



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PISA
Facolta' di Medicina e Chirurgia
*Scuola di Specializzazione Anestesia, Rianimazione e Terapia
Intensiva*
Direttore Prof. Francesco Giunta

Tesi di Specializzazione:
“Confronto degli effetti sulla coagulazione e sulla funzione
renale delle Gelatine e del Ringer Lattato in cardiocirurgia”

Candidato
Dott.ssa Elisabetta Macchia

Relatore
Dott. Paolo Del Sarto
Dott.ssa Dorela Haxhiademi

INDICE

I.RIASSUNTO	pag. 3
II.INTRODUZIONE	pag. 5
II a. CARATTERISTICHE di COLLOIDI-GELATINE- CRISTALLOIDI	pag. 6
II b. EMOSTASI	pag. 18
II c. PRINCIPI del ROTEM	pag. 23
II d. CARATTERISTICHE del BYPASS CUORE POLMONI	pag. 30
II e. GESTIONE della COAGULAZIONE durante CEC	pag. 38
II f. ACUTE KIDNEY INJURY (AKI) e MARACTORI PREDITTIVI di AKI	pag. 41
III. STUDIO CLINICO	pag. 47
III a. MATERIALI e METODI	pag. 47
III b. RISULATATI	pag. 52
IV. DISCUSSIONE	pag. 60
V. BIBLIORAFIA	pag. 69

RIASSUNTO

Background

I colloidi vengono usati abitualmente per la composizione del *priming* per la Circolazione Extracorporea in cardiocirurgia. Nell'ottobre 2013 la Commissione Europea ha decretato il ritiro dal commercio degli HES per i loro impatti negativi sia sulla coagulazione (alterazione del test della coagulazione e aumentato rischio di sanguinamento post-chirurgico) che sulla funzione renale (aumentato rischio di disfunzione renale e di necessità di terapia renale sostitutiva). Da allora l'unico colloide sintetico disponibile è il Gelofusine, un colloide già presente sul mercato da oltre 60 anni ma su cui a tutt'oggi esistono pochi studi che ne abbiano valutato gli effetti sulla coagulazione e sulla funzione renale.

Obiettivo

L'obiettivo del nostro studio è stato quello di valutare gli effetti sull'assetto coagulativo e sulla funzione renale del colloide Gelofusine usato nella composizione del *priming* per la circolazione extracorporea (CEC) in cardiocirurgia.

Metodi e Risultati

35 pazienti sottoposti ad intervento di cardiocirurgia sono stati assegnati in modo randomizzato al gruppo Gelofusine (18 pazienti) o al gruppo Ringer Lattato (RL - 17 pazienti) usati come soluzione di *priming* per la CEC. La coagulazione è stata studiata mediante il test visco-elastico su sangue intero ROTEM (Rotational Thromboelastometry). Sono stati eseguiti tre prelievi ematici: basale (all'ingresso in sala operatoria), dopo due ore di CEC e all'ingresso in UTI. L'impatto sulla funzione renale è stato studiato mediante il nuovo biomarcatore del danno renale Neutrophyl Gelatinase – Associated Lipocalin (NGAL). L'NGAL urinario è stato testato al tempo basale, dopo due ore di CEC, all'ingresso in UTI, e poi 2, 6, 12 ore dopo l'ingresso in UTI. Per completare lo studio della funzione renale inoltre sono stati misurati la creatinina e la cistatina C sieriche sia basali che dopo 12, 24, 48 e 72 ore dall'ingresso in UTI.

I dati sono stati esaminati per la distribuzione normale secondo il test di Kolmogorov-Smirnov. Non esistevano differenze significative nei due gruppi riguardo le caratteristiche demografiche, emodinamiche e delle variabili peri-operatorie.

I parametri ROTEM analizzati sono stati: Clotting Time (CT), Clot Formation Time (CFT), angolo α , A10, Maximum Clot Firmness (MCF) e Maximum Lysis (ML). Sono stati eseguiti i test INTEM, EXTEM, FIBTEM e HEPTTEM. L'analisi di varianza (ANOVA) ha dimostrato una differenza significativa tra FIBTEM(HS)MCF (13.33 ± 2.78 nel gruppo Gelofusine vs 15.70 ± 3.83 nel gruppo RL, $p = 0.04$) e FIBTEM(HS) A10 (11.44 ± 2.14 nel gruppo Gelofusine vs 13.70 ± 3.53 nel gruppo RL, $p = 0.026$).

L'analisi di varianza (ANOVA) ha mostrato la presenza di una differenza significativa tra l'NGAL urinario dopo 2 ore di CEC (27.6 ± 29.1 ng/mL nel gruppo Gelofusine vs 13 ± 14.2 nel gruppo RL, $p = 0.019$), e

all'arrivo in UTI (548.2 ± 858 ng/mL nel gruppo Gelofusine vs $71,6 \pm 119$ nel gruppo RL, $p= 0,029$). Non sono stati evidenziati differenze significative della creatinina e cistatina C sierica tra i 2 gruppi.

Conclusioni

L'esposizione a Gelofusine si è visto essere associata a valori statisticamente inferiori del FIBTEM(HS)MCF e FIBTEM(HS)A10. Questo dato indica una ridotta partecipazione del fibrinogeno nella formazione del coagulo. Ulteriori studi con maggior numero di pazienti e l'integrazione di altre metodiche per lo studio della coagulazione sono necessari per confermare questi dati e capire il meccanismo responsabile.

Per quanto riguarda la funzione renale l'esposizione a Gelofusine si è visto essere associata a valori staticamente superiori di NGAL urinario nei prelievi eseguiti dopo due ore di circolazione extracorporea e all'ingresso in terapia intensiva. Questi risultati suggeriscono un coinvolgimento del Gelofusine nello sviluppo del danno renale perioperatorio. Ulteriori studi sono necessari per chiarire il significato clinico di questo incremento.

INTRODUZIONE

In data 28 giugno 2013 l'AIFA (Agenzia Italiana del Farmaco) ha disposto a scopo cautelativo il " divieto di utilizzo" per tutti i medicinali per l'uso infusionale contenenti amido idrossietilico, i c.d. HES (quindi Voluven, Volulyte, Tetraspan, Plasmavolume etc) in attesa della decisione della Commissione Europea legalmente vincolante in tutta EU. Sulla base di vari studi randomizzati controllati eseguiti su pazienti critici, principalmente settici, che ponevano a confronto cristalloidi versus colloidi i cui risultati hanno dimostrato un maggior rischio di eventi avversi renali (aumentato rischio di disfunzione renale e di necessità di terapia renale sostitutiva) e di alterazioni della coagulazione (allungamento del tempo di protrombina, riduzione della conta piastrinica e dell'ematocrito ed un aumentato rischio di sanguinamento precoce post-chirurgico che richiedeva maggiori dosi di agenti emostatici per essere arrestato) nei pz critici trattati con HES oltre che un maggior rischio di mortalità nel caso di pz settici trattati con HES (1,2), l'Agenzia Europea dei Medicinali (EMA) ha avviato una rivalutazione sulla sicurezza di tutti i prodotti contenenti HES sul mercato UE. Nel giugno 2013 il Comitato dei Rischi per la farmacovigilanza dell'EMA (PRAC) ha espresso la raccomandazione che i benefici delle soluzioni contenenti HES non superano più i rischi e che i prodotti contenenti HES devono essere sospesi dal mercato UE. Da allora il PRAC ha analizzato e considerato nuove evidenze , nuovi studi e nuove proposte per misure aggiuntive di minimizzazione del rischio e nello scorso ottobre 2013 la Commissione Europea ha adottato come decisione legalmente vincolante in tutta l'UE che:

1. I prodotti contenenti HES devono essere usati solo per il trattamento dell'ipovolemia causata da emorragia acuta quando i cristalloidi da soli non sono considerati sufficienti e che devono essere usati alla più bassa dose efficace per il più breve periodo di tempo, quindi il trattamento deve essere guidato dal continuo monitoraggio emodinamico in modo da poter stoppare l'infusione una volta raggiunti adeguati valori emodinamici.

2. I prodotti contenenti HES sono controindicati nelle seguenti condizioni: sepsi, ustioni, insufficienza renale o terapia renale sostitutiva, funzionalità epatica gravemente compromessa, coagulopatia grave, emorragia intracranica o cerebrale, insufficienza cardiaca congestizia, pazienti critici (tipicamente ricoverati in UTI), pz disidratati, grave iponatriemia o grave ipercloremia, iperkaliemia (applicabile solo ai prodotti contenenti potassio).

Dopo il ritiro dal commercio degli HES come colloidi per i suoi impatti negativi sia sulla emostasi vascolare che sulla funzione renale (nota informativa concordata EMA-AIFA) in CCH ci siamo trovati di fronte ad un bivio dal momento che quasi tutti i pazienti sottoposti ad intervento cardiocirurgico vanno incontro ad un periodo di circolazione extra corporea e che la pompa cuore polmoni prevede un *prime* generalmente costituito per 1/3 da colloide e per il resto da cristalloidi. Il bivio consisteva nel dover scegliere come comporre la soluzione del *prime* ossia se fare un *prime* solo con cristalloidi , nel caso specifico RL, o farne uno misto cristalloidi-colloidi ed in tal caso scegliere come colloide il Gelofusine, un colloide già presente sul mercato da oltre 60 anni ma su cui a tutt'oggi non esistono studi che ne abbiano valutato gli effetti sulla

coagulazione e sulla funzione renale.

Questo studio si è posto come obiettivo proprio quello di mettere i due tipi di *prime* a confronto (*prime* costituito esclusivamente da cristalloidi versus *prime* costituito da cristalloidi e colloidali) valutando sia l'assetto coagulativo tramite i POC (Point-of-Care) e i parametri classici della coagulazione che la funzione renale tramite Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin (NGAL), Cistatina C (CysC) e creatinina, sia urinari che plasmatici, su un gruppo di 35 pazienti randomizzati riguardo il tipo di *prime* a cui venivano sottoposti.

II a. CARATTERISTICHE di COLLOIDI-GELATINE- CRISTALLOIDI

ASPETTI CLINICI

Il reintegro volêmico e la sostituzione di parte del volume ematico sono interventi fondamentali in molteplici e diverse situazioni cliniche. La necessità di sostituire parte del volume ematico può essere dovuta ad una *perdita reale di plasma o sangue* (emorragia post-traumatica o sanguinamento in corso di intervento chirurgico), ma anche ad una *ipovolemia relativa* indotta da una vasodilatazione patologica quale quella che si verifica in corso di sepsi o ustioni (a causa della alterata permeabilità capillare con conseguente stravasamento di volume plasmatico nel compartimento extra-vascolare) o semplicemente ad una vasodilatazione iatrogena quale la vasoplegia dovuta ad un blocco anestetico centrale (anestesia spinale o peridurale nella parto-analgesia, in chirurgia ortopedica o semplicemente a scopo antalgico negli interventi di chirurgia maggiore addominale o toracico). In tutti questi casi la rianimazione fluidica è il trattamento di prima linea. La prima scelta che il clinico si trova a fare è tra colloidali e cristalloidi. Le soluzioni colloidali sono ampiamente usate nella rianimazione dei pazienti critici essendo state raccomandate in numerose linee guida e in numerosi algoritmi di trattamento rianimatorio in terapia intensiva.

I CRISTALLOIDI sono soluzioni elettrolitiche costituite da piccole molecole che possono diffondere liberamente nello spazio extracellulare. Il principale costituente dei cristalloidi è il sale inorganico cloruro di sodio (NaCl). Il sodio è il soluto più abbondante nei fluidi extracellulari dove è distribuito uniformemente. Dal momento che il 75-80% dei fluidi extracellulari si trova nello spazio interstiziale qui si riscontra la stessa percentuale di sodio. Dopo somministrazione endovenosa il sodio segue la stessa distribuzione ossia il 75-80% del volume delle soluzioni di NaCl (soluzione fisiologica) somministrate si distribuisce nello spazio interstiziale. Per cui quando vengono usati i cristalloidi per il reintegro del volume ematico l'effetto predominante del trattamento rianimatorio consiste nell'espansione del volume interstiziale piuttosto che di quello plasmatico. I cristalloidi somministrati infatti si distribuiscono per i 3/4 nello spazio extracellulare, per effetto sia della permeabilità capillare che della legge di Starling, e per il restante 1/4 nello spazio endo-

vascolare come effettivo reintegro del volume ematico. Ne consegue che l'espansione dello spazio extracellulare costituisce l'effetto collaterale più indesiderato di un carico volumetrico di cristalloidi.

I cristalloidi comprendono diverse soluzioni tra cui: NaCl 0,9% o SOLUZIONE FIOLOGICA ISOTONICA; soluzioni di RINGER LATTATO, e i c.d. LIQUIDI a pH NORMALE che sono di tre tipi: Normosol, Isolyte e Plasma-lyte ossia cristalloidi tamponati con acetato o gluconato per ottenere un pH di 7.4 tutti contenenti potassio (5 mEq/l) e magnesio (3 mEq/l).

Il prototipo dei cristalloidi è la soluzione di cloruro di sodio allo 0,9% chiamata anche soluzione fisiologica isotonica, caratterizzata da una concentrazione di Na e di Cl maggiore di quelle plasmatiche (154 mEq/l di Na contro 140 mEq/l del plasma e 154 mEq/l di Cl contro 103 mEq/l del plasma) ed una osmolalità leggermente più alta (308 versus 290 mOsm/l del plasma). La diversa concentrazione di cloro può determinare uno squilibrio acido-base ed in particolare un'acidosi metabolica ipercloremica che si può verificare in seguito alla somministrazione di grandi quantità di SF (infusioni a 30 ml/kg/h per molte ore possono causare una caduta del pH sierico da 7.41 a 7.28) (3).

Il Ringer Lattato (RL), introdotto da Sydney Ringer nel 1880, è una soluzione contenente calcio e potassio diluiti con una soluzione di NaCl, che è stata pensata per promuovere la contrazione di cuori isolati di rana. Questa soluzione ha progressivamente guadagnato popolarità come fluido per somministrazione endovenosa finché negli anni trenta un pediatra americano, Alexis Hartmann propose l'aggiunta di lattato di sodio alla soluzione di Ringer per fornire un tampone da usare nel trattamento dell'acidosi metabolica con la conseguenza che la soluzione di Ringer Lattato, anche nota come soluzione di Hartmann, ha poi soppiantato la soluzione di Ringer standard per la terapia endovenosa di routine. Il RL contiene potassio e calcio in concentrazioni che si avvicinano alle concentrazioni ioniche libere nel plasma (4 mEq/l di K come il plasma e 3 mEq/l di Ca versus i 5 mEq/l del plasma). L'aggiunta di questi cationi richiede una riduzione della concentrazione di Na per garantire la neutralità elettrica, quindi il RL ha una concentrazione di Na inferiore sia alla S.F. isotonica (130 mEq/l RL versus i 154 mEq/l della S.F.) che al plasma (130mEq/l del RL vs 140mEq/l plasma). Allo stesso modo l'aggiunta di lattato (28mEq/l) nel RL richiede una riduzione della concentrazione di Cloro per cui le concentrazioni di Cl di RL sono più vicine a quelle plasmatiche rispetto a quelle della S.F. isotonica (109mEq/l in RL vs 103 mEq/l del plasma vs 154mEq/l della SF). Questo elimina il rischio di acidosi metabolica ipercloremica dopo infusione anche di elevati volumi di RL. Di contro il calcio contenuto nel RL si può legare ad alcuni farmaci riducendone la biodisponibilità e l'efficacia (acido aminocapronico, ampicillina e amfotericina, tiopentone) così come può legare il citrato, l'anticoagulante usato nei prodotti ematici, inattivandolo e promuovere quindi la formazione di coaguli nel sangue del donatore. per questo motivo l'American Association of Blood Banks ha dichiarato che il RL è controindicato come diluente per le trasfusioni di sangue sebbene la formazione dei coaguli non si verifichi se il volume di RL resta <50% del volume delle sacche di GRC (4). Allo stesso modo l'alta concentrazione di lattato nelle soluzioni di RL (28mEq/l) potrebbe creare il rischio di iperlattacidemia dopo infusioni di elevati volumi non

tanto nei pazienti sani quanto nei pazienti critici con alterazioni della clearance dei lattati conseguente a shock cardiocircolatorio o ad insufficienza epatica. In realtà si è visto che questo non avviene in quanto solo il 25% dei cristalloidi resta nel compartimento vascolare per cui l'impatto del RL sulle concentrazioni sieriche dei lattati non appare rilevante neppure nei pazienti con clearance compromessa (5). Il fatto che l'infusione di cristalloidi abbia come effetto prevalente l'espansione del compartimento extravascolare ha costituito il razionale per il reintegro del volume ematico con i colloidi.

I COLLOIDI sono, infatti, più efficaci rispetto ai cristalloidi nell'espandere il volume plasmatico. I colloidi sono sostanze omogenee non cristalline consistenti in grosse molecole o in particelle ultramicroscopiche di una sostanza disperse in un secondo mezzo fluido. Queste particelle non possono venire separate dall'ordinaria filtrazione o centrifugazione, sono scarsamente diffusibili e quindi restano principalmente nel compartimento intravascolare creando così un gradiente colloid-osmotico che trattiene l'acqua e i fluidi somministrati all'interno dello spazio vascolare. Questa caratteristica fisiologica è alla base degli effetti dei colloidi ma può essere compromessa in situazioni quali la sepsi e gli insulti termici, ustioni, in quanto l'esteso danno della membrana capillare può consentire un aumentato stravasamento delle macromolecole colloidali motivo, per cui la conseguente distribuzione dei colloidi è difficilmente prevedibile, soprattutto nei pazienti critici (6). Si distinguono due gruppi fondamentali di colloidi per uso umano: colloidi naturali e colloidi semisintetici. I colloidi umani comprendono l'albumina umana, le proteine frazionate del sangue, il plasma fresco congelato e le soluzioni di immunoglobuline, ossia tutti prodotti derivanti dal plasma umano. I colloidi semisintetici sono rappresentati dai derivati di tre principali gruppi di molecole: le gelatine, i destrani e gli amidi idrossietilici.

I colloidi possono essere descritti in base al loro peso molecolare (PM) che è proporzionale alle dimensioni delle molecole e soprattutto è direttamente correlato alle loro proprietà farmacocinetiche: piccole particelle con basso PM esercitano un effetto oncotico maggiore e, per un determinato numero di molecole, avranno una viscosità minore rispetto alle molecole più grandi; di contro, le molecole più grandi hanno una più breve permanenza nel compartimento intravascolare prima di venir filtrate dal glomerulo o di essere disperse nell'interstizio. Le molecole più grandi sono trattenute nello spazio intravascolare più a lungo ma, essendo di numero inferiore, esercitano una pressione oncotica minore attraverso la membrana semipermeabile dell'endotelio e quindi hanno un minor effetto sull'espansione volumetrica. Quindi i colloidi differiscono nella capacità di espandere il volume del plasma in funzione della pressione colloid-osmotica di ciascun fluido: i fluidi a maggior pressione colloid osmotica determinano una maggiore espansione del volume plasmatico. Inoltre se il liquido infuso ha una pressione colloid-osmotica superiore a quella del plasma (ossia > 25 mmHg) l'espansione del volume plasmatico può superare il volume del liquido infuso. Questo fenomeno appare più evidente per l'albumina 25% che ha una pressione oncotica di 70 mmHg (da 3 a 4 volte maggiore del plasma) e produce un aumento del volume plasmatico di 3-4 volte maggiore rispetto al volume infuso, rispetto per esempio al destrano-40 10% che ha una pressione oncotica

di 40 mmHg e determina un aumento del volume plasmatico di 1-1.5 volte maggiore rispetto a quello infuso, e contro l'HES 6% che con una pressione colloidale di 30 mmHg determina una espansione volumica di 1-1.3 volte maggiore rispetto al volume somministrato (7). Le molecole colloidali hanno raramente una misura uniforme. Quelle che contengono molecole di misura uniforme sono detti colloidali monodispersi, es. il principio dell'albumina in cui più del 95% delle particelle hanno un PM uniforme di 69 kDa; al contrario, i colloidali semisintetici vengono definiti come polidispersi mostrando una più larga distribuzione del PM delle particelle.

L'ALBUMINA è una proteina abbondante e versatile che viene sintetizzata dal fegato ad una media di 10 g/die. La concentrazione di albumina media nell'adulto è circa 5 volte più elevata nel plasma (circa 50 g/l) rispetto al liquido interstiziale (circa 10 g/l). L'albumina è la principale proteina di trasporto del sangue ed è responsabile del 75% della pressione colloidale osmotica plasmatica. Le soluzioni di albumina derivano da preparazioni di albumina sierica umana trattate con calore e sono disponibili come soluzioni al 5% (50 g/l) e al 25% (250 g/l) diluite in salina isotonica. La soluzione di albumina al 5% ha una concentrazione di albumina pari a 50 g/l ed una pressione oncologica di 20 mmHg, quindi entrambe molto simili a quella plasmatica. L'infusione di albumina 5% viene eseguita usando un volume di 250 ml, generalmente utilizzando RL come diluente, e circa il 70% del volume infuso rimane in circolo solo per le prime ore dopo l'infusione quindi l'aumento del volume plasmatico si esaurisce rapidamente e l'effetto si esaurisce dopo solo 12 ore. La soluzione di albumina al 25% invece è un fluido non fisiologico ed ipertonico, perché presenta una concentrazione di albumina di 250 g/l ed una pressione oncologica di 70 mmHg, in confronto ai valori plasmatici che sono 35-58 g/l di concentrazione e di 25 mmHg di pressione oncologica, rispettivamente. Questa soluzione si somministra in quantità di 50-100 ml e, dopo la sua rapida infusione, il volume plasmatico aumenta da 3 a 4 volte rispetto al volume infuso. L'effetto dell'infusione di questa preparazione di albumina è legato allo spostamento di liquido dallo spazio interstiziale a quello intravascolare; quindi l'infusione di albumina al 25% non reintegra il volume perso, ma semplicemente sposta i liquidi corporei da un compartimento all'altro. Ne consegue che l'albumina al 25% non deve essere usata come terapia di rimpiazzo volumico in caso di sanguinamento acuto o disidratazione ma va riservata solo ai pazienti con ipovolemia relativa ossia ipovolemia da spostamento dei liquidi nello spazio interstiziale che è di solito dovuto a grave ipoalbuminemia. Questa peraltro è una caratteristica che accomuna tutti i colloidali (8).

Le GELATINE MODIFICATE sono colloidali derivati dalle gelatine animali, bovine, composte prevalentemente da collagene denaturato al calore. Le gelatine più comunemente usate sono forme contenenti gelatine legate all'urea, poligeline e Haemaccel 3.5%, o contenenti gelatine succinilate, come la preparazione Gelofusine 4%. Le gelatine succinilate sono prodotte per alterazione enzimatica del peptide gelatina basale da parte di anidrasi acida succinica che rimpiazza un gruppo NH_3 con un gruppo COO^- . Questo determina una modificazione conformazionale che aumenta le dimensioni della molecola senza modificarne il PM. Gelofusine si presenta in una soluzione *carrier* con sodio (154 mmol) e cloro (120 mmol). Le gelatine legate

all'urea sono prodotte dalla degradazione termica del materiale grezzo in piccoli peptidi di 12-15 KDa seguite dal legame con l'urea tramite diisocianato con il risultato di un polimero di circa 35 KDa. La catena ramificata determina un aumento del PM e quindi della ritenzione intravascolare senza un significativo aumento della viscosità. La gelatina legata all'urea più usata è l'Haemaccel che si presenta in una soluzione salina isotonica con l'aggiunta di potassio (5.1 mmol/l) e calcio (6.25 mmol/l). Le gelatine sono molecole polidisperse e oltre il 75% delle molecole sembrano essere più piccole della soglia renale di 30 KDa. Il grande numero di piccole molecole esercita un effetto osmotico iniziale potente, ma le molecole con PM < 15 KDa hanno un clearance simile a quella della creatinina per cui vengono rapidamente eliminate dallo spazio intravascolare con una emivita media di 3.5-4 ore. La loro eliminazione può essere ancora più rapida in caso di sepsi in seguito al danno dell'endotelio capillare. Ci possono essere dei benefici in questa loro rapida eliminazione, ossia che dopo la filtrazione glomerulare possono agire come diuretici osmotici e comparire nelle urine per il 60% nelle prime 24 ore. D'altra parte c'è la preoccupazione che una variante della malattia di Creutzfeld-Jacob possa essere trasmessa con le gelatine sebbene non ne esistano casi noti e le gelatine vengano prodotte da bovini sani certificati (9). Le gelatine sono tra i colloidi che influenzano meno l'emostasi clinicamente ed hanno un impatto minimo sulle variabili tromboelastografiche in vitro. Ci sono riscontri contrastanti sugli effetti delle gelatine sull'emostasi quando usate nel setting perioperatorio: alcuni studi mostrano una ipercoagulabilità nei pazienti reintegrati con gelatine rispetto a quelli reintegrati con albumina ed HES (10), mentre altri studi mostrano una ridotta consistenza del coagulo dopo ampia infusione di gelatine con conseguente diluizione del sangue (minore rete di fibrina), se paragonato con sangue diluito con soluzione fisiologica 0.9% (11).

I DESTRANI sono derivati da lunghi polimeri di molecole di glucosio legate tra loro con legame α -1,6 glicosidico (con un PM variabile da 3 a 2000 kDa), che possono anche essere prodotti da batteri, come *Leuconostic mesenteroides* e *Streptococcus mutans*. Gli attuali destrani sono il 10% destrano 40, con un PM 40 KDa e il 6% destrano 70 con un PM di 70 KDa. Sono generalmente sciolti in destrosio 5% o salina 0.9%. I destrani sono colloidali polidispersi con circa il 90% delle molecole di destrano 40 avente PM tra 10 e 80 KDa. Poiché la soglia renale per i destrani è calcolata tra i 50 e i 55 KDa per cui circa il 70% della dose somministrata sarà escreta nelle urine entro le 24 ore. I destrani di PM < 60KDa aumentano il flusso ematico periferico attraverso disaggregazione dei globuli rossi e riduzione della viscosità. Ricoprono sia l'endotelio che le cellule ematiche con conseguente loro ridotta interazione. Inibiscono l'aggregazione piastrinica, riducono l'attività del fattore VIII inibendo la formazione del complesso fattore VIII/fattore di von Willebrand, aumentano l'attivazione del plasminogeno e la fibrinolisi. Ne consegue una minor forza del coagulo e un'alterazione dell'attività piastrinica con conseguente aumento del tempo di sanguinamento dose-correlato. L'altro motivo della scarsa diffusione dei destrani è l'insufficienza renale acuta che sembra essere conseguente ad uno stato iperoncotico con ridotta pressione di filtrazione, ed infine un loro potenziale allergenico (12). Gli AMIDI IDROSSIETILICI (HES) sono polimeri dell'amido di patata o di mais,

amilopeptine, modificati chimicamente dalla sostituzione di radicali idrossilici (-OH) presenti in posizione C2, C3 e C6 delle singole molecole di glucosio da parte di radicali idrossietilici e sono caratterizzati da quattro parametri che ne contraddistinguono le caratteristiche farmacocinetiche e permettono di classificarli, che sono rispettivamente : a) il peso molecolare medio delle molecole di amido (da 70 KDa, basso PM, a 200 KDa, medio PM, fino a 670 KDa, alto PM); b) il grado di sostituzione dei radicali -OH delle singole molecole di glucosio, che varia da 0.4 (tetra-starch) a 0.7 (heta-starch); c) il rapporto C2/C6 che caratterizza il tipo di sostituzione (la sostituzione può avvenire solo in posizione 2,3 o 6); d) la concentrazione (generalmente dal 6% al 10%). La sostituzione dei radicali -OH favorisce la formazione di una pellicola di acqua, mentre il numero di sostituzioni è positivamente correlato con la solubilità della molecola. La posizione preferita per la sostituzione nell'anello di glucosio è C2 con la possibilità di ulteriori sostituzioni in C3 e C6. L'aumentato rapporto di sostituzione C2/C6 determina un minor grado di degradazione degli HES da parte delle α -amilasi ematiche con conseguente maggiore persistenza degli HES nel sangue e quindi una loro maggiore efficacia come plasma expanders. L'escrezione degli HES è un processo bifasico: prima le molecole circolanti di amido vengono idrolizzate da parte delle amilasi ematiche, che le scindono in frammenti più piccoli, e, dopo che tale scissione ha portato alla formazione di frammenti < 50KDa di PM, questi ultimi sono eliminati per via renale. L'uso degli HES è stato associato a diversi problemi: 1) essi alterano l'emostasi in modo dose-dipendente riducendo i livelli di fattore VIII e creano alterazioni simili alla malattia di von Willebrand; 2) essi possono persistere nell'organismo per periodi molto lunghi, soprattutto nel sistema reticolo-endoteliale; 3) queste soluzioni possono alterare la funzione renale, probabilmente come conseguenza dello sviluppo di un danno nefrosico osmotico (13). Tutto questo ha portato a una rivisitazione critica e sistematica dell'uso e delle indicazioni dei colloidali e dei cristalloidi in varie situazioni cliniche, utilizzando soprattutto un'attenta revisione della letteratura riguardo al rapporto rischi-benefici della somministrazione delle diverse soluzioni, usate per il reintegro volêmico nelle manovre rianimatorie in pazienti critici.

