002; N 9: 389-95.
- (52)Patrick DA. e Moore FA. Neutrophil priming and activation in the patogenesis of postinjury multiple organ failure. New. Horiz 1996; N.4. 194-210.
- (53)The Serious Hazards of Trsfusion Annual report 2003 202003 pdf. 5<sup>th</sup> july 2004.
- (54)Kopko PM. e Holland PV. Trasfuse related acute lung injury. Br. J. Haematology. 1999; N. 105: 322-29.
- (55)Van de Watering LM. e Hermans J. Beneficial effects of leukocyt depletion of transfused blood on postoperative complication in patients undergoing cardiac surgery: a randomised clinical trial. Circulation del 1998 ; N. 97. 562-8.
- (56)Opelz G. e Kirste G. Prospective evaluation of pretrasplant blood transfusions in cadavery kidney recipients in Trasplantation del 1997; N. 63: 694-7.
- (57)Ferguson D. e Khanna Msfusion of leukoreduced red blood cells may decrease post operative infection: two meta analyses of randomised clinical trials. Circulation 1998; 97: 562-8.
- (58)Spahn DR. Strategies for Trasfuion Therapy. Best. Practice. Res. Clin. Anaesth. 2004; N. 18. 661-73.
- (59)Spahn DR. e Kocian R. Artificial O2 carriers: status in 2005. Curr. Pharm: Des. 2005.
- (60)Spahn R. e Kocian R. The place of artificial oxygen carriers in reducing allogenic blood transfusions and augmentin tissue oxygenation. Can. J. Anaesth. 2003; N 50: S41-7.
- (61)Carson JL. E Duff A. Effect of anemia and cardiovascular disease on surgical mortality and morbidity. Lancet 1996; N 348: 1055-60.

- (62) Hebert PC. e Yetisir E. Is a low trasfusion threshold safe in critically ill patients with cardiovascular diseases ? Crit. Care. Med. 2001; N. 29:227-34.
- (63) Levy PS.e Kim SJ. Limit to cardiac compensation during acute isovolemic hemodilution: influence of coronary stenosis. Am, J. Physiol. 1993; N. 265: H340-9.
- (64) Carson JL. e Noveck H. Mortalità and morbidity in patiets with very low postoperative Hb levels who decline blood trasfusion. Trasfusion 2002; N.42:812-18.
- (65) Leung J. e Weikopf R. Electrocardiographic ST-segment changes during acute, severe isovolemic hemodilution in humans. Anesthesiology 2000; N.93:1004-1010.
- (66) Vincent JL. E Baron JF. Anemia and blood trasfusion in critically ill patients. JAMA 2002; N 288: 1499-1507.
- (67) Corwin HL. E Gettiger A. Anemia and blood trasfusion in the critically ill current clinical practice in the US. Crit. Care. Med. 2004; N 32: 39-52.
- (68) Dellinger EP. E Anaya DA. Infectius and immunologic consequences of blood trasfusion. Crit. Care 2004; N 8: Suppl. 2:S 18-23.
- (69) Practice Parameters for Emodynamic Support of Sepsis in Adult Patients in Sepsi. Society of Critical Care Medicine. Crit. Care. Med. 1999; N 27: 639-660.
- (70) Popovsky MA. e Abel MD. Trasfusion Related Acute lung injury Associated with passive transfer of antileukocyte antibodies. Am. Rev. Respir. Dis. 1983; N 128:185-189
- (71) Wolf CF. e Canale VC. Fatal pulmonary hypersensitivity reaction to HL-A incompatible blood trasfusion: report of a case and review of the lilitature. Trasfusion 1976; N. 16:

