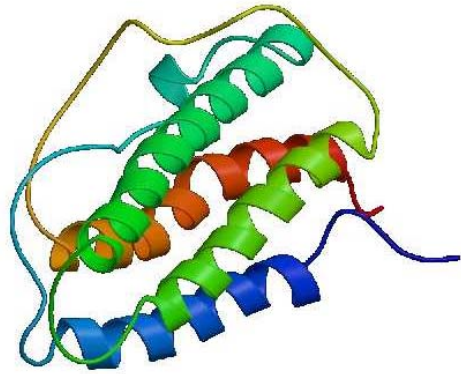






A Gaspar, Gaspar fill i Miquel





## **Agraïments**

A totes les persones que han col·laborat en aquest treball i sense l'ajuda de les quals aquest no hauria estat possible,

Al Dr. Jorge Joven pel seu esperit crític, per la seva visió tan particular i avançada del món de la ciència i per haver confiat en mi.

A tots els adjunts del Laboratori de l'Hospital Sant Joan de Reus, que em van transmetre el seu entusiasme pel món del laboratori i per haver rigut amb ells.

A la Dra. Elisabet Vilella pel seu rigor científic i per haver-me introduït en el món de la investigació.

Al Dr. Claudi Bofill, ànima de la Unitat d'Hemoteràpia.

A tot el personal del Laboratori de l'Hospital Sant Joan de Reus i del Centre de Recerca.

A tots els companys i amics de l'Hospital de Móra d'Ebre.

A tots els pacients, desitjo que aquest treball i d'altres puguin ajudar a fer la vida més agradable a les persones que estan malaltes.

A tots els voluntaris, per la seva col·laboració desinteressada.

A Gaspar, per creure sempre amb mi. A Gaspar fill i a Miquel. Als que són amb mi encara que no estiguin aquí.

Als meus pares, que sempre m'han estimat.

A totes les persones que directament o indirecta han fet possible aquest treball.



## **Transfusió autòloga i eritropoetina**





UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI  
FACULTAT DE MEDICINA I CIÈNCIES DE LA SALUT  
Departament de Medicina i Cirurgia

## **Transfusió autòloga i eritropoetina**

Teresa Sans Mateu

Tesi Doctoral

Director de la tesi: Dr. Jorge Joven Maried

Universitat Rovira i Virgili

Reus, 2002



# ÍNDEX



# 1. Introducció

1.1. La transfusió de sang	pàgina
1.1.1. Història i desenvolupament de la medicina transfusional	21
1.1.2. Components sanguinis de la sang	24
1.1.3. Riscos de la transfusió de sang	27
1.1.3.1. Riscos infecciosos	27
1.1.3.2. Riscos immunològics	31
1.1.4. Indicacions de la transfusió de sang	33
1.1.5. Càlcul de les pèrdues de sang	34
1.2. El transport d'oxigen i la transfusió	38
1.2.1. Principis bàsics del transport d'oxigen	39
1.2.2. Factors que afecten el procés d'aportació de l'oxigen	41
1.2.3. Factors que afecten la difusió de l'oxigen	42
1.2.4. Estructura i funcions de l'hemoglobina	43
1.2.5. Anèmia hipòxica	44
1.3. Regulació de l'eritropoesi. Eritropoetina	46
1.3.1. Fisiologia de l'eritropoetina	46
1.3.2. Síntesi d'eritropoetina	48
1.3.3. Estructura química de l'eritropoetina	50
1.3.4. Receptor de l'eritropoetina	52
1.4. Alternatives a la transfusió de sang al·logènica	53
1.4.1. La donació de sang autòloga en predipòsit	54
1.4.1.1. Principis generals	54
1.4.1.2. Selecció de pacients	55
1.4.1.3. Costos econòmics	56
1.4.1.4. Indicacions de la donació de sang autòloga	58

1.4.2. Alternatives farmacològiques	pàgina
1.4.2.1. Prevenció del dèficit de ferro en el pacient prequirúrgic	58
1.4.2.2. Eritropoetina recombinant humana: Aplicacions clíniques	60
1.4.2.3. Nova proteïna estimuladora de l'eritropoesi (NESP)	61
1.4.2.4. Substituts dels glòbuls rojos	62
1.5. Eritropoetina recombinant humana en la medicina transfusional de pacients quirúrgics	63
1.5.1. Resposta de l'eritropoetina endògena en la donació de sang autòloga	63
1.5.2. Estudis farmacocinètics d'eritropoetina recombinant humana	63
1.5.3. Utilització d'eritropoetina recombinant humana en la medicina transfusional quirúrgica	66
1.5.3.1. Utilització d'eritropoetina recombinant humana en programes de donació autòloga	66
1.5.3.2. Utilització d'eritropoetina recombinant humana sense donació autòloga	67
1.5.4. Eritropoetina i resposta eritropoètica	70
1.5.5. Anàlisi cost-dosificació de l'ús d'eritropoetina	72
1.6. Ferro, eritropoetina i eritropoesi	73
1.6.1. Anèmia i donació autòloga	73
1.6.2. Anèmia i teràpia amb eritropoetina	76
1.6.3. Anèmia i teràpia amb ferro	76
<b>2. Hipòtesi i objectius</b>	<b>79</b>
2.1. Hipòtesi	81
2.2. Objectius	81

<b>3. Pacients, controls i mètodes</b>	pàgina
3.1. Pacients i voluntaris	89
3.2. Protocol d'estudi	90
3.3. Mètodes	94
<b>4. Resultats</b>	97
Secció 1 Assaig clínic aleatori a doble cec, on s'estudia l'ús de l'eritropoetina recombinant humana a dosis baixes dins d'un protocol de transfusió autòloga en predipòsit	99
Secció 2 Farmacocinètica de repetides dosis subcutànies d'eritropoetina recombinant humana administrada en voluntaris sans a dosis baixes	111
<b>5. Discussió</b>	127
<b>6. Conclusions</b>	133
<b>7. Glossari</b>	139
<b>8. Referències bibliogràfiques</b>	143
<b>9. Annex</b>	159





## Índex de taules

	pàgina
Introducció	
1. Taula 1. Riscos d'infecció vírica en la transfusió de sang	28
2. Taula 2. Malalties associades a concentracions plasmàtiques inadequades d'eritropoetina	49
3. Taula 3. Paràmetres de laboratori en el dèficit de ferro	59
4. Taula 4. Estudis clínics de rHuEPO en pacients sotmesos a cirurgia no cardíaca	68
5. Taula 5. Costos econòmics del tractament amb rHuEPO	73
6. Taula 6. Eritropoesi en la donació autòloga	75
7. Taula 7. Eritropoesi en la donació autòloga i tractament amb rHuEPO	75
Resultats	
Secció 1	
1. Taula 1. Dades demogràfiques i de laboratori dels pacients	103
Secció 2	
2. Taula 1. Paràmetres cinètics en cada voluntari després de la primera i tercera injecció subcutània (dia 1 i dia 8 respectivament) de 30 UI/kg de rHuEPO	123
3. Taula 2. Paràmetres cinètics en cada voluntari després de la primera i tercera injecció subcutània (dia 1 i dia 8 respectivament) de 60 UI/kg de rHuEPO	123
4. Taula 3. Paràmetres cinètics en cada voluntari després de la primera i tercera injecció subcutània (dia 1 i dia 8 respectivament) de 100 UI/kg de rHuEPO	123
5. Taula 4. Recompte reticulocitari en el grup A, B i C després de repetides administracions subcutànies de rHuEPO	125

## Índex de figures

	pàgina
Introducció	
1. Figura 1. Corba de dissociació de l'hemoglobina	43
2. Figura 2. Circuit que controla la producció d'eritròcits adaptant-la a les demandes d'oxigen	47
3. Figura 3. Seqüència primària d'aminoàcids de la eritropoetina humana	51
4. Figura 4. Estructura cristal·logràfica del complex eritropoetina-receptor	52
5. Figura 5. Concentració plasmàtica subcutània d'eritropoetina després de l'administració de rHuEPO	65
6. Figura 6. Pèrdua de sang tolerable a partir de diferents hematòcrits inicials (30,35,40,45%) en un pacient amb volum sanguini de 5000 mL	69
7. Figura 7. Relació entre dosi total d'eritropoetina administrada i increment de producció d'hematies	70
8. Figura 8. Increment en la producció d'hematies durant el tractament amb rHuEPO en la donació autòloga	71
Resultats	
Secció 1	
1. Figura 1. Hematòcrit i reticulòcits al llarg de les successives extraccions	105
2. Figura 2. Volum d'hematies per unitat de sang autòloga i increments acumulats d'hematies al llarg de les successives visites	107
3. Figura 3. Concentracions plasmàtiques d'eritropoetina al llarg de les successives extraccions	109
Secció 2	
1. Figura 1. Concentracions plasmàtiques d'eritropoetina després de l'administració de rHuEPO	115
2. Figura 2. $C_{max}$ plasmàtiques i dosi de rHuEPO	117
3. Figura 3. AUC eritropoetina i dosi de rHuEPO	119
4. Reticulòcits després de la injecció de rHuEPO	121

# **INTRODUCCIÓ**



## 1.1. La transfusió de sang

### 1.1.1. Història i desenvolupament de la medicina transfusional

La fascinació de l'home per la sang és tan vella com la pròpia humanitat.

La descripció de la circulació venosa en *De Mortu Cordis* de William Harvey el 1628 i la creació de la primera xeringa el 1658 per Sir Christopher Wren van precedir les primeres transfusions. Richard Lower va practicar la primera transfusió entre gossos al 1666 a Londres i al mateix temps experiments similars es van reproduir pel grup de Jean Baptiste Denis a Paris. Va ser aquest darrer grup qui va practicar la primera transfusió des d'un animal a una persona al juny de 1667, per tractar la malaltia mental mitjançant la infusió d'humors animals a la sang de malalts. Això va continuar durant un període curt de temps fins que un pacient francès, Antoine Mauroy, va morir després de dos transfusions al desembre de 1667, en conseqüència la pràctica transfusional va desaparèixer durant gairebé 150 anys.