Le linee guida dello US Hospital Consortium raccomandavano l'uso dei colloidali nello shock emorragico come terapia di prima linea in attesa della disponibilità di prodotti ematici e nello shock non emorragico come terapia di seconda linea dopo una iniziale infusione di cristalloidi, ma nel 1995 un esame di vari ospedali universitari americani evidenziò come l'uso dei colloidali venisse in realtà fatto in modo eccessivo rispetto a quanto indicato dalle linee guida, sia negli USA che in Australia, con considerevoli implicazioni economiche. Diversi studi clinici hanno evidenziato che colloidali e cristalloidi hanno effetti diversi su vari parametri fisiologici per cui nel 2012 la Cochrane Collaboration ha fatto una *review* sistematica al fine di evidenziare e sintetizzare tutti gli effetti inconfutabili sulla mortalità nei pazienti critici di un reintegro volêmico eseguito con colloidali rispetto a quello fatto con cristalloidi. La *review* includeva studi in cui i pazienti sono stati randomizzati in due gruppi di trattamento, colloidali versus cristalloidi, che includevano pazienti (con l'esclusione di neonati e gravide) che richiedevano un reintegro volêmico per condizioni cliniche critiche

conseguenti a trauma, ustioni, chirurgia maggiore e sepsi. I colloidi presi in esame erano destrano 70, HES, gelatine modificate, albumina (includendo solo i *trials* in cui l'albumina veniva somministrata sulla base della pressione oncotica e non come supplemento nutritivo) mentre i cristalloidi comprendevano soluzioni isotoniche ed ipertoniche. La *review* è stata poi stratificata in modo da esaminare i diversi tipi di colloidi prendendo in considerazione le loro diverse caratteristiche biochimiche, in particolare il peso e quindi il conseguente diverso trattenimento all'interno del compartimento vascolare delle diverse molecole (es. HES ad alto peso molecolare sono trattenuti più facilmente nel compartimento vascolare rispetto ad albumina e gelatine modificate con conseguenti effetti favorevoli sulla mortalità come osservato da Gosling) e quindi il loro diverso effetto sulla mortalità.

L'esito di questa meta-analisi è che :

1. a tutt'oggi non c'è alcuna evidenza che i colloidi siano superiori ai cristalloidi nel trattamento del reintegro di volume intravascolare nella rianimazione di pazienti critici. In particolare il trial SAFE (Saline versus Albumin Fluid Evaluation, in cui le due soluzioni sono state usate con rapporto approssimativo albumina:salina=1:1.4) ha evidenziato come non esista nessun vantaggio clinico dall'uso dell'albumina rispetto alla soluzione salina per cui il suo uso in questo contesto clinico non è giustificato, considerando inoltre che l'albumina, in quanto prodotto di derivazione umana ha intrinseco un rischio infettivo teorico.
2. Ha inoltre ridimensionato, sulla base di deduzioni pato-fisiologiche, la convinzione che per ottenere gli stessi effetti rianimatori debbano essere somministrati ampi volumi di cristalloidi contro volumi molto minori di colloidi.

Occorrono ulteriori studi per sottogruppi specifici di pazienti per identificare coloro che possano beneficiare dell'uso dei colloidi piuttosto che dei cristalloidi (14).

La European Medicine Agency l'11 novembre 2013 ha pubblicato un rapporto di valutazione riguardante le soluzioni contenenti idrossietil-amidi (HES) sulla base dei dati analizzati dal Pharmacovigilance Risk Assessment Committee (PRAC) al fine di rendere pubbliche le misure che ne regolano le raccomandazioni di somministrazione, procedura che va sotto il nome di "delibera numero EMEA/H/A-31/1348". Il PRAC ha esaminato i dati relativi agli HES in relazione al rapporto rischi-benefici dell'uso di soluzioni contenenti HES per infusione nel trattamento dell'ipovolemia e dello shock ipovolemico in particolari popolazioni di pazienti. L'analisi dei rischi-benefici è stata condotta facendo riferimento ai seguenti parametri: a) il rischio di mortalità; b) il rischio di effetti renali avversi e in particolare il rischio di sviluppare insufficienza renale e la conseguente necessità di ricorrere alla terapia renale sostitutiva; c) gli effetti sull'emostasi con particolare riguardo al maggior rischio di sanguinamento; d) gli effetti sulla funzione epatica in termini di maggior rischio di sviluppare insufficienza epatica; e) la probabilità di sviluppare anafilassi (rash cutaneo) e prurito. La popolazione di pazienti esaminati riguardava pazienti critici ricoverati in UTI e pazienti settici. Tuttavia, il PRAC ha ritenuto che i dati ottenuti possano essere estrapolati ad altre popolazioni di pazienti. In particolare pazienti traumatizzati, ustionati e pazienti sottoposti a chirurgia elettiva, poiché tutti questi

pazienti possono andare incontro a una risposta infiammatoria sistemica paragonabile a quella che si verifica appunto nei pazienti critici delle UTI e nei pazienti settici. I dati esaminati dal PRAC riguardano in particolare: a) i dati emersi da quattro grossi studi clinici pubblicati tra il 2008 e il 2012: il 6S study (Scandinavian Starch for Severe Sepsis/Septic Shock trial), il VISEP study (Efficacy of Volume Substitution and Insulin Therapy in Severe Sepsis), il CHEST study (Crystalloids versus Hydroxyethyl Starch Trial), il FIRST study (Fluids in Resuscitation of Severe Trauma); b) diverse meta-analisi tra cui quella di Zarychanski et al. del 2013 e la Cochrane Review del 2013; c) due studi non pubblicati, che hanno confrontato HES con cristalloidi e altri colloidali. Inoltre il PRAC ha ritenuto di avvalersi della consulenza di un gruppo di esperti, ossia di un *Ad-Hoc Expert Group* al fine, sia di espandere i dati ai pazienti con varie condizioni cliniche, non solo settici, che necessitavano però di un trattamento intensivo, sia di fornire delle indicazioni di somministrazione di soluzioni contenenti HES in caso di ipovolemia con o senza shock.

Questa procedura numero EMA/H/A-31/1348 nasce in seguito alla segnalazione della Germania (con l'articolo 31 del direttivo 2001/83/EC) alla European Medicines Agency del 20 novembre 2012, della necessità di riesaminare il rapporto rischi-benefici dell'infusione di soluzioni contenenti HES nel trattamento e nella profilassi dell'ipovolemia e dello shock ipovolemico sulla base della valutazione dei dati mostrati dalla farmacovigilanza di un incremento del rischio di morte e di necessità di terapia renale sostitutiva (RRT) nei pazienti trattati con HES.

Gli HES in questione comprendono prodotti con amidi derivati dalla patata e dal granturco con diverso peso molecolare (principalmente 130KD e 200KD) e diverso rapporto di sostituzione con gruppi idrossietilici per singola molecola di glucosio. Oltre l'80% dei pazienti trattati con HES ricevono HES 130KD. L'infusione di soluzioni contenenti HES sono autorizzate in tutti gli stati della UE e della EEA con l'indicazione principale del trattamento e della profilassi dell'ipovolemia e dello shock ipovolemico. I dati riguardanti gli HES sono stati esaminati per la prima volta dal Pharmacovigilance Working Party nel settembre 2008 sulla base dei risultati di diversi studi che mostravano un incremento del rischio di insufficienza renale, dati supportati da studi successivi che evidenziavano anche un aumentato rischio di mortalità a 90 giorni e di RRT nei pazienti settici trattati con HES (6S study e VISEP study) (2,15). Ulteriori studi confermarono come i dati emersi dallo studio 6S per i pazienti settici fossero esportabili anche per tutti i pazienti critici ricoverati in terapia intensiva (CHEST study) (16). In ognuno di questi studi la definizione di rianimazione fluidica era quella di bolo endovenoso che veniva somministrato per aumentare il volume intravascolare, i fluidi dovevano essere somministrati in aggiunta a quanto richiesto per reintegrare le perdite intese come perspiratio, perdite urinarie o necessità nutrizionali. Sulla base dei dati emersi da questi studi fu chiesto al PRAC di valutare il rapporto rischi-benefici della infusione di soluzioni contenenti HES per il trattamento e la profilassi dell'ipovolemia e dello shock ipovolemico. L'analisi è stata condotta esaminando i risultati dei suddetti studi e meta-analisi sia in reazione alla sicurezza dei colloidali che in relazione alla loro efficacia.

L'analisi relativa alla **SICUREZZA** dei colloidali confrontati con i cristalloidi ha tenuto conto dei dati relativi al

rischio di mortalità , e di eventi avversi quali insufficienza renale, alterazioni dell'emostasi e danni ad altri organi emersi dai quattro grossi studi randomizzati e multicentrici, 6S study, VISEP study, CHEST study, CRYSTMAS study e della meta-analisi di Zarychanski:

1. RISCHIO di MORTALITA' Il trattamento con HES in pazienti critici risulta associato ad un aumentato rischio di mortalità a 90 giorni in pazienti con sepsi e shock settico, come evidenziato da due grandi studi clinici randomizzati: denominati 6S e VISEP. Lo studio 6S, studio multicentrico randomizzato, cieco, in gruppi paralleli, ha valutato 804 pazienti con sepsi severa, che hanno ricevuto rianimazione idrica sia con HES che con RL in modo randomizzato. In tale studio si è riscontrato un tasso di mortalità a 90 giorni pari al 51% nel gruppo trattato con HES 130/0.42 contro il 43 % del gruppo trattato con Ringer Acetato. Lo studio VISEP ha arruolato un gruppo di 600 pazienti con sepsi severa randomizzati per una valutazione prognostica sia della somministrazione della terapia insulinica, finalizzata al mantenimento dell'euglicemia, che la somministrazione della terapia idrica con HES 10% a medio MW (HES 200/0.5) contro RL per la rianimazione fluidica. Questo studio ha rilevato come il tasso di mortalità a 28 giorni non differisse nel gruppo trattato con HES rispetto a quello trattato con RL, mentre, al contrario, la mortalità a 90 giorni era significativamente più elevata nei pazienti che ricevevano HES 205/0.5 (41%) rispetto al gruppo trattato con RL (33.9%). Questi dati sono stati confermati dalla meta-analisi condotta da Zarychanski et al. nel 2013 su 38 trials per un totale di 10.880 pazienti critici confrontati per terapia di reintegro volumico con cristalloidi, albumine e gelatine, HES, evidenziando come il gruppo HES fosse associato ad un aumentato rischio di mortalità (17).

2. EFFETTI RENALI AVVERSI Sebbene il potenziale meccanismo di danno non sia ancora del tutto chiarito, i potenziali meccanismi responsabili degli effetti renali avversi dei colloidali potrebbero includere: a) un aumentato ingresso di amidi nelle cellule epiteliali che inducono una nefrosi osmotica; b) una ostruzione tubulare causata dalla iperviscosità dell'urina; c) una infiammazione renale. Gli effetti renali avversi degli HES sul rene sono indipendenti dal peso molecolare e dagli altri parametri che caratterizzano i diversi HES, come dimostrato in diversi studi. In particolare il VISEP study ha evidenziato un aumento del tasso di insufficienza renale nei pazienti trattati con HES (200/0.5), anche quando necessitavano di volumi più bassi, rispetto al gruppo trattato con RL (30.9% contro 17.3%), mostrando un rischio più elevato di RRT (25.9% contro 17.3%) indipendentemente dalla dose di HES ricevuto (ossia anche alle dosi giornaliere raccomandate, cioè < 20ml/kg/die). Lo studio 6S in cui i due gruppi di pazienti settici, di cui l'84% in shock settico, randomizzati nei confronti della rianimazione idrica con HES 130/0.42 versus Ringer acetato alla dose di 33 ml/Kg di peso ideale/die, ha mostrato che il rischio di RRT era significativamente più elevato nei pazienti trattati con HES (22%) rispetto a quelli trattati con Ringer acetato (16%), con un rischio aggiuntivo di mortalità a 90 giorni. Il CHEST study, studio multicentrico randomizzato in cieco, ha arruolato 7000 pazienti ricoverati in UTI per vari motivi (come: sepsi, trauma e post-chirurgici) e divisi in due gruppi, di cui il primo ha ricevuto sia HES 6% (130/0.4) che SF 0.9%, mentre l'altro solo SF 0.9 % per l'intera rianimazione

fluidica per il tutto il tempo di permanenza in UTI, o fino a 90 giorni di randomizzazione, o fino alla morte dei pazienti stessi. La rianimazione veniva indicata dalla necessità di correggere la condizione di ipovolemia in qualsiasi momento del ricovero in UTI. Lo studio ha evidenziato una maggiore necessità di RRT nei pazienti trattati con colloidi rispetto a quelli rianimati solo con la SF (7% versus 5.8%), così come ha mostrato valori di creatinemia significativamente maggiori nel gruppo HES suggerendo una progressiva riduzione della clearance della creatinina in questi pazienti e un output urinario significativamente diminuito nel gruppo HES, se confrontato con il gruppo con somministrazione di SF, durante i primi sette giorni. La conclusione dello studio CHEST quindi supporta quelle degli altri due studi, ossia un aumentato rischio di RRT nei pazienti trattati con HES rispetto a quelli trattati con SF 0.9%. Ad ulteriore conferma di questi risultati vi sono anche i dati derivati dalla meta-analisi condotta da Zarychanski R et al. nel 2013 su pazienti critici, che ha concluso che l'uso di HES per la rianimazione volumetrica acuta si associa ad un aumentato rischio di insufficienza renale e ad un aumentato rischio di RRT per cui non è giustificato da criteri di sicurezza.

3. EFFETTI sull'EMOSTASI Diversi studi hanno dimostrato come la somministrazione di HES sia associata a disfunzione piastrinica, riduzione dei livelli del fattore VIII e del fattore von Willebrand. Questi effetti combinati sulla cascata coagulativa aumentano il rischio di sanguinamento associato alla somministrazione di HES sia ad alto che basso PM. A questo riguardo, è da notare che nello studio 6S un numero maggiore di pazienti del gruppo HES avevano dovuto ricevere più emotrasfusioni rispetto al gruppo RL a causa di un aumentato rischio di sanguinamento severo. Un simile risultato fu ottenuto nello studio CHEST nei primi 4 giorni di trattamento con HES rispetto al gruppo in cui il reintegro volêmico veniva eseguito con la sola soluzione salina. Lo studio VISEP ha invece evidenziato una più bassa conta piastrinica nei pazienti settici appartenenti al gruppo HES, rispetto a quelli del gruppo RL. Lo studio FIRST (Fluids in Resuscitation of Severe Trauma) ha seguito per 30 giorni 109 pazienti gravemente compromessi, che necessitavano di 3 litri di rianimazione idrica a causa di trauma o ferite da taglio, sono stati randomizzati a doppio cieco in due gruppi: quelli che ricevevano HES e quelli che ricevevano NaCl 0.9%. Questo studio non ha mostrato differenze nei due gruppi a 30 giorni riguardo i criteri RIFLE di insufficienza renale, mentre ha mostrato la necessità di una quantità significativamente maggiore di prodotti ematici, GRC, nel gruppo trattato con HES rispetto a quello trattato con salina ed un significativo maggior deterioramento della emostasi sebbene questo possa essere legato alla severità dell'insulto traumatico (18). Lo studio CRYSTMAS ha evidenziato come il 29% dei pazienti del gruppo HES abbia richiesto la trasfusione di emazie concentrate, rispetto al 21% del gruppo di controllo trattato con NaCl 0.9% (19).

4. EFFETTI sull'INSUFFICIENZA EPATICA Lo studio CHEST ha evidenziato una più alta incidenza di insufficienza epatica (in termini di aumento della bilirubina sierica) nei pazienti trattati con HES rispetto a quelli trattati con soluzione salina (1.9% contro 1.2%), inoltre depositi di HES sono stati riscontrati negli epatociti nei pazienti con maggiore disfunzione epatica (20).

5. ANAFILASSI e PRURITO Lo studio CHEST ha evidenziato che l'uso di HES è associato ad una maggiore incidenza di rash e prurito.

Le conclusioni del PRAC si sono dunque basate sui dati di questi tre grossi studi multicentrici come anche dei risultati di una meta-analisi che ha valutato la sicurezza delle soluzioni HES per infusione in diverse tipologie di pazienti critici che hanno evidenziato il danno nei pazienti settici ricoverati in UTI, trattati con diversi prodotti di HES (10% HES 200/0.45-0.55 nello studio VISEP, HES 130/0.42 nello studio 6S e HES 130/0.4 nello studio CHEST). Questi dati dimostrano un aumentato rischio di RRT o di insufficienza renale nei pazienti trattati con HES così come ha mostrato un aumentato del tasso di mortalità a 90 giorni. Pertanto il PRAC ha concluso che l'uso di HES è associato a un aumentato rischio di mortalità, a un aumentato rischio di RRT e di insufficienza renale. Ha inoltre considerato che questi dati possono essere estesi ad altre popolazioni di pazienti critici quali pazienti traumatizzati, ustionati e pazienti sottoposti a chirurgia elettiva, in quanto tutti questi pazienti sviluppano una risposta infiammatoria sistemica comparabile come natura a quella dei pazienti settici o comunque a quella di tutte le popolazioni di pazienti critici.

L'altro aspetto esaminato dalla European Medicine Agency in questa delibera è l' **EFFICACIA** degli HES usati in caso di ipovolemia al fine di espandere il volume plasmatico. Le soluzioni colloidali sono utilizzate allo scopo di sostenere la pressione oncotica intravascolare e per ridurre i tempi necessari ad ottenere la stabilizzazione emodinamica. Una minor quantità totale di fluidi è necessaria quando confrontiamo i colloidi con i cristalloidi. Il PRAC ha esaminato i dati dei grandi studi multicentrici e di meta-analisi in cui gli HES venivano somministrati in varie categorie di pazienti critici o comunque pazienti ricoverati in UTI, pazienti settici, traumatizzati, ustionati, ma anche nei pazienti sottoposti a chirurgia elettiva. Dall'analisi di tali dati il PRAC ha deliberato che:

1. Le soluzioni di HES per infusione non apportano nessun beneficio clinico nei pazienti critici rispetto ai cristalloidi e che non c'era un sostanziale risparmio di volume e tanto meno non c'era alcun effetto clinicamente rilevante legato al minor volume somministrato nei pazienti che venivano rianimati con colloidi piuttosto che con cristalloidi (6S study e CRYSTMAS study), dati rafforzati dai risultati di due recenti meta-analisi, la Cochrane Review e la meta-analisi di Zarychanski entrambe del 2013 (21, 17).
2. Nei soggetti con sepsi severa o shock settico i dati disponibili non hanno dimostrato alcun beneficio degli HES quando paragonati ai cristalloidi. Soprattutto, il PRAC ha considerato che per i soggetti con sepsi severa o shock settico l'aumentato rischio di mortalità e il più frequente uso di RRT riscontrato nei casi trattati con HES aveva un peso maggiore rispetto al limitato beneficio di un più rapido raggiungimento della stabilità emodinamica (6S study, CRYSTMAS study e VISEP study). In particolare, lo studio CRYSTMAS ha mostrato che occorreva circa il 20% in meno di HES 130/0.4 per raggiungere la stabilità emodinamica dei pazienti settici nella fase iniziale della rianimazione rispetto ai cristalloidi, ma che tale riduzione del volume richiesto non era clinicamente rilevante e che il volume totale di fluidi somministrato dopo quattro giorni era simile

tra HES e salina. A sostegno di tali dati c'è anche lo studio a coorte osservazionale condotto da Bayer O et al. su 1046 pazienti con sepsi severa in cui la rianimazione fluidica era eseguita o con HES 130/0.4 o con gelatine modificate o con cristalloidi al fine di valutare sia il tempo in cui si otteneva la risoluzione dello stato di shock settico che la quantità di volume richiesto. I risultati hanno indicato che la reversibilità dello shock era ottenuta con la stessa rapidità sia con colloidali sintetici che con cristalloidi e che l'uso dei colloidali è risultato solo marginalmente più basso come quantità totale di volumi somministrati rispetto ai cristalloidi (22). Il documento del PRAC ha inoltre osservato che solo gli studi relativi alla traumatologia e alla chirurgia elettiva mostravano un limitato effetto clinico benefico degli HES. In particolare, lo studio FIRST ha mostrato un effetto positivo degli HES nei pazienti con trauma penetrante, ossia la necessità di un minore volume totale necessario per ottenere la stabilità emodinamica nel gruppo HES. Questi risultati devono però essere ulteriormente confermati visto l'esiguo numero di casi (42). D'altra parte nello stesso studio, non vi erano differenze nei pazienti con trauma da compressione, anche se il gruppo HES richiese una quota significativamente maggiore di prodotti ematici. Non è stata trovata alcuna evidenza che la rianimazione con colloidali riduca il rischio di morte nei pazienti con trauma compressivo o penetrante, così come nei pazienti ustionati o dopo chirurgia quando paragonati ai cristalloidi.

4. Per quanto riguarda la chirurgia elettiva, i dati a disposizione sembrano indicare una differenza nelle variabili emodinamiche quando gli HES sono utilizzati come precarico durante l'anestesia spinale rispetto ad un carico con RL. In particolare, è da riportare uno studio condotto su 120 partorienti destinate a cesareo programmato in cui la terapia volumetrica veniva eseguita in un gruppo con 1000 ml di RL e nell'altro gruppo con 500 ml di HES 130/0.4, 6%. In questo studio è stato osservato una percentuale di ipotensioni minore nel gruppo HES rispetto al gruppo RL (64% contro 81%); il che suggerirebbe che l'HES 130/0.4 6% sembra avere un effetto benefico due volte superiore rispetto al RL nel prevenire l'ipotensione indotta dall'anestesia spinale. I vantaggi del pre-carico con HES 130/0.4 6% sono piccoli ma quantificabili soltanto quando viene praticata l'anestesia spinale (23). Dai dati derivanti da questi studi e dalla meta-analisi, il PRAC conclude che gli HES non offrono nessun beneficio clinico nei pazienti critici rispetto ai cristalloidi e che sempre in questi pazienti non c'è un risparmio di volume clinicamente significativo utilizzando gli HES. Nei soggetti con sepsi o shock settico, l'aumentato rischio di mortalità e il più frequente ricorso alla RRT in caso di uso di HES sono considerati più importanti rispetto al beneficio limitato di un più rapido raggiungimento della stabilità emodinamica rispetto ai cristalloidi. Inoltre, il PRAC ha preso in considerazione il fatto che la somministrazione di HES nelle soluzioni per infusioni è associata a un aumentato rischio di mortalità e di RRT o di insufficienza renale, ma anche ad altre reazioni avverse importanti, come: un aumentato sanguinamento, insufficienza epatica, reazioni anafilattiche e prurito. In considerazione dei dati attualmente disponibili il PRAC ha concluso che il rapporto rischi-benefici delle soluzioni idrossietiliche per infusione non è favorevole e non può essere approvato come indicazione in nessuna categoria di pazienti. In aggiunta il PRAC nell'agosto 2013 ha consultato il gruppo di esperti ("ad

hoc group") per chiarire se ci fossero particolari categorie di pazienti che potessero beneficiare dell'uso degli HES come soluzioni per infusioni nel trattamento dell'ipovolemia e dello shock ipovolemico in particolari situazioni cliniche quali trauma o l'ambito chirurgico ed hanno concluso che in alcune categorie di pazienti critici, quali i pazienti critici del dipartimento di emergenza e i pazienti traumatizzati destinati ad intervento chirurgico possono beneficiare del trattamento rianimatorio con HES. Sebbene la maggior parte degli esperti ritenga che i dati disponibili siano ancora insufficienti per identificare specifiche categorie di pazienti in cui i benefici delle soluzioni idrossietiliche siano superiori ai rischi, la maggior parte di essi tuttavia concorda che il beneficio del loro utilizzo sia reale nella ipovolemia severa per breve durata e nel periodo iniziale della rianimazione in particolari casi (es. durante lo scenario perioperatorio, incluso il sanguinamento perioperatorio) e che scompaia rapidamente una volta ottenuta la stabilizzazione emodinamica del paziente. L'intero gruppo di esperti concorda che l'aumentato rischio di eventi renali e l'aumentato rischio di mortalità osservato nei pazienti settici e nei pazienti con patologie critiche non possa essere applicato direttamente al setting perioperatorio o al trauma o ad altre condizioni cliniche. Alla luce dei dati attualmente disponibili il PRAC conclude che l'aumentato rischio di mortalità, l'aumentato rischio di insufficienza renale o RRT e di altre insufficienze d'organo siano prevalenti sui limitati benefici di una più rapida stabilizzazione emodinamica, che resta l'unica indicazione attualmente approvata all'uso degli HES in determinate categorie di pazienti ossia pazienti emodinamicamente instabili in dipartimento di emergenza e nel sanguinamento perioperatorio.

I**IIb. EMOSTASI**

Ai fini della sopravvivenza è essenziale che l'organismo sia capace di controllare il flusso ematico laddove esista una lesione dei vasi. Tale controllo è esercitato dal processo di *emostasi* che comprende sia la formazione del coagulo che la sua dissoluzione. L'emostasi è stata infatti anche definita come "quel meccanismo fisiologico che mantiene il sangue fluido all'interno dei vasi".

La coagulazione

In presenza di una lesione di un vaso sanguigno, vengono messi in atto una serie di meccanismi con il fine di arrestare prima possibile la fuoriuscita di sangue dal vaso. L'arresto viene ottenuto tramite la formazione di un tappo emostatico il quale, una volta riparata la parete del vaso, viene rimosso, ripristinando quindi lo status iniziale. Questa complessa serie di reazioni biochimiche e cellulari sono sequenziali e sinergiche e provvedono alla formazione del tappo emostatico, ad arrestare la perdita ematica, alla riparazione della

lesione ed alla rimozione del blocco stesso. Nel loro insieme tutte queste reazioni vengono definite con un unico termine: emostasi. E' possibile suddividere schematicamente il processo emostatico in:

1. fase vascolare

2. fase piastrinica

3. fase plasmatica

Tale suddivisione riflette sostanzialmente i tre meccanismi messi in atto dal nostro organismo per garantire l'emostasi: in pratica, in presenza di un danno vascolare, si osserva innanzitutto una vasocostrizione, cioè un restringimento del lume del vaso, finalizzata a limitare la fuoriuscita di sangue; immediatamente viene attivato il sistema di richiamo ed aggregazione delle piastrine, le cellule del sangue specializzate nel ruolo di formazione del tappo emostatico; infine vengono attivate una serie di molecole (proteine ed enzimi) che formano un vero e proprio coagulo, consentono la riparazione del vaso e si occupano infine della disgregazione del tappo emostatico, ormai inutile.

1. La fase vascolare dell'emostasi è un primo ed immediato tentativo che il vaso realizza per minimizzare la perdita ematica; la muscolatura liscia che avvolge il vaso sanguigno stimola, in caso di lesione, una immediata vasocostrizione che, in realtà, non riesce di per sé a bloccare in modo efficace la fuoriuscita di sangue. Questa vasocostrizione è dovuta a riflessi di tipo neurovegetativo innescati probabilmente dalla lesione endoteliale e alla conseguente secrezione di fattori locali vasocostrittori (endotelina) e dalla liberazione di sostanze vasoattive come serotonina e catecolamine contenute nelle piastrine. L'effetto è transitorio ed è responsabile del fatto che il sanguinamento non è immediato dopo il taglio ma appare dopo 10-20 secondi. Tuttavia, la riduzione del calibro del vaso lesionato è un fenomeno importante, che viene stimolato anche nelle fasi successive (ad esempio le piastrine attivate rilasceranno sostanze in grado di stimolare continuamente la vasocostrizione), e contribuisce in modo sostanziale al processo di arresto del sanguinamento. La lesione vasale costituisce il momento scatenante di tutto il processo emostatico; in particolare, la parete vascolare è ricca di sostanze che, se rilasciate, costituiscono un potente stimolo all'attivazione ed all'aggregazione piastrinica: il fattore di von Willebrand (vWF), il trombossano A2 (TxA2) ed il fattore attivante le piastrine (PAF). In opportune condizioni il vaso danneggiato rilascia anche il Fattore Tissutale (TF), un attivatore fondamentale della fase plasmatica.

2. La fase piastrinica è un momento di grande rilevanza funzionale nel processo emostatico e può essere schematicamente suddivisa in:

- adesione delle prime piastrine nel sito danneggiato
- attivazione delle piastrine adese
- rilascio di segnali chimici contenuti nelle piastrine attivate
- cascata di attivazione di altre piastrine, stimolata dal rilascio dei segnali chimici
- aggregazione piastrinica e formazione di un tappo piastrinico primario.

I coaguli di fibrina ed i tappi piastrinici si formano contemporaneamente e si intrecciano insieme dando così

luogo ad un prodotto più tenace e più difficile da dissolvere. Mentre in passato si pensava che i processi di coagulazione plasmatica e piastrinica rappresentassero due vie indipendenti, studi più recenti mostrano che la via della coagulazione plasmatica si svolge principalmente sulla superficie piastrinica così che i suddetti processi coagulativi sono più interdipendenti che indipendenti. L'adesione delle piastrine avviene grazie al loro legame con il collagene (proteina presente nella parete dei vasi che viene esposta in seguito alla lesione), che si realizza tramite un recettore situato sulla membrana delle piastrine stesse, il cosiddetto Ia/IIa. Anche il fattore di von Willebrand (vWF) è importante per l'adesione piastrinica: il vWF funziona da ponte molecolare, legando con una parte della molecola il collagene e con un'altra parte un recettore presente sulla membrana delle piastrine (il recettore Ib). Il legame di queste prime piastrine al collagene (tramite il recettore Ia/IIa) ed al vWF (che a sua volta fa da ponte per l'ulteriore legame al collagene) provoca una deformazione della struttura tridimensionale delle piastrine; tale modificazione facilita l'ulteriore aggregazione delle piastrine tra loro e, soprattutto, stimola la cosiddetta reazione di rilascio.