- (72)Thompson JS. e Severson CD. Pulmonary hypersensitivity reaction induced by the transfusion of non-HLA leukoagglutinins. NEJM 1971; N 20: 1120-1125.
- (73)Ward Hn. Pulmonary infiltrated associated with leukoagglutinin trasfusion reaction. Ann. Intern. Med. 1970; N. 73:683-694.
- (74)Kernoff PBA. E Durrant IJ. Severe allergis pulmonary edema plasma transfusion. Br. J. Haematology. 1972; N 23: 777-781.
- (75) Carilli AD. e Ramanamurthy MV. Non-cardiogenic pulmonary edema following blood trasfusion. Chest 1978; N.74: 310-312.
- (76)Barnard RD. Indiscriminate transfusion: a critique of reports illustrating hypersensivity reactions. N. Y. State. J. Med. 1951; N.51:2399-2402.
- (77)Reese EP. e McCullough JJ. An adverse pulmonary reaction to cryoprecipitate in a hemophiliac. Trsf. 1975; N.15:583-588.
- (78)Suasuna Jh. e Da Costa MA. Non cardiogenic pulmonary edema triggered by intravenous immonoglobulin in cancer associated thrombotic thrombocytopenic purpura-emolityc uremic syndrome. Nephron. 1977; N. 77: 368-377.
- (79)Popovsky MA. e Moore SB. Diagnosi and pathogenetic considerations in trasfusion related acute lung injury.Trasfusion. 1985; N. 25: 573-577.
- (80)Kopko PM. e Marshall CS. Trasfusion related acute lung injury: report of clinical look-back investigation. JAMA. 2002; N. 287:1968-1971.
- (81)Popovsky MA. e Haley NR. Further characterization of trsfusion related acute lung injury: demographics, laboratory features and morbidity. Trasfusion. 1999; N. 39: 97.

- (82) Silliman CC. e Boshkov LK. TRALI: epidemiology and a prospective analysis of etiologic factors. *Blood* 2003; N. 101:454-462.
- (83) Ware LB. e Matthay MA. The acute respiratory di stress syndrome. *NEJM*. 2000; N.342:1334-1349.
- (84)Sazama K. Reports of 355 trasfusion-associated deaths : 1976-1985. *Tasfusion* 1990; N. 30: 583-590.
- (85)Lee JH. Trasfusion related fatalities: reports to US. FDA. 1990-1998. *ABC newsletter* 1999.
- (86) Zoon KC. Trasfusion related acute lung injury. Center for Biologics Evaluation and Research. FDA. June 2001;
- (87)Silliman CC. e Paterson AJ. The association of biologically active lipids with development of transfusion related acute lung injury: a retrospective study. *Trasfusion*. 1997; N. 37:719-726.
- (88) Ravinovici R. e Bugelsky P. ARDS-like lung injury produced by endotoxin in platelet actvating factor primed rats. *J. Appl. Physiol*. 1993, N. 74: 1791-1802.
- (89) Sauaia A. e More FA. Early predictors of post injury multiple organ failure. *Arch. Surg*. 1994; N. 129: 39-45.
- (90)Moore FA. e Moore EE. Blood trasfusion: an indipendent risk factor for post injury multiple organ failure. *Arch. Surg*. 1997; N. 132:620-625.
- (91) Leger R. e Palm S. Trasfusion related acute lung injury with leukopenic reaction caused by fresh frozen plasma containing anti-NB1. *Anaesth*. 1999, N. 91:1529-1532.
- (92) Win N. e Ranasinghe E. TRALI: a 5 years look-back study.*Trasf. Med*. 2002; N. 12. 387-389.