El renaixement de l'interès per la transfusió va venir a principis del 1900 de la mà d'un cirurgià anglès, James Blundell, alarmat per la inacceptable xifra de dones mortes a causa d'hemorràgies postpart. Els seus primers experiments realitzats al laboratori entre diferents espècies animals van concloure la ineficàcia de la utilització de sang animal en humans. A més va desenvolupar dos formes d'obtenir sang humana: la primera utilitzant sang capil·lar de donant i la segona recuperant la pròpia sang perduda del pacient. És per aquesta última que se'l considera el veritable pare de l'autotransfusió, és a dir la transfusió de sang de l'individu a ell mateix. Blundell va ser el primer que presentà la transfusió de sang com un fet terapèutic, en uns temps en què les sagnies eren una pràctica habitual en el tractament de moltes malalties.

Jennings publicà el 1883, una revisió de 243 transfusions realitzades abans de 1873 i encara que en un 46.9% dels casos es produïa una completa recuperació, en d'altres no passava el mateix. Durant aquests anys es produeixen avenços importants en el coneixement de la fisiologia i els efectes de la pèrdua de sang, però hi ha múltiples dificultats com són les reaccions transfusionals mortals i la dificultat d'emmagatzemar la sang que es coagula molt ràpidament. El camp de la medicina transfusional és desenvolupat per cirurgians que transfonen directament connectant artèria i vena de donant i recipient.

El 1876, Barnes i Little descriuen l'ús de solució salina per restaurar l'equilibri a nivell circulatori, que conjuntament amb les millors anestèsiques permeten una cirurgia més evolucionada.

La descripció de Landsteiner el 1901 del sistema antigènic ABO eritrocitari, va permetre reduir el risc de mort a causa de les reaccions transfusionals.

Weil va afegir sals de citrat a la sang intentant prevenir la coagulació. Lewisohn va ser el primer que va utilitzar amb èxit una combinació de citrat que permetia guardar la sang temporalment. Rous i Turner del Rockefeller Institute a Nova York van afegir dextrosa a la sang citratada que permetia un emmagatzematge per sobre de 21 dies.

El primer banc de sang funcional va ser fundat a Leningrad el 1932 amb sang obtinguda de cadàvers (Yudin et al., 1936). Duran-Jorda va organitzar el Servei de Transfusió Sanguínia de la República Espanyola durant la Guerra Civil espanyola, des del 1936 al 1939, nou mil litres de sang procedents de Barcelona i quatre mil litres de Madrid es van obtenir per poder abastir les necessitats al front. Fantus a Chicago va ser el primer a organitzar un banc de sang i un servei transfusional als Estats Units (Fantus B, 1937).

L'inici de la Segona Guerra Mundial, va provocar la necessitat de modernitzar i avançar en el camp de la transfusió de sang i dels seus substituïts; 30 milions d'unitats de sang i derivats van ser utilitzades per les forces armades americanes entre 1941 i 1945.

A principis del 1900 els voluntaris eren els principals donants de sang però a mesura que les necessitats de sang augmentaven van començar a aparèixer els donants de sang professionals. El 1920 es va fundar un servei de donació de sang voluntària: the *London Blood Transfusion Service* que al 1926 es va convertir en el *British Red Cross Blood Transfusion Service*.

El 1943, Beenson descriu 7 casos d'icterícia després de la transfusió de sang o plasma, suggerint la transfusió com a causa probable. El problema de les reaccions letals s'havia resolt amb la introducció rutinària del tipat i les proves creuades, tanmateix el coneixement i la identificació del complex Rh havia reduït la incidència de les reaccions hemolítiques. Es tenia coneixement de la transmissió de certes malalties a través de la transfusió de sang com la sífilis o la malària, però l'única malaltia que es considerava un problema de salut pública als Estats Units, i que per tant era d'obligat cribratge, era la sífilis. Moltes veus s'alçaven per denunciar que precisament els donants remunerats pertanyien a classes socials amb salut deficient i pitjors hàbits higiènics. El 1972, un primer test per la detecció de l'antígen de superfície de l'hepatitis B (HbsAg), manat per la FDA, evidenciava que la incidència d'hepatitis en donants pagats era tres vegades superior que en voluntaris. El Departament de Salut i Educació americanes el 1974 va proposar una Política Nacional de Sang en què s'eliminaven els donants de sang remunerats en

un intent d'unificar i reformar un sistema que es trobava fora de control. La identificació del HBsAg i el desenvolupament de mètodes de detecció més sensibles va evidenciar l'existència d'un altre agent etiològic, que es va anomenar virus de l'hepatitis no A no B. Quan el virus de l'hepatitis C (VHC) va ser caracteritzat com l'agent causant de la majoria d'aquestes hepatitis no A no B, es va produir l'aparició d'un nou agent: el virus de la immunodeficiència humana (VIH) descrit en la població homosexual a finals dels anys 70. El 1982 apareixen els primers articles de la síndrome immunodeficiència humana a partir de la transfusió de components sanguinis. Un any més tard s'identifica el virus i posteriorment un test per a la seva detecció.

Actualment en els països desenvolupats, el mètode inicial en el cribratge de donants per prevenir la transmissió de malalties es basa en l'historial mèdic i social. En la majoria de països les unitats de sang són testades pel HBsAg, VHC, VIH i la sífilis. Alguns inclouen la detecció d'anticossos enfront el virus limfotrófic humà de cèl·lules T (HTLV), l'antigen p-24 del VIH i la mesura dels enzims hepàtics (ALT). A més, alguns d'aquests actualment estan utilitzant tests d'amplificació d'àcids nucleics del VHC i del VIH.

Les acusacions rebudes per part de l'opinió pública a causa de la lenta resposta en el cas de la contaminació de sang amb el VIH, i el fet que no estiguem lliures de l'aparició de noves malalties transmissibles per la sang, haurien d'alertar la comunitat de bancs de sang de tot el món per tal de reaccionar amb celeritat davant qualsevol senyal d'alarma. Un exemple és el cas de l'aparició d'una nova variant de la malaltia de Creutzfeldt-Jakob en humans a Gran Bretanya i alguns països de la Comunitat Europea; encara que no es coneix la seva transmissió per la sang, ha provocat que tant Canadà com els Estats Units excloguin com a donants persones que hagin passat determinats períodes de temps a la Gran Bretanya.

El coneixement dels riscos que comporta en ocasions la transfusió de sang homòloga, els avenços tecnològics i els progressos en el coneixement de la fisiologia del transport d'oxigen, han jugat un paper important en el desenvolupament d'alternatives transfusionals en la pràctica de la medicina i cirurgia actuals. S'han desenvolupat alternatives farmacològiques i la predonació de sang, l'hemodilució aguda normovolèmica així com la recuperació de sang del camp perioperatòri, s'estan utilitzant amb major freqüència. Per últim, s'està treballant en diferents avenços tecnològics en el camp de l'obtenció de proteïnes, factors estimuladors de creixement, així com també en substitutius de l'hemoglobina. Tot plegat configura un nou panorama en el camp de la medicina transfusional.

### **1.1.2. Components sanguinis de la sang**

Actualment la sang es considera una substància amb diferents components, els quals tenen múltiples funcions. Només en alguns casos aïllats es requereix la transfusió de sang total, en la majoria de situacions el que s'intenta és compensar el dèficit d'algun dels elements sanguinis: hematies, factors de coagulació, etc. És per això que és important aconseguir el màxim fraccionament i la màxima concentració de cadascuna de les fraccions amb les millors condicions de viabilitat per tal d'aconseguir la teràpia més apropiada. Les solucions anticoagulants i conservants (CPD i CPDA-1) impedeixen la coagulació i proporcionen els nutrients adequats per mantenir el metabolisme de les cèl·lules emmagatzemades. Els principals components de la sang s'enumeren a continuació.

### **Sang total**

Com el seu nom indica és la sang obtinguda d'un donant amb una solució anticoagulant i conservadora sense cap altra manipulació. La sang total s'utilitza en condicions molt específiques en què la pèrdua de volum sanguini és molt ràpida i abundant.

Es conserva entre 2° i 6°C.

### **Concentrat d'hematies parcialment desleucocitades**

És el producte bàsic de la transfusió. S'obté separant el plasma i la capa leucoplaquetar després de la centrifugació de la sang total, resultant un hematòcrit del 60%-80%.

Els concentrats d'hematies es poden emmagatzemar entre 2° i 6°C, durant 21 dies si la solució anticoagulant i conservant no conté adenina, 35 dies si conté adenina i 42 dies si s'utilitza manitol (SAG-manitol), fluidificant que protegeix la membrana de les hematies.

El seu ús pretén millorar el transport d'oxigen en situacions d'anèmia.

### **Concentrat d'hematies filtrat**

És la sang filtrada per tal de reduir o pràcticament eliminar els leucòcits. És un procés que s'ha de realitzar a les poques hores d'haver obtingut la sang (< 72 hores), o bé en el moment de l'extracció. Aquest últim és el que es fa des de fa uns mesos a Catalunya per obtenir qualsevol tipus de component sanguini.



El contingut final de leucòcits varia entre  $0.5 \times 10^5$  i  $4.4 \times 10^5$ . La seva conservació és com la dels concentrats d'hematies estàndard ( $2^\circ\text{C}$ -  $6^\circ\text{C}$ ).

### **Concentrat d'hematies congelat**

És una suspensió d'hematies amb un agent crioprotector (glicerol) que es congela i s'emmagatzema a  $-80^\circ\text{C}$ , la seva conservació és il·limitada. El cost d'aquest procediment és elevat, i la seva utilització es reserva per transfondre pacients amb un fenotip sanguini rar o que han desenvolupat diferents anticossos amb un nombre reduït de possibles donants.