La reazione di rilascio consiste sostanzialmente nel rilascio nell'ambiente esterno alle piastrine di alcuni mediatori chimici contenuti all'interno di granuli. I mediatori chimici sono diversi, ma i più importanti sono il trombossano A₂ (TxA₂) ed il fattore attivante le piastrine (PAF); si tratta di mediatori cosiddetti autocrini, che cioè vengono rilasciati da un tipo cellulare (in questo caso le piastrine) e servono per stimolare lo stesso tipo cellulare. In pratica queste molecole servono ad auto-stimolare le piastrine, amplificando la loro attivazione e la loro aggregazione. Le piastrine così attivate esprimono sulla loro superficie un altro recettore, detto IIb/IIIa il quale lega un'altra molecola presente nel sito danneggiato: il fibrinogeno. Poiché ogni molecola di fibrinogeno può legare due recettori piastrinici IIb/IIIa, questo ulteriore ponte molecolare determina una vera e propria cascata esponenziale di aggregazione di nuove piastrine, che a loro volta vengono attivate, rilasciano i mediatori, esprimono il recettore e si aggregano, in un ciclo che si ripete ed in pochi secondi rallenta fortemente la fuoriuscita del sangue dal vaso danneggiato.

3. La fase plasmatica o coagulativa del processo emostatico coinvolge tutta una serie di proteine plasmatiche (fattori della coagulazione) ed è finalizzato alla trasformazione del fibrinogeno (proteina solubile presente in grandi quantità nel circolo sanguigno) in un polimero tridimensionale insolubile, la fibrina, da parte della trombina (enzima proteolitico). La fibrina consiste in una trama densa di natura proteica che assicura la completa occlusione del sito di rottura del vaso. Naturalmente parte importante del fenomeno è rappresentata, a riparazione del vaso avvenuta, dalla successiva rimozione del tappo di fibrina, fenomeno noto come fibrinolisi, che si conclude con il ripristino della situazione iniziale (restitutio ad integrum).

Una serie di meccanismi tiene costantemente sotto controllo questo potente sistema di formazione di tappi coagulativi, per evitare che l'attivazione della coagulazione avvenga quando non ce n'è bisogno, con conseguente formazione di occlusioni di vasi sanguigni. La fase plasmatica si caratterizza per il suo funzionamento "a cascata": una proteina viene attivata e la sua attivazione determina la trasformazione di

una seconda proteina dalla forma inattiva alla forma attiva, a sua volta in grado di attivare una terza proteina e così via. La successione degli eventi è estremamente specifica, per cui la prima proteina non può attivare la terza. La catena di reazioni non avviene in soluzione, ma solo su una superficie, come quella del vaso danneggiato, che fornisce la base di appoggio necessaria per l'incontro di queste proteine e la loro attivazione a cascata. L'attivazione avviene in presenza di molecole coadiuvanti, dette cofattori, come il Tissue Factor (TF) il quale, in condizioni normali, si trova nella parete dei vasi ma, una volta esposto in seguito a lesione vascolare, svolge il suo ruolo di attivatore di un importante passaggio della cascata coagulativa: l'attivazione del fattore VII il quale, attivato, determina l'attivazione del fattore X. Il fattore X attivato, in presenza di calcio e fattore V attivato, trasforma il fattore II (o protrombina) in fattore II attivato (trombina); la trombina è responsabile della trasformazione finale del fibrinogeno in fibrina. È prassi comune individuare due cascate di eventi che possono portare alla coagulazione, dette via "intrinseca" e via "estrinseca" che convergono poi in una via "comune", quella che dal fattore X attivato porta alla trasformazione della protrombina in trombina la quale è l'effettore finale della trasformazione del fibrinogeno in fibrina. Secondo questo schema la via "intrinseca" avverrebbe sostanzialmente in vitro, quando il sangue viene a contatto con una superficie dotata di carica negativa (infatti viene detta anche attivazione attraverso la fase di contatto). Nella via intrinseca il fattore XII attivato attiva il fattore XI, il quale attiva il fattore IX il quale attiva infine il fattore X per confluire nella via comune già descritta sopra. La via estrinseca sarebbe invece la cascata coagulativa che si verifica in vivo, nell'organismo, in cui l'elemento chiave è la tromboplastina, una molecola costituita da una parte proteica (il Tissue Factor) e da una parte lipidica; la tromboplastina, rilasciata dal vaso danneggiato, attiva il fattore VII, il quale attiva il fattore X per convergere quindi nella via comune già descritta. Questa classica suddivisione nelle due cascate coagulative non spiega tuttavia alcune osservazioni come quella che pazienti con carenze congenite di fattore XII non mostrano disordini emorragici mentre, al contrario, difetti nel fattore IX determinano un quadro clinico particolarmente grave, pur trovandosi entrambi i fattori nella stessa linea diretta della cascata coagulativa; questo riscontro può essere spiegato grazie al fatto che il Tissue Factor può attivare esso stesso il fattore IX, saltando così l'attivazione da parte del fattore XII: questa ed altre osservazioni lasciano supporre che le due vie classiche della cascata coagulativa siano in definitiva solo suddivisioni schematiche ma che nella realtà il processo sia "interconnesso" a più livelli. Piuttosto che pensare alla via comune come il risultato dell'attivazione di due vie indipendenti è stato quindi avanzato il concetto di coagulazione basata sulle cellule per spiegare meglio i meccanismi emostatici che avvengono simultaneamente nell'organismo: quando si verifica una lesione tissutale, con il conseguente contatto tra sangue e cellule endoteliali, il fattore tissutale (TF) viene esposto sulla superficie delle cellule che lo producono. L'esposizione del TF al suo ligando, il fattore VII, comporta l'attivazione del fattore VII (VIIa). Il complesso FT+VIIa provvede all'attivazione del fattore IX (IXa) il quale attiva il fattore X (Xa) sulla superficie delle cellule sintetizzanti il FT. In presenza del fattore V, il complesso FT+VIIa+Xa+Va attivano la

trasformazione della protrombina in trombina e di conseguenza del fibrinogeno in fibrina (via estrinseca). Questo processo viene chiamato *fase di iniziazione*. La trombina è l'enzima più importante della cascata coagulativa perchè, oltre ad attivare il fibrinogeno, induce l'ulteriore l' attivazione di altre proteasi: attiva i fattori XI e IX, attiva i fattori VII e X e fornisce un feedback positivo attivando i cofattori V e VIII. Queste reazioni avvengono sulla superficie fosfolipidica delle piastrine che vengono così attivate. Le piastrine legano i fattori FVa, FVIIIa e FIXa e l'intero processo va sotto il nome di *fase di amplificazione*. L'amplificazione avviene anche grazie al fatto che il FVII è in grado di attivare il FX e che la trombina è in grado di attivare il FVIII (cofattore del IX), il FV (cofattore del X) ed il FXI che attiva anch'esso il FX). Il complesso FVIIIa/FIXa attiva il FX sulla superficie delle piastrine attivate. Il FXa insieme al FVa convertono gran parte della protrombina in trombina creando il c.d. "thrombin burst" che porta alla formazione di un coagulo stabile di fibrina. La repentina disponibilità di trombina rende quindi possibile la trasformazione del fibrinogeno in fibrina. Lo stadio finale della formazione del coagulo è noto come *fase di propagazione* (24). Il fibrinogeno è una proteina composta da tre sub-unità proteiche dette alfa,beta e gamma: l'unione di due di questi trimeri forma la molecola di fibrinogeno. La trasformazione del fibrinogeno nel coagulo di fibrina è un processo in tre tappe: in una prima fase la trombina opera una scissione proteolitica di alcuni segmenti del fibrinogeno, producendo due tipi di frammenti, il fibrinopeptide A ed il fibrinopeptide B e liberando i monomeri di fibrina i quali tendono a polimerizzare tra loro, unirsi cioè in un modo in cui ogni elemento ne lega altri due (seconda fase); in una terza fase il fattore XIII, attivato sempre dalla trombina, si occupa di stabilizzare i monomeri di fibrinogeno unendoli con legami chimici covalenti.

Diverse molecole svolgono anche un ruolo anticoagulante. Innanzitutto la stessa fibrina svolge un ruolo di inattivatore della trombina, quindi, man mano che il tappo coagulativo si forma, aumenta anche lo stimolo allo spegnimento della cascata coagulativa. L'antitrombina è un'altra proteina in grado di inibire la trombina ma anche il fattore X attivato. Ancora, la proteina C della coagulazione, grazie anche all'intervento della proteina S della coagulazione, è in grado di operare un'inibizione sia sul fattore V attivato che sul fattore VIII. Infine, il TFPI (Tissue Factor Pathway Inibitor) è in grado, legando il fattore X attivato e portandosi nel sito di legame del Tissue Factor per il fattore X, di bloccare il complesso TF-fattore X.

Una volta fermata l'emorragia attraverso la cascata coagulativa, il vaso danneggiato viene riparato; in questa fase un'altra proteina, il plasminogeno, viene trasformato in plasmina per mezzo del cosiddetto fattore tissutale del plasminogeno t-PA. La plasmina è la proteina che degrada il coagulo di fibrina, provvedendo infine al completo ripristino della situazione precedente alla lesione vascolare. Si parla a questo punto di fibrinolisi.

La fibrinolisi

Una volta attivato il meccanismo emostatico, è bene che la reazione si limiti all'area lesa iniziale e che cominci la successiva riparazione, con riproliferazione di cellule endoteliali sane. La digestione del coagulo di fibrina avviene ad opera della plasmina, un enzima che si forma dal plasminogeno, il proenzima inattivo,

prevalentemente per azione del t-PA (attivatore tissutale del plasminogeno), che si libera in circolo sotto lo stimolo della trombina e di alcuni eventi fisiologici (occlusione venosa, sostanze vasoattive, esercizio fisico, iperpiressia). Il tutto avviene sul coagulo di fibrina, dove il plasminogeno si trova legato mediante recettori ad alta affinità e dove il t-PA si andrà a legare, promuovendo la proteolisi del plasminogeno in plasmina. Tuttavia, per prevenire una impropria od eccessiva generazione di plasmina, l'endotelio libera anche PAI-1, un inibitore specifico del t-PA, che si combina prontamente con il t-PA stesso; inoltre, l'attivazione del plasminogeno si limita, normalmente a quello incorporato nel trombo primario. Altri attivatori del plasminogeno sono l'urochinasi, la callicreina ed altri attivatori tissutali endogeni presenti, praticamente, in tutti gli organi ma, in concentrazioni maggiormente significative, nell'utero e nella prostata. I vari attivatori del plasminogeno generano, dunque, plasmina, che provvederà alla progressiva idrolisi del fibrinogeno e della fibrina in piccoli peptidi noti come "prodotti di degradazione della fibrina" (FDP) con conseguente dissoluzione del trombo e ripristino della pervietà del lume vasale. L'attività proteasica della plasmina non è specifica, essendo in grado di scindere anche altri substrati, quali i fattori V ed VIII. Tuttavia la plasmina, generata ed immessa nella circolazione generale, viene rapidamente inattivata dalla formazione di complessi con l' α_2 -antiplasmina e poi rapidamente eliminata durante il passaggio attraverso il fegato. In conclusione, l'inizio e l'arresto del meccanismo emostatico sono processi essenzialmente del medesimo tipo, che procedono attraverso interazioni tra fattori pro-coagulanti e proteolitici. Si tratta, inoltre, di processi unidirezionali per cui l'unico modo di ripristinare i livelli di proteine che vi partecipano è la loro sintesi de novo.

IIc. PRINCIPI del ROTEM

Diversi studi mostrano come la terapia emostatica basata sui Point Of Care Tests (metodi POCT, come: TEG, ROTEM, Multiplate) piuttosto che sulle analisi di laboratorio convenzionali (PT, aPTT, INR, ACT, conta PLTs, fibrinogeno, ATIII) sia più efficace nel ridurre l'esposizione dei pazienti a trasfusioni di prodotti ematici allogenic e garantisca notevoli benefici sull'outcome clinico (25). Nei pazienti cardiocirurgici la coagulopatia perioperatoria e l'uso di prodotti ematici allogenic sono indipendentemente associati ad un aumento della mortalità e ad un aumento di eventi avversi sia cardiaci che non cardiaci (26). I pazienti cardiocirurgici hanno un pattern coagulativo che cambia rapidamente sia per le caratteristiche della chirurgia stessa che per le caratteristiche dei pazienti, che presentano spesso malattia poli-distrettuale e che quindi necessitano di pluri-terapie. La cardiocirurgia, infatti, può essere accompagnata da perdita ematica maggiore con conseguente consumo e perdita di fattori della coagulazione ed emodiluizione. La coagulopatia che si riscontra nei pazienti cardiocirurgici può essere esacerbata dalla concomitante terapia antitrombotica,

dalla circolazione extracorporea, dall'ipotermia e dal rimpiazzo volemico con cristalloidi e colloidi (27). L'eventuale fallimento nel ristabilire l'emostasi e ridurre il sanguinamento peri-operatorio aumenta il rischio di revisione chirurgica, di emotrasfusione, il tempo di permanenza in UTI, la morbilità e mortalità dei pazienti (28). Pertanto più che in altri campi, nel paziente cardiocirurgico poter usufruire di uno strumento che è in grado di fornire una diagnosi rapida e precisa della specifica alterazione emostatica consente una terapia salvavita efficace e mirata. Le linee guida della società europea di anestesia (ESA) raccomandano con evidenza 1C l'uso dei metodi POCT al fine di somministrare una terapia emostatica mirata, la così detta "early gold directed therapy", durante gli interventi di chirurgia cardiovascolare. Stesso grado di raccomandazione viene dato anche per la gestione del sanguinamento peri-operatorio severo, per la gestione della coagulopatia indotta dal trauma e per la gestione della emorragia post-partum (29). In particolare nella gravida è stato visto che ROTEM può evidenziare lo stato di ipercoagulabilità tipica della gestante, così come può riconoscere rapidamente una condizione di iperfibrinolisi e guidare quindi ad una terapia con acido tranexamico, fibrinogeno, crioprecipitati, concentrato protrombinico, plasma, piastrine. ROTEM attraverso il FibTEM test fornisce informazioni sulla qualità del coagulo, analizzando il singolo contributo del fibrinogeno e delle PLTs alla stabilità del coagulo in un tempo di 5-15 minuti. Infatti, il valore di FibTEM MCF è significativamente ridotto nell'emorragia post-partum ad indicare un ridotto contributo del fibrinogeno alla stabilità del coagulo.

Le linee guida della ESA hanno evidenziato come l'uso di un algoritmo standardizzato per la gestione dell'emostasi basato su punti predefiniti di intervento, consenta una riduzione della perdita ematica peri-operatoria e una riduzione della terapia trasfusiva pertanto ne raccomanda l'uso con evidenza 1A. Una recente *review* ha analizzato 8 studi, di cui 5 prospettici, usando criteri predefiniti di trasfusione calcolati basandosi su tests emostatici di laboratorio e/o monitorando la coagulazione con metodi POCT per correggere l'emostasi durante interventi di cardiocirurgia. Tale studio ha evidenziato che l'uso di un algoritmo riduce significativamente l'esposizione dei pazienti a trasfusioni di prodotti ematici allogeneici (30). Diversi studi randomizzati hanno confrontato pazienti cardiocirurgici che subivano intervento di CABG in CPB (224 pazienti), in cui la gestione dell'emostasi e della relativa terapia emotrasfusiva veniva condotta basandosi sul giudizio medico dettato dai classici parametri di laboratorio (aPTT, INR, fibrinogeno e conta piastrinica), rispetto al protocollo guidato dalla sorveglianza dell'emostasi tramite TEG. Il risultato di questi studi è stato che il gruppo TEG aveva ricevuto una quantità notevolmente inferiore di GRC, di FFP, di piastrine e di acido tranexamico rispetto al numero totale di unità trasfuse al gruppo di pazienti gestiti usando parametri di laboratorio classici e giudizio clinico (31). Analogamente, un altro studio randomizzato ha esaminato 59 pazienti destinati ad intervento di chirurgia aortica con arresto circolatorio in ipotermia in cui gli interventi sull'emostasi venivano guidati da un algoritmo basato su ROTEM (INTEM, HEPTEM, FIBTEM e APTM tests) contro la pratica standard basata su giudizio clinico ed esami di laboratorio. Sono stati confrontati la perdita ematica postoperatoria e il tasso di reintervento per sanguinamento. Nel gruppo in cui

la gestione dell'emostasi era guidata da ROTEM si è avuta una notevole riduzione delle trasfusioni allogeniche in particolare di FFP (32). Inoltre studi recenti hanno dimostrato come una terapia di prima linea con concentrati di fattori della coagulazione, fibrinogeno e concentrato protrombinico, basata sui POC (ROTEM e Multiplate), riduce le trasfusioni allogeniche di sangue, e di conseguenza riduce l'incidenza delle complicazioni legate alle trasfusioni, riduce il rischio di eventi trombotici/tromoembolici e riduce i costi sia primari che secondari delle trasfusioni (33,34).

PERCHE' LA SCELTA di ROTEM (RotationalThromboElastoMetry)

Rispetto ai test classici di laboratorio i metodi POCT presentano diversi vantaggi tra cui la possibilità di essere eseguiti bedside, la velocità dei risultati e soprattutto il fatto che analizzano le caratteristiche visco-elastiche del coagulo. Gli esami convenzionali di laboratorio infatti usano il plasma mentre i POCT lavorano direttamente con sangue intero per cui ci consentono di analizzare anche il contributo delle cellule ematiche (GR, GB e PLTs) alla coagulazione oltre che quello dei fattori della coagulazione. I test convenzionali della coagulazione sono tests quantitativi designati a misurare la concentrazione esatta dei fattori della coagulazione e o delle cellule ematiche mentre i POCT si focalizzano sulla funzionalità cioè sono in grado di determinare l'espressione del fattore tissutale sulle cellule circolanti, i disordini di polimerizzazione della fibrina dovuti all'infusione dei colloidi, l'iperfibrinolisi e la disfunzione piastrinica legata al MCP o ai farmaci antiaggreganti. Praticamente i POCT consentono di analizzare il prodotto finale della coagulazione e cioè il coagulo stesso e la sua stabilità nel tempo così come la fase della fibrinolisi e quindi degli enzimi della fibrinolisi e degli inibitori della stessa (35,36). Altro vantaggio è che permettono di valutare l'effetto non solo dei farmaci anticoagulanti orali (INR) e dell'eparina sodica (ACT), ma anche degli antiaggreganti e delle LMWH. In particolare ROTEM rispetto a TEG consente di analizzare il contributo specifico sia delle PLTs che del fibrinogeno alla formazione e consistenza del coagulo (attraverso il confronto ExTEM-FibTEM). Altra differenza tra le due metodiche è che TEG usa sangue intero appena prelevato senza l'aggiunta di citrato e quindi senza attivatori, per cui le misurazioni sono molto lunghe (45-60') e non precise e specifiche, mentre ROTEM usa sangue intero citratato ricalcificato a cui, come nell'analisi del coagulo di laboratorio, vengono aggiunti vari attivatori o inibitori in modo da consentire l'analisi dei diversi processi dell'emostasi. L'analisi ROTEM inoltre può essere interrotta già dopo 10 minuti (A10) in caso di necessità e ci consente di avere informazioni sull'ampiezza del coagulo (mm) senza dover aspettare la massima consistenza del coagulo, perché consente di valutare CT, CFT e MCF ed inoltre di vederne le alterazioni attraverso l'analisi comparativa tra i canali (ExTEM- FibTEM- ApTEM da una parte e InTEM-HepTEM dall'altra). Il valore A10 di ROTEM ci consente quindi di avere una predizione reale della massima stabilità del coagulo (37). Inoltre paragonato a TEG il clotting times (R+K di TEG versus CT+CFT di ROTEM) consente di guadagnare 7-9 minuti (38). Il campione di sangue, inoltre, ha una stabilità di due ore per cui può essere conservato in frigo e riesaminato in caso di dubbi o di necessità. Quindi rispetto ai

classici tests di laboratorio i POCT offrono notevoli vantaggi sia come analisi qualitativa dell'emostasi che come rapidità dei risultati (è stata calcolato un tempo medio di 88 minuti per i tests eseguiti presso il laboratorio centrale contro un tempo medio di 23 minuti per i POCT (39) e consentono pertanto una terapia non solo più specifica e mirata ma anche molto più precoce ed efficace.

Il ROTEM system è un miglioramento della tromboelastografia ed è stato sviluppato a Monaco di Baviera negli anni 1995-97. Lo strumento comprende 4 canali di misura per test simultanei, un computer integrato per la valutazione automatica e una pipetta elettronica per l'esecuzione del test in modo interattivo. Per ottenere un'uniformità globale del nome, il produttore del ROTEM system (TemInnovationGmbH, Monaco di Baviera) nel 2003 ha rinominato il suo strumento da ROTEG a ROTEM e contemporaneamente i test da EXTEG a EXTEM e da INTEG a INTEM etc. dove " TEM " sta per " tromboelastometria" (analogo del termine "tromboelastografia") ossia per la misurazione della consistenza del coagulo. L'analisi ROTEM copre l'intero processo della coagulazione, dalla formazione dei primi filamenti di fibrina alla consistenza massima del coagulo fino alla sua lisi.

PARAMETRI e METODI di MISURA del ROTEM SYSTEM

Nel ROTEM system il campione di sangue viene posto in una cuvetta ed un pin cilindrico è immerso in essa. Fra il pin e la cuvetta rimane uno spazio di 1 mm che è riempito dal sangue o coagulo che si forma. Il pin viene ruotato alternativamente a destra e a sinistra. Finchè il sangue è in forma liquida questo movimento non subisce impedimenti, non appena il sangue inizia a coagulare, il coagulo diminuisce la rotazione del pin in relazione all'aumento della consistenza del coagulo. In questo modo la rotazione del pin è inversamente proporzionale alla consistenza del coagulo e viene rilevata a livello ottico. Il computer connesso allo strumento calcola la curva del ROTEM e i relativi parametri.



Fig.1: Rotation Trombo Elastometry

Il fatto che sia il pin a ruotare e che non sia sospeso liberamente con un filo sottile e non si muova finché si forma il coagulo, come invece avviene in TEG dove è la cuvetta che ruota, offre il vantaggio che l'analisi ROTEM non è sensibile alle vibrazioni e agli shock meccanici come è invece TEG. Dal momento che ROTEM lavora direttamente con sangue intero citratato non occorre una preparazione specifica del campione, per cui quando si parla di un "corretto campionamento" s'intende riempire completamente la provetta (per assicurare il corretto rapporto sangue-citrato), la sicurezza durante il prelievo da catetere che non avvenga contaminazione con eparina o altri anticoagulanti; evitare l'emolisi durante il prelievo (ossia prevenire la stasi eccessiva usando un ago di diametro sufficientemente ampio). Tra il prelievo e l'analisi si è dimostrato ottimale un intervallo di tempo da 0 a 2 ore (il campione è stabile fino a 4 ore).

Grazie al principio di misurazione meccanica possono essere analizzati indifferentemente sangue o plasma. Questo è vantaggioso per l'applicazione POC perché viene omessa la centrifugazione del campione.

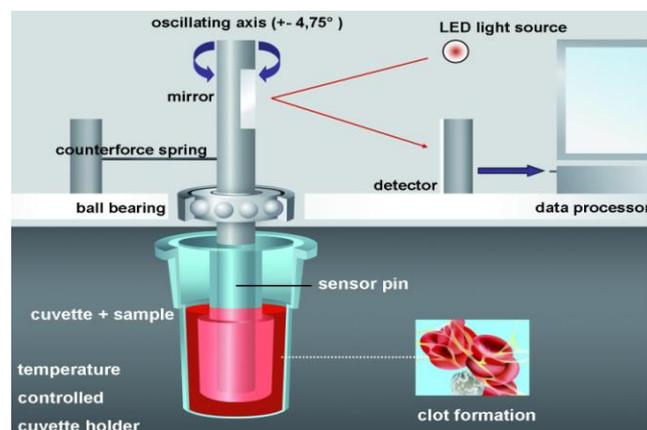


Fig.2: Tromboelastometria: sistema di misurazione.

Per ragioni storiche la curva TEM è disegnata su due lati ed è espressa in mm. I parametri dell'analisi ROTEM sono :

-CT (sec): Clotting Time= tempo di coagulazione, ossia il tempo che intercorre dall'inizio della misurazione fino all'inizio del coagulo, formazione della trombina e inizio della polimerizzazione del coagulo. Questo parametro ci consente di valutare il contributo alla coagulazione dato dai fattori della coagulazione, dal fibrinogeno e l'effetto degli anticoagulanti quali l'eparina.

-CFT (sec): Clot Formation Time = tempo di formazione del coagulo, cioè il tempo che intercorre dall'inizio della formazione del coagulo fino a quando si raggiunge un'ampiezza di 20 mm e valuta la polimerizzazione della fibrina, la stabilizzazione del coagulo con le piastrine e il fattore XIII.

-MCF (mm): Maximum Clot Firmness = consistenza del coagulo, è la consistenza meccanica massima del coagulo legata alla stabilizzazione crescente del coagulo mediante polimerizzazione della fibrina, delle

piastrine e del F XIII. Questo parametro ci consente di valutare il contributo delle cellule ematiche (GR, GB e PLTs) , del fibrinogeno e del F XIII alla consistenza del coagulo stesso.

-ML (%): Maximum Lysis= lisi massima, esprime la lisi del coagulo espressa in % di MCF e indica una stabilità normale del coagulo se è < 15% entro un'ora. Valuta la funzione degli enzimi della fibrinolisi e degli inibitori della fibrinolisi.

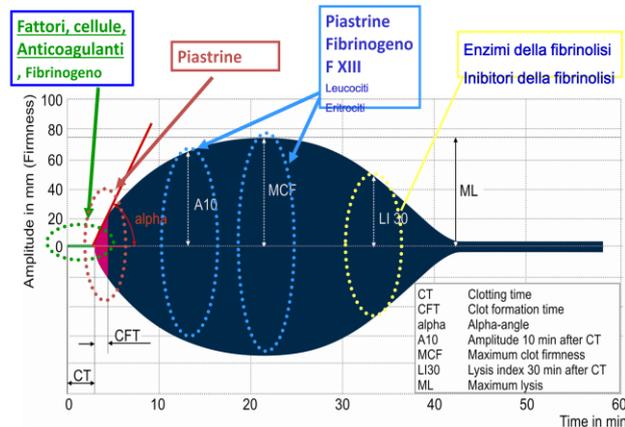


Fig.3: Parametri ed unità di misura

Il POC algoritmo si basa su 5 tests: ExTEM- e InTEM –tests che riflettono rispettivamente la via estrinseca ed intrinseca di iniziazione delle coagulazione : in ExTEM la coagulazione è attivata da una piccola quantità di tromboplastina tissutale (fattore tissutale), che tipicamente porta ad un'attivazione della coagulazione in 70 secondi per cui il coagulo può essere analizzato già in 10 minuti (A10); ExTEM valuta pertanto i fattori della via estrinseca (VII, X,V, II, I) le piastrine e la fibrina. In InTEM la coagulazione è attivata dalla fase di contatto (acido ellagenico) ed è perciò sensibile alla carenza dei fattori della via intrinseca (XII, X, IX, VIII, X, V,II,I) ma valuta anche le piastrine e la fibrina. Il FibTEM-test in cui la coagulazione è attivata come in ExTEM ma con l'aggiunta di citocalasina D che inibisce l'attivazione estrinseca delle piastrine, per cui il coagulo che ne risulta dipende esclusivamente dalla formazione e polimerizzazione della fibrina ; l'ApTEM test in cui la coagulazione è attivata come in ExTEM ma con l'aggiunta di aprotinina nel reagente inibisce i processi fibrinolitici, pertanto il confronto di ExTEM e ApTEM consente una rapida evidenziazione della fibrinolisi e quindi una diagnosi di iperfibrinolisi dopo circa 10 minuti. Inoltre ApTEM verifica se la terapia antifibrinolitica (acido tranexamico) da sola normalizza la coagulazione o se devono essere prese ulteriori misure quali la somministrazione di fibrinogeno. L'HepTEM test in cui la coagulazione è attivata come nell'InTEM ma con l'aggiunta di eparinasi nel reagente che degrada l'eparina presente nel campione e quindi identifica gli effetti potenziali dell'eparina sulla formazione del coagulo attraverso il confronto InTEM-HepTEM consentendo così anche l'analisi del ROTEM nei pazienti eparinizzati(es. in corso di bypass

cardio-polmonare).

	CT	CFT	MCF	ML
	Tempo di coagulazione <i>Clotting time</i> [s]	Tempo di formazione del coagulo <i>Clot Formation Time</i> [s]	Massima consistenza del coagulo <i>Maximum Clot Firmness</i> [mm]	Lisi massima <i>Maximum Lysis</i> [% dell'MCF]
EXTEM	38-79	34-159	50-72	< 15
INTEM	100-240	30-110	50-72	< 15
HEPTEM	<i>Un CT notevolmente più breve nell'HEPTEM rispetto all'INTEM indica un effetto eparina</i>			
APTEM	<i>Una migliore formazione del coagulo (CFT più breve, MCF più elevato) nel test APTEM rispetto all'EXTEM indica una iperfibrinolisi</i>			
FIBTEM			9-25 ^α	
	<i>MCF < 9 mm ridotto livello di fibrinogeno o disturbi della polimerizzazione. Terapia: somministrazione di fibrinogeno (o maggiori quantità di FFP). MCF > 25 mm livello di fibrinogeno aumentato. Ciò può portare ad una coagulazione normale in EXTEM o INTEM anche in presenza di trombocitopenia.</i>			

Fig.4: valori normali

Nell'interpretazione delle analisi del ROTEM è importante conoscere e considerare le limitazioni del metodo:

- ROTEM non è sensibile all'effetto degli inibitori piastrinici quali aspirina, clopidogrel e Reopro.
- Non è evidenziato l'effetto del von WillebrandFactor
- un'analisi ROTEM normale non esclude la presenza di anticoagulanti quali Orgaran, pentasaccaridi ed eparina a basso peso molecolare, né l'assunzione di anticoagulanti orali (Coumadin) (41, 41, 42).