- (93)Kopoko PM. e Paglieroni TG. TRALI: correlation of antigen antibody and monocyte activation in donor recipient pairs. *Trasfusion* 2003; N. 43:177-184.
- (94)Davoren A. e Curtis BR. TRALI due to granulocyte-agglutinating human neutrophil antigen-3° alloantibodies in donor plasma: a report of 2 fatalities. *Trasfusion* 2003; N. 43:641-645.
- (95)Ausley MB. Fatal transfusion reaction caused by donor antibodies to recipient leucocytes. *Am. J. Forensic. Med. Pathol.* 1987; N, 8:287-290.
- (96)Yomtovian R. e Press C. Severe pulmonary hypersensitivity associated with passive transfusion of a neutrophil specific antibody. *Lancet* 1984, N. 22. 244-246.
- (97) Levy GJ. e Shabot MN. Trasfusion associated non cardiogenic pulmonary edema: report of a case and a warning regarding treatment. *Trasfusion* 1986; N. 26:278-281.
- (98)ARDS network. Ventilation with lower tidal volumes as compared with traditional tidal volumes for acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome: The Acute. Respiratory. Distress. Syndrome. Network. In *NEJM*. 2000; N.342: 1301-308.
- (99)Vincent JL. E Baron JF. Anemia and blood trasfusion in critically ill patients. *JAMA* 2002; N 288: 1499-1507.
- (100)Corwin HL. e Gettinger A. Efficacy and Safety Epoietin Alpha in Critically Ill Patients. *N. Engl. J. of Med.* 2007;N 357:965-976.
- (101)Coleman T. e Brines m. Recombinant human erythropoietin in critical illness: a role beyond anemia ? *Crit. Care.* 2004;N 8: 337-341.
- (102)Maiese K. e Li F. New avenous of exploration for erythropoietin. *JAMA* 2005; N 293:90-95.

- (103) Brines M. e Cerani A. Discovering erythropoietin's extra haematopoietic functions: biologic and clinical promise. *Kidney. Int.* 2006; N 70: 246-250.
- (104) Krafte-Jacobs. B. e Lewetown ML. Erythropoietin respons to critical illness. *Crit. Care. Med.* 1994; 22: 821-826.
- (105) Jelkman W. Erythropoietin: structure, control of production, and function. *Physiol.Rev.*1992; N 72: 449-489.
- (106) Erslev AJ. e Caro J. Plasma and erythropoietin in health and disease. *Ann. Clin. Lab. Sci.* 1980; N 10: 250-257.
- (107) Eschbach JW e Detter JC. Physiologic studies in normal and uremi sheep. *Kidney. Int.Suppl.* 1980; N 18: 732-745.
- (108) Steinberg SE. e Garcia JF. Erythropoietin kinetics in rats: generation and clearance. *Blood* 1986; N 67: 646-649.
- (109) Wesley JR. Nutrient metabolism in relation to the systemic stress respons. *Pediatric. Critical. Care.* 1992;775-774.
- (110) Gabrilove JL.e Cleeland CS. Clinical evaluation of once-weekly dosing of epoetin alpha: improvements and haemoglobin and quality of life are similar to three-times weekly dosing. *J.C.Onc.*2001 ; N 19 : 22875-2882.
- (111) Silver M. e Corwin J. Efficacy of recombinant human erythropoietin in critically ill patients admitted to a long term acute care facility: A randomised, double-blind, placebo controlled trial. *Crit. Care. Med.* 2006; N 34: 2310-2316.
- (112) Corwin H. e Gettinger A. Efficacy of Recombinant Human Erythropoietin in Critically Ill Patients: a randomised controlled trial. *JAMA* 2002; 288 N 22: 2827-2835.
- (113) Dammaco F. e Luccarelli G. The role of the recombinant human erythropoietin alpha in the treatment of chronic anemia in multiple myeloma, *Rev. Clin. Exp. Hematol.* 2002; (Suppl.1): 32-8.

- (114)Georgopoulos. D. e Matamis D. Recombinant human erythropoietin therapy in critically ill patients: a dose response study. Crit. Care. 2005; N 9: 508-515.
- (115)Congresso Societa' Italiana di Nfrologia 2004.
- (116)Eschback JW. E Abdulhadi MH. Recombinant human erythropoietin in anemic patients with end-stage renal disease. Results of a phase III multicenter trial. Ann. Int. Med. 1989; N 111:992-1000.
- (117)WinearlsCG. E Oliver DO. Effect of human erythropoietin derived from recombinant DNA on the anemia of patients maintained by chronic haemodialysis. Lancet 1986; N 2: 1175-1178.
- (118)MacDougall IC. e Lewis NP. Long term cardiorespiratory effects of amelioration of renal anemia by erithropoietin. Lancet. 1990; N 335: 489-493.
- (119)Deniston OL. e Luscombe FA. Effect of long term epoietin beta therapy on the quality of life of hemodialisys patients. ASAIO. Trans.1990; N 36: M157-160.