### **Concentrat de plaquetes**

Són suspensions de plaquetes extretes de sang total mitjançant una doble centrifugació, en la primera centrifugació es separa la capa leucoplaquetar i ne la segona s'obtenen les plaquetes concentrades. La xifra de plaquetes obtinguda per unitat de sang és de  $6.2 \times 10^{10}$  (entre  $3.2$  i  $9.2 \times 10^{10}$ ) en un volum de 40-50 mL de plasma. Si per aconseguir un augment de  $50 \times 10^9$  plaquetes/L és necessari administrar  $4 \times 10^{11}$  plaquetes/ $\text{m}^2$ , en un adult s'ha d'administrar concentrats de plaquetes procedents de 8 unitats de sang total per poder obtenir aquest augment.

Es poden conservar durant 3-5 dies, a  $22^\circ\text{C}$  en agitació contínua

Els concentrats de plaquetes s'utilitzen en trombopènies amb menys de 10.000 plaquetes/ $\text{mm}^3$  amb risc d'hemorràgia.

### **Concentrat de plaquetes de donant únic, obtingut mitjançant afèresi**

Mitjançant la utilització de separadors cel·lulars es poden obtenir concentrats de plaquetes unitaris procedents d'un donant. S'obté sang total d'un donant, es separen els diferents elements per centrifugació, es recullen les plaquetes i es retornen als altres components sanguinis al donant.

Permet obtenir l'equivalent a 5 concentrats estàndard de plaquetes d'un únic donant. El volum que s'obté és de 200- 339 mL i el contingut en plaquetes és entre  $2.5 \times 10^{11}$  i  $6.6 \times 10^{11}$ . Les condicions de conservació són les mateixes que els concentrats estàndard.

S'utilitza en el tractament de la trombopènia central i en algunes trombopènies en període d'hemorràgia.

### **Concentrat de granulòcits**

S'obtenen mitjançant procediments d'afèresi d'un únic donant. La seva utilització ha de ser ràpida (màxim 12 hores) i es limita a molt pocs pacients amb recomptes de granulòcits inferiors a  $0.5 \times 10^9/L$  amb granulopènia perllongada i un procés infecciós que no millora amb el tractament antibiòtic.

### **Plasma fresc congelat**

El plasma fresc congelat és un producte procedent d'una unitat de sang total, aïllat i congelat amb la suficient rapidesa després de la donació, com perquè es mantingui l'activitat dels diferents factors de la coagulació, aproximadament per sobre del 70% de l'inicial.

S'obté de la centrifugació de la sang total i s'ha de congelar abans de 6 hores. Es conserva per sota de  $-30^{\circ}C$  durant un any i el volum és aproximadament de 200 mL.

La quantitat de leucòcits i plaquetes és baixa, la concentració de proteïnes supera els 50 g/L, i la presència dels factors V i VIII supera els 0.7 UI/mL. Les indicacions són les següents: coagulació intravascular disseminada, hemorràgia amb dèficit de factors de coagulació i en rars dèficits de factors de coagulació, quan el factor específic no es troba disponible.

El plasma fresc és un producte intermedi que no té un ús transfusional fins que no es tracta amb blau de metilè.

### **Plasma fresc inactivat**

Plasma fresc obtingut pel fraccionament de les unitats de sang total, que ha estat tractat amb blau de metilè, per tal de disminuir de forma significativa el contingut en virus amb càpsula lipídica.

Les unitats de plasma són filtrades amb un filtre de porus entre 0,8 i 1,2 micres de diàmetre, amb la finalitat d'eliminar els leucòcits. A continuació, s'afegeixen 83 micrograms de blau de metilè per 235-310 ml de plasma i se sotmet a una llum ultraviolada de  $30 J/cm^2$  durant 30 minuts.

El contingut en factors i les condicions de conservació són les mateixes que les d'unitats de plasma fresc congelat.

### 1.1.3. Riscos de la transfusió de sang

#### 1.1.3.1. Riscos infecciosos

##### Contaminació bacteriana

S'estima, la incidència de contaminació bacteriana en els hemoderivats de cèl·lules vermelles en 1/1.000.000 (Mitchell et al., 1999). Durant un període de temps d'un any, a França es van registrar 6.875 incidents transfusionals, dels quals 12 es van deure a contaminació bacteriana (2/100.000).

Les plaquetes que es guarden un màxim de 5 dies a Ta ambient poden presentar contaminacions del 0.065% al 0.285% si s'obtenen mitjançant procediments estàndard i si és per afèresi d'un únic donant, des d'un 0.005% a 0.03% (Chiu EK et al., 1994).

D'acord amb Goodnough (1999), el risc d'infecció bacteriana per als concentrats d'hematies és d'1/1.000.000 i per als concentrats de plaquetes d'1/12.000. Els principals bacteris aïllats en components sanguinis a 4°C són: *Yersinia enterocolítica* i espècies de *Pseudomonas*. En plaquetes: *Staphylococcus epidermidis* i *Staphylococcus coagulasa negatiu*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus spp*, *E coli*, *Salmonella spp* i *Bacillus spp*.

La simptomatologia relacionada sol ser la de xoc sèptic massiu o bé una simptomatologia menor com pot ser dificultat respiratòria o neurològica, síndrome hipertèrmic, reacció cutània, nàusees o vòmits.

##### Contaminació vírica

En menys de dues dècades s'han aconseguit grans avenços en el maneig dels virus més perillosos transmesos per la sang: els retrovirus humans (HIV, HTLV), el virus de la hepatitis B (VHB) i el de la hepatitis C (VHC). Estudis epidemiològics mesuren cada any el percentatge de donants nous i donants coneguts que es diagnostiquen com a seropositius per aquests virus. Utilitzant aquests valors, és possible calcular la probabilitat de tenir unitats de sang d'un donant recentment infectat que es troba en el període de finestra, en què els tests de criatge són negatius i que per tant pot transmetre la malaltia. La taula 1 ens mostra la freqüència estimada d'aquest risc per unitat de sang transfosa a Estats Units i a França.

**Taula 1.** Riscos d'infecció vírica en la transfusió de sang al·logènica

<b>Virus</b>	<b>Freqüència a USA</b>	<b>Freqüència a França</b>
VHB	1/30.000 – 1/250.000	1/66.000 – 1/560.000
VHC	1/30.000 – 1/150.000	1/97.000 – 1/530.000
VIH	1/200.000 – 1/2.000.000	1/295.000 - 1/10.000.000
VLTH	1/250.000 – 1/2.000.000	1/650.000 – 0

Schreiber GB et al., 1996; Laperche et al., 1998

### **Transmissió del Virus de la Immunodeficiència Humana (VIH)**

Les primeres descripcions d'infecció per VIH associades a transfusió de sang es van descriure a finals de 1982 i principis de 1983 (Ammann AJ et al., 1983; *Join Statement on AIDS related to transfusion*, 1983). L'any 1983 el Servei de Salut Pública dels Estats Units va recomanar que aquelles persones amb factors de risc pel VIH no donessin sang (*MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 1983). Els bancs de sang van començar a interrogar els seus donants respecte a l'existència de factors de risc específics i com a resultat, abans de la realització de proves específiques per detecció d'anticossos enfront el VIH, el nombre d'infeccions ja es va reduir (Busch MP et al., 1991). Després de la implantació de les proves de detecció d'anticossos al març de 1985 (*Provisional Public Health*, 1985), el Centre per al Control i Prevenció de Malalties (CDC) només va descriure 5 casos de malaltia associada a transfusió de sang per any durant els següents 5 anys, comparat amb els 714 casos descrits l'any 1984 (Selik RM et al., 1993).

La introducció d'un nou test per a la detecció d'anticossos enfront el VIH tipus 2 ha tingut un efecte menor als Estats Units: de 74 milions de donacions només s'han identificat 3 donants positius (*Update*, 1995). Referent al fet que alguns serotips del VIH tipus 1 grup O, poden no ser detectats pels tests habituals, cap mostra emmagatzemada als Estats Units de les 1072 que es van analitzar, era positiva per aquests serotips; encara que aquest tipus d'infecció s'ha descrit amb més freqüència a França i Àfrica (Loussert-Ajaka I et al., 1994).

Actualment, per disminuir més el risc de transmissió, molts bancs de sang testen l'antigen p24 en els seus donants (Stramer SL et al., 1997). En poc més d'un any, d'aproximadament 6 milions de donacions, s'han identificat només 2 donants positius amb anticossos enfront el VIH negatius.

### **Transmissió del VHB i del VHC**

Actualment un 10% de tots els casos d'hepatitis posttransfusionals són per VHB i probablement aquestes xifres disminuiran com a conseqüència de la vacunació generalitzada de la població (Goodnough et al., 1999).

La reducció de la transmissió de l'hepatitis no A no B va començar en el moment en què es van fer esforços per tal d'excloure potencials donants HIV-positius (història clínica, mesura de marcadors hepàtics: ALT i anti HBcAg), i es va reduir definitivament amb el descobriment del virus de la hepatitis C i la implementació del test per a la detecció d'anticossos (Alter HJ et al., 1989, 1992). Actualment el risc de malaltia per VHC posttransfusional és d'1 per cada 103.000 transfusions (Schreiber GB et al., 1996), encara que si considerem la possibilitat d'un estat d'infecció crònic i immunològicament silent el risc podria ser més alt (1/30.000) (Alter MJ et al., 1992). La importància d'aquesta infecció recau en el fet que en el 85% dels casos esdevé crònica, el 20% acaba amb cirrosi i en 1-5% acaben desenvolupant un hepatocarcinoma (Conry-Cantilena C et al., 1996).