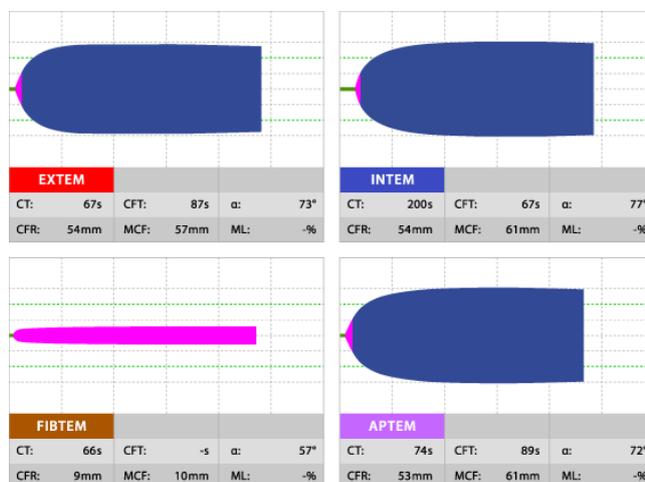


Fig. 5: tracciati normali

IIId. CARATTERISTICHE del BYPASS CUORE POLMONI

Il trattamento chirurgico della maggior parte delle patologie cardiache presuppone l'esecuzione di interventi che permettano la visione diretta della lesione cardio-vascolare in presenza di strutture immobili ed esangui. Questo implica l'arresto dell'attività miocardica e polmonare e la deviazione del flusso sanguigno, che viene temporaneamente fatto fluire in un circuito extracorporeo. La CEC (Circolazione Extra Corporea) è la tecnica di perfusione artificiale che consente di mantenere condizioni emodinamiche e metaboliche pressoché fisiologiche in un organismo durante la sospensione temporanea della funzione cardiaca e polmonare (bypass cardiopolmonare). Questa metodica impiega un sistema/macchina cuore-polmoni artificiale costituito fondamentalmente da una pompa, in grado di generare flusso anterogrado, che sostituisce la funzione del cuore, e da un ossigenatore che sostituisce la funzione dei polmoni.

Il principio base del bypass cardiopolmonare (BCP) consiste nel drenare, attraverso cannule posizionate in vena cava superiore e inferiore o direttamente in atrio, il sangue venoso sistemico dall'atrio destro al reservoir venoso della macchina cuore-polmoni; da qui, con l'aiuto di una pompa meccanica in grado di generare flusso anterogrado il sangue è reimpresso, attraverso un ossigenatore a membrane a livello del quale avvengono gli scambi gassosi (O₂/CO₂), nel sistema arterioso sistemico del paziente generalmente tramite un cannula arteriosa posizionata in aorta ascendente distale.

Questo sistema, differentemente adattato, è in grado di fornire un supporto cardiorespiratorio totale o parziale, così come un supporto totale o parziale selettivamente ventricolare destro, ventricolare sinistro o polmonare.

CIRCUITO del BCP

La funzione essenziale del BCP è quella di fornire il supporto cardiovascolare e polmonare all'intero organismo durante l'arresto sia dell'attività cardiaca che respiratoria e la deviazione del flusso sanguigno nel circuito extra-corporeo. Quindi i componenti del BCP possono essere classificati sulla base di tre funzioni fondamentali:

- respirazione: intesa sia come ventilazione che come ossigenazione. La *ventilazione* fornisce un'adeguata eliminazione della CO₂ per mantenere la PaCO₂ entro il *range* fisiologico. L'organismo produce CO₂ come prodotto di scarto del metabolismo aerobico. Durante il BCP la rimozione di CO₂ avviene tramite il processo della "ventilazione" ossia attraverso l'ossigenatore: la CO₂ viene rimossa attraverso l'uso di una miscela di aria, ossigeno e talvolta CO₂ stessa, che viene mescolata tramite un miscelatore ed un flussimetro di gas e poi viene diretta attraverso l'ossigenatore. L'*ossigenazione* fornisce un livello adeguato di O₂ nel sangue. Gli ossigenatori a membrana sono costituiti da una barriera diffusibile o semipermeabile che separa la fase gassosa da quella ematica,

e permette la diffusione dell'ossigeno dal circuito del ventilatore al sangue venoso ed il passaggio di CO₂ dal sangue venoso all'ossigenatore. Quando il sangue lascia l'ossigenatore è "arterializzato" ovvero è in equilibrio con i gas che lasciano l'ossigenatore con una PaO₂ generalmente compresa tra 150 e 300 mmHg ed una PaCO₂ di 35-45 mmHg. L'ossigenatore ha una superficie limitata perciò i valori di PaO₂ sono mantenuti più alti del normale per accelerare la diffusione di O₂ nel sangue.

- circolazione: mantiene un flusso adeguato di sangue ed una pressione arteriosa media (pressione di perfusione), e tenta di minimizzare i traumatismi a carico degli elementi corpuscolati del sangue. Infatti, la CEC espone il sangue a delle superfici artificiali non endoteliali. Il flusso di sangue passa all'interno di tubi di piccolo calibro e attraverso l'interfaccia aria-sangue usati per far tornare il sangue raccolto al circuito e questo comporta la distruzione di molte cellule ematiche (stress meccanico) con conseguente rilascio di enzimi intracellulari ed attivazione di una risposta infiammatoria sistemica (SIR). Durante il BCP viene compromessa anche l'integrità dei GR con conseguente emolisi. L'aumento di emoglobina nel sangue di solito è lieve e transitorio ma può causare emoglobinuria in caso di BCP prolungato o in seguito all'uso eccessivo dell'aspirazione del cardioto.
- regolazione della temperatura: l'ipotermia ottenuta tramite uno scambiatore di calore, integrato come parte dell'ossigenatore, riduce il metabolismo corporeo ossia diminuisce il fabbisogno dell'organismo di nutrienti e di ossigeno e contribuisce alla protezione del sistema nervoso centrale durante il BCP. La diminuzione delle richieste metaboliche da parte dell'organismo permette di ridurre il flusso di sangue necessario alla perfusione e quindi lo *shear stress* cellulare. L'ipotermia inoltre aumenta la protezione miocardica. Al fine di ridurre il consumo di ossigeno miocardico il cuore viene arrestato mediante la soluzione cardioplegica, ossia soluzioni contenenti potassio cloruro o caratterizzate da basso contenuto di sodio e calcio, che viene somministrata attraverso il circuito della cardioplegia o per via anterograda direttamente negli osti coronarici o per via retrograda tramite il seno coronarico. Le soluzioni cardioplegiche possono essere date come soluzione cristalloide o più frequentemente miscelate al sangue arterioso del circuito del BCP in proporzioni variabili di cristalloidi e di sangue. Il grado di raffreddamento miocardico è correlato alla distribuzione della cardioplegia fredda all'interno delle coronarie.

Un circuito completo per CEC è costituito da molti componenti :

1. **Cannule venose**: sono di materiale plastico, flessibile, rette o curve all'estremità, hanno calibro diverso che sarà scelto in base alle dimensioni del paziente (peso e superficie corporea), alle necessità di flusso e a specifiche caratteristiche del rendimento emodinamico. Previa eparinizzazione sistemica, le cannule venose sono posizionate in appendice auricolare destra o direttamente in vena cava superiore ed inferiore. In particolari circostanze quali redò o approccio mini-invasivo (mini-sternotomia o mini-toracotomia) la cannulazione venosa può essere effettuata per via venosa femorale o giugulare. Attraverso queste cannule

il sangue venoso progredisce attraverso il circuito della CEC per gravità verso un *reservoir* venoso posto abitualmente almeno 50 cm al di sotto del livello del cuore del paziente per cui il volume e l'efficacia del drenaggio dipenderanno dalla pressione venosa centrale (a sua volta correlata alla volemia e alla compliance venosa sistemica), dal dislivello cuore/*reservoir*, dalla resistività del circuito e dall'eventuale presenza di aria nel circuito. Il ritorno venoso dalle sezioni cardiache destre può essere eventualmente implementato applicando una "pressione negativa" controllata alla linea venosa del circuito di CEC (applicando cioè il c.d. "vuoto" al *reservoir* venoso). Potenziali complicanze correlate alla cannulazione venosa sono la comparsa di aritmie atriali, la lacerazione delle strutture atriali o vascolari con sanguinamento, l' embolia gassosa, il loro malposizionamento, la dislocazione o l'incarcerazione dei cateteri vascolari, la decannulazione accidentale.

2. Reservoir venoso: è sostanzialmente un contenitore ad alta capacità (1-4l) dentro cui converge il sangue venoso refluo dalle sezioni destre del cuore. Facilita il drenaggio del sangue per gravità ed è in grado di trattenere bolle accidentalmente entrate nel circuito. Attraverso accessi indipendenti (set di infusione) consente di aggiungere farmaci e/o volume (cristalloidi/colloidi) al sangue drenato e consente infine di disporre di una riserva di volume in grado di far fronte ad eventuali oscillazioni nel ritorno venoso contribuendo così a mantenere un flusso costante.

3. Ossigenatore a membrane: imita la funzione naturale del polmone fornendo un'interfaccia gas-sangue attraverso fibre cave (unità funzionale molto simile all'alveolo) costituite da sottili membrane microporose (0,3-0,8 μm di diametro) attraverso le quali avviene la diffusione dei gas, O₂ e CO₂, regolata dalla pressione parziale dei gas stessi, dalla pressione idrostatica, dalla permeabilità e dalla diffusione. La migliore interfaccia gas-sangue viene di solito generata diffondendo sangue tra le fibre e gas entro le stesse in controcorrente. Il possibile malfunzionamento dell'ossigenatore durante BCP (leaks, perdita di gas, rotture delle connessioni) richiede il monitoraggio sistematico del profilo emogasanalitico del paziente e l'eventuale pronta sostituzione dell'ossigenatore stesso.

4. Scambiatore di calore e gruppo caldo-freddo: consentono il controllo della temperatura corporea del paziente riscaldando o raffreddando il sangue che transita attraverso il circuito della CEC. L' ipotermia è utilizzata frequentemente negli interventi di cardiocirurgia in quanto riducendo le richieste di ossigeno tissutale consente di ridurre il flusso di sangue (e quindi garantisce una migliore esposizione chirurgica ed un minore stress meccanico a carico delle cellule ematiche) mantenendo però un'adeguata protezione d'organo dal danno ischemico. I moderni ossigenatori incorporano uno scambiatore di calore a monte del circuito dell'ossigenatore stesso per minimizzare la formazione degli emboli gassosi, la solubilità di un gas infatti varia a seconda della temperatura, e al fine di minimizzare la superficie di contatto sangue-materiale eterologo. Ossigenatore e scambiatore di calore costituiscono perciò un'unica unità funzionale. Il raffreddamento/riscaldamento del sangue a livello dello scambiatore di calore avviene per "conduzione" tra sangue-acqua che circolano in controcorrente separati da una parete metallica. Il controllo della

temperatura dell'acqua, e quindi indirettamente del sangue circolante nel circuito della CEC, viene effettuato da un apparecchio esterno detto "gruppo caldo-freddo" connesso allo scambiatore di calore. Il gradiente termico tra acqua e sangue viene sempre mantenuto entro gli 8-10°C per evitare la liberazione di microbolle gassose, la lisi delle membrane eritrocitarie e la denaturazione delle proteine con possibile formazione di pericolosi aggregati embolici.

5. Pompa o sistema di propulsione: la pompa imita la funzione naturale del cuore generando un flusso di sangue nel circuito della CEC. Idealmente dovrebbe essere in grado di generare una portata adeguata e monitorabile, di non produrre danni al sangue e di essere operabile manualmente. Si distinguono pompe "roller" e pompe centrifughe. La pompa roller impiega una pompa rotante a 2-3 rulli contrapposti che comprimendo progressivamente con movimento rotatorio modulabile un segmento di circuito al cui interno circola il sangue, induce un flusso anterogrado non pulsato. L'entità del flusso (portata) dipenderà dalla frequenza/velocità di rotazione della pompa, dal diametro de circuito compresso ad ogni rotazione e dal grado di compressione delle stesso. Si tratta di sistemi affidabili anche se il principio stesso di funzionamento per cui la propulsione del flusso si effettua attraverso un'azione di compressione, comporta inevitabilmente un grado variabile di traumatismo sugli elementi corpuscolati del sangue. Le pompe centrifughe sfruttano la capacità di generare energia cinetica attraverso la creazione di un vortice prodotto al rapido "spinning" di una serie di lamine e/o coni a rapida velocità di rotazione posti all'interno di un contenitore rigido, incomprimibile. L'energia cinetica prodotta da quetsa rapida rotazione viene trasmessa al sangue che viene spinto in senso anterogrado. Anche in questo caso il flusso generato è lineare e non fisiologico.

6. Tubi di collegamento (circuito) e connettori: svolgono la funzione di collegare i vari dispositivi tra di loro e con l'organismo da perfondere tramite in ultimo speciali cannule venose e arteriose. idealmente questi dovrebbero garantire alta resistenza, biocompatibilità, trasparenza e flessibilità, non essere nè angolabili nè collassabili. Al fine di ridurre la minimo il volume di *priming* e l'interfaccia sangue-materiale eterologo, il circuito dovrebbe essere il più corto possibile e di calibro tale da rispettare l'ideale reologia del sangue. L'esposizione del sangue ad una superficie estranea eterologa provocherà una serie di alterazioni alle proteine plasmatiche e l'attivazione della componente cellulare di intensità inversamente proporzionale alla biocompatibilità della superficie stessa. Durante la CEC il sangue è esposto per ore a materiali in grado si suscitare una reazione infiammatoria rapidamente sistemica che è la principale responsabile della disfunzione multi-organo evidente in entità variabile, nel decorso postoperatorio di tutti i pazienti cardiocirurgici. Per questo motivo oltre al tentativo di ridurre al minimo la superficie di contatto sangue-materiale eterologo è stato cercato di generare superfici di contatto progressivamente più biocompatibili incorporando su di esse molecole biologicamente attive come l'eparina.

7. Cannula arteriosa: è l'elemento più distale del sistema di perfusione extracorporea attraverso cui il sangue artificialmente ossigenato e filtrato viene re-immesso nel circolo arterioso sistemico del paziente.

Generalmente viene collocata a livello dell'aorta ascendente distale. La punta della cannula arteriosa costituisce di solito la porzione più stretta del sistema di perfusione in grado potenzialmente di generare elevati gradienti pressori, *jets*, turbolenze e fenomeni di cavitazione con possibile danno dell'intima, mobilitazione di atero-emboli, dissezione, emolisi.

8. **Circuiti accessori:** a completare il corredo di base per CEC ci sono gli aspiratori di campo e un aspiratore ventricolare sinistro, detto *vent*, che ha lo scopo di prevenire la distensione del ventricolo sinistro collocato generalmente attraverso la giunzione vena polmonare superiore/atrio sinistro o attraverso l'appendice auricolare sinistra.

9. **Circuito della cardioplegia:** circuito separato che include un *reservoir*, uno scambiatore di calore, una pompa roller, filtri e sistemi per il sequestro di bolle gassose, attraverso cui viene somministrata la soluzione cardioplegica nella radice aortica o nel seno coronarico con lo scopo di arrestare il cuore in diastole proteggendo il miocardio dal danno ischemico correlato all'arresto della fisiologica perfusione coronarica e consentendo contemporaneamente di operare su strutture immobili. Tali soluzioni contengono generalmente potassio, in concentrazione 8-20mEq/l, magnesio, sodio, cloro, mannitolo, bicarbonato ed altri componenti quali istidina, triptofano, ketoglutarato, veicolati da una soluzione cristalloide (es. Custodiol) o ematica.

10. **Sistema per ultrafiltrazione:** usa un filtro in parallelo con il circuito CEC, costituito da fibre cave formate da una membrana semipermeabile (40 μm) ed è in grado di trasferire acqua (emoconcentrazione), elettroliti (per es. potassio) e molecole < 20 KDa al di fuori del compartimento ematico. Sono collegati al versante venoso o arterioso del circuito principale mediante uno shunt. La diffusione di acqua, elettroliti e altre molecole avviene all'interfaccia sangue-aria attraverso la membrana in base al gradiente pressorio e di concentrazione. Possono essere rimossi fino a 180 ml/min di ultrafiltrato a un flusso di 500 ml/min.

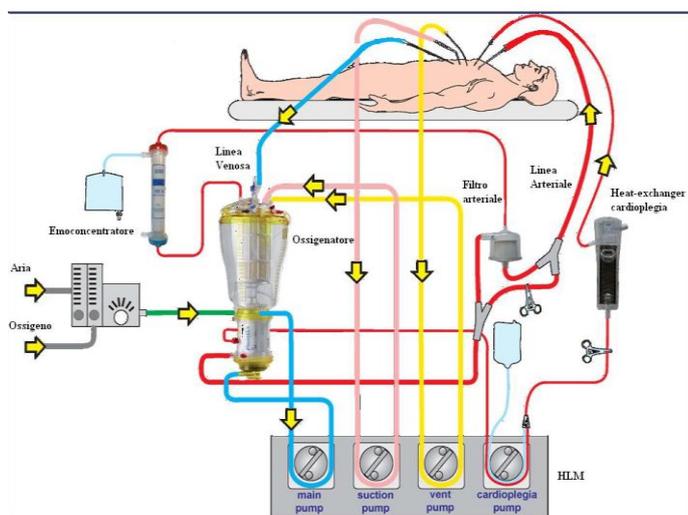


Fig.6: Schema del circuito del bypass cuore-polmoni.

CONDUZIONE del BCP

Le maggiori alterazioni alle caratteristiche fisiologiche del sistema cardiovascolare introdotti dal BCP sono:

- alterazioni dei pattern della pulsatilità e del flusso sanguigno;
- esposizione del sangue a superfici non fisiologiche e lo "shear stress";
- l'emodiluizione;
- risposte esagerate allo stress;
- i cambiamenti fisiologici conseguenti ai vari gradi di ipotermia e ipotensione

La conduzione in sicurezza del BCP presuppone quindi il sistematico monitoraggio di numerose variabili che implicano la necessità di importanti manovre da compiere durante la preparazione anestesologica del paziente all'intervento in sala operatoria: cateteri vascolari arteriosi e venosi per il monitoraggio pressorio, monitoraggio elettrocardiografico, catetere vescicale, sonda vescicale o rettale per il rilievo della temperatura centrale, sonda per ecocardiografia transesofagea per valutare la funzione cardiaca e la patologia da trattare, per visionare il corretto posizionamento di cannule e cateteri, per la procedura di *de-airing*, per verificare il risultato chirurgico.

Il perfusionista è responsabile della preparazione ed assemblaggio del circuito cardio-polmonare. Prima di essere connesso al paziente, il circuito deve essere riempito con una soluzione di *priming* variamente costituita. Lo scopo del *priming* è la rimozione di tutta l'aria dal circuito del BCP ed il riempimento completo dello stesso allo scopo di debullare il circuito e di rimuovere eventuale materiale particolato mantenendo il più possibile caratteristiche oncologiche fisiologiche. La soluzione dovrebbe essere isotonica o leggermente ipertonica al fine di preservare l'equilibrio liquido intravascolare-interstizio e deve mantenere nella norma l'equilibrio elettrolitico. Le soluzioni di *priming* sono costituite da soluzioni di cristalloidi e/o colloidi a cui sono aggiunti mannitolo, bicarbonato di sodio ed eparina. Il NaHCO_3 è usato generalmente come tampone poiché molti componenti del *priming* sono acidificati per essere conservati; il mannitolo viene aggiunto come agente osmotico per migliorare l'output urinario; una soluzione colloidale come albumina viene spesso aggiunta per mantenere la pressione oncologica e per ricoprire le superfici artificiali a contatto con il sangue e l'eparina viene aggiunta al fine di prevenire la diluizione della dose di eparina somministrata al paziente prima del bypass con una concentrazione risultante di eparina compresa tra 3 e 4 UI/ml di *prime* circolante. Il volume di *priming* deve essere tale da riempire il circuito fino al livello di sicurezza e da consentire una velocità di flusso adeguata; deve essere cioè un volume sufficiente a permettere l'inizio del BCP, ad ottenere le velocità di flusso ematico calcolate, basate sull'area di superficie corporea del paziente e sulle sue esigenze metaboliche senza causare un'eccessiva emodiluizione. Il volume di *priming* aggiunto al circuito consente di calcolare preliminarmente la riduzione dell'ematocrito, a cui andrà incontro il paziente al momento dell'inizio della CEC cioè quando il *prime* stesso, passando in circolo e mescolandosi con il

sangue, determinerà un grado variabile di emodiluizione. Un certo grado di emodiluizione migliora la reologia del sangue durante CEC, poiché riduce la viscosità ematica (che è aumentata dalla ipotermia) e favorisce, quindi, la perfusione tissutale a velocità di flusso inferiori, con conseguente riduzione del trauma (*shear stress*) ai GR e della necessità di emotrasfusioni. Di contro, l'emodiluizione è gravata da una ridotta capacità di trasporto dell'ossigeno, per cui un valore ottimale di ematocrito da mantenere in CEC è compreso tra 20 e 25% con una ipotermia di 30-34°C. In caso di necessità dovranno essere aggiunte al *prime* emazie concentrate.

Prima della connessione del paziente al circuito si procede all'anticoagulazione sistemica con eparina porcina (300-400U/Kg ev) e al controllo dell'ACT che deve essere circa 3-4 volte maggiore del valore basale (generalmente > 480 sec.). L'ACT sarà poi controllato sistematicamente in corso di CEC ricorrendo se necessario ad ulteriore somministrazione di eparina.

Stabilita la connessione del paziente al circuito e all'avvio della CEC, il drenaggio venoso, la pressione venosa sistemica e il drenaggio del cuore devono essere sistematicamente controllati. Una volta verificata l'adeguatezza di queste variabili e del raggiungimento del pieno flusso della CEC, si può procedere con la sospensione della ventilazione meccanica, il raffreddamento del paziente, il clampaggio aortico e l'arresto del cuore tramite cardioplegia con conseguente inizio della parte centrale dell'intervento.

Gli elementi critici da controllare durante il BCP sono un'adeguata protezione miocardica, l'adeguatezza del flusso ematico erogato (calcolato in base al consumo di ossigeno, all'ematocrito, alla temperatura, pressione di perfusione e superficie corporea, valori di riferimento sono 1,7-2 l/min/m²) e la perfusione multiorgano che viene generalmente valutata misurando la saturazione di O₂ del sangue venoso misto (SvO₂), (funzione del consumo e del trasporto di O₂, valori < 60% indicano perfusione inadeguata), l'equilibrio acido-base (pO₂>250 mmHg, pCO₂= 35-45 mmHg con pH 7.40) e il livello di lattati e glicemia (100-180 mg/dl).

Prima di sospendere il BCP, il paziente viene riscaldato a 34-36°C, il cuore viene assistito sia farmacologicamente che elettricamente nel recupero di un'efficiente attività contrattile, i polmoni vengono riespansi e ventilati. Deve essere infine posta particolare attenzione alle manovre di rimozione dell'aria, de-airing, dalle cavità cardiache con l'ausilio del monitoraggio eco-trans-esofageo. Lo svezzamento dal BCP avviene riducendo progressivamente il drenaggio venoso nel circuito CEC tramite clampaggio progressivo della linea venosa, aumentando così il consensualmente il riempimento cardiaco (precarico) e riducendo proporzionalmente la perfusione arteriosa. Nel momento in cui l'attività cardiaca ed i parametri emodinamici ed emogasanalitici sono buoni la CEC viene sospesa.

Prima di rimuovere la cannula arteriosa deve essere neutralizzato l'effetto anticoagulante dell'eparina tramite somministrazione di protamina, in rapporto 1-1,3 mg/100U di eparina, da infondere lentamente per il possibile effetto di vasodilatazione, di disfunzione ventricolare e di aumento della permeabilità capillare, tutte reazioni transitorie che generalmente rispondono alla somministrazione di calcio (2mg per

1mg di protamina). L'avvenuta neutralizzazione dell'eparina va confermata con un controllo dell'ACT; dopo di che la cannula arteriosa viene rimossa, vengono posizionati gli elettrodi epicardici e i drenaggi.

Il circuito del BCP resta in stand-by fino all'uscita del paziente dalla sala operatoria per garantire l'eventuale supporto di emergenza in caso di necessità.

CEC e RISPOSTA INFIAMMATORIA SISTEMICA

L'utilizzo della CEC si associa invariabilmente allo sviluppo di una sindrome da risposta infiammatoria sistemica (SIRS) a causa delle condizioni non fisiologiche ad essa correlate ossia: flusso continuo vs pulsato, contatto sangue-superfici eterologhe artificiali con la conseguente attivazione del sistema immunitario, interfaccia sangue-aria, ipotermia sistemica, ischemia-riperfusion multiorgano, trauma chirurgico, stress meccanico delle cellule ematiche. La SIRS è responsabile in gran parte del danno organico e tissutale intra- e post-operatorio invariabilmente presente in tutti i pazienti sottoposti ad intervento cardiocirurgico in CEC. La reazione infiammatoria si estrinseca poi attraverso l'attivazione di diversi mediatori che coinvolgono il sistema del complemento, l'attivazione di neutrofili e cellule endoteliali, la disfunzione endoteliale, il danno diretto agli elementi corpuscolati del sangue, l'omeostasi dell'ossido nitrico. Generalmente le conseguenze della SIRS sono di scarsa rilevanza clinica ma in alcuni casi, soprattutto se la CEC è stata di lunga durata e/o in associazione a compromissione emodinamica postoperatoria o altri fattori predisponenti gli effetti della SIRS possono persistere per giorni e associarsi a grave disfunzione multiorgano:

- danno miocardico: il cuore può subire un danno a causa di alterazioni della perfusione regionale prima o dopo la cardioplegia, a causa di microemboli, citotossine, neutrofili e monociti attivati. A questo vanno aggiunti la disfunzione endoteliale correlata al danno da ischemia-riperfusion, il leak capillare e l'edema miocardico che concorrono allo "stunning" postoperatorio e alla disfunzione contrattile.

- danno polmonare: i polmoni durante la CEC sono perfusi esclusivamente attraverso le arterie bronchiali con conseguente danno da ischemia-riperfusion. Altri fattori che contribuiscono al danno polmonare sono l'emodiluizione, la ridotta pressione oncotica del plasma, l'aumento della pressione atriale sinistra e l'edema interstiziale. A questo va aggiunto l'edema perivascolare e broncoalveolare conseguenti all'aumentata permeabilità capillare causata da microemboli, mediatori citotossici e mediatori vasoattivi. Le conseguenze funzionali e cliniche di tutto questo sono una riduzione della compliance polmonare e della capacità funzionale residua con aumento del lavoro respiratorio. Queste modificazioni favoriscono lo sviluppo di aree disatelettasiche, lo sviluppo di infezioni e un aumento dello shunt intraparenchimale polmonare con riduzione della PaO₂.

- danno renale: è conseguente alla ipoperfusione, all'emolisi, alla formazione di microemboli e mediatori citotossici e vasoattivi che determinano riduzione del filtrato glomerulare, comparsa di proteinuria e danno

tubulare. Clinicamente si manifesta con oligo-anuria, aumento della creatinina e relativa riduzione della clearance.

- danno cerebrale: il cervello a causa dell'alto metabolismo e flusso ematico è l'organo maggiormente esposto al danno da CEC. L'ipoperfusione regionale, macro e micro-emboli, le citotossine circolanti e l'edema possono provocare varie lesioni che vanno da perdite poco riconoscibili di certe funzioni cognitive al cambiamento di attitudini comportamentali a limitazioni fisiche legate a lesioni più o meno ampie in aree motorie e/o sensoriali che possono passare inosservate o limitare gravemente la qualità di vita del paziente fino a minarne la sopravvivenza (43, 44, 45, 46).

Ile. GESTIONE della COAGULAZIONE durante CEC

Il bypass cardio-polmonare (BCP) crea una deviazione del sangue per permettere di eseguire procedure su cuore. Questa deviazione deve indirizzare il sangue attraverso il cuore ed i polmoni artificiali mantenendo allo stesso tempo la fluidità del sangue stesso. In passato proprio la questione della fluidità del sangue ha costituito l'ultimo limite allo sviluppo della cardiocirurgia. La sfida fu quella di trovare un approccio terapeutico che potesse inibire la naturale tendenza del sangue a coagulare quando entra in contatto con superfici estranee e allo stesso tempo garantire il recupero di una coagulazione normale alla fine dell'intervento, garantire cioè una inibizione della coagulazione che fosse completamente reversibile. La soluzione è stata trovata inducendo l'anticoagulazione con eparina e poi neutralizzandola con la protamina, approccio che resta immutato da 50 anni.