### **Transmissió dels HTLV-I i HTLV-II**

La infecció es podria desenvolupar en un 20 a un 60% de pacients transfusos amb sang infectada (CDC, 1993). L'índex de transmissió depèn del temps que fa que la sang està emmagatzemada i de la quantitat de leucòcits que hi ha a la unitat. La sang de més de 14 dies i els productes sense components cel·lulars, crioprecipitats i plasma fresc sembla que no són infectius (Manns et al., 1992). El risc llistat en la taula 1 pot ser falsament baix a causa d'un estat d'infecció silent (Hjelle et al., 1993). Als Estats Units es descarta la presència dels dos virus en totes les unitats de sang (Goodnough et al., 1999).

Durant els últims 5 anys s'han descobert nous patògens, alguns del quals s'estan monitoritzant i es descriuen a continuació.

### **Nous virus causants d'hepatitis**

El virus de la hepatitis G de la família dels Flavivirus es va descobrir l'any 1995 (Simons JN et al., 1995). Un estudi recent fet a França demostra la presència de RNA viral i d'anticossos en el 3.4 % i 9.5% respectivament dels donants (Mercier et al., 1999). Sembla ser que l'afectació hepàtica provocada per aquest virus és mínima.

El virus de la Hepatitis TT és un DNA virus no capsulat, aïllat a Japó l'any 1997 (Nishizawa T et al., 1997). La seva prevalença varia segons el lloc geogràfic; a Anglaterra aquest virus està present en el 1.9% de donants de sang (Simmonds P et al., 1998). En hemofílics es troba en un 27-68 % dels pacients i en talassèmics s'incrementa fins al 93% dels pacients. Quan es demostra una infecció per VTT en un pacient politransfòs, en el 20% dels casos es presenta amb un moderat increment de les transaminases. La seva toxicitat hepàtica no està demostrada.

El risc de transmissió del parvovirus B-19 és incert, depèn de la prevalença en els donants i aquesta varia d'any en any (*MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 1989). La infecció generalment no és clínicament significativa excepte en dones embarassades, pacients immunocompromesos i pacients amb anèmia hemolítica (Luban NLC, 1994).

### **Herpes virus 8**

En un 80-90% dels casos, aquest virus es troba associat amb el sarcoma de Kaposi. Entre un 0-20% de la població és portadora dependent de l'àrea geogràfica. La seva transmissió és per via sexual i encara que s'ha aïllat el virus en cèl·lules mononuclears de la sang no s'ha demostrat la transmissió per aquesta via (Frances C et al., 1999).

### **Encefalopatia transmissible espongiforme.**

Les malalties provocades per prions, entre les quals es troba l' Encefalopatia Transmissible Espongiforme són afectacions del sistema nerviós central en animals i homes. Hi ha pocs casos descrits arreu del món d'aquesta malaltia en pacients transfosos: 4 a Austràlia, 1 a Canadà i l'altre a França, en els dos últims casos després d'una transfusió d'albumina. Des de 1993 s'han pres certes mesures d'exclusió de donants per reduir el risc de contaminació: donants amb tractament amb hormona del creixement, sotmesos a neurocirurgia o amb història familiar de la malaltia. A Canadà i Estats Units qualsevol persona que hagi passat més de 6 mesos a Gran Bretanya durant el període d'epidèmia (1980-1990) és exclòs com a donant (Ault, 1999).

### 1.1.3.2. Riscos immunològics

#### Incompatibilitat de grup ABO

Els accidents hemolítics per transfusió de sang incompatible amb els antígens eritrocitaris del receptor són poc freqüents però molt seriosos. La meitat de les morts produïdes per reaccions hemolítiques agudes són per incompatibilitat de grup ABO. L'anàlisi de les causes indica que en el 75% dels casos té lloc fora del laboratori i el responsable és el personal encarregat de la transfusió per error d'identificació del pacient-recipient. (Linden JV et al., 1992).

El risc d'aloimmunització posttransfusional per altres antígens eritrocitaris constitueix un 2-6% d'aquests problemes (Heddle NM et al., 1995). Alguns anticossos presenten més capacitat hemolítica (anti-Rhesus, anti-Kell, anti-Jka) i per tant poden provocar accidents més seriosos. El control d'aquests aloanticossos és obligatori previ a la transfusió.

#### Púrpura posttransfusional

És una complicació rara. La majoria es deu a trombòlisi per injecció de sang amb plaquetes, amb grup anti-PIA1 positiu a un pacient amb plaquetes anti-PIA1 negatiu. Els complexos antigen-anticòs formats destrueixen les plaquetes transfoses, produint una trombopènia tardana i severa (Taaning et al., 1999).

#### Anticossos anti-HLA

Aquests anticossos enfront antígens leucocitaris són responsables de les reaccions febrils posttransfusió de productes sanguinis. Poden comprometre les transfusions de plaquetes, els trasplantaments d'òrgans i poden provocar afectació severa pulmonar. La reducció sistemàtica de glòbuls blancs dels productes sanguinis són una bona mesura per prevenir la seva aparició.

#### *Afectació pulmonar severa relacionada amb la transfusió*

Aquesta és una complicació rara (1/5000 transfusions) però molt seriosa de la transfusió de sang (Williamson et al., 1999). És el resultat d'un conflicte immunològic entre el sistema d'anticossos HLA de la sang del donant i els antígens HLA dels neutròfils del receptor de la sang. Els neutròfils alliberen proteases i

radicals lliures oxigenats a la microcirculació pulmonar provocant la seva afectació. Recentment Silliman et al. ha suggerit que l'afectació pulmonar es deu a la reacció entre els neutròfils del receptor i productes lipídics de les membranes dels glòbuls rojos que s'acumulen durant el procés d'emmagatzematge de la sang. El quadre clínic es caracteritza per una síndrome de destret respiratori a les 3-4 hores de la transfusió amb dispnea i hipòxia per edema pulmonar no cardiogènic, amb un pulmó blanc a la radiografia de tòrax. El pronòstic sol ser favorable, amb un 10% de mortalitat.

#### *Malaltia de l'empelt enfront l'hoste*

És una complicació rara de la transfusió de sang. Els limfòcits T del donant es multipliquen en el receptor, de manera que els teixits del receptor són "atacats", generalment de 7-20 dies després de la transfusió. L'afectació del fetge, la pell i del tracte gastrointestinal són habituals, però la pancitopènia és la manifestació clínica més rellevant i la principal causa de mortalitat. El primer cas es va documentar l'any 1965, des d'aleshores se n'han descrit una centena de casos més. És més freqüent en pacients immunosuprimits, nounats o aquells que han rebut transfusions massives, també la transfusió de sang entre membres d'una mateixa família fa augmentar-ne el risc. La mort es produeix en el 80-90% dels casos (Anderson KC et al., 1990). Els filtres habituals utilitzats en la capçalera del pacient no aconseguen el grau de leucoreducció necessari per prevenir aquesta complicació. Per prevenir aquest fet els components cel·lulars de la sang s'haurien d'irradiar amb 15 Gy abans de transfondre'ls a pacients immunosuprimits (Anderson KC et al., 1991).

#### **Immunomodulació**

Els efectes immunosupressors de la sang al·logènica o homòloga es troben relacionats amb la transfusió de leucòcits i la subsegüent sensibilització. Ha estat clínicament important en pacients sotmesos a trasplantament renal (Opelz G et al., 1997) i en dones que han tingut molts avortaments (Gatenby PA et al., 1993).

L'efecte immunosupressor de l'exposició de sang al·logènica en persones normals és objecte de controvèrsia i debat. Alguns estudis clínics han demostrat l'efecte immunosupressor de la transfusió de sang homòloga, especialment relacionat amb l'augment de la probabilitat d'infecció postoperatòria, encara que sense efecte en el temps de recurrència de la malaltia neoplàsica (Heiss MM, 1998). Altres estudis han demostrat el paper negatiu de la transfusió de sang en el pronòstic de supervivència de les neoplàsies i la infecció postoperatòria (Vamvakas E et al, 1993). D'altres, en canvi, no han pogut demostrar un efecte negatiu de la transfusió a nivell immune



(Houbiers JG et al., 1994; Busch ORC et al., 1993).

Durant el temps en què la sang es emmagatzemada, els leucòcits produeixen citoquines les quals afecten la funció immune del receptor. La reducció dels leucòcits de la sang mitjançant la utilització de filtres, ja sigui al mateix temps que es produeix la donació de sang o en el moment de la transfusió, és un procediment que es realitza en alguns països de la Unió Europea i Canadà. Recentment també es realitza a Catalunya, amb el conseqüent augment dels costos. Tot i que hi ha discussió pel que fa als efectes de la leucodeplecció en la reducció de la infecció bacteriana i la recidiva del càncer, actualment és segur que redueix les reaccions febrils no hemolítiques, la transmissió de citomegalovirus i l'alloimmunització HLA.

#### **1.1.4. Indicacions de la transfusió de sang**

L'objectiu de la transfusió sanguínia és millorar l'aportació d'oxigen als teixits. L'any 1942 Adams i Lundy recomanaven la transfusió de sang quan la concentració d'hemoglobina era inferior a 8-10 g/dL establint com a objectiu transfusional una xifra d'hemoglobina de 10 g/dL o un hematòcrit de 30%. El suport científic d'aquesta recomanació el van proporcionar Stheling i Zauder, que mitjançant estudis hemorreològics van demostrar que la cessió d'oxigen als teixits presenta el pic màxim en valors d'hematòcrit del 30%, i disminueix amb la progressiva hemodilució. Durant molts anys es va considerar que la "concentració òptima" d'hemoglobina era equivalent a "concentració tolerable o mínimament acceptable" fins que diferents autors van demostrar que xifres d'hemoglobina de fins 6-7 g/dL són també "tolerables" i el risc de la transfusió de sang també ha de ser considerat.

Diferents organitzacions, National Institutes of Health consensus conference on perioperative transfusion on red cells (*Consensus conference*, 1988), American College of Physicians (1992) i Canadian Medical Association (*Expert Working Group*, 1997) han establert guies de consens per a la transfusió de sang on s'analitzen els beneficis i els riscos potencials de la transfusió i es recomanen tècniques de conservació de la sang i teràpies alternatives.

Actualment es recomana que la transfusió de sang no es faci amb finalitats profilàctiques, i se suggereix que en pacients en condicions no crítiques el valor d'hemoglobina per indicar la transfusió es troba entre 7-8 g/dL.

Una complicació molt greu en pacients amb pèrdues importants de sang durant la cirurgia és la isquèmia miocàrdica, la qual s'ha observat tant en pacients sotmesos a cirurgia cardíaca (Rao LTK et al., 1985) com no cardíaca (Mangano DT et al., 1990) amb xifres d'hemoglobina que oscil·len entre els 6 i els 10 g/dL. Amb tota

probabilitat, a més de les xifres d'hemoglobina, altres indicadors són necessaris per identificar aquells pacients que es poden beneficiar de la transfusió de sang (*Practice guidelines for blood component therapy*, 1996). En un estudi de pacients amb cirurgia electiva no cardíaca, es troba que la isquèmia miocàrdica perioperatòria és més freqüent en aquells pacients amb hematòcrits per sota del 28%, especialment en presència de taquicàrdia (Hogue CW et al., 1998). Un altre estudi randomitzat amb dos estratègies transfusionals en pacients amb cirurgia cardíaca, no troba diferències significatives entre aquells pacients que reben transfusions per mantenir un hematòcrit de 32 % i aquells que només la reben si l'hematòcrit descendeix del 25% (Johnson RG et al., 1992).

Una xifra d'hemoglobina de 7-8 g/dL sembla l'apropiada en pacients quirúrgics sense factors de risc d'isquèmia coronària, en canvi en pacients de risc es trobaria al voltant de 10 g/dL (Goodnough et al., 1999). Mai s'ha de transfondre profilàcticament o per reposar volum, ja que diferents estudis conclouen que la sobreutilització de transfusions en pacients amb cirurgia cardíaca (Spiess et al., 1998) i en pacients crítics (Hébert PC et al., 1999) s'associa amb un pronòstic desfavorable.

La pràctica transfusional ha d'estar fonamentada no només en les xifres d'hemoglobina sinó també en l'estat clínic de cada pacient i en la tolerància a l'anèmia, amb especial atenció a la co-morbiditat de les malalties cardiovasculars i pulmonars.

### **1.1.5. Càlcul de les pèrdues de sang**

Hi ha tota una sèrie de models matemàtics que intenten predir les pèrdues de sang i per tant les necessitats transfusionals quirúrgiques. En general aquests models es basen en l'anàlisi d'una, dues o tres variables (univariants, bivariants o trivariants).

El model univariant es basa en quantificar en base a la pràctica, el nombre de concentrats d'hematies que es fan servir en un determinat tipus de cirurgia.

#### **Anàlisi bivariant**

Proposat pel grup de la Clínica Mayo (Rochester, Minesota, USA). Utilitza dos variables principals, la quantitat o volum de cèl·lules vermelles transfoses i la quantitat o volum de cèl·lules vermelles que s'han perdut (Nuttall et al., 1998).

La quantitat d'hemoglobina que es perd durant una artroplàstia total de maluc es calcularia d'aquesta manera:

$$Pre\ Hb - Post\ Hb + RBCs = Hb\ perduda$$

*Pre Hb* = Hemoglobina preoperatòria (g/dL).

*Post Hb* = Hemoglobina 24 hores després del procediment quirúrgic (g/dL).

*RBC* = Hemoglobina aportada pels concentrats d'hematies transfosos el dia de la cirurgia (assumint que 1 unitat de concentrat d'hematies = 1 g/dL d'hemoglobina).

*Hb perduda* = Hemoglobina que es perd durant el procediment quirúrgic (g/dL).

En el cas de l'artroplàstia de maluc s'ha calculat que els pacients perden  $3.7 \pm 1.7$  g/dL d'hemoglobina.

L'equació utilitzada per calcular el nombre de concentrats d'hematies que es necessiten és:

$$Hb\ perduda - (Pre\ Hb - MinHb) = Unitats\ necessàries$$

*Min Hb* = mínima concentració acceptable d'hemoglobina en cada pacient

Per a un pacient amb artroplàstia total de maluc amb un volum sanguini de 5000 mL, amb una Hb/Hct en el moment d'ingrés de 10.7 g/dL / 32.1% i una hemoglobina mínima de 10 g/dL, el nombre d'unitats de sang necessàries per afrontar la cirurgia és de:

$$3.7 - (10.7 - 10.0) = 3\ unitats$$

### **Anàlisi trivariant**

a) Mercuriali i Inghilleri del Gaetano Pini Ortopedic Institut (Milà, Itàlia) han proposat l'ús d'un model algebraic similar a l'anterior, però utilitzant una tercera variable que és el volum sanguini de cada pacient (Mercuriali et al., 1996).

La predicció de la pèrdua de sang que utilitzen per a un determinat procediment quirúrgic representa el percentil 80 del volum de sang estimat que es perd durant la cirurgia i en els primers 5 dies del postoperatòri.

Els càlculs són els següents:

$$\text{Predicció de RBCs perduts} = \text{CRBC-V}_{\text{precirurgia}} - \text{CRBC-V}_{\text{5é dia postoperatori}} + \text{mL de RBC transfosos.}$$

On CRBC-V (Volum de cèl·lules roges en circulació) = Volum de sang estimat en cada pacient (EBV) x Hematòcrit.

$$\text{Predicció de RBCs perduts (mL)} = \text{EBV} \times (\text{Htc}_{\text{preoperatori}} - \text{Htc}_{\text{5é dia postoperatori}}) + \text{mL de RBC transfosos}$$

Exemple: Pacient amb un volum sanguini de 5000 mL, amb un hematòcrit basal de 32.1% i un hematòcrit mínim tolerat de 28% que s'ha de sotmetre a una artroplàstia total de maluc, amb pèrdues de sang calculades de 907 mL de sang.

Pèrdua de sang tolerada = 5000 (0.321 – 0.28) = 205 mL de RBC.

Necessitats transfusionals: 907 - 205 = 702 mL RBC.

Assumint que cada unitat de sang autòloga té 180 mL de RBC, això és l'equivalent de 3.9 unitats de sang pròpia necessàries .

b) Un càlcul més sofisticat és el que utilitza l'equació diferencial de Bourke i Smith descrita per a la hemodilució isovolèmica (Bourke et al., 1974)

$$\frac{d \text{Htc}}{dV_L} = -\frac{\text{Htc}}{\text{EBV}}$$

On  $V_L$  és el volum sanguini perdut i EBV és el volum sanguini estimat per cada individu.

Si integrem aquesta equació des d'un temps inicial (0) a un temps final (F) trobem:

$$V_L = \text{EBV} \times \ln (\text{Htc}_0 / \text{Htc}_F)$$

$$\text{Htc}_F = \text{Htc}_0 \times e^{(-V_{\text{ANH}}/\text{EBV})}$$

En aquest cas  $\text{Htc}_F$  = l'hematòcrit després de l'HAN i  $V_{\text{ANH}}$  el volum de sang extret durant el procés d'hemodilució.

### Aplicació pràctica

Exemple: Un pacient amb un hematòcrit inicial de 45%, un volum sanguini de 5000 mL i un hematòcrit mínim postcirurgia de 28%, a qui es practica hemodilució d'1 litre, rep durant la cirurgia 2 unitats de sang al·logènica a més de la sang d'hemodilució i presenta un hematòcrit final del 30%.

**Fase I:** Hemodilució inicial.

Els 1000 mL aconseguits amb l'hemodilució resulten en un hematòcrit de:

$$45 \times e^{(-1000/5000)} = 36.8$$

El volum de RBCs que hi ha en la sang d'hemodilució és:

$$(0.45 - 0.368) \times 5000 = 410 \text{ mL}$$

La sang que es perd des d'un hematòcrit del 36.8% al 28% es calcula de la següent forma:

$$5.000 \text{ mL} \times \ln(0.368/0.28) = 1.366 \text{ mL}$$

**Fase II:** La transfusió de 2 unitats de sang al·logènica, assumint que cada unitat té 200 mL de RBC, afegeix un volum de:

$$(2 \times 200 \text{ mL de RBCs/unitat}) / 0.28 = 1.429 \text{ mL}$$

La transfusió de la sang d'hemodilució donaria un volum afegit de:

$$410 / 0.28 = 1.464 \text{ mL}$$

**Fase III:** El canvi en l'hematòcrit des de 28% a 30%:

$$(0.30 - 0.28) \times 5000 = 100 \text{ mL de RBC}$$

És a dir,  $(0.30-0.28) \times 5000 = 100$  ml de RBCs, que és l'equivalent de  $100 / 0.28 = 357$  ml sang.

El total de pèrdues són:  $1366 + 1464 + 1429 - 357 = 3902$  ml

## 1.2. El transport d'oxigen i la transfusió

El sistema cardiovascular transporta l'oxigen des dels pulmons als capil·lars i l'anhídrid carbònic des d'aquests últims fins als pulmons. El sistema circulatori però, no es troba directament sota el control del sistema respiratori excepte en el nombre d'eritròcits ( $5.4 \times 10^{12}/L$  en l'home i  $4.5 \times 10^{12}/L$  en la dona) i la quantitat d'hemoglobina, la proteïna de transport de l'oxigen. Ambdós paràmetres són regulats per l'eritropoetina, una hormona fabricada pel teixit renal en dependència de la  $PO_2$  tissular.

Els eritròcits també intervenen en l'eliminació del  $CO_2$  produït per les cèl·lules mitjançant dos mecanismes:

1. L'hemoglobina té capacitat per fixar el  $CO_2$  i transportar-lo als pulmons, on s'allibera.
2. Els eritròcits disposen d'un enzim, l'anhidrasa carbònica, que fa reaccionar el  $CO_2$  amb aigua produint bicarbonat, un important anió en la regulació de l'equilibri àcid-base.