Il monitoraggio dell'eparina durante BCP viene effettuato tramite il tempo di coagulazione attivato (activated clotting time, ACT) mentre i comuni test di funzionalità emostatica non vengono usati durante CEC perché la maggior parte di essi risulterà anormale in conseguenza dell'emodiluizione, dell'anticoagulazione e dell'ipotermia. La maggior parte degli studi suggerisce che i test di screening preoperatori di funzionalità emostatica non sono utili a identificare preventivamente quali pazienti sono a rischio di eccessivo sanguinamento durante l'intervento chirurgico. Gli unici casi in cui può essere stimato un rischio elevato di emorragia perioperatoria riguardano i pazienti con anamnesi positiva per sanguinamento prolungato in seguito a piccole ferite o interventi odontoiatrici o familiarità per sanguinamento patologico, o in terapia con farmaci che interferiscono con l'emostasi (es: eparina---->aPTT e ACT, LMWH----->attività anti-Xa, Warfarin--->PT e INR, inibitori piastrinici--->test di funzionalità piastrinica) (47). L'eparina ha una sequenza pentasaccaridica in grado di legare l'ATIII, questo legame potenzia l'azione dell'ATIII di oltre 1.000 volte permettendo così all'eparina di inibire soprattutto la trombina ed il fattore Xa ma anche i fattori IXa, XIa e XIIa (via intrinseca e via comune). L'inibizione della trombina richiede il legame simultaneo dell'eparina sia all'ATIII che alla trombina, mentre l'inibizione del

fattore Xa richiede solo il legame dell'eparina all'ATIII. L'inibizione della trombina è di cruciale importanza per l'anticoagulazione nel BCP. Questo fatto spiega perché gli eparinoidi e le LWMH non siano consigliate per l'anticoagulazione del BCP, poiché mostrano un'azione inibitrice sulla trombina minore rispetto alla eparina, ma maggiore di questa sul fattore Xa. Questa differenza di effetto sulla trombina da parte degli eparinoidi e derivati a basso peso molecolare della eparina rispetto alla eparina naturale è dovuto al fatto che queste sostanze hanno una affinità di legame maggiore per l'ATIII rispetto alla trombina. Inoltre, gli eparinoidi e LWMH presentano lo svantaggio di possedere un'emivita prolungata e di essere poco neutralizzabili dalla protamina. La dose iniziale di eparina più comunemente usata nel BCP è di 300-400 UI/Kg e poiché l'eparina si distribuisce preferenzialmente nel compartimento plasmatico, che non aumenta in proporzione con il peso corporeo (la massa grassa non richiede un volume sanguigno proporzionale al peso) difficilmente occorrono dosi maggiori di 35.000-40.000 UI anche per pazienti di peso corporeo > 100 Kg poiché la massa magra può raggiungere il picco di 90 Kg nelle donne e 110 Kg negli uomini. La soluzione di priming deve contenere una concentrazione di eparina approssimativamente pari a quella presente nel circolo sanguigno del paziente all'inizio del BCP, ossia circa 3-4 UI/ml per un volume di priming di 1500 quindi 5.000-10.000 UI di eparina. L'ACT è il test maggiormente usato per monitorare l'effetto anticoagulante durante il BCP. L'ACT usa un attivatore quale il caolino o il celite per attivare la coagulazione e poi misura il tempo di coagulazione nella provetta. L'eparina prolunga l'ACT con un pattern dose-risposta all'incirca lineare (48). L'ACT normale dipende da alcuni fattori quali l'attivatore specifico e l'apparecchio, il preriscaldamento della provetta rispetto alla temperatura della sala, e l'operatore tecnico. Generalmente è circa 110-140 secondi. Attualmente, si usa un sistema automatico ACT (Medtronic Hemo Tec, Minneapolis, MN, USA oppure International Technidyne, Edison, NJ, USA). Il livello target di ACT per il BCP è controverso: come test della coagulazione, infatti, l'ACT rappresenta un metodo piuttosto grossolano che quando è testato più volte alle concentrazioni di eparina usate per il BCP può subire ampie variazioni, fino al 10%, pertanto è ragionevole costituire un margine di sicurezza accettando un valore di 400 secondi come valore soglia durante il BCP (49). La neutralizzazione dell'eparina ad opera della protamina si fonda sul legame della protamina stessa come catione forte con l'eparina, anione forte, e la conseguente formazione di un complesso stabile privo di attività anticoagulante. Eparina e protamina sono associate in base al peso: 1 mg di protamina neutralizza 1 mg di eparina, generalmente si ragiona in termini unità di eparina quindi si calcola che occorra circa 1 mg di protamina per neutralizzare 100 UI di eparina somministrate. Con questo rapporto si ottiene generalmente un lieve o medio eccesso relativo di protamina che assicura la totale neutralizzazione e minimizza la probabilità di un successivo *rebound* di eparina, *rebound* dovuto al fatto che la dose di protamina somministrata non può neutralizzare la quota di eparina legata alle proteine plasmatiche o quella presente all'interno delle cellule endoteliali. In questi casi, sono richieste dosi addizionali di protamina, soprattutto quando ripetuti test di controllo rilevino un effetto dell'eparina ancora presente nel paziente emorragico. Dopo la somministrazione della protamina, il test dell'ACT

dovrebbe tornare ad un valore non superiore al 10% del valore basale misurato prima dell'eparina.

ALTERAZIONI DELL'EMOSTASI NEL PAZIENTE CARDIOCHIRURGICO

Il paziente cardiocirurgico può presentare tutte una serie di alterazioni della fisiologica emostasi legate sia alla terapia antitrombotica preoperatoria che alle alterazioni che si possono verificare durante l'intervento. Queste alterazioni possono essere in parte prevenute con una profilassi farmacologica protettiva e dovranno essere gestite sulla base dell'evento che si verifica e dell'alterazione emostatica rilevata dai test diagnostici, in particolare dai risultati ottenuti con il metodo POCT (TEG, ROTEM, MULTIPATE).

TERAPIA ANTITROMBOTICA: il paziente cardiocirurgico è spesso un paziente vasculopatico complesso che per prevenzione o per precedenti eventi avversi (IMA, ICTUS, vasculopatia periferica, FA cronica) assume una terapia anticoagulante e/o antiaggregante. Per quanto riguarda la terapia anticoagulante è consigliabile che i pazienti in terapia anticoagulante con warfarin sospendano l'assunzione del farmaco 3-5 giorni prima dell'intervento, generalmente un valore di INR < 2 è considerato un recupero accettabile dei fattori della coagulazione K-dipendenti, infatti una parziale inibizione residua della via estrinseca può accentuare vantaggiosamente l'anticoagulazione necessaria per il BCP. Per quanto riguarda la terapia antiplastrinica bisogna distinguere: a) i pazienti in terapia con aspirina che vengono sottoposti a cardiocirurgia hanno maggiore tendenza al sanguinamento post-operatorio, ma i benefici dell'aspirina sulla prevenzione della trombosi coronarica e vascolare cerebrale rapportati al potenziale rischio di sanguinamento spesso inducono a proseguire la terapia con ASA nel periodo pre e peri-operatorio; b) i pazienti in terapia con inibitori del R GPIIb/IIIa (abciximab, tirofiban ed eptifibatide) hanno invece un maggior rischio di complicanze emorragiche in caso di intervento proprio perché viene ad essere inibito il recettore plastrinico per il fibrinogeno che permette il legame del fibrinogeno tra piastrine adiacenti e la conseguente aggregazione plastrinica. Mentre abciximab è un anticorpo monoclonale diretto verso il R GPIIb/IIIa che altera il recettore stesso, tirofiban ed eptifibatide sono inibitori competitivi minori del recettore con effetti reversibili dopo la sospensione del farmaco per cui la loro breve durata potrebbe mitigare in parte le complicanze emorragiche perioperatorie e garantire realmente una protezione plastrinica durante BCP (50). In caso di terapia con inibitori del recettore dell'ADP, ticlopidina e clopidogrel, il recettore plastrino dell'ADP noto come recettore P2Y₁₂ viene antagonizzato in modo non competitivo, questo blocco induce un aumento di AMPc così da indurre una rapida e profonda disaggregazione plastrinica. L'attività antiplastrina dei derivati della thienopiridina permane per tutta la durata della vita plastrinica perché il R interessato è permanentemente alterato. Alcune meta-analisi hanno dimostrato che l'assunzione preoperatoria di clopidogrel si associa a maggior sanguinamento rispetto ai pazienti non esposti al farmaco (51).

ALTERAZIONI ACQUISITE DURANTE LA CARDIOCHIRURGIA:

-disfunzione endoteliale: il contatto del sangue con le superfici estranee induce una risposta infiammatoria di tutto l'organismo caratterizzata dall'attivazione della coagulazione, della fibrinolisi e della infiammazione che conduce ad una alterata interazione cellulo-endoteliale.

-effetto persistente dell'eparina: l'effetto rebound dell'eparina può presentarsi entro le prime due ore successive al BCP e di solito risponde bene a piccole dosi supplementari di protamina (es. 25 mg).

-anormalità piastriniche: la trombocitopenia si verifica frequentemente dopo il BCP a causa della emodiluizione da parte del volume del circuito extracorporeo e del consumo o sequestro di piastrine, generalmente in assenza di altre alterazioni dell'emostasi i valori circolanti di piastrine non scendono al di sotto di 100.000/mcl. La causa principale, tuttora esclusiva, di alterazione dell'emostasi dopo BPC è la disfunzione piastrinica, ossia la loro alterazione conseguente alla attivazione da contatto con le superfici del circuito extracorporeo, all'ipotermia, alla *down-regulation* recettoriale e alla somministrazione di eparina e protamina. Sia il trattamento con eparina che con quello con protamina che sono effettuati usualmente durante BCP provocano una disfunzione piastrinica. Se a questo si aggiunge la somministrazione di farmaci antitrombotici nel periodo preoperatorio la disfunzione piastrinica risulta ancora più marcata.

-coagulopatia: durante il BCP si verifica emodiluizione e consumo dei fattori della coagulazione a livello del microcircolo in particolare l'attivazione da contatto determina una attivazione del fattore XII a livello microvascolare e conseguente innesco della cascata coagulativa.

-fibrinolisi: durante BCP si verifica sia la fibrinolisi primaria conseguente al rilascio di attivatori del plasminogeno endoteliale che la fibrinolisi secondaria conseguente all'attivazione della plasmina in seguito ad una risposta di feedback causata dalla formazione di fibrina. I prodotti di degradazione della plasmina circolante incidono negativamente sulla funzione piastrinica.

-ipotermia: l'ipotermia altera le cascate enzimatiche della coagulazione. Le piastrine vengono attivate in corso di lieve ipotermia e depresse in corso di ipotermia moderata-severa.

PROFILASSI FARMACOLOGICA PROTETTIVA

-protezione piastrinica: i circuiti rivestiti di eparina attenuano la risposta infiammatoria al BCP e possono consentire una certa protezione piastrinica.

-farmaci antifibrinolitici: l'acido etil-aminocaproico e l'acido tranexamico sono due agenti antifibrinolitici sintetici che agiscono come analoghi della lisina legando il sito di legame per la lisina della plasmina e del plasminogeno. L'acido tranexamico è un analogo più potente ha maggiore affinità per il plasminogeno rispetto all'altro. I prodotti di degradazione della fibrina inibiscono la funzione piastrinica perciò l'inibizione della plasmina potrebbe proteggere le piastrine. I vantaggi di questi farmaci sono più evidenti se usati in modo profilattico cioè se iniziati prima del BCP e continuati durante lo stesso (52).

-dosaggio accurato di eparina-protamina: si tratta semplicemente di somministrare solo l'eparina necessaria a mantenere un ACT adeguato per consentire il corretto svolgimento del BCP, considerando che l'impiego

di dosi maggiori di eparina durante BCP è stato correlato ad un maggior sanguinamento dai drenaggi mediastinici nel postoperatorio come risultato dell'effetto rebound dell'eparina o della disfunzione piastrinica.

-inibizione dell'infiammazione: prevede l'uso di steroidi in particolare di metilprednisolone alla dose di 500-1000 mg prima dell'inizio del BCP.

IIf. ACUTE KIDNEY INJURY (AKI) e MARACTORI PREDITTIVI di AKI

La sindrome clinica denominata Acute Kidney Injury (AKI) è una complicanza seria e frequente dei pazienti ospedalizzati, che presenta un'incidenza che arriva fino al 20-30% e che si associa a un significativo aumento di morbilità e mortalità. Le eziologie più frequenti di AKI acquisita in ospedale sono una ridotta perfusione renale (39%), la somministrazione di sostanze nefrotossiche (16%), la somministrazione di mezzi di contrasto (11%) e la chirurgia maggiore (9%) (53). L'incidenza di AKI dopo procedure di cardiocirurgia condotte con BCP può raggiungere il 36%. Il BCP rappresenta una situazione clinica unica in cui quasi tutti gli aspetti della perfusione possono essere determinati dal clinico (54). Dopo il BCP, la combinazione degli effetti dell'ipotermia, del flusso non pulsatile e della ridotta pressione di perfusione media sono responsabili del rilascio in circolo di fattori vasoattivi quali angiotensina, renina, catecolamine e ormone antidiuretico che promuovono la vasocostrizione renale e riducono il flusso ematico renale (55). La creatininemia generalmente decresce dopo gli interventi di cardiocirurgia per effetto dell'emodiluzione, anche se dopo il paziente svilupperà insufficienza renale acuta.

Nella pratica clinica corrente la valutazione della funzione renale si fonda sulla misura della concentrazione della creatinina sierica e dell'output urinario. La creatinina tuttavia non può essere considerata come un marcatore ideale della funzione glomerulare per una serie di motivi: in primis la sua concentrazione sierica dipende non solo dalla clearance urinaria della creatinina ma anche dal tasso di produzione (che a sua volta dipende da età, sesso, massa muscolare, metabolismo muscolare e stato nutrizionale del paziente) e dal volume di distribuzione (stato di idratazione) (57). Secondo, alcune malattie renali sia acute che croniche possono essere associate a minime o assenti modificazioni della creatinina sierica a causa dell'ampia riserva funzionale del rene. È stato stimato che oltre il 50% della funzione renale deve essere perso prima che i livelli di creatininemia aumentino significativamente al di sopra dei livelli di riferimento (58). Terzo la concentrazione di creatinina sierica non riflette la reale perdita del tasso di filtrazione glomerulare (GFR) in corso di cambiamenti rapidi della funzione renale, occorrono diverse ore fino a giorni prima che venga raggiunto un nuovo steady-state e quindi quando si è già verificato un significativo e spesso irreversibile danno (59). Inoltre mentre i valori sierici di creatinina ed urea possono continuare a crescere, il processo

patologico che ha causato il danno renale può non essere più attivo (60). Infine, la creatinina sierica può soltanto stimare il filtrato glomerulare, ma non è in grado di evidenziare un danno tubulare renale precoce. Conoscendo questi limiti degli attuali biomarcatori e l'impossibilità di ridurre la mortalità e morbilità della patologia renale, la ricerca di nuovi biomarcatori specifici per il danno tubulare precoce, risulta imperativa al fine di permettere una diagnosi precoce di AKI e di determinarne la patofisiologia del processo responsabile e magari istituire una terapia appropriata. Molti biomarcatori sono stati suggeriti come utili clinicamente nell'evidenziare precocemente la sindrome AKI, ma solo per NGAL (Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin) e Cystatina C (Cys C) vi sono in letteratura evidenze relative al loro potenziale utilizzo in tutte le sindromi AKI. La Cys C sta emergendo come marker più precoce e più affidabile di ridotta funzione glomerulare rispetto alla creatinina, mentre NGAL è stato indicato da molti Autori come il più promettente marker precoce di danno renale tubulare (61). Considerandoli insieme, NGAL e Cys C, questi biomarcatori possono costituire la combinazione di marker di danno tubulare e funzionale renale. Anche le più recenti linee guida (Acute Dialysis Quality Initiative-ADQI) riportano che solamente NGAL e CYS C potranno essere integrati nella pratica clinica in un prossimo futuro.

DEFINIZIONE di AKI

Questa sindrome clinica è stata chiamata in passato con ben 25 nomi diversi e ancor più numerose sono state le definizioni. Nel 2004 il gruppo ADQI ha pubblicato il proprio consenso per la definizione di AKI e per la classificazione Risk-Injury-Failure-Loss-Endstage renal disease (RIFLE) come aumento della creatinina sierica di >50% rispetto al valore basale in 7 giorni (62). Nel 2007 il gruppo Acute Kidney Network (AKIN) ha proposto alcuni miglioramenti alla classificazione RIFLE noti come classificazione AKIN ossia un aumento della creatinina sierica >0.3 mg/dl entro 48 (63).

NGAL (Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin)

La proteina umana NGAL, che appartiene alla famiglia delle lipocaline, è un polipeptide di 178 aminoacidi con un PM di 25 KDa che è legato in modo covalente alla gelatinasi dei neutrofili. Come altre lipocaline, NGAL ha una forma terziaria a barile con un calice idrofobico che lega piccole molecole idrofiliche. I maggiori ligandi per NGAL sono le sideroporine, piccole molecole leganti il ferro (64).

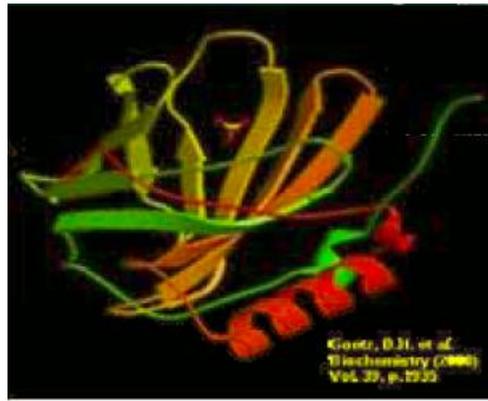


Fig. 7: NGAL

Originariamente NGAL è stato isolato dai neutrofili umani ma si trova a livelli molto bassi in diversi tessuti umani quali rene e prostata, polmoni, stomaco e colon. NGAL è liberata dai granuli secondari dei neutrofili attivati quindi i suoi livelli plasmatici aumentano durante i processi di infiammazione e di infezione, in particolare nelle infezioni batteriche. Teoricamente NGAL può essere considerato come un componente fisiologico della immunità innata contro le infezioni batteriche: da un lato i batteri sintetizzano le sideroporine per acquisire il ferro circostante ed NGAL eserciterebbe un effetto batteriostatico attraverso la deplezione delle sideroporine stesse. Dall'altro lato le sideroporine prodotte dagli eucarioti partecipano nei processi di trasporto del ferro mediati da NGAL che sono critici per varie reazioni cellulari quali la proliferazione e la differenziazione. Questo effetto protettivo è legato alla chelazione del ferro tossico nell'ambiente extracellulare e al rilascio regolato di sideroporine e ferro nei siti intracellulari (65). In condizioni normali le cellule dei tubuli renali producono ed eliminano NGAL a bassi livelli (37-106 ng/ml). L'espressione di NGAL è fortemente indotta negli epitelii danneggiati ed a livello renale ciò sembra associarsi particolarmente ad un danno ischemico o nefrotossico tubulare con conseguente aumento significativo dei suoi livelli plasmatici ed urinari. L'espressione genica di NGAL viene incrementata di oltre 10 volte nelle prime ore dopo danno ischemico al rene. Questo aumento diviene infatti misurabile entro 1-2 ore nel siero ed entro 4-8 ore nell'urina dal verificarsi di un insulto renale contro le 24-48 ore necessarie ad un innalzamento della creatinina. Mentre la creatinina è un marker di funzione, NGAL è un marker di danno tubulare. In un ampio screening genomico per i nuovi biomarcatori renali, NGAL è stato identificato come il gene con più alti livelli di espressione dopo ischemia renale. Questa aumentata espressione genica dopo danno renale a livello tubulare potrebbe spiegare gli elevati livelli del biomarcatore sia nelle urine che nel siero nei pazienti con AKI (66). NGAL urinario è espresso in proporzione al grado di insulto renale acuto, mentre nell'insufficienza renale cronica NGAL urinario è aumentato nei pazienti con danno progressivo ma non è espresso in caso di malattia renale stabile (67). Nel topo la perdita di volume o l'uso dei diuretici non aumentano i livelli urinari di NGAL; il che riflette la specificità del marcatore per l'evoluzione del danno tubulare. Queste osservazioni suggeriscono che NGAL urinario rivela non solo un insulto renale acuto, ma

anche che il suo grado di espressione potrebbe distinguere tra danno renale acuto, azotemia pre-renale e malattia renale cronica (68). Numerosi studi hanno evidenziato come NGAL sia un marcatore precoce di AKI in molte situazioni cliniche. Non c'è tuttora accordo su quale tipo di campione debba essere usato, ematico o urinario, ma c'è evidenza che i livelli di NGAL circolante possono essere influenzati da fattori extrarenali, mentre aumentati livelli urinari non necessariamente si associano ad aumentati livelli sierici di NGAL e sembrano essere più specifici di insulto renale tubulare. In diversi studi è stata testata la sensibilità di NGAL nel predire in tempi rapidi l'insorgenza di danno renale acuto (AKI). Il ruolo di NGAL come biomcatore di AKI è stato soprattutto evidenziato in pazienti a rischio per interventi cardiocirurgici, iniezione di mezzi di contrasto e trapianti di rene. Mishra et al. hanno dimostrato come un aumento sensibile e precoce dei livelli sierici ed urinari di NGAL (rialzo dopo due ore con picco alla quarta ora), in pazienti pediatriche sottoposti ad intervento cardiocirurgico con bypass cardiopolmonare si verifici solo nei soggetti che sviluppano AKI e come in questi stessi pazienti la diagnosi di danno renale acuto basata sull'incremento della creatinina sierica potesse essere effettuata solo dopo 24-48 ore dall'insulto iniziale (69). Grazie al dosaggio di NGAL il danno renale acuto dopo bypass cardiopolmonare può essere diagnosticato 1-2 giorni prima della comparsa di valori significativi di creatinina. Inoltre nel paziente con insufficienza renale cronica NGAL è un indice affidabile dell'entità del danno renale ed è un predittore indipendente del rischio di progressione verso stadi più avanzati di malattia (70). Nei pazienti con scompenso cardiaco acuto è un buon indicatore della progressione del danno renale; come dimostra lo studio GALLANT (NGAL evaluation along with B-type Natriuretic Peptide in acutely decompensated heart failure): la misurazione combinata dei livelli ematici di NGAL e di BNP sembra accrescere la capacità prognostica nei pazienti con HF (heart failure) e NGAL sembra avere una migliore capacità predittiva essendo più spesso e precocemente alterato nei casi a prognosi infausta (71, 72). Nelle sindromi coronariche acute un aumento dei livelli ematici di NGAL appare correlato alla severità del quadro clinico (73). Nell'insufficienza cardiaca cronica i livelli urinari di NGAL sono aumentati in accordo con il progressivo peggioramento della sofferenza ischemica del tubulo renale (74). È stato inoltre dimostrato come NGAL sia un buon predittore di nefropatia da contrasto dopo coronarografia ed angioplastica percutanea in pazienti con angina stabile e creatininemia normale con un aumento dei valori di NGAL sierico ed urinario già dopo due ore rispetto alle 24 ore necessarie per l'incremento della creatinina. Infine, NGAL può essere usato fin dal primo giorno nei pazienti politraumatizzati come marker precoce di danno renale acuto, in quanto è stato dimostrato come i suoi livelli urinari al momento del ricovero siano significativamente più elevati nei pazienti che in seguito svilupperanno AKI rispetto a coloro che non lo sviluppano (75). Alcuni autori (76) hanno suggerito un'analogia per il possibile impatto clinico di NGAL come biomcatore di danno renale con quello della troponina cardiaca nei confronti delle sindromi coronariche acute. Bisogna però sottolineare che mentre le troponine sono altamente miocardio-specifiche, NGAL non è un biomcatore altamente specifico di danno renale; mentre gli aumentati livelli sierici di troponina indicano sempre danno miocardico, aumentati livelli di NGAL possono anche essere

dovuti a danno o alterazioni funzionali di altri organi e tessuti. Sono state usate diverse definizioni di AKI per dare un valore predittivo di NGAL in vari studi clinici creando così fattori di confondimento. Altri fattori di confondimento sono l'età, il metodo di dosaggio, infezioni delle vie urinarie e co-morbidità associate al mancato rilascio renale di NGAL sono altri fattori modificanti i valori predittivi di NGAL. Occorrono pertanto accurati valori di riferimento e specifici valori di cut off per porre diagnosi di AKI in diverse situazioni cliniche, così come occorre ancora un'accurata analisi del rapporto costi-benefici.

CYSTATINA C

La Cys C è un peptide non glicosilato di 122 aminoacidi che appartiene alla famiglia degli inibitori delle proteasi della cisteina (77).



Fig. 8: Cistatina C

E' prodotta in quantità costante da tutte le cellule nucleate e si ritrova nel siero, nel liquor e nel latte materno mentre non viene trovata a dosaggi rilevabili nelle urine. La concentrazione di Cys C è indipendente da variabili quali età, sesso, razza, peso, massa muscolare e abitudini alimentari, così come non è influenzata dai metaboliti e farmaci che falsano l'analisi della creatinina (quali bilirubina, chetoni, ciclosporine, cefalosporine, asa) eccetto i glucocorticoidi. In condizioni normali è filtrata liberamente attraverso la membrana glomerulare, grazie al suo basso PM (13 KDa), viene poi riassorbita, ma non viene secreta a livello tubulare in quanto è catabolizzata nei tubuli prossimali (78). Dato il suo costante tasso di produzione, la concentrazione sierica di Cys C è pertanto determinata dalla filtrazione glomerulare e compare nelle urine unicamente per effetto del processo di filtrazione: è pertanto considerato un indicatore specifico di danno glomerulare (79). I livelli di Cys C sono un indice sensibile della funzione renale: un aumento della Cys C corrisponde ad un diminuzione del GFR. Per queste sue caratteristiche cinetiche la Cys C ha le potenzialità di essere un utile marker nel rilevare sia i cambiamenti acuti che cronici del GFR (80). La sua più breve emivita (1-5 ore) rispetto a quella della creatinina rende conto della sua più rapida crescita e del suo più rapido raggiungimento dello steady-state. La Cys C è distribuita in un volume extracellulare mentre la creatinina sierica è distribuita in tutta l'acqua corporea, un volume che è circa tre volte più ampio e quindi ha una emivita circa tre volte più lunga (9-15 ore). I livelli di Cys C aumentano sensibilmente nel sangue dopo circa 12 ore dall'insorgenza di danno renale acuto e nei pazienti

cardochirurgici prevede l'insufficienza renale acuta prima della creatinina: la Cys C è il miglior indicatore della funzione di filtrazione renale durante le perturbazioni del sistema renina-angiotensina conseguenti alla precoce disfunzione del ventricolo sinistro o all'uso di farmaci antagonisti del sistema renina-angiotensina (81). Inoltre la Cys C correla con la mortalità indipendentemente dalla IRA nei pazienti ricoverati in UTI e prevede la morbilità cardiovascolare. Nei pazienti ricoverati per scompenso cardiaco acuto e nelle SCA-NSTEMI (sindrome coronarica acuta - Non-ST-Elevation Myocardial Infarction) ne è stata documentata la capacità prognostica in termini di re-ospedalizzazione e mortalità a lungo termine ed è un predittore indipendente di nuovi eventi cardiovascolari (82). Nel paziente con insufficienza renale cronica consente una migliore stratificazione prognostica specie nei pazienti considerati a basso rischio e permette di monitorare la funzionalità renale essendo capace di evidenziare anche minime riduzioni del GFR (83). La Cys C sta emergendo come il miglior biomarcatore per identificare una AKI costituita (84).

III. PARTE SPERIMENTALE

IIIa. MATERIALI e METODI

DISEGNO dello STUDIO

Questo studio prospettico, randomizzato in due gruppi paralleli è stato condotto presso l'Ospedale del Cuore G. Pasquinucci, Fondazione G. Monasterio, di Massa come unico centro. I singoli pazienti hanno acconsentito, tramite un consenso scritto, che i loro dati venissero registrati nel database durante il periodo del ricovero. I pazienti sono stati assegnati in modalità random ai due gruppi di studio: nel primo gruppo il *prime* è stato eseguito solo con cristalloidi, nello specifico Ringer Lattato (RL group); nel secondo gruppo il *prime* è stato condotto con cristalloidi e colloidali, in particolare Ringer Lattato e Gelofusine 4% (Gelofusine; B.Braun Medical OY, Helsinki, Finland) in proporzione 3/4 + 1/4 (GEL group).

Lo scopo dello studio è stato quello di valutare l'impatto delle gelatine introdotte nel *prime* sulla coagulazione e sulla funzione renale.

POPOLAZIONE STUDIATA

Sono stati arruolati 35 pazienti adulti (età > 18 anni) che dovevano affrontare un intervento di cardiocirurgia, procedure di rivascolarizzazione, procedure valvolari o procedure combinate, presso l'Ospedale del Cuore G. Pasquinucci, Fondazione G. Monasterio, di Massa. Di questi 18 sono stati sottoposti BCP con *prime* costituito solo da cristalloidi mentre 17 a BCP con *prime* composto da cristalloidi e colloidali.

Criteri di inclusione:

- pazienti di età > 18 anni che dovevano subire un intervento cardiocirurgia in elezione, in Circolazione Extra Corporea, comprendendo sia interventi di rivascolarizzazione che procedure valvolari che la combinazione delle due.

Criteri di esclusione:

- procedure di urgenza
- presenza di insufficienza cardiaca grave o shock cardiogeno prima della procedura
- presenza di supporto inotropo o meccanico almeno 30 giorni prima dell'intervento
- pazienti con coagulopatia nota (congenita, acquisita o indotta farmacologicamente)
- presenza di eGFR \leq 30ml/min e RRT
- nota presenza di cancro, condizioni febbrili o altre condizioni che possono interferire con la sopravvivenza a breve termine
- gravidanza.

GESTIONE GENERALE dei PAZIENTI

Al momento dell'arruolamento sono stati raccolti i dati demografici (età, sesso, altezza, peso, BMI, BSA), la storia clinica comprendente la diagnosi, le comorbidità rilevanti (familiarità, fumo, diabete, ipertensione arteriosa, dislipidemia, anemia, classe NYHA) e la terapia medica assunta (farmaci nefrotossici,

anticoagulanti e antiaggreganti), la FE calcolata con ecocardiografia transtoracica, i dati di laboratorio relativi sia alla coagulazione (PT, aPTT, INR, fibrinogeno, conta piastrinica), che alla funzione renale (creatinemia) che biomarkers cardiaci (BNP, troponina) e l'Hb basale. Sono stati anche calcolati per ciascun paziente il Cleveland Clinic Foundation (CCF) score come indice preoperatorio di rischio di sviluppare AKI e l'EUROSCORE come indice di stratificazione generale del rischio.