L'oxigen és transportat des dels pulmons fins als capil·lars per les artèries sistèmiques a raó de 50 ml d'oxigen per litre de sang. L'anhídrid carbònic produït per les cèl·lules és transportat des dels capil·lars als pulmons per les venes sistèmiques a raó de 40 ml de  $CO_2$  per litre de sang. Per tant, en condicions normals la diferència artèrio-venosa d' $O_2$  és de 50 ml/litre i la diferència venosa-arterial de  $CO_2$  és de 40 ml/litre. Amb un dèbit cardíac de 5 litres/minut, la producció de  $CO_2$  [ $VCO_2$ ] és de 200 ml/min i el consum d'oxigen [ $VO_2$ ] de 250 ml/min. La raó de l'intercanvi gasós és:

$$VCO_2/VO_2 = 200/250 = 0.8$$

El flux d'oxigen cap als teixits perifèrics depèn de tres factors: el dèbit cardíac, la concentració arterial d'hemoglobina i la saturació arterial d'oxigen. Les hematies tenen un paper central, ja que en condicions fisiològiques totes les molècules d'hemoglobina es localitzen en aquestes cèl·lules vermelles. Quan la concentració de glòbuls vermells és massa baixa perquè l'oxigen sigui transportat fins als diferents òrgans i la compensació fisiològica del organisme s'esgota, esdevé l'anèmia hipoxèmica. No hi ha un valor "crític" de concentració d'hemoglobina que marqui aquest fet, ja que aquest valor depèn de molts altres factors: edat, comorbiditat i l'agudesesa de la pèrdua de sang. Tots els beneficis de la transfusió de

sang es troben directament o indirectament relacionats amb la millora de la capacitat de transport de l'oxigen.

### 1.2.1. Principis bàsics del transport d'oxigen

El transport d'oxigen des de l'atmosfera a la cèl·lula depèn de dos processos bàsics: el flux d'oxigen mitjançant la sang cap als teixits o convecció ( $DO_2$ ) i la quantitat d'oxigen consumit per aquests teixits o difusió ( $VO_2$ ).

En els pulmons, el transport d'oxigen des de l'atmosfera a les hematies es troba marcat per la difusió a través de la membrana alveolo-capil·lar. En canvi la distribució d'oxigen cap als teixits és un procés eminentment de convecció, depenent del dèbit cardíac i de la distribució del flux sanguini entre i intraòrgans. El transport d'oxigen des de les hematies a la mitocòndria cel·lular és un procés de difusió.

#### Procés de convecció

És el procés mitjançant el qual l' $O_2$  és transportat per la circulació (macrocirculació i microcirculació) utilitzant l'hemoglobina com a transportadora. El flux d'oxigen es calcula de la següent forma:

$$DO_2 = CO \times CaO_2 \times 10$$

On CO és el dèbit cardíac i  $CaO_2$  és el contingut arterial d'oxigen. La fórmula pot incloure l'índex cardíac (IC), que és el dèbit cardíac dividit per la superfície corporal.

$$DO_2 = IC \times CaO_2 \times 10$$

El càlcul del  $CaO_2$  és el següent:

$$CaO_2 = (Hb \times 1.39 \times SaO_2) + (PaO_2 \times 0.003)$$

On l'Hb és l'hemoglobina,  $SaO_2$  és la saturació arterial d'oxigen,  $PaO_2$  és la pressió arterial d'oxigen i 0.003 és el coeficient de solubilitat de l'oxigen en plasma. Cada gram d'hemoglobina pot transportar 1.39 ml d'oxigen. Així la quantitat d'oxigen transportat per l'hemoglobina és  $Hb \times 1.39 \times SaO_2$ . El contingut arterial d'oxigen depèn bàsicament de l'oxigen transportat per l'hemoglobina ja que l'oxigen dissolt al plasma és poc significatiu. En canvi si utilitzem xifres elevades de  $FiO_2$  la quantitat

pot ser significativament més alta. L'índex cardíac és de 2.5 a 4 l/min/m<sup>2</sup>. Per tant el DO<sub>2</sub> és de 640 a 1400 ml/min o de 500 a 600 ml/min/m<sup>2</sup>.

El consum d'oxigen dels teixits (VO<sub>2</sub>) és la quantitat d'oxigen que difon des dels capil·lars a la mitocòndria cel·lular:

$$VO_2 = CO \times (CaO_2 - CvO_2)$$

$$VO_2 = IC \times (CaO_2 - CvO_2)$$

On CvO<sub>2</sub> és el contingut venós d'oxigen

$$CvO_2 = (Hb \times 1.39 \times SvO_2) + (PvO_2 \times 0.003)$$

On SvO<sub>2</sub> és la saturació venosa d'oxigen i PvO<sub>2</sub> és la pressió venosa d'oxigen. El consum normal d'oxigen és de 180 a 280 ml/min o 110 a 160 ml/min/m<sup>2</sup>.

La fracció d'O<sub>2</sub> que difon des dels capil·lars als teixits expressada com a percentatge s'anomena ràtio d'extracció (REO<sub>2</sub>) i es defineix com:

$$REO_2 = (CaO_2 - CvO_2) / CaO_2 = VO_2 / DO_2$$

Els valors normals oscil·len entre el 20 i el 30%.

### Procés de difusió

La difusió d'oxigen des del capil·lar a la cèl·lula es troba relacionat amb el VO<sub>2</sub> per la llei de Fick:

$$O_2 = KO_2 \times (PcO_2 - PmitO_2)$$

On KO<sub>2</sub> és un paràmetre depenent de la capacitat de difusió de l'oxigen a nivell microvascular. PcO<sub>2</sub> és la pressió mitjana capil·lar d'oxigen i la PmitO<sub>2</sub> és la pressió d'oxigen a nivell mitocondrial. Quan més gradient de pressió i més superfície capil·lar, major nombre de molècules d'oxigen difondran.

Els factors que modifiquen els processos de convecció o difusió poden alterar el transport i cessió d'oxigen als teixits. Aquests són:

- Flux sanguini.



- Paràmetres que afecten el contingut d'oxigen de la sang: Contingut d'oxigen, pressió parcial d'oxigen arterial, afinitat de l'hemoglobina per l'oxigen.
- Característiques funcionals i estructurals de la microcirculació.

## 1.2.2. Factors que afecten el procés d'aportació de l'oxigen

### Canvis en el flux sanguini

Un descens del debít cardíac o una hipovolèmia poden afectar el flux de sang. Quan disminueix el  $DO_2$  hi ha respostes a nivell sistèmic o local per redirigir el flux d' $O_2$  cap a les àrees de més demanda metabòlica (miocardi i cervell), mentre que els teixits amb menor demanda reben menys flux. Aquesta resposta es produeix gràcies a una estimulació adrenèrgica. L'acció vasoconstrictora simpàtica provoca un augment en l'extracció d' $O_2$  (Cain SM et al., 1978). Mecanismes intrínsecs de control microvascular i el to simpàtic ajusten la relació entre l'aport local d' $O_2$  i la demanda dels òrgans (Vallet B, 1998). El fet que certs teixits com l'hepàtic, l'esplàncnic i el renal rebin menys flux d' $O_2$  pot provocar un deteriorament de les seves funcions. En estudis experimentals s'ha demostrat que en el cos (Cain SM., 1983) i en els òrgans (Nagano K et al., 1990) quan el  $DO_2$  es redueix, l'increment en la ràtio d'extracció de l'oxigen aconsegueix mantenir les xifres de  $VO_2$ , encara que per sota d'un punt crític de  $DO_2$  aquest increment no pot compensar durant molt de temps el descens del  $DO_2$ . Algunes cèl·lules i teixits responen a canvis en la concentració local d' $O_2$ , ajustant les seves demandes metabòliques, de forma que utilitzarien l'oxigen per cobrir aquells processos d'interès vital per la seva supervivència.

### Canvis en el contingut arterial d'oxigen ( $CaO_2$ )

Quan la capacitat de transport de l'oxigen disminueix, el manteniment d'una adequada oxigenació tissular depèn d'un increment del debít cardíac i d'un increment de l'extracció d'oxigen. Durant processos d'anèmia es produeix un augment de la ràtio d'extracció d'oxigen per diferents mecanismes de compensació a nivell microcirculatori: augment del  $DO_2$  a nivell de les arterioles distals, augment de la velocitat de la sang a nivell capil·lar i un descens de la pèrdua d' $O_2$  precapil·lar. Aquests mecanismes permeten mantenir un  $VO_2$  constant fins a valors d'hematòcrit del 20-10%.