GESTIONE ANESTESIOLOGICA

I pazienti sono stati premedicati con ranitidina 300mg per os e lorazepam 1 mg per os la sera precedente l'intervento più lorazepam 1 mg per os 30 minuti prima di andare in sala operatoria.

All'ingresso in sala operatoria dopo il monitoraggio di base (ECG, SpO2) è stato posizionato un accesso venoso o qualora già presente ne è stata verificata la funzionalità, quindi previa anestesia locale con lidocaina 2% è stato cannulata l'arteria radiale (ago-cannula 20G) ed eseguiti un'emogasanalisi ed un ACT basali.

L'anestesia generale è stata eseguita secondo il protocollo anestesiológico: induzione con 0.2mg/Kg di midazolam (1mg/ml) + 0.5mcg/kg di sufentanil (5mcg/ml) + 0.6-1 mg/kg di bromuro di rocuronio e poi mantenuta attraverso infusione continua di propofol 1% e sufentanil 5mcg/ml. La profilassi antibiotica è stata eseguita subito dopo l'intubazione oro-tracheale somministrando cefuroxime 2g o vancomicina 15mg/kg fino ad un max di 1g, in caso di allergia alle penicilline o di redò. Come da protocollo sono stati inoltre somministrati ad ogni paziente metilprednisolone 250mg, ranitidina 50mg e acido tranexamico 2g. Ad ogni paziente è stato poi preso un secondo accesso periferico, generalmente 16G/14G ed è stato posizionato un accesso venoso centrale in giugulare interna destra ed un introduttore di calibro 6 Fr in caso di approccio chirurgico in minitoracotomia o ministernotomia al fine di avere una via di accesso per il posizionamento di elettrodi endocardici qualora non risulti possibile posizionarli per via chirurgica.

GESTIONE del BCP

Il CPB è stato costituito usando una pompa non pulsatile e un ossigenatore a membrana. Nel gruppo RL il *prime* è stato costituito da 1500 ml composti rispettivamente da 1300 ml di RL + 100ml di mannitolo al 18% + 60ml di NaHCO₃ all'8.4% oppure 100 ml in casi di cardioplegia cristalloide Custodiol. Nel gruppo GEL il *prime* è stato realizzato con 800 ml di RL + 500ml di Gelofusine 4% (Gelofusine; B.Braun Medical OY, Helsinki, Finland) e sempre 100 ml di mannitolo 18% e 60 ml di NaHCO₃ all'8.4% (100 ml in caso di cardioplegia cristalloide Custodiol). Il BCP è stato condotto con flusso indicizzato 2,4 l/m²/min in ipotermia moderata raggiungendo una temperatura media di 34°C. Nella fase intraoperatoria è stato usato l'emorecuperatore Cell Saver modello ELECTA, Sorin Group ed il sangue processato è stato re-infuso alla fine della procedura chirurgica in sala operatoria e poi proseguito all'ingresso in UTI. Durante l'intervento l'infusione di liquidi è stata eseguita solo con cristalloidi ed in particolare RL e nei casi in cui si sia reso necessaria la somministrazione di albumina è stata usata albumina 5% 250 ml. Nessun altro colloide è stato somministrato per tutta la durata dello studio. Per ogni paziente sono stati annotati i tempi operatori più

significativi ossia: tempo di clampaggio, tempo di CEC, tempo dell'intervento e durata dell'anestesia.

Al termine dell'intervento i pazienti sono stati trasferiti in UTI, sedati in maniera blanda con propofol 1% in infusione continua ed in seguito svezzati dal ventilatore secondo protocollo fast-trac. Durante la degenza in UTI sono stati registrati i seguenti parametri delle prime 12 ore : la somministrazione di albumina, GRC, PFC e fattori della coagulazione (fibrinogeno), la somministrazione di farmaci anticoagulanti e antiaggreganti (desmopressina, LMWH, ASA), la quantità totale in mg di inotropi (Levosimendan, Adrenalina) e vasoattivi (Noradrenalina) somministrati, i valori di Pressione Arteriosa Sistolica, di Pressione Arteriosa Diastolica e di Pressione Arteriosa Media minimi raggiunti, la portata dei drenaggi toracici e la diuresi orari. Gli inotropi sono stati titrati in modo da mantenere un a PAM di circa 70-80 mmHg.

GESTIONE della COAGULAZIONE

Per ogni paziente è stata cessata la terapia antiaggregante e anticoagulante e sostituita secondo la tempistica indicata nella tabella ed è stata eseguita la profilassi con LMWH somministrata sottocute fino alla sera precedente l'intervento.

Durante la procedura chirurgica l'acido tranexamico è stato mantenuto in infusione continua al dosaggio di 1mg/kg/h.

Prima dell'inizio della CEC è stata somministrata eparina al dosaggio di 300 Ui/Kg al fine di ottenere un ACT > 480 sec., con eventuale dose aggiuntiva di 5.000-10.000 UI in caso di mancato raggiungimento del valore desiderato. L'ACT è stato quindi misurato ogni 30 minuti durante il BCP ed eventualmente corretto in modo da mantenere un valore costantemente superiore a 480 sec.

L'uso di emotrasfusione, GRC, è stato eseguito in caso di valori di Hb < 7 durante CPB e inferiori ad 8 dopo CBP; fattori della coagulazione concentrati, FFP o PLTs sono stati somministrati in base al monitoraggio della coagulazione attraverso i POC.

Alla fine della CEC l'eparina è stata antagonizzata dalla protamina in rapporto 1:1 e l'avvenuta neutralizzazione dell'eparina è stata confermata da un controllo ACT che doveva tornare massimo il 10% superiore al basale.

La revisione chirurgica è stata eseguita in caso di perdita ematica dai drenaggi > 100ml/h per almeno tre ore consecutive e solo dopo aver verificato che assetto coagulativo fosse nel *range* di normalità tramite i parametri di laboratorio ed i parametri POC (ROTEM).

METODO di CAMPIONAMENTO

I campioni di sangue per la tromboelastometria sono stati prelevati attraverso il catetere arterioso radiale (ago-cannula 20G) non eparinizzato, previa aspirazione di 10 cc di sangue, e posti in una provetta di polipropilene (BD Vacutainerw, BD Diagnostics, Plymouth, UK) contenente 3.2% di citrato. L'analisi tromboelastometrica della coagulazione (ROTEM; Pentapharm CO, Munich, Germany) è stata seguita usando 4 diversi tests ROTEM: Intrinsic ROTEM (attivazione del coagulo attraverso la fase di contatto, InTEM); Extrinsic ROTEM tests (attivazione tissutale della coagulazione, ExTEM); fibrinogeno ROTEM

(FibTEM : attivazione della coagulazione come in ExTEM con aggiunta di citocalasina D, sostanza che blocca le PLTs); Heparinase ROTEM (HepTEM : attivazione della coagulazione come in InTEM con aggiunta di eparinasi) che verranno eseguiti dall'investigatore alla cieca nei confronti del priming usato. Con il FibTEM la funzione piastrinica è inibita dalla citocalasina D per prevenire l'aggregazione piastrinica. Il FibTEM misura la forza della fibrina che partecipa al coagulo. L'HepTEM misura gli effetti dell'eparina sulla via intrinseca se confrontato con InTEM. La coagulazione verrà iniziata dagli attivatori usando un sistema di pipette semi-automatiche secondo le istruzioni dell'apparecchio. Il processo di coagulazione verrà lasciato procedere per 60 minuti. Le variabili TEM che verranno valutate sono: Clotting Time (CT,sec), Clot Formation Time (CFT,sec), α -angle (α -gradi); A10 (ossia un primo indice di come sta avvenendo la formazione del coagulo calcolato dopo 10 minuti), Maximum Clot Firmness (MCF,mm) e la Maximum Lysis (ML %, lisi del coagulo espressa in %MCF). Il contributo delle PLT alla consistenza del coagulo verrà valutata attraverso la differenza MCF in ExTEM e FibTEM: $\text{platelet MCF} = \text{ExTEM MCF} - \text{FibTEM MCF}$. Questi prelievi sono stati eseguiti a livello basale (t0), ossia subito dopo aver posizionato accesso arterioso, alla fine della CEC o dopo due ore di CEC qualora questa duri più a lungo (t1) e all'ingresso in UTI (t2).

I campioni di sangue per i parametri classici di laboratorio includono Hb, conta piastrinica, concentrazione fibrinogeno, INR, PT e aPTT e sono stati prelevati il giorno prima dell'intervento e all'ingresso in UTI e poi ripetuti in prima ed in seconda giornata dopo l'intervento ed esaminati dal laboratorio centrale.

I valori di NGAL nelle urine sono stati misurati a livello basale (t0) a fine o dopo due ore di CEC (t1), all'ingresso in UTI (t2), e poi rispettivamente dopo due, sei e dodici ore dall'ingresso in UTI (rispettivamente t3, t4, t5). In questi stessi campioni è stata misurata anche la creatinina urinaria per permettere la normalizzazione del livello del biomarcatore, mentre la creatinina sierica è stata misurata a livello basale (t0) e dopo 12 (t5), 24 (t6), 48 (t7) e 72 (t8) ore dopo l'ingresso in UTI. La Cys C sierica è stata misurata a livello basale (t0), e poi dopo 24 (t6), 48 (t7) e 72 (t8) ore dall'ingresso in UTI. NGAL urinario è stato misurato con una metodica immunometrica su piattaforma ARCHITET i1000 (Abbott Diagnostic, Roma) con un dosaggio immunologico chemiluminescente a cattura di microparticelle (CMIA), si tratta di microparticelle rivestite di anticorpi monoclonali anti-NGAL che permettono di rilevare NGAL nelle urine e ne consentono una determinazione quantitativa. Questo metodo di misurazione permette di eseguire la misura su campioni di urina senza pre-trattamento del campione, i risultati sono disponibili in 35 minuti e richiede soltanto 150 μ l di campione. Il campione di urine viene centrifugato per 10 minuti a 400 giri e due aliquote per ogni campione vengono congelate a -80°C prima del dosaggio. La Cys C sierica è stata misurata con metodo immunoenzimatico eseguito su sistemi Beckman: il campione di siero viene mescolato con immuno-particelle Gentian di cistatina C, la Cys C del campione si aggrega all'anti-CysC delle immuno-particelle Gentian e costituiscono delle particelle complesse che assorbono la luce. L'assorbimento viene correlato mediante turbidimetria alla concentrazione di Cys C. La creatinina sierica ed urinaria è stata misurata con il metodo cinetico di Jaffé modificato in cui il sistema dispensa automaticamente volumi

appropriati di campione/reattivo CREA nella cuvetta: nella reazione la creatinina si combina con i picrato in una soluzione alcalina per formare il complesso creatinina-picrato, colorato in rosso. Il sistema rileva la variazione di assorbanza a 520 nanometri. Questa variazione è direttamente proporzionale alla concentrazione di creatinina nel campione e viene usata dal sistema per esprimere la concentrazione di creatinina . I prelievi ematici per i biomarcatori renali (NGAL e CyS C) sono stati eseguiti dal catetere venoso centrale, previa aspirazione di 10cc di sangue, e posti in una provetta di polipropilene da 5 ml, mentre i prelievi urinari sono stati eseguiti direttamente dall'urometro e non dalla sacca di raccolta in modo da avere un campione che riflettesse la situazione renale del momento, in provette di PVC contenenti 10 ml e conservati in frigo fino al momento dell'esame.

	Basale t0 (h...)	Dopo 2h di CEC/appen a finita CEC t 1 (h...)	Ingresso UTI t 2 (h..)	2h da ingresso UTI (h.....)	6h da ingresso UTI (h.)	12h da ingresso UTI(h....)	24h da ingress o UTI (h.....)	48h da ingresso UTI (h.....)	72h dopo ingres so UTI (h.....)
ROTEM	X	X	X						
Cys C SIERICA	X					X	X	X	X
NGAL URINARIO	X	X	X	X	X	X			
CREATININ A SIERICA	X					X	X	X	X
CREATININ A URINARIA	X	X	X	X	X	X			

Fig.9: schema dei tempi dei prelievi

ANALISI STATISTICA

I dati continui sono stati espressi come media \pm la standard deviation (SD) e i dati categorici come percentuale. Il test Kolmogorov-Smirnov è stato usato per verificare la normalità dei dati nei due gruppi prima di ulteriori analisi. Per valutare le differenze nel tempo dei parametri della coagulazione e del danno renale all' interno di ciascun gruppo è stato usato l'analisi della varianza (ANOVA). Tutti i valori *p* riportati

sono bilaterali e i valori $p < 0.05$ sono stati considerati statisticamente significativi. Tutte le analisi statistiche sono state eseguite con software SPSS versione 20.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)

IIIb. RISULTATI

Per prima cosa è stata analizzata la normalità della distribuzione dei dati e dal momento che sono risultati distribuiti in maniera non omogenea rispetto alla normalità abbiamo analizzato i dati utilizzando i valori numerici dopo trasformazione logaritmica.

I pazienti esaminati sono stati in totale 35 di cui 18 nel gruppo RL e 17 nel gruppo GEL. Tutti i soggetti nei due gruppi erano confrontabili per caratteristiche demografiche (sesso, età, Body Mass Index), cliniche (fattori di rischio quali fumo, ipertensione arteriosa, diabete, familiarità, dislipidemia e anemia) e per le comorbidità rilevanti, in particolare sono state prese in considerazione pregresse coagulopatie, pregressa insufficienza renale, grado di scompenso cardiaco (calcolato secondo la classificazione NYHA e la FE %) e pregresse PCI, terapia medica assunta facendo particolare attenzione all'assunzione di farmaci anticoagulanti e antiaggreganti e di farmaci nefrotossici. Tutti i pazienti sono stati inoltre stratificati per il rischio di sviluppare insufficienza renale, calcolato secondo la Cleveland Clinic Foundation (CCF), e per un indice di stratificazione generale del rischio valutato secondo l'EuroSCORE (Tab. 1).

Tab. 1

VARIABILE	Gruppo RL (n=18)	Gruppo GELOFUSINE (n= 17)	Valore p
CARATTERISTICHE DEMOGRAFICHE			
ETA'	69.0±14.1	69.1±11.6	0.99
SESSO FEMMINILE	12 (66.7)	7 (41.2)	0.13
BMI	25.1±4.9	27.6±4.2	0.2
CARATTERISTICHE CLINICHE			
FUMO (no fumo) n%	11(61.1)	9 (52.9)	0.40
IPERT. ARTERIOSA n%	14 (77.8)	16 (94.1)	0.17
DIABETE n%	3 (16.7)	3 (17.6)	1
FAMLIARITA ' n%	9 (50.0)	5 (29.4)	0.31
DISLIPIDEMIA n%	10 (55.6)	5 (29.4)	0.18
ANEMIA n%	1 (5.6)	0	1

CLASSE NYHA	2.44±0.71	2.12±0.93	0.33
FE%	55±7.2	52±12.4	0.947
FARMACI NEFROTOSSICI (VANCOMICINA) n%	3 (16.7)	2 (11.8)	1
STRATIFICAZIONE del RISCHIO			
CCF	2.22±1.1	2.12±1.32	0.80
EuroSCORE	10.5±8.1	12.7±10.7	0.54

Per tutti i pazienti i tests di laboratorio eseguiti di routine erano nei limiti della normalità sia per quanto riguarda gli esami che studiano la funzione renale (creatinina urinari e plasmatica e azotemia) che per i test classici della coagulazione (PT, aPTT, INR, conta PTL, Fibrinogeno e AT III).

I pazienti nei due gruppi erano paragonabili sia per quanto riguarda i dati relativi all'intervento (tempo di durata della CEC e tempo di clampaggio aortico), sia per quanto riguarda la necessità di supporto inotropo (enoximone e levosimendan) e vasoattivo (noradrenalina e adrenalina) (Tab. 2).

Tab. 2

VARIABILE	Gruppo RL (n= 18)	Gruppo GELOFUSINE (n= 17)	Valore p
DURATA CEC	118±22	141±42	0.095
DURATA CLAPAGGIO AORTICO	84±22	99±42	0.20
SUPPORTO INOTROPO e VASOATTIVO n%	8 (44.4)	10 (58.8)	0.40

All'interno dei due gruppi di studio non si sono evidenziate differenze nella necessità di trasfusioni di emazie concentrate per anemizzazione durante e dopo CEC (5 pazienti nel gruppo Gel e 4 pazienti nel gruppo RL) ed un solo paziente appartenente al gruppo Gel è stato sottoposto a revisione chirurgica per sanguinamento dai drenaggi toracici. I valori di Hb sia basale che il valore minimo raggiunto nei giorni successivi all' intervento e la riduzione quantitativa sono perfettamente paragonabili mentre si è riscontrata una differenza significativa nella riduzione % di Hb tra i due gruppi. Nessun paziente ha subito trasfusione di FFP né di piastrine e soltanto il paziente sottoposto a revisione chirurgica è stato trasfuso con fibrinogeno concentrato. Allo stesso modo non si sono notate differenze tra i due gruppi per quanto riguarda il sanguinamento dai drenaggi toracici nelle 12 ore dopo l'intervento, la diuresi e la somministrazione di albumina per l'espansione volemica post-chirurgica (14 nel gruppo Gel e 12 nel gruppo RL). L' albumina è stata calcolata come quantità totale di albumina come massa secca calcolata sulla base di volumi infusi e percentuale di soluzione di albumina (Tab. 3).

Tab. 3

VARIABILE	Gruppo RL	Gruppo GELOFUSINE	Valore p
-----------	-----------	-------------------	----------

	(n= 18)	(n= 17)	
GRC ml	129±252	128±216	0.99
FFP ml	0	0	0
PIASTRINE ml	0	0	0
ALBUMINA	17±16	17±12	0.95
Hb basale	13.2±1.1	13.5±1.5	0.45
Hb Minima raggiunta	10.0±81	9.5±1.31	0.17
Riduzione Hb	3.2±1.3	4.1±1.2	0.074
Riduzione Hb %	24±8.7	30.0±7.7	0.059
SANGUINAMENTO DRENAGGI 12 h	228.6±49	256±167	0.50
DIURESI 12h	1672.8±475	1600.0±466	0.65

Nel monitoraggio post-operatorio sono stati confrontati i parametri di pH e lattati all'ingresso in terapia intensiva, quali indici della perfusione d'organo avutasi in sala operatoria, i valori di pressione arteriosa sistolica, diastolica e media minimi avuti nelle 12 ore successive all'intervento e il supporto inotropo, calcolato come mg complessivi somministrati, quali indici di perfusione d'organo post-operatoria (Tab. 4). Sembra esserci una differenza statisticamente significativa per quanto riguarda la PAD minima e la PAM minima nelle prime 12 ore dopo l'intervento tra i due gruppi con valori minimi inferiori per il gruppo GEL.

Tab. 4

VARIABILE	Gruppo RL (n= 18)	Gruppo GELOFUSINE (n= 17)	Valore p
pH ingresso UTI	7.392±0.042	7.367±0.052	0.19
LATTATI ingresso UTI	1.81±0.68	2.2±1.9	0.75
PAS minima 12h	106±11.4	102±12.4	0.32
PAD minima 12 h	61±10	52±9	0.011
PAM minima 12h	77±10	68±8.5	0.01
SUPPORTO INOTROPO e VASOATTIVO 12 h n%	8 (44.4)	10 (58.8)	0.40

Per quanto riguarda lo studio della coagulazione sono stati eseguiti a tutti i pazienti tre prelievi su sangue intero al tempo basale (t0) ossia non appena cannulata l'arteria radiale prima dell'induzione anestesiológica al fine di eliminare ogni possibile variabile di confondimento (Tab. 5). Dopo due ore di circolazione extracorporea o alla fine di questa, nel caso durasse meno di due ore, (t1) per studiare l'effetto dell'esposizione alla CEC sulla coagulazione intesa come esposizione a materiali non fisiologici, esposizione a danno meccanico da *shear stress*, da pompa roller, da passaggio attraverso l'ossigenatore a membrana ma soprattutto esposizione alla soluzione del *priming* (RL vs RL+Gelofusine) dal momento che tutti gli altri fattori sono stati omologati per entrambi i gruppi per cui le differenze tra i due gruppi sono attribuibili alle differenze della soluzione del *priming*. La scelta delle due ore di CEC è stata dettata dalle caratteristiche di

rialzo di NGAL che si muove dopo due ore dall'avvenuto danno renale e quindi per la comodità e praticità di eseguire un unico prelievo (Tab. 6). Infine un terzo prelievo è stato eseguito all'ingresso in terapia intensiva (t2) alla fine dell'infusione del sangue autologo recuperato alla fine dell' intervento, in coincidenza con l'EGA di ingresso (Tab. 7). Per ogni campione di sangue sono state studiate la via estrinseca ed intrinseca della coagulazione (ExTEM ed InTEM), il fibrinogeno (FibTem), ed il grado di anticoagulazione dovuto all'eparina non frazionata/frazionata ossia il profilo coagulativo del paziente dopo attivazione della via intrinseca antagonizzando in vitro l' effetto dell' eparina (HepTEM). In ognuno dei quattro canali sono stati valutati i parametri CT (Clotting Time in secondi), il CFT (Clotting Formation Time in secondi) l'angolo α in gradi, l'A10 (ossia i valori dopo 10 minuti di test), l' MCF (Maximum Clot Firmness in secondi), la ML (Maximum Lysis calcolata come percentuale del MCF).

Tab. 5

VARIABILE	Gruppo RL (n= 18)	Gruppo GELOFUSINE (n= 17)	Valore <i>p</i>
ExTem CT (s) 1	132.412±101.7	167.167±144.99	0.420
ExTem CFT (s) 1	85.059±22.4067	90±29.34	0.581
ExTem alfa 1	74.471±4.24	73.611±5.58	0.613
ExTem A10 (s) 1	57.82±3.94	57.94±5.42	0.941
ExTem MCF (s) 1	64.29±4.355	64.78±4.59	0.752
ExTem ML (%) 1	6.47±2.67	6.72±2.37	0.770
InTem CT (s) 1	166.06±18.60	186.00±21.29	0.006
InTem CFT (s) 1	66.58±16.39	72.67±18.45	0.311
InTem alfa 1	77.12±2.91	76.11±2.80	0.305
InTem A10 (s) 1	58.00±4.58	56.17±5.56	0.297
InTem MCF (s) 1	63.94±3.49	62.22±5.34	0.271
InTem ML (%) 1	7.58±3.16	7.44±2.30	0.878
FibTem CT (s) 1	123.29±97.27	202.39±209.27	0.165
FibTem A10 (s) 1	18.88±4.24	17.00±3.89	0.180
FibTem MCF (s) 1	21.06±5.14	19.28±3.81	0.251
FibTem ML (%) 1	0.35±1.15	0.72±2.42	0.591
HepTem CT (s) 1	161.82±24.78	178.89±18.27	0.026
HepTem CFT (s) 1	67.35±15.65	78.44±15.66	0.044
HepTem alfa 1	76.17±2.53	74.67±2.74	0.101
HepTem A10 (s) 1	56.94±3.89	54.78±5.03	0.166
HepTem MCF (s) 1	65.52±3.24	60.94±4.33	0.231
HepTem ML (%) 1	7.29±2.31	7.56±2.39	0.766

Tab.6

VARIABILE	Gruppo RL (n= 18)	Gruppo GELOFUSINE (n= 17)	Valore <i>p</i>
ExTem CT (s) 2	165.00±113.06	210.83±211.62	0.43
ExTem CFT (s) 2	113.41±32.27	131.89±50.70	0.23
ExTem alfa 2	69.06±6.16	66.22±7.29	0.22

ExTem A10 (s) 2	50.12±4.96	47.78±4.33	0.14
ExTem MCF (s) 2	59.94±4.09	59.11±2.22	0.45
ExTem ML (%) 2	2.76±2.22	2.55±2.38	0.79
InTem CT (s) 2	3647.82±883.44	3261.44±716.88	0.16
FibTemHS CT (s) 2	186.17±148.18	256.33±245.46	0.36
FibTemHS A10 (s) 2	13.70±3.53	11.44±2.15	0.026
FibTemHS MCF (s) 2	15.70±3.84	13.33±2.78	0.041
FibTemHS ML (%) 2	0.059±0.24	0.056±0.23	0.96
HepTem CT (s) 2	194.70±20.89	194.72±22.33	0.78
HepTem CFT (s) 2	100.11±30.26	96.22±21.62	0.66
HepTem alfa 2	72.29±2.41	71.72±3.04	0.57
HepTem A10 (s) 2	48.94±5.37	48.83±4.90	0.94
HepTem MCF (s) 2	58.11±4.28	57.83±4.10	0.84
HepTem ML (%) 2	2.47±2.00	3.33±3.03	0.33

Tab.7

VARIABILE	Gruppo RL (n= 18)	Gruppo GELOFUSINE (n= 17)	Valore <i>p</i>
ExTem CT (s) 3	153.76±125.31	156.28±1467.310.41	0.96
ExTem CFT (s) 3	120.76±	114.50±55.68	0.76
ExTem alfa 3	67.06±8.86	68.22±7.81	0.68
ExTem A10 (s) 3	50.76±7.30	51.06±6.58	0.902
ExTem MCF (s) 3	59.35±5.28	59.56±4.54	0.904
ExTem ML (%) 3	5.06±3.23	5.39±2.12	0.72
InTem CT (s) 3	201.47±19.00	203.56±17.08	0.735
InTem CFT (s) 3	94.06±19.35	92.17±22.26	0.791
InTem alfa 3	72.41±3.29	71.94±4.86	0.743
InTem A10 (s) 3	50.82±3.13	51.11±2.93	0.780
InTem MCF (s) 3	57.35±4.07	58.11±3.10	0.539
InTem ML (%) 3	6.00±3.57	5.33±2.14	0.505
FibTem CT (s) 3	221.65±197.36	189.33±182.35	0.618
FibTem A10 (s) 3	12.29±2.64	12.83±2.81	0.563
FibTem MCF (s) 3	14.47±4.75	14.72±3.49	0.859
FibTem ML (%) 3	0.00	0.00	0.173
HepTem CT (s) 3	196.47±20.31	193.17±17.67	0.611
HepTem CFT (s) 3	97.52±20.93	97.06±25.06	0.952
HepTem alfa 3	71.65±3.84	71.56±4.15	0.946
HepTem A10 (s) 3	48.76±4.65	49.50±4.42	0.635
HepTem MCF (s) 3	56.88±4.95	57.50±3.29	0.665
HepTem ML (%) 3	5.35±3.20	5.17±1.72	0.830

Sempre riguardo la coagulazione sono stati infine confrontati tutti i parametri ROTEM basali con quelli a due ore di CEC e poi all'arrivo in terapia intensiva al fine di dimostrare come la coagulazione venga sovvertita durante l'esecuzione del BCP e come i parametri tendano a tornare verso la normalità alla fine dell'intervento (Tab.8 e 9).

Tab.8

VARIABILE	VALORI BASALI (t0)	VALORI POST-CEC (t1)	Valore <i>p</i>
ExTem CT (s)	150.28±125.26	188.57±170.14	0.039
ExTem CFT (s)	87.60±25.94	122.91±43.16	0.000
ExTem alfa	74.09±4.92	67.60±6.82	0.000
ExTem A10 (s)	57.88±4.69	48.91±4.73	0.000
ExTem MCF (s)	64.54±4.42	59.51±3.24	0.000
ExTem ML (%)	6.60±2.48	2.66±2.74	0.000
InTem CT (s)	176.31±22.18	345.11±814.02	0.000
InTem CFT (s)	47±0.0	1826.0±0.0	0.000
Intem alfa	80.00±0.0	9.00±3.00	0.001
InTem A10	59.50±5.06	6.75±2.50	0.000
InTem MCF (s)	64.75±3.68	16.75±8.38	0.001
Intem ML (%)	7.50±3.10	0.0±0.0	0.017
FibTem CT (s)	163.97±167.20	222.26±204.27	0.002
FibTem CFT (s)	209.67±60.74	1982.33±1514.63	0.178
FibTem alfa	72.42±7.66	62.50±13.72	0.000
FibTem A10	17.91±4.12	12.54±3.08	0.000
FibTem MCF (s)	20.14±4.53	14.49±3.50	0.000
FibTem ML (%)	0.54±1.99	0.057±0.23	0.164
HepTem CT (s)	170.60±23.04	195.74±21.35	0.000
HepTem CFT (s)	73.06±16.42	98.11±25.86	0.000
HepTem alfa	75.40±2.71	72.00±2.94	0.000
HepTem A10	55.83±4.59	48.88±4.90	0.000
Heptem MCF (s)	61.71±3.87	57.97±4.13	0.000
HepTem ML (%)	7.17±2.32	2.91±2.58	0.000

Tab.9

VARIABILE	VALORI BASALI (t0)	VALORI INGRESSO UTI (t2)	Valore <i>p</i>
ExTem CT (s)	150.29±125.26	155.06±131.34	0.796
ExTem CFT (s)	87.60±25.94	117.54±60.77	0.003
ExTem alfa	74.03±4.92	67.66±8.23	0.000
ExTem A10 (s)	57.88±4.69	50.91±6.84	0.000
ExTem MCF (s)	64.54±4.42	59.46±4.84	0.000
ExTem ML (%)	6.60±2.49	5.23±2.68	0.005
InTem CT (s)	176.31±22.18	202.54±17.80	0.000
InTem CFT (s)	69.71±17.49	93.08±20.67	0.000
Intem alfa	76.60±2.86	72.17±4.12	0.000
InTem A10	50.06±5.12	50.97±2.98	0.000

InTem MCF (s)	63.06±4.56	57.74±3.58	0.000
Intem ML (%)	7.51±2.72	5.66±2.89	0.002
FibTem CT (s)	163.97±167.21	205.03±187.68	0.096
FibTem CFT (s)	1598.00±0.0	830.00±0.0	0.000
FibTem alfa	72.32±8.08	65.68±7.94	0.000
FibTem A10	17.92±4.12	12.57±2.70	0.000
FibTem MCF (s)	20.14±4.54	14.60±4.09	0.000
FibTem ML (%)	0.54±1.99	0.34±1.43	0.439
HepTem CT (s)	170.60±23.04	194.77±18.79	0.000
HepTem CFT (s)	73.06±16.42	97.29±22.80	0.000
HepTem alfa	75.40±2.71	71.60±3.94	0.000
HepTem A10	55.83±4.59	41.14±4.49	0.000
Heptem MCF (s)	61.71±3.87	57.20±4.13	0.000
HepTem ML (%)	7.17±2.32	5.26±2.51	0.000

Per quanto riguarda lo studio della funzione renale e del danno renale invece sono stati eseguiti 6 prelievi di urine per il dosaggio di NGAL urinario e della Creatinina urinaria rispettivamente al t0, t1 e t2 e poi dopo due ore, dopo 6 ore e dopo 12 ore dall' ingresso in terapia intensiva e questi parametri sono stati valutati sia come valori assoluti che come reciproco rapporto (U NGAL/U Creatinina). Inoltre sono stati eseguiti prelievi ematici al t0 e poi dopo 12 ore, dopo 24 ore, dopo 48 ore e dopo 72 ore dall' ingresso in terapia intensiva per il dosaggio sia della Creatinina sierica che della Cystatina C sierica quali indici di ulteriore monitoraggio della funzione renale e del danno renale (Tab. 10).