### 1.2.3. Factors que afecten la difusió d'oxigen

#### Canvis en la pressió arterial d'O<sub>2</sub>

Quan la pressió arterial d'oxigen varia, el procés de difusió s'afecta. Quan es produeix un descens per sota d'un valor crític de 70 torr, la PvO<sub>2</sub> i el VO<sub>2</sub> també disminueixen

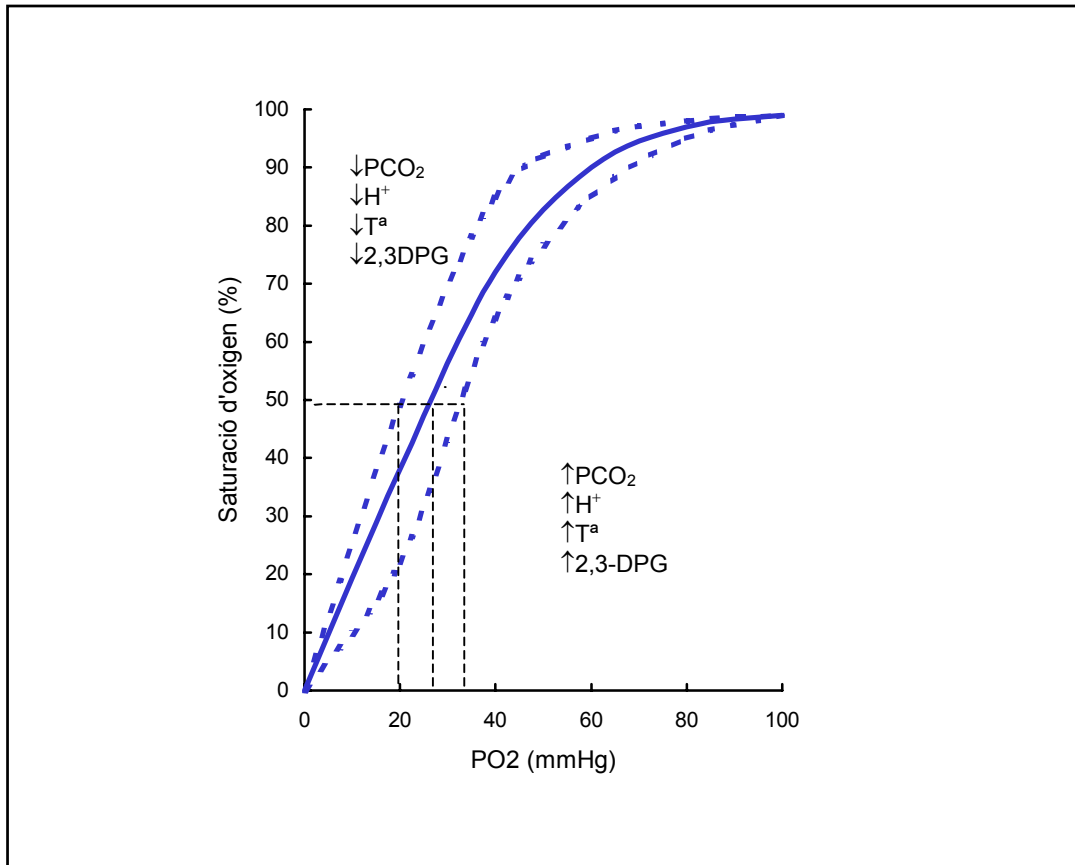
#### Canvis en l'afinitat de l'hemoglobina envers l'oxigen

La coneguda corba de dissociació de l'oxihemoglobina (Fig. 1) és la relació entre la PaO<sub>2</sub> i la SaO<sub>2</sub>. En la part baixa de la corba, (0-60 mm de Hg), petits canvis en la PaO<sub>2</sub> impliquen canvis significatius en la SaO<sub>2</sub>. En la part alta de la corba, PaO<sub>2</sub> (per dalt de 60 mm de Hg), canvis més grans en la PaO<sub>2</sub> provoquen mínims canvis en la SaO<sub>2</sub>. Un adult normal té una SaO<sub>2</sub> del 50% amb una PaO<sub>2</sub> de 26.6 mm de Hg, aquest valor es coneix com P<sub>50</sub> i és aquella PaO<sub>2</sub> en què el 50% de llocs d'unió de l'hemoglobina es troben saturats amb oxigen.

Quan la P<sub>50</sub> es troba per damunt de 26.6 mm de Hg, la corba es desplaça cap a la dreta i l'afinitat de l'hemoglobina per l'oxigen és menor, els factors que ho provoquen són l'augment de la PCO<sub>2</sub>, el descens del pH, l'augment de la temperatura i nivells incrementats de 2,3- DPG. A nivell dels teixits, l'augment de CO<sub>2</sub> associat amb el descens del pH desplacen la corba cap a la dreta i faciliten la dissociació de l'oxigen de l'hemoglobina. A l'inrevés quan la P<sub>50</sub> és inferior a 26.6 la corba es desplaça cap a l'esquerra i l'afinitat de l'hemoglobina per l'oxigen es troba incrementada.

#### Canvis en la capacitat de difusió a nivell microvascular

Aquesta capacitat de difusió es depenent de la superfície vascular. L'increment de la capacitat de difusió implica un augment de l'extracció d'oxigen cap als teixits, un descens de la PvO<sub>2</sub> i un augment de la captació d'O<sub>2</sub>. Hi ha molts factors que poden afectar aquesta microcirculació. Per exemple en la sèpsia i estats inflamatoris es produeixen alteracions en la relació DO<sub>2</sub>-VO<sub>2</sub> provocades per trastorns de la microcirculació, un increment en l'adhesió dels neutròfils i shunts funcionals o anatòmics a nivell microcirculatori que predisposen a l'aparició d'hipòxia a nivell dels teixits.

**Figura 1. Corba de dissociació de l'hemoglobina.**

$PCO_2$  = Pressió de  $CO_2$ ;  $H^+$  =  $[HCO_3^+]$  o pH;  $T^a$  = Temperatura  
 2,3-DPG = 2.3 difosfoglicerat,  $PO_2$  = Pressió d' $O_2$ .

#### 1.2.4. Estructura i funcions de l'hemoglobina

Pràcticament tot l'oxigen transportat en sang arterial ho fa unit a l'hemoglobina, proteïna sintetitzada en les últimes fases de la producció dels eritròcits en el moll de l'os. En un adult normal la sang conté uns 150 g d'hemoglobina per litre de sang. Cada gram d'hemoglobina es pot combinar amb 1,34 ml d'oxigen, així en un litre de sang hi ha aproximadament 200 ml d'oxigen (100% de saturació d'hemoglobina).

L'hemoglobina és el component eritrocitari majoritari. La seva funció principal és fixar l'oxigen reversiblement per poder transportar-lo des dels pulmons als diferents

teixits de l'organisme. L'hemoglobina normal de l'adult ( $p_m=64,5$  kD) es troba formada per dos cadenes globina  $\alpha$  i dos cadenes  $\beta$ , lligades cadascuna a un grup heme. Cada grup heme es troba format per un nucli tetrapirròlic de protoporfirina IX amb un àtom de ferro<sup>++</sup> en posició central, amb capacitat de lligar-se a una molècula d'oxigen .

Les unitats de globina de la deoxihemoglobina presenten unions electrostàtiques tenses amb una configuració amb baixa afinitat per l'oxigen (configuració T); en canvi la unió a l'oxigen provoca un estrès químic i mecànic que trenca aquestes unions donant lloc a una configuració més relaxada (configuració R), en què els llocs d'unió es troben més exposats i amb una capacitat de lligar l'oxigen 500 vegades més gran que quan la molècula es presenta en configuració T (Monod J, 1965). Aquests canvis de conformació fan que la unió d'una molècula d'oxigen a la deoxihemoglobina augmenti l'afinitat de la resta de llocs d'unió i això és el que proporciona una imatge sigmoïdal a la corba, que assegura la màxima capacitat de transport i d'alliberació d'oxigen cap als teixits (Figura 1). Els principals moduladors són els ions  $H^+$ , el  $CO_2$  i el 2,3 difosfoglicerat (2,3-DPG).

### **Característiques de la corba de dissociació de l'O<sub>2</sub>-hemoglobina**

La forma sigmoïdal de la corba de l'hemoglobina manté la diferència de pressió parcial entre els alvèols pulmonars i la sang, permetent la màxima difusió d'oxigen, fins i tot quan la  $PO_2$  alveolar és baixa. A nivell dels capil·lars dels òrgans perifèrics (on la  $PO_2$  no és més gran de 25-30 mm de Hg i la transferència d'oxigen té lloc en la part baixa de la corba), l'oxigen és cedit en quantitats importants amb un mínim descens de la  $PaO_2$  capil·lar. La cèssió normal d'O<sub>2</sub> als teixits és del 27% (descens del contingut d'O<sub>2</sub> de la sang de 20 a 15 ml/dL). En la microcirculació la cèssió d'O<sub>2</sub> augmenta per un canvi en l'afinitat de l'hemoglobina per l'oxigen (efecte Bohr que té lloc per un desplaçament cap a la dreta de la corba), produït pel descens del pH i l'augment de la  $PCO_2$  .

### **1.2.5. Anèmia hipòxica**

Habitualment la quantitat d'oxigen cedit als teixits és superior a les seves necessitats. Quan la concentració d'hematies disminueix mantenint-se el volum sanguini (anèmia isovolèmica), l'oxigenació tissular es manté per un augment del dèbit cardíac i de l'extracció d'O<sub>2</sub> de la sang. Si al mateix temps es produeix una hipovolèmia, la capacitat d'adaptació és inferior, ja que l'augment del dèbit cardíac

requereix una suficient precàrrega ventricular esquerra. La capacitat d'augmentar l'extracció d'O<sub>2</sub> és més eficient en alguns òrgans no vitals (budell, ronyó...), que no pas en d'altres de vitals (cervell, cor); per això quan el transport d'O<sub>2</sub> disminueix, el flux sanguini es distribueix des dels òrgans no vitals als vitals, per tal d'assegurar la seva oxigenació. En la microcirculació, l'anèmia s'acompanya per una banda d'un augment del flux sanguini, però també d'un augment de la velocitat de les hematies, augmentant el nombre de capil·lars que interactuen per poder compensar el descens de la PO<sub>2</sub>. Si la pèrdua de sang continua, la concentració d'hemoglobina arterial baixa fins a un punt on l'increment del debit cardíac, la redistribució del flux i l'augment de l'extracció d'O<sub>2</sub> no són suficients. En l'anèmia hipòxica, es produeix una acidosi metabòlica i isquèmia en els teixits, que desemboquen en xoc i fallida multiorgànica.

La concentració crítica d'hemoglobina varia entre individus sans, però tot indica que si l'anèmia és l'única causa del descens d'O<sub>2</sub>, i es mantenen els mecanismes compensatoris d'adaptació, una xifra de 5 g/dL d'hemoglobina és capaç d'assegurar l'aportació d'O<sub>2</sub> als teixits ( Weiskopf et al., 1998; Räsänen J, 1992).