Tab. 10

VARIABILE	Gruppo RL (n= 18)	Gruppo GELOFUSINE (n= 17)	Valore <i>p</i>
U NGAL basale	16.32±11.48	15.63±12.50	0.673
U NGAL 2h CEC	13.07±14.28	27.66±29.15	0.019
U NGAL Ingresso UTI	71.63±119.55	584.22±858.94	0.029
U NGAL 2h UTI	58.81±124.68	448.48±880.95	0.087
U NAGL 6h UTI	22.08±25.05	24.04±39.02	0.452
U NGAL 12h UTI	7.69±6.24	9.98±13.79	0.702

Per quanto riguarda invece la creatinina sia sierica che urinaria e la Cys C sierica non esistono differenze significative tra i due gruppi di studio esaminati in nessuno dei 5 prelievi eseguiti per un tempo complessivo di osservazione di 72 ore dopo l' ingresso in terapia intensiva (Tab. 11 e Tab. 12).

Tab. 11

VARIABILE	Gruppo RL (n= 18)	Gruppo GELOFUSINE (n= 17)	Valore <i>p</i>
CREATININA basale	0.77±0.24	0.82±0.23	0.591
CREATININA 12h ingresso UTI	0.81±0.26	0.90±0.27	0.302
CREATININA 24h ingresso UTI	0.87±0.33	0.90±0.31	0.784
CREATININA 48h	0.85±0.38	0.93±0.48	0.558

ingrimento UTI			
CREATININA ingresso UTI	0.78±0.30	0.83±0.35	0.660

Tab. 12

VARIABILE	Gruppo RL (n=18)	Gruppo GELOFUSINE (n= 17)	Valore <i>p</i>
Cys C basale	0.87±0.28	1.12±0.79	0.196
Cys C 12h ingresso UTI	0.78±0.28	0.87±0.57	0.783
Cys C 24h ingresso UTI	0.94±0.37	1.17±0.74	0.203
Cys C 48h ingresso UTI	1.05±0.43	1.29±0.99	0.429
Cys C 72h ingresso UTI	1.00±0.37	1.17±0.76	0.624

IV. DISCUSSIONE

I pazienti cardiocirurgici hanno un pattern coagulativo che cambia rapidamente sia per le caratteristiche della chirurgia stessa che per le caratteristiche dei pazienti spesso caratterizzati da malattia poli-distrettuale e quindi da molteplici terapie. Il sanguinamento in cardiocirurgia è molto spesso multifattoriale. La cardiocirurgia infatti può essere accompagnata da perdita ematica maggiore con conseguente consumo e perdita di fattori della coagulazione ed emodiluizione. In chirurgia maggiore è stato dimostrato che l'emodiluizione di per sé può ridurre sia la generazione di trombina che la formazione di fibrina (86). In un recente studio del 2011 la Solomon ha dimostrato che in cardiocirurgia, dopo la circolazione extracorporea, la formazione di fibrina è molto più danneggiata rispetto al danno a carico della componente piastrinica e della generazione di trombina (87). La coagulopatia che si riscontra nei pazienti cardiocirurgici può essere esacerbata dalle comorbidità dei pazienti (diabete, insufficienza renale e/o epatica), dalla concomitante terapia antitrombotica assunta (farmaci antiaggreganti, anticoagulanti), ma non solo. Altri farmaci che possono alterare il pattern della coagulazione sono infatti gli analgesici (FANS), gli antidepressivi della categoria SSRI, e gli antibiotici. I parametri relativi all'intervento possono influenzare in vario modo la coagulazione: il tipo di intervento (bypass aorto-coronarico vs chirurgia aortica), il bypass cardio polmonare e la sua durata più o meno lunga, la tecnica chirurgica usata, l'ipotermia, le soluzioni usate per il reintegro volumico (cristalloidi e colloidi) ed infine il trattamento peri-operatorio dell'emostasi (88). L'uso del CPB induce emodiluizione, disfunzione piastrinica, riduce la concentrazione dei fattori della coagulazione e promuove la fibrinolisi. La chirurgia a cuore aperto e il CPB causano attivazione della via estrinseca della coagulazione tramite attivazione del fattore tissutale e della via intrinseca come risultato del contatto del sangue con la superficie non biologica del circuito del CPB (89). Ci sono diversi fattori che possono essere predittivi di sanguinamento in cardiocirurgia: l'uso di farmaci che inibiscono l'aggregazione piastrinica (aspirina ed antagonisti del recettore GPIIb/IIIa), bassi dosaggi pre-operatori di fibrinogeno, anche se ai limiti bassi del normale, e a questo riguardo una riduzione del FibTEM MCF < 8mm è stato visto che ha il miglior effetto predittivo di sanguinamento post-operatorio di qualsiasi altro fattore (90). L'eventuale fallimento nel ristabilire l'emostasi e ridurre il sanguinamento peri-operatorio aumenta il rischio di revisione chirurgica, di emotrasfusione, il tempo di permanenza in UTI, la morbilità e mortalità dei pazienti (91). Inoltre ci sono molte evidenze a dimostrazione del fatto che la trasfusione ematica allogenica di per sé è un fattore di rischio indipendente di aumentata morbilità e mortalità in pazienti sottoposti ad intervento cardiocirurgico ed in pazienti ricoverati per coronaropatia acuta. La trasfusione di prodotti ematici è associata inoltre con un'aumentata incidenza di insufficienza renale, di eventi trombotici/tromboembolici inclusi ictus cerebri ed infarto miocardico, di immunomodulazione trasfusione correlata con conseguente sviluppo di infezioni e di sepsi e di danno polmonare acuto (TRALI) (26, 92; 93). Pertanto più che in altri campi, nel paziente cardiocirurgico poter usufruire di uno strumento che consenta una

diagnosi rapida e precisa della specifica alterazione emostatica consente una terapia salvavita efficace e mirata. Le linee guida della società europea di anestesia (ESA) raccomandano con evidenza 1C l'uso dei POC tests al fine di somministrare una terapia emostatica mirata, la così detta "early gold directed therapy", durante gli interventi di chirurgia cardiovascolare.

Anche nei nostri pazienti il confronto dei parametri ROTEM pre-operatori con quelli dopo due ore di CEC e poi di nuovo all'ingresso in terapia intensiva ha dimostrato notevoli modificazioni dello stato della coagulazione. Il prolungamento del CT visto in tutti i test eseguiti (ExTEM, InTEM e HepTEM) è un'ulteriore conferma dell'alterazione della fase enzimatica della coagulazione fino alla formazione della trombina dovuta alla riduzione dei livelli dei fattori di coagulazione. Infatti in uno studio recente canadese del 2010 gli autori hanno misurato una riduzione di 30-40% dei fattori della coagulazione dopo CEC (94).

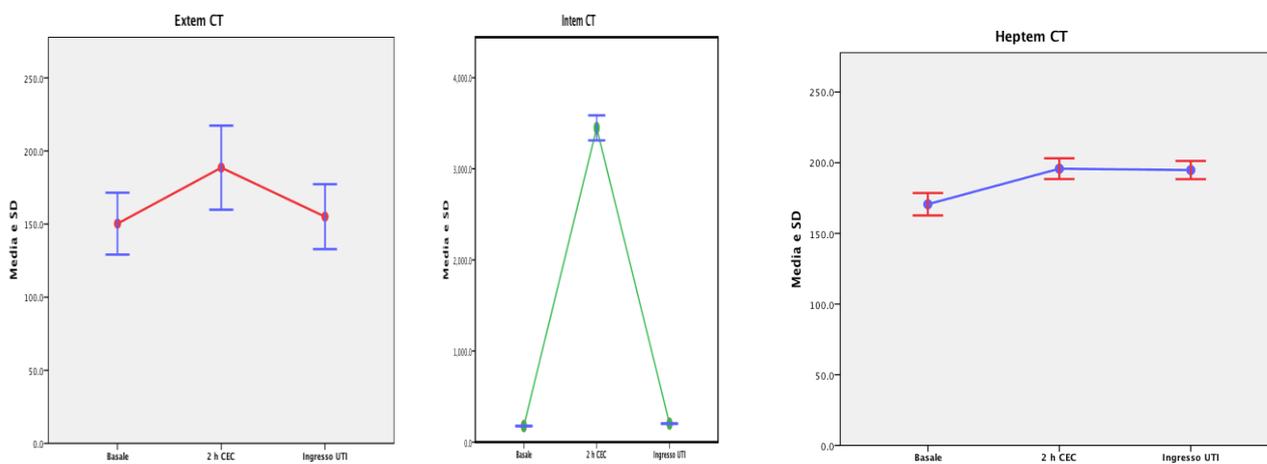


Fig. 10: variazioni di CT in ExTEM, InTEM e HepTEM nei tre prelievi.

La riduzione dell' MCF riscontrato in tutti i test (ExTEM, InTEM e HepTEM) eseguiti indica una peggiore qualità della stabilità del coagulo dopo la CEC . Questa riduzione può essere dovuta a: riduzione dei livelli del fibrinogeno, disfunzione piastrinica e riduzione dei livelli del fattore XIII. La riduzione dell' MCF FibTEM prova che la partecipazione del fibrinogeno nella formazione del coagulo è molto ridotta durante e dopo la CEC (86).

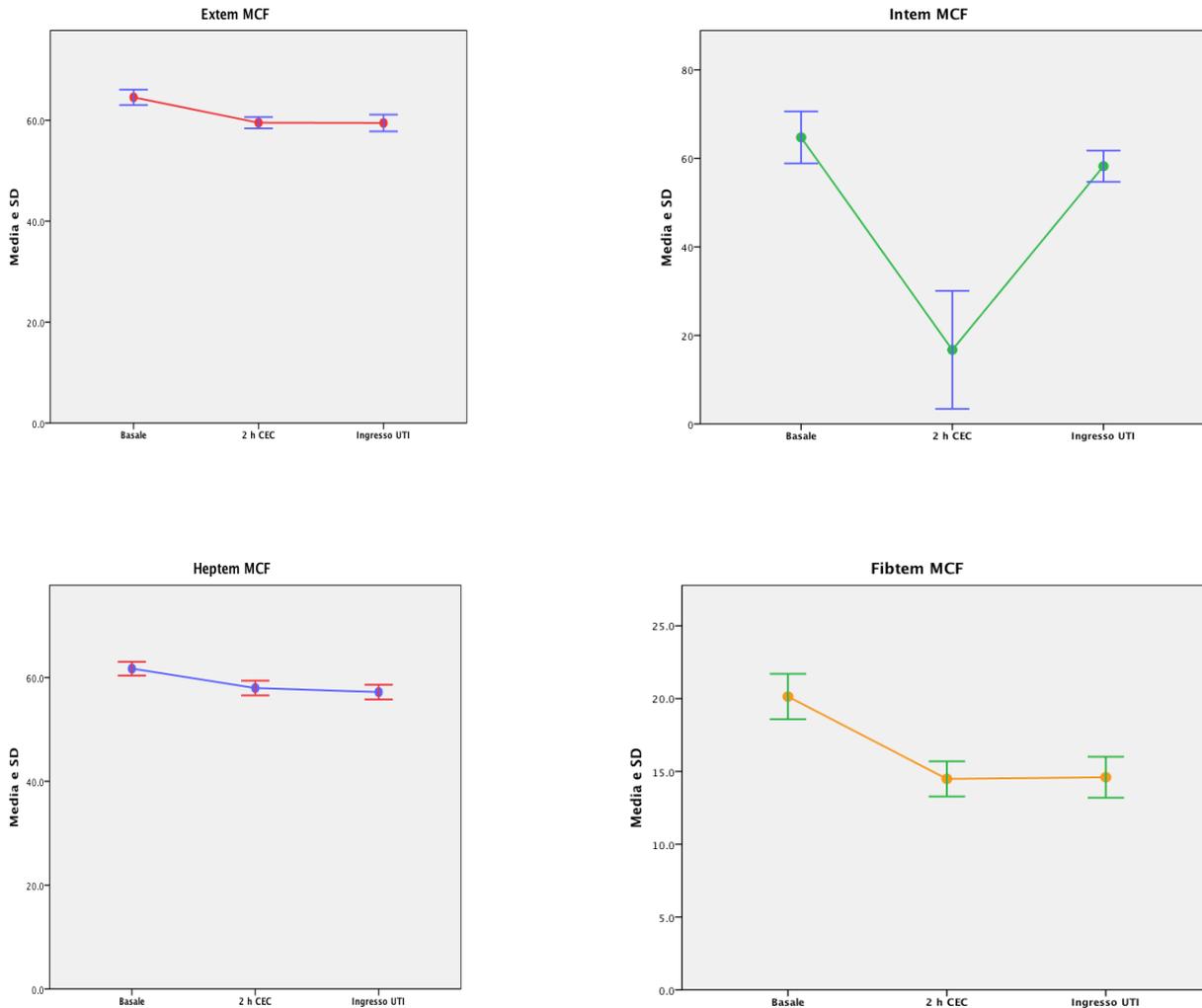


Fig. 11: variazioni di MCF in ExTEM, InTEM, HEpTEM, FibTEM nei tre prelievi.

Anche se l'eparina resta la regina indiscussa dell'anticoagulazione in CEC non si è mai trovata una risposta alla domanda se sia meglio monitorizzare l'anticoagulazione con i test funzionali (ACT) o l'eparinemia (usualmente nei POCT titrando con la protamina). I test funzionali, in specifico l'ACT, vengono alterati non solo dalla presenza dell'eparina ma anche da altri fattori quali l'emodiluzione e l'ipotermia. Dall'altro lato l'effetto dell'eparina non frazionata non è dosaggio dipendente. Nonostante ciò, nella pratica internazionale il monitoraggio dell'anticoagulazione in CEC viene prevalentemente fatto con l'ACT. Durante il CPB tutti i nostri pazienti sono stati mantenuti con ACT > 480". Lo studio della coagulazione InTEM a 120 minuti dall'esposizione alla CEC ha dimostrato una grande variabilità del grado dell'anticoagulazione (InTEM CT minimo 1657 massimo 5412, InTEM CFT minimo 0 massimo 1826, InTEM α minimo 0 massimo 12, InTEM MCF minimo 0 massimo 28, InTEM ML minimo 0 massimo 0), ripresentando così la variabilità nello stato di coagulazione misurato con test viscoelastici nonostante l'omogeneità misurata con l'ACT. Questa disomogeneità rende difficile studiare l'impatto che possono avere altri fattori sull'equilibrio della coagulazione in CEC.

Il riscontro di una differenza significativa tra i due gruppi nei confronti del parametro InTEM-CT pre-operatorio (186 ± 22 nel gruppo Gel vs 167 ± 19 nel gruppo RL, $p: 0.017$) sarebbe imputabile al fatto che un maggior numero di pazienti in terapia profilattica con LMWH sono stati casualmente inclusi dalla randomizzazione nel gruppo Gelofusine. Nei successivi prelievi, dopo 2 ore di CEC e all'ingresso in terapia intensiva, non si osservano differenze nell' InTEM CT. La coagulazione studiata secondo la via intrinseca subisce evidenti modificazioni durante l'eparinizzazione sistemica durante la CEC e successivamente in seguito all'antagonizzazione dell'eparina al termine della CEC. I piccoli residui di LMWH capitati nel gruppo Gelofusine come dimostrato nel nostro studio perdono la loro importanza di fronte a suddetto sconvolgimento.

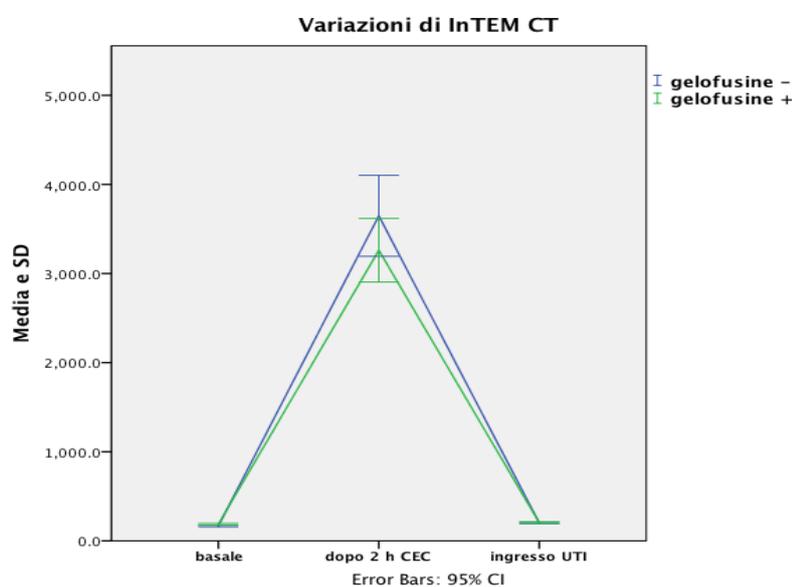


Fig. 12: variazioni del parametro InTEM CT nei due gruppi.

I nostri dati hanno dimostrato come l'esposizione a Gelofusine durante CEC sia associata ad una riduzione del parametro FIBTEM(HS) MCF rispetto ai pazienti esposti soltanto a Ringer Lattato con conseguente formazione di un coagulo meno stabile. Questi dati sembrerebbero concordare con quelli dello studio di A. Schramko pubblicato su British journal of Anaesthesia (95) in cui 45 pazienti che andavano incontro ad intervento di cardiocirurgia sono stati randomizzati in tre gruppi per ricevere solamente Voluven, Gelofusine o Ringer Acetato come reintegro volemico post-operatorio. Lo studio ha dimostrato che sia l'infusione di Voluven che di Gelofusine alterano la forza del coagulo e la polimerizzazione della fibrina. Questo effetto sarebbe dovuto all'interferenza delle grandi molecole di colloidali con il fibrinogeno, con il fattore VIII e con il fattore di von Willebrand più di quanto ci si aspetterebbe dal solo effetto della emodiluzione che da sola può ridurre la formazione di trombina e la formazione di fibrina. La riduzione della concentrazione del fibrinogeno potrebbe alterare la polimerizzazione della fibrina. Il riscontro di una

diminuzione del parametro FIBTEM(HS)-MCF indica una riduzione della forza della componente fibrinogeno nella formazione del coagulo. Se questa ridotta stabilità del coagulo sia dovuta solo ad una diminuzione quantitativa del fibrinogeno (come dimostrato con FibTEM HS MCF) o anche ad una sua ridotta capacità di legame con i Recettori GPIIb/IIIa delle piastrine rimane ancora da dimostrare.

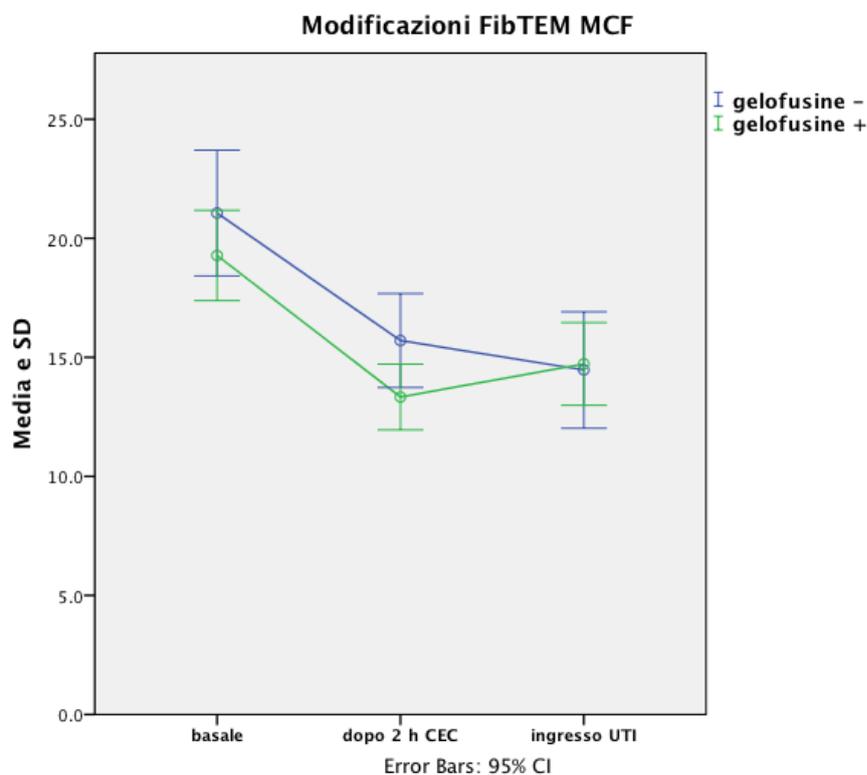


Fig. 13: modificazioni del parametro FibTEM MCF nei due gruppi.

Non abbiamo riscontrato una fibrinolisi spinta in nessun paziente e questo potrebbe essere spiegato con il fatto che il nostro protocollo interno prevede che tutti i pazienti facciano una terapia antifibrinolitica sia prima dell'intervento (acido tranexamico 30 mg/kg ev prima dell'incisione) che durante tutto l'intervento (acido tranexamico 1 mg/Kg/h ev in infusione continua). Questo dosaggio dell'antifibrinolitico sembrerebbe essere protettivo nei confronti della fibrinolisi che si verifica durante la CEC (96). Dal punto di vista clinico non esistono differenze significative nella quantità delle perdite ematiche dai drenaggi chirurgici nelle prime 12 ore post-intervento. Soltanto uno dei 35 pazienti, appartenente al gruppo Gelofusine, è stato sottoposto a revisione chirurgica per sanguinamento post-operatorio (790 ml/12h). Sia i test standard di laboratorio che i ROTEM eseguiti secondo la tempistica dello studio non dimostravano alterazioni della coagulazione. Nella nota operatoria il chirurgo ha segnalato la presenza di un grosso coagulo a livello del solco atrio-ventricolare con verosimile origine del sanguinamento a livello dei buchi dell'ago della sutura dell'aortotomia, per cui un sanguinamento non dovuto ad alterazione della coagulazione ma di origine

chirurgica. Inoltre questo studio non ha dimostrato differenze significative nei due gruppi né per quanto riguarda la quantità di prodotti allogeneici emotrasfusi né per quanto riguarda l'insorgenza di eventi avversi a carico di altri organi.

Il nostro studio ha come limite un numero piccolo di pazienti studiati sebbene questi siano andati incontro ad un tipologia di intervento simile. Il riscontro di una maggiore durata dell'intervento chirurgico nel gruppo Gel (258 ± 65 nel gruppo Gel vs 213 ± 38 nel gruppo RL, $p=0.018$) nonostante un'uguale durata della CEC (141 ± 42 nel gruppo Gel vs 118 ± 22 nel gruppo RL, $p=0.095$) suggerisce una più lunga fase di emostasi intraoperatoria. L'emostasi più o meno difficoltosa dovuta a gemizio diffuso rimane una percezione soggettiva del chirurgo non meglio quantificabile né standardizzabile. Nel nostro studio tutti gli operatori erano ciechi verso il tipo di *priming* usato e la durata dell'emostasi chirurgica rimane l'unico dato indiretto della difficoltà dell'emostasi intraoperatoria.

Possiamo pertanto concludere che l'uso di Gelofusine durante BCP espone i pazienti ad una alterazione della coagulazione intesa come ridotta forza del coagulo per diminuzione del contributo del fibrinogeno alla forza del coagulo stesso ma che questa sembra essere una alterazione temporanea, ossia durante CEC. Per poter spiegare il meccanismo alla base di tale alterazione occorrono ulteriori studi con metodiche integrative al ROTEM che valutino l'effetto delle piastrine e numeri maggiori di pazienti.

Il rischio di sviluppare danno renale in cardiocirurgia è piuttosto elevato. Circa il 3-29% dei pazienti operati sviluppano disfunzione renale nel post-operatorio e circa l'1-5% necessita di dialisi post-operatoria, di questi il 27-89% muoiono per complicanze associate alla dialisi (97). Più del 50% dei pazienti sottoposti ad intervento di cardiocirurgia hanno almeno un fattore di rischio renale preoperatorio (età avanzata, comorbidità quali diabete mellito, anemia, insufficienza cardiaca, aterosclerosi polidistrettuale, ipovolemia). La causa maggiormente implicata nella genesi del danno renale nel paziente cardiocirurgico è l'ipoperfusione renale conseguente alla ridotta portata cardiaca che caratterizza la maggior parte di questi pazienti. Il BCP costituisce un'altra potenziale causa di danno renale. Il danno renale conseguente a CEC può essere legato alla ipoperfusione, all'emolisi, alla formazione di microemboli e mediatori citotossici e vasoattivi che determinano riduzione del filtrato glomerulare, comparsa di proteinuria e danno tubulare (98).

Attualmente, nella pratica clinica la diagnosi di insufficienza renale si basa sulla variazione della creatinina nel siero. La creatinina è un marcatore della funzione renale e non di danno renale e soprattutto si muove tardivamente, ossia quando si è già sviluppata necrosi cellulare a livello dei tubuli renali. Alcuni studi hanno dimostrato che si può avere una perdita della funzione renale fino al 50% prima che i valori della creatinina risultino alterati rispetto ai limiti di riferimento. Questo dato indica che il rene è un organo dotato di un'ampia riserva funzionale. Questo dato potrebbe spiegare il perché in alcuni pazienti ci sia un incremento significativo di NGAL non associato ad un consensuale aumento della creatinina. La riserva funzionale di cui il rene è dotato è difficilmente stimabile nella pratica clinica. Il paziente può aver sviluppato già un

danno renale non dimostrabile con i valori della creatinina in quanto tale danno, non ha ancora esaurito la riserva funzionale dell'organo, ma un ulteriore minimo insulto a carico del rene potrebbe scatenare l'insorgenza di insufficienza renale. In tali pazienti diventa dirimente avere un indice che possa diagnosticare l'eventuale insorgenza di insulto renale responsabile della successiva evoluzione verso l'insufficienza renale e permettere così al clinico di intervenire prima che questa si sviluppi.

I valori di NGAL sono aumentati in modo statisticamente significativo nel gruppo dei pazienti sottoposti a *prime* con Gelofusine rispetto al gruppo sottoposto a *prime* con Ringer Lattato. Diversi studi hanno dimostrato casi di insufficienza renale acuta con la somministrazione di HES e Gelatine (99,100). Il meccanismo responsabile sembra di natura emodinamica ossia queste soluzioni causerebbero un aumento della pressione oncotica che potrebbe spiegare queste insufficienze renali acute. I risultati dello studio VISEP (Efficacy of Volume Substitution and Insulin Therapy in Severe Sepsis) sono probabilmente una prova indiretta di questo meccanismo (101). Infine uno studio clinico che mostra un effetto dose con una soglia di 33 ml/Kg tanto per l' HES 130/0,4 che per la gelatina nella comparsa di un' insufficienza renale acuta nei pazienti in rianimazione depone anch' esso a favore di questo meccanismo (102).

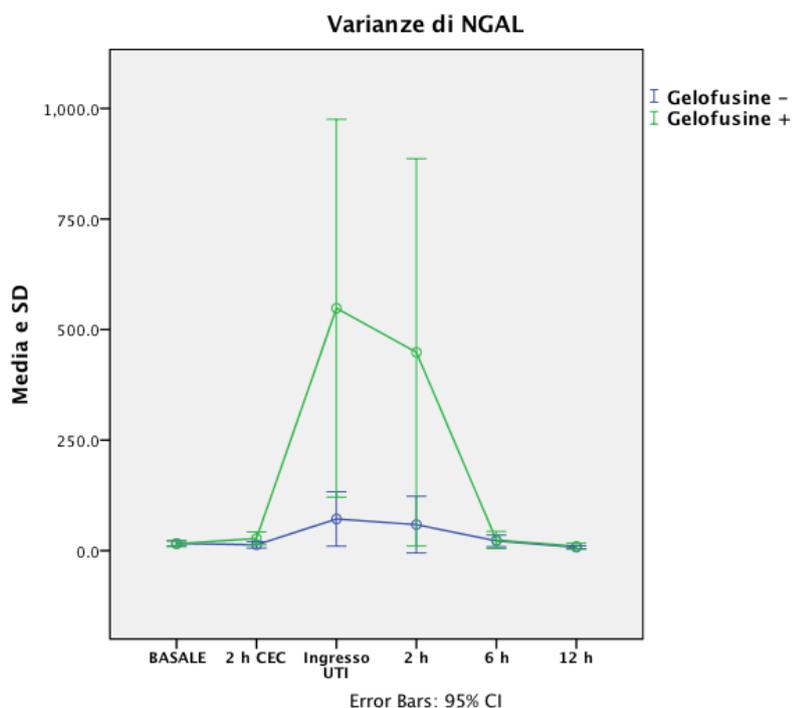


Fig.14: Modificazioni di NGAL nei 6 prelievi eseguiti.

Di contro i nostri pazienti non hanno dimostrato differenze significative tra i due gruppi per quanto riguarda le modificazioni della creatinina nè della cistatina C sierica.

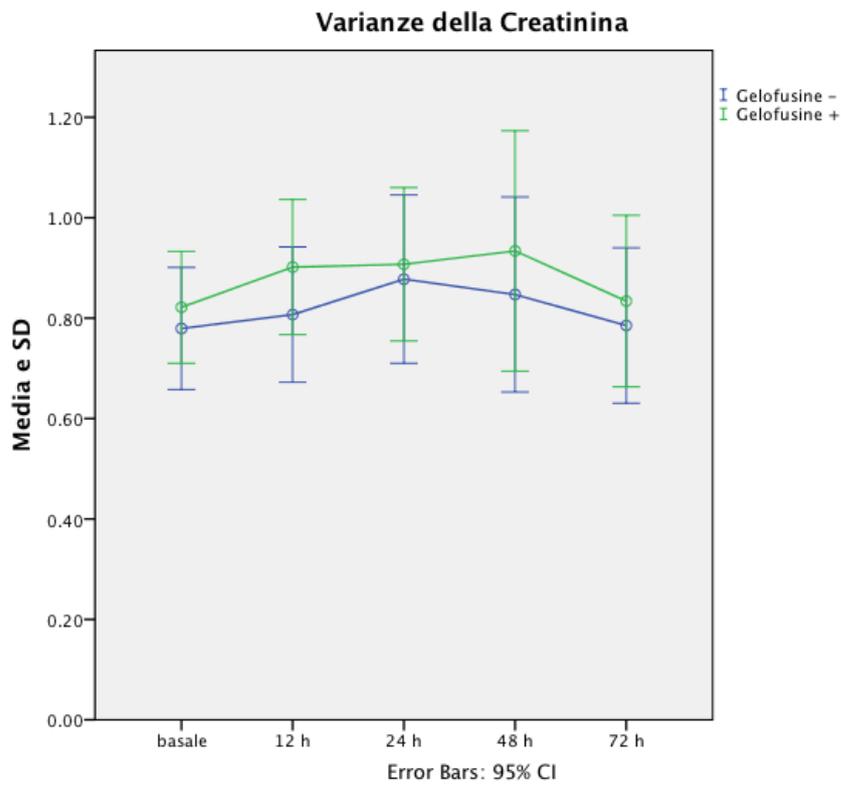


Fig. 15: variazioni della creatinina nei 5 prelievi eseguiti.

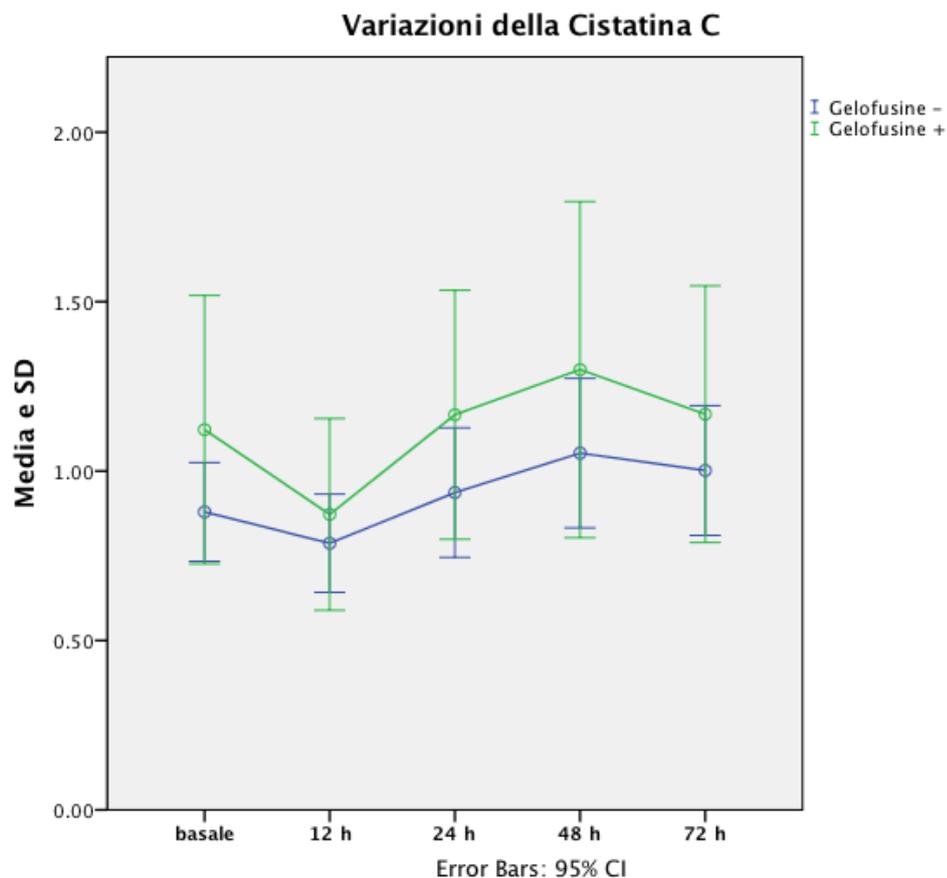


Fig. 16: variazioni della Cistatina C nei 5 prelievi eseguiti.

Alla luce dei dati raccolti e dall'analisi statistica è stato visto che l'incidenza di AKI o meglio la diagnosi di classe RISK di AKI, intesa come aumento del 50% del valore della creatinina rispetto al valore basale si aveva in 5 pazienti su 35, corrispondente al 14.3%. Di questi 5 pazienti 3 appartenevano al gruppo Gelofusine e due al gruppo RL. Di questi 5 pazienti che sviluppano la classe RISK di AKI due casi venivano predetti da aumento significativo di NGAL a due ore dalla CEC e all'ingresso in UTI con un tasso di predizione quindi di sviluppare danno renale del 40% mentre la Cys C era in grado di predirne lo sviluppo in 4 pazienti su 5 ossia nell'80% dei casi ma con un ritardo di 10 ore rispetto all'NGAL cioè la Cys C comincia a muoversi circa 12 ore dopo l'avvenuto insulto renale. Nessuno dei 35 pazienti ha sviluppato un danno renale superiore alla classe RISK di AKI.

L' incremento di NGAL nel gruppo Gelofusine suggerisce un coinvolgimento di tale colloide nello sviluppo del danno renale perioperatorio però dal momento che in letteratura ancora non ci sono valori di cut-off universalmente definiti è difficile poter dire se tale aumento possa essere indicativo di un eventuale

successivo sviluppo di insufficienza renale in tali pazienti. Occorre un numero maggiore di pazienti ed un follow up di almeno un anno per chiarire meglio l' impatto di Gelofusine sul rene.

V. BIBLIOGRAFIA

1. "CHEST" study :Myburgh, J.A. et al. Hydroxyethyl Starch or saline for fluid resuscitation in intensive care N Engl J Med 2012; 367(20):1910-11.
2. "6S" study Perner, A. et al. Hydroxyethyl Starch 130/0.42 versus Ringer's acetate in severe sepsis. N Engl J Med 2012; 367(2): 124-134.
3. Prough DS, Bidani A. Hyperchloremic metabolic acidosis si a predictable consequence of intraoperative infusion of 0,9% saline. Anesthesiology 1999;90: 1247-1249.
4. American Association of Blood Banks. Technical manual 10th ed. Arlington, VA: American Association of Blood Banks, 1990:368.
5. Didwania A, Miller J, Kassel D et al. Effect of intravenous lactated Ringer's solution infusion on circulating lactate concentration, part 3: result of a prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. Crit Care Med 1997;25: 1840-184.
6. van der Heijden M, Verheij J et al. Crystalloid or colloid fluid loading and pulmonary permeability, edema, and injury in septic and nonseptic critically ill patients with hypovolemia. Crit Care Med 2009; 37(4) : 1275-81.
7. Griffel MI, Kaufman BS. Pharmacology of colloids and crystalloids. Crit Care Clin 1992;8: 235-254.
8. Kaminski MV, Haase TJ. Albumin and colloid osmotic pressure: implications for fluid resuscitation. Crit Care Clin 1992; 8: 367-408.
9. Mishler JM: Synthetic plasma volume expanders-theri pharmacology, safety and clinical efficacy. Clin Haematol 13:75-92, 1984 ; Saddler JM, Horsey PJ: The new gwnwration gelatins. A review of their history, manufacture and properties. Anaesthesia 42:998-1004, 1987 .
10. Karoutsos S, Nathan N, Lahrimi A, et al.: Thromboelastogram reveals hypercoagulability after administration of gelatin solution. Br j Anaesth 82:175-177,1999.
11. Mardel Sn, Saunders FM, Allen H et al. reduced quality of clot formation with gelatin-based plasma substitutes. Br J Anaesth 80:204-207,1998.
12. Nearman HS, Herman ML. Toxic effects of colloids in the intensive care unit. Crit Care Clin1991;7:713-723.
13. Treib J, Haass A, Pindur G, et al. : All medium starches are not the same: Influence of the degree of hydroxyethyl substitution of hydroxyethyl starch on plasma volume, hemorrheologic condiotions and coagulation. Transfusion 36:450-455, 1996.
14. Colloids versus crystalloids for fluid resuscitation in critically ill patients (Review). 2012 The Cochrane Collaboration.
15. Brunkhorst FM, Engel C, Bloos F et al. Intensive Insuline Therapy and Pentastarch Resuscitation in Severe Sepsis. N Engl J Med 2008; 358(2): 125-39]]]
16. Myburgh J, Finder S, Bellomo R et al. Hydroxyethyl starch or saline for fluid resuscitation in intensive

care. *N Engl J Med* 2012; 367: 1901-11]]].

17. Zarynchanski R, A.M. Abou-Setta, et al. Association of hydroxyethyl starch administration with mortality and acute kidney injury in critically ill patients requiring volume resuscitation: a systematic review and meta-analysis. *Jama* 2013;309(7):678-88.

18. James MF, Michell WL, Joubert IA et al. Resuscitation with hydroxyethyl starch improves renal function and lactate clearance in penetrating trauma in a randomized controlled study: the FIRST trial (Fluids in Resuscitation of Severe Trauma). *Br J Anaesth* 2011;107(5): 693-702]]

19. Guidet B, Martinet O, Boulain T et al. Assessment of hemodynamic efficacy and safety of 6% hydroxyethylstarch 130/0.4 vs 0.9% NaCl fluid replacement in patients with severe sepsis: The CRYSTMAS study. *Crit Care*. 2012 May 24;16(3):R94.

20. Christidis C, MalF, Ramos J et al.. Worsening of hepatic dysfunction as a consequence of repeated hydroxyethylstarch infusions. *J Hepatol* 2001; 35:726-32.

21. Perel P, Roberts I, Ker K. Colloids versus crystalloids for fluid resuscitation in critically ill patients (Cochrane Review). *Cochrane Database Syst Rev* 2013;CD000567(2):1-73.

22. Bayer O, Reinhart K et al. Effects of fluid resuscitation with synthetic colloids or crystalloids alone on shock reversal, fluid balance, and patient outcomes in patients with severe sepsis: A prospective sequential analysis. *Critical Care Medicine* 2012;40(9): September.]

23. Mai-Jebara S, Goshn A, Cherfane A, et al. Prevention of hypotension after spinal anesthesia for caesarean section: Voluven (6% hydroxyethyl starch 130/0.4) versus lactated Ringer's solution. *Anesthesiology* 2004; 101(suppl): A1197.

24. Horrow JC, Fitch JCK. Management of coagulopathy associated with cardiopulmonary bypass. In: Gravlee GP, Davis RF, Kurusz M et al., eds *Cardiopulmonary bypass: principles and practice*, 3rd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2007.

25. Girdauskas E., Kempfert J., Kuntze T. et al. :Thromboelastometrically guided transfusion protocol during aortic surgery with circulatory arrest: A prospective, randomized trial. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2010; 140:117-24.

26. Murphy GJ, Reeves BC, Rogers CA, Rizvi SI, Culliford L, Angelini GD: increased mortality, postoperative morbidity, and cost after red blood transfusion in patients having cardiac surgery. *Circulation* 2007; 116:2544-52.

27. Christian Friedrich Weber, Klaus Gorlinger, Dirk Meininger et al.: Point-Of-Care Testing. A Prospective, Randomized Clinical Trial of Efficacy in Coagulopathic Cardiac Surgery Patients. *Anesthesiology* 2012; 117:531-47.

28. Achneck HE, Rizzo JA, Tranquilli M, Elefteriades JA. Safety of thoracic aortic surgery in the present era. *Ann Thorac Surg* 2007; 84:1180-118.

29. Management of severe perioperative bleeding. Guidelines from the European Society of

Anaesthesiology. Eur J Anesthesiol 2013; 30:270-382.

30. Despotis G, Eby C, Lublin DM. A review of transfusion risks and optimal management of perioperative bleeding with cardiac surgery. Transfusion 2008;48 (1 Suppl):2S-30S]]]]]

31. Ak K, Isbir CS, Tetik S, et al. Thromboelastography-based transfusion algorithm reduces blood product use after elective CABG: a prospective randomized study. J Card Surg 2009;24:404-410]]].

32. Girdauskas E, Kempfert J, Kuntze T, et al. Thromboelastometrically guided transfusion protocol during aortic surgery with circulatory arrest: a prospective, randomized trial. J Thorac Cardiovasc Surg 2010;140: 1117-1124.

33. Weber CF, Gorlinger K, Meininger D et al. Point-of-care testing: a prospective, randomized clinical trial of efficacy in coagulopathic cardiac surgery patients. Anesthesiology 2012; 117:531-547

34. Gorlinger K, Dirkmann D, Hanke AA et al. First-line therapy with coagulation factor concentrates combined with point-of-care testing is associated with decreased allogenic blood transfusion in cardiovascular surgery: a retrospective, single-center cohort study. Anesthesiology 2011;115:1179-119.

35. Reinhofer M, Brauer M, Franke U, Barz D, Marx G, Losche W: The value of rotation thromboelastometry to monitor disturbed perioperative haemostasis and bleeding risk in patients with cardiopulmonary bypass. Blood coagul Fibrinolysis 2008; 19:212-9.

36. Larsen OH, Fenger-Eriksen C, Christiansen K, Ingerslev J, et al. : Diagnostic performance and therapeutic consequence of thromboelastometry activated by kaolin versus a panel of specific reagents. Anesthesiology 2011; 115: 294-300.

37. Dirkmann D, Gorlinger K, Dusse F, Kottenberg E, Peters J: Early clot firmness accurately predicts maximum clot firmness in thromboelastometry during cardiac surgery. Eur J Anaesthesiol 2010; 27:105-6.

38. Venema LF, Post WJ, Hendriks HG, Huet RC, de Wolf JT et al. :An assessment of clinical interchangeability of TEG and ROTEM thromboelastographic variables in cardiac surgical patients. Anesth Analg 2010; 111:39-44.

39. Haas T, Spielmann N, Mauch J, Madjdpour C, Speer O, Schmugge M, Weiss M: Comparison of thromboelastometry (ROTEM) with standard plasmatic coagulation testing in paediatric surgery. Br J Anaesth 2012; 108:36-41.

40. Luddington RJ. Thromboelastography/Thromboelastometry. Clin Lab Haematol 2005; 27:81-90.

41. Rahe-Meyer N, Solomon C, Winter Halter M, Piepenbrock S et al. :Thromboelastometry-guided administration of fibrinogen concentrate for the treatment of excessive intraoperative bleeding in thoracoabdominal aortic aneurysm surgery. J Thorac Cardiovasc Surg 2009; 138:694-702.

42. Franz RC: ROTEM analysis: a significant advance in the field of rotational thromboelastography. S Afr J Surg 2009, 47:2-6.

43. Stammers AH. Extracorporeal devices and related technologies. In: Kaplan JA, ed. Cardiac anesthesia, 4th ed. Philadelphia: WB Saunders,1999:1017-1060;
44. Gravlee GP, Davis RF, Kurusz M, eds. Cardiopulmonary bypass: principles and practice, 3rd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins,2007.
45. Day JSR, Taylor KM. The systemic inflammatory response syndrome and cardiopulmonary bypass. *Inter J Surg* 2005;3:129-140.
46. Rubens FD, Mesana T. The inflammatory response to cardiopulmonary bypass: a therapeutic overview. *Perfusion* 2004;19:S5-S12.
47. Horrow JC, Fitch JCK. Management of coagulopathy associated with cardiopulmonary bypass. In : Gravlee GP, Davis RF, Kurusz M et al., eds Cardiopulmonary bypass: principles and practice, 3rd ed. Philadelphia: Lippincott williams & Wilkins 2007.
48. Bull BS, Huse WM, Brauer FS, et al. Heparin therapy during extracorporeal circulation: the use of a dose-response curve to individualize heparin and protamine dosage. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1975; 69:686.
49. Gravlee GP, Case LD, Angert KC, et al. Variability of the activated coagulation time . *Anesth Analg* 1988; 67: 469-472.
50. Brown DL, Fann CS, Chang CJ. Meta-analysis of effectiveness and safety of abciximab versus eptifibatid or tirofiban in percutaneous coronary intervention. *Am J Cardiol* 2001;87:537-541.
51. Purkayastha S, Athanasiou T, Malinovski V, et al. Does clopidogrel affect outcome after coronary artery bypass grafting? A meta-analysis. *Heart* 2006;92:531-532.
52. Levi M., Cromheecke ME, de Jonge E, et al. Pharmacologic strategies to decrease excessive blood loss in cardiac surgery: a meta-analysis of clinically relevant endpoints. *Lancet* 1999;354:1940-1947.
53. Nash K, Hafeez A, Hou S. Hospital-acquired renal insufficiency. *Am J Kidney Disease* 2002; 39:930–6.
54. Ricci Z, Luciano R, Favia I, Garisto C, Muraca M, Morelli S, Di Chiara L, Cogo C, Picardo S: High-dose fenoldopam reduces post operative neutrophil gelatinase associated lipocalin and cystatin C levels in pediatric cardiac surgery. *Critical Care* 2011.
55. Markowitz SD and Greely WJ: Cardiopulmonary bypass. In *Anesthesia for Congenital Heart Disease*. First edition. Blackwell Publishing; 2005:64-81.
56. Thadhani R, Pascual M, Bonventre JV: Acute renal failure. *N Engl J Med* 334: 1448-1460, 1996]]]].
57. Devarajan P. Review: Neutrophil gelatinase-associated lipocalin: A troponin-like biomarker for human acute kidney injury.
58. Hirsch R: NGAL is an early predictive biomarker of contrast-induced nephropathy in children. *Pediatr Nephrol* (2007) 22:2089–2098.
59. Mitchell H. Rosner: urinary biomarkers for the detection of renal injury. *Advances in Clinical Chemistry* Vol 49; 2009.
60. Chirag R Parikh, Jonathan C Lu¹, Steven G Coca¹, and Prasad Devarajan: Tubular proteinuria in acute

kidney injury: a critical evaluation of current status and future promise. *Ann Clin Biochem* 2010; 47: 301–312;

61. Haase M: NGAL to predict Acute Kidney Injury – Potential applications and limitations. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2008 (20).

62. Bellomo R, Ronco C, Kellum JA, Mehta RL, Palevsky P, Acute Dialysis Quality Initiative workgroup. Acute renal failure – definition, outcome measures, animal models, fluid therapy and information technology needs: the Second International Consensus Conference of the Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI) Group. *Crit Care* 2004; 8:R204–R212.

63. Mehta RL, Kellum JA, Shah SV, Molitoris BA, Ronco C, Warnock DG, Levin A, Acute Kidney Injury Network: Acute Kidney Injury Network: report of an initiative to improve outcomes in acute kidney injury. *Crit Care* 2007, 11:R31.

64. Hvidberg V, Jacobsen C, Strong RK et al (2005) The endocytic receptor megalin binds the iron transporting neutrophil-gelatinase-associated lipocalin with high affinity and mediates its cellular uptake. *FEBS Lett* 579:773–777.

65. Schmidt-Ott KM, Mori K, Li JY, Kalandadze A, Cohen DJ, Devarajan P, Barasch J (2007) Dual action of neutrophil gelatinase-associated lipocalin. *J Am Soc Nephrol* 18:407–413.

66. J. Mishra, Q. Ma, A. Prada, et al., Identification of neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a novel early urinary biomarker for ischemic renal injury, *J. Am. Soc. Nephrol.*14 (2003) 2534–2543.

67. Flo TH, Smith KD, Sato S, Rodriguez DJ, Holmes MA, Strong RK, et al. Lipocalin 2 mediates an innate immune response to bacterial infection by sequestering iron. *Nature* 2004; 432:917–21.

68. Nickolas Th, Matthew J. O'Rourke, Yang J, Sise M, A. Canetta, Nicholas B, Khan F, Mori K, Giglio J, Devarajan P, Barasch J: Sensitivity and Specificity of a Single Emergency Department Measurement of Urinary Neutrophil Gelatinase–Associated Lipocalin for Diagnosing Acute Kidney Injury. *Ann Intern Med.* 2008 June 3; 148(11): 810–819.

69. Mishra J, Dent C, Tarabishi R, Mitsnefes MM, Ma Q, Kelly C, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a biomarker for acute renal injury after cardiac surgery. *Lancet* 2005; 365:1231–8.

70. Bolignano D, Lacquaniti L, Coppolino G, et al. NGAL and progression of Chronic Kidney Disease *Clin J Am Soc Nephrol.* 2009;4:337-44.

71. Maisel AS, Mueller C, Fitzgerald R, et al. Prognostic utility of plasma neutrophil gelatinase-associated lipocalin in patients with acute heart failure: The NGAL Evaluation Along with B-type Natriuretic Peptide in acutely decompensated heart failure (GALLANT) trial *Eur J Heart Fail.* 2011;13:846-51.

72. Dammana K, van Veldhuisena DJ, Navisb G, et al. Urinary neutrophil gelatinase associated lipocalin (NGAL), a marker of tubular damage, is increased in patients with chronic heart failure *Oxford Journals Eur J Heart Fail* 2008;10:997-1000 22. Manzano-Fernández S, Januzzi, Jr JL, Boronat.

73. Zografos T, Haliassos A, Korovesis S, et al. Association of neutrophil gelatinase-associated lipocalin with

- the severity of coronary artery disease. *Am J Cardiol.* 2009;104:917-20.
74. Dammana K, van Veldhuisena DJ, Navisb G, et al. Urinary neutrophil gelatinase associated lipocalin (NGAL), a marker of tubular damage, is increased in patients with chronic heart failure *Oxford Journals Eur J Heart Fail* 2008;10:997-1000.
75. Makris, et al. Urinary NGAL as an early marker of acute kidney injury in critically ill multiple trauma patients. *Clin Chem Lab Med* 2009;47; 79-82.
76. Delanaye P, Rozet E, Krzesinski JM, Cavalier E. Urinary NGAL measurement: biological variation and ratio to creatinine. *Clin Chim Acta* 201; 412:390.
77. Ahlstrom A, Tallgren M, Peltonen S, Pettila V. Evolution and predictive power of serum cystatin C in acute renal failure. *Clin Nephrol.* 2004; 62: 344–350.
78. Grubb A. Diagnostic value of analysis of cystatin C and protein HC in biological fluids. *Clin Nephrol.* 1992; 38:S20 –S27.
79. Newman DJ, Thakkar H, Edwards RG, Wilkie M, White T, Grubb AO, Price CP. Serum cystatin C measured by automated immunoassay: a more sensitive marker of changes in GFR than serum creatinine. *Kidney Int.* 1995; 47:312–318.
80. Swan SK. The search continues: an ideal marker of GFR. *Clin Chem.* 1997; 43(pt 1):913–914.
81. Mark D. McMurray, Justin E. Trivax and Peter A. McCullough: Serum Cystatin C, Renal Filtration Function, and Left Ventricular Remodeling. *Circ Heart Fail* 2009;2;86-89.
82. Manzano-Fernández S, Januzzi, Jr JL, Boronat- Garcia M, et al. β -Trace Protein and Cystatin C as predictors of long-term outcomes in patients with acute heart failure *J Am Coll Cardiol* 2011;57:849-58.
83. Taglieri N, Koenig W, Kaski JC. Cystatin C and cardio-vascular risk. *Clinical Chem* 2009; 55:1932-43.
84. Chirag R Parikh, Jonathan C Lu¹, Steven G Coca¹, and Prasad Devarajan: Tubular proteinuria in acute kidney injury: a critical evaluation of current status and future promise. *Ann Clin Biochem* 2010; 47: 301–312.
85. Schols SE, lance MD, Feijge MA. Impaired thrombin generation and fibrin clot formation in patients with dilutional coagulopathy during major surgery. *Thromb Haemost* 2010; 103; 318-28.
86. Cristina Solomon, Niels Rahe-Meyer, Herbert SchöchI, Marco Ranucci, Klaus Görlinger. Effect of haematocrit on fibrin-based clot firmness in the FIBTEM test. *Blood Transfus.* DOI 10.2450/2012.0043-12.
87. Christian Friedrich Weber, Klaus Gorlinger, Dirk Meinenger et al.: Point-Of-Care Testing. A Prospective , Randomized Clinical Trial of Efficacy in Coagulopathic Cardiac Surgery Patients. *Anesthesiology* 2012; 117:531-47.
88. Ruttman TG, James MF, Finlayson J. Effects on coagulation of intravenous crystalloid or colloid in patients undergoing peripheral vascular surgery. *Br J Anaesth* 2002, 89: 226-30.
89. Lee GC, Kicza AM, Liu KY, et al. Does rotational thromboelastometry (ROTEM) improve prediction of bleeding after cardiac surgery: a prospective observational study. *Transfusion* 48: 2152-2158, 2008.

90. Achneck HE, Rizzo JA, Tranquilli M, Elefteriades JA. Safety of thoracic aortic surgery in the present era. *Ann Thorac Surg* 2007; 84:1180-1185.
91. Aronson D, Dann EJ, Bonstein L, et al: Impact of red blood cell transfusion on clinical outcomes in patients with acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 102:115-119, 2008.
92. Marik PE, Corwin HL: Efficacy of red blood cell transfusion in the critically ill: A systematic review of the literature. *Crit Care Med* 36:2667-2674, 2008.
93. Reeves BC, Murphy GJ: Increased mortality, morbidity, and cost associated with red blood cell transfusion after cardiac surgery. *Curr Opin Anaesthesiol* 21:669-673, 2008.
94. Karkouti K, Stuart A, McCluskey, Summer Syed, Chris Pazaratz, MB BCh BAO Humara Poonawala, and Mark A. Crowther. The Influence of Perioperative Coagulation Status on Postoperative Blood Loss in Complex Cardiac Surgery: A Prospective Observational Study *ANESTHESIA & ANALGESIA*. June 2010 • Volume 110 • Number 6.
95. A. Schramko, R. Suojaranta-Ylinen, A. Kuitunen et al. Hydroxyethylstarch and gelatine solutions impair blood coagulation after cardiac surgery. A prospective randomized trial. *British Journal of Anaesthesia* 104 (6):691-7 (2010).
96. Karkouti K, Stuart A, McCluskey, Summer Syed, Chris Pazaratz, MB BCh BAO Humara Poonawala, and Mark A. Crowther. The Influence of Perioperative Coagulation Status on Postoperative Blood Loss in Complex Cardiac Surgery: A Prospective Observational Study *ANESTHESIA & ANALGESIA*. June 2010 • Volume 110 • Number 6.
97. Kellum JA, Levin N, Bouman C, et al. Developing a consensus classification system for acute renal failure. *Curr Opin Crit Care* 2002; 8: 509–514.
98. Day JSR, Taylor KM. The systemic inflammatory response syndrome and cardiopulmonary bypass. *Inter J Surg* 2005;3:129-140.
99. Davidson IJ. Renal impact of fluid management with colloids: a comparative review. *Eur J Anaesthesiol* 2006;23:721-38.
100. Dickenmann M, Oetli T, Mihatsch MJ. Osmotic nephrosis: acute kidney injury with accumulation of proximal tubular lysosomes due to administration of exogenous solutes. *Am J Kidney Dis* 2008;51:491-503.
101. Brunkhorst FM, Engel C, Bloos F, Meier-hellmann A, Ragaller M, et al. German Competence Network Sepsis (SepNet). Intensive insulin therapy and pentastarch resuscitation in severe sepsis. *N Engl J Med* 2008;358:125-39.
102. Schabinski F, Oishi J, Tuche F, Luy A, Sakr Y, Bedle D, et al. Effects of a predominantly hydroxyethyl starch-based and a predominantly non HES-based fluid therapy on renal function in surgical ICU patients. *Intensive Care Med* 2009; 35:1539-47.