## **1.3. Regulació de l'eritropoesi. Eritropoetina**

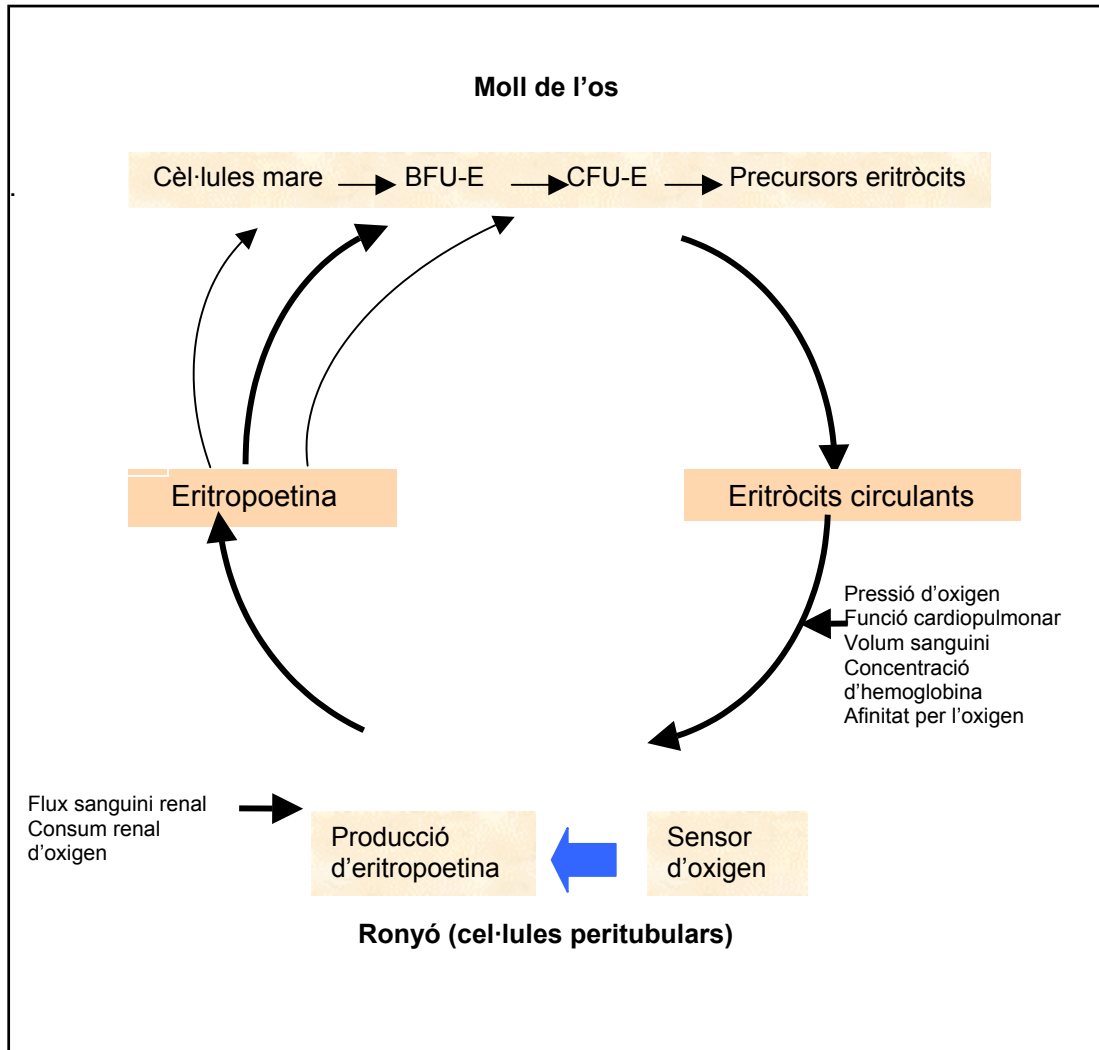
### **1.3.1. Fisiologia de l'eritropoetina**

Les cèl·lules de la sang són generades a partir de cèl·lules mare del moll de l'os amb capacitat pluripotencial per produir diferents llinatges cel·lulars. La producció de la sèrie roja es troba regulada per una hormona, l'eritropoetina, que estimula la proliferació i diferenciació dels eritròcits (Krantz SB, 1991), i a la vegada la seva síntesi es troba modulada per factors cardiovasculars i renals (Figura 2).

Viault, l'any 1934 va ser el primer en aportar que l'eritropoesi resultava ser estimulada després d'una exposició a baixes pressions d'oxigen en zones altes de muntanya. Carnot i Deflandre, el 1906 van ser els primers en proposar l'existència d'un factor humoral en el control de l'eritropoesi, ja que en injectar sèrum procedent de conills anèmics a animals normals els provocaven un augment en el nombre d'eritròcits. Estudis posteriors van fracassar a l'hora de confirmar aquesta teoria i no va ser fins l'any 1953 en què Erslev, en una revisió d'aquest projecte, va poder demostrar un augment dels reticulòcits i de l'hematòcrit en conills als que transfonia repetidament volums de plasma (100-200 ml) procedents d'altres conills severament anèmics.

L'eritropoetina en l'adult és sintetitzada fonamentalment en el ronyó (Jacobson LO et al., 1957; Bachmann S et al., 1993) en resposta a senyals procedents d'un sensor d'oxigen (Goldberg MA et al., 1988), de forma que la hipòxia definida com hipoxèmia, anèmia o un augment de l'afinitat de l'hemoglobina per l'oxigen, constitueix el principal estímul per a la seva producció, en canvi l'eritrocitosi o situacions de demanda reduïda d'oxigen provoquen una disminució de la seva síntesi. En menys proporció aquesta síntesi es produeix a nivell hepàtic.

**Figura 2.** Circuit que controla la producció d'eritròcits adaptant-la a les demandes d'oxigen.



BFU-E: (burst forming unit erythroid): Cèl·lules precursors eritrocitàries immadures  
 CFU-E (colony forming unit erythroid): Cèl·lules precursors eritrocitàries diferenciades.  
 Adaptat de Erslev AJ (N Eng J Med 1991; 19:1339-1344)

### 1.3.2. Síntesi d'eritropoetina

Estudis d'hibridació in situ han demostrat la implicació de fibroblasts de ronyó i fetge en la producció d'eritropoetina (Bachmann S et al., 1993, 1997; Shanks JH et al., 1996) i no de cèl·lules endotelials dels capil·lars peritubulars com inicialment s'havia cregut (Koury et al., 1988; Lacombe et al., 1988). L'expressió a nivell renal s'ha localitzat en els fibroblasts tipus 1 localitzats a nivell peritubular del còrtex i de la medul·la renal més externa; al fetge a més dels hepatòcits s'ha trobat transcripció a nivell de les cèl·lules perisinusoidals d'Ito. Tant les cèl·lules peritubulars al ronyó com les d'Ito al fetge presenten ecto-5'-nucleotidasa (5'NT), que pot estar relacionada amb el mecanisme sensor d'oxigen mitjançant la hidròlisi d'AMP a adenosina.

En el moll de l'os l'eritropoetina (EPO) actua lligant-se a un receptor específic de les cèl·lules progenitores eritrocitàries (EPO-R), membre de la família de les citoquines i de receptors de factors de creixement (Swayer ST et al., 1989), estimulant el seu creixement, induint la seva diferenciació en eritròcits madurs i provocant reticulocitosi en un període de 2-4 dies.

L'expressió d'aquest receptor d'eritropoetina és diferent segons el grau de diferenciació eritrocitària: les cèl·lules més immadures identificades com precursors eritrocitàries (BFU-E primitiva) no expressen aquest EPO-R i per tant no responen a l'EPO. Després de 48 a 72 hores de creixement en presència d'interleucina-3 (IL-3) i de factor estimulador de colònies granulocítiques-macrofàgiques (GM-CSF) o de factor Steel les BFU-E madures inicien l'expressió de l'EPO-R i responen lleugerament a l'acció d'EPO. Després de 4-5 dies en cultiu aquestes cèl·lules es converteixen en CFU-E que responen en elevada proporció a l'EPO i generen colònies d'eritroblastes en 7 dies; aquesta sensibilitat és transitòria i disminueix gradualment amb la maduració cel·lular.

En condicions basals la concentració d'EPO és de 10 a 20 U/L de plasma, quantitat suficient per mantenir una massa adequada d'eritròcits i mantenir un flux d'oxigen a nivell renal suficient per assegurar aquests nivells. En estats d'anèmia acompanyats d'una funció renal normal, la disminució del flux d'oxigen provoca un augment de la síntesi de forma exponencial, així un hematòcrit del 20% incrementa els nivells d'eritropoetina en 100 vegades les xifres basals; en canvi l'anèmia associada a malaltia renal crònica cursa amb xifres d'eritropoetina plasmàtica disminuïdes o al menys inferiors a les esperades en relació a les xifres d'hemoglobina en sang. No s'han evidenciat diferències de concentració en relació al sexe o edat ni tampoc hi ha variacions circadiàries (Erslev AJ et al., 1980). A la taula 2 s'exposen diferents



situacions que cursen amb concentracions plasmàtiques augmentades o disminuïdes d'EPO.

**Taula 2. Malalties associades a concentracions plasmàtiques inadequades d'eritropoetina**

---

*A. Eritrocitosi per producció augmentada d'eritropoetina*

Malaltia crònica de la muntanya

Malalties respiratòries cròniques

Malalties cardíques cianòtiques

Hemoglobinopaties amb augment de l'afinitat per l'O<sub>2</sub>

Estenosi de l'artèria renal

Neoplàsies i quists renals productors d'eritropoetina

*B. Anèmia per producció insuficient d'eritropoetina*

Anèmia secundària a insuficiència renal crònica

*C. Anèmia secundària a producció inadequada d'eritropoetina*

Anèmia secundària a processos neoplàsics

Anèmia secundària a processos inflamatoris crònics

Anèmia en pacients amb VIH

Anèmia en nounats prematurs

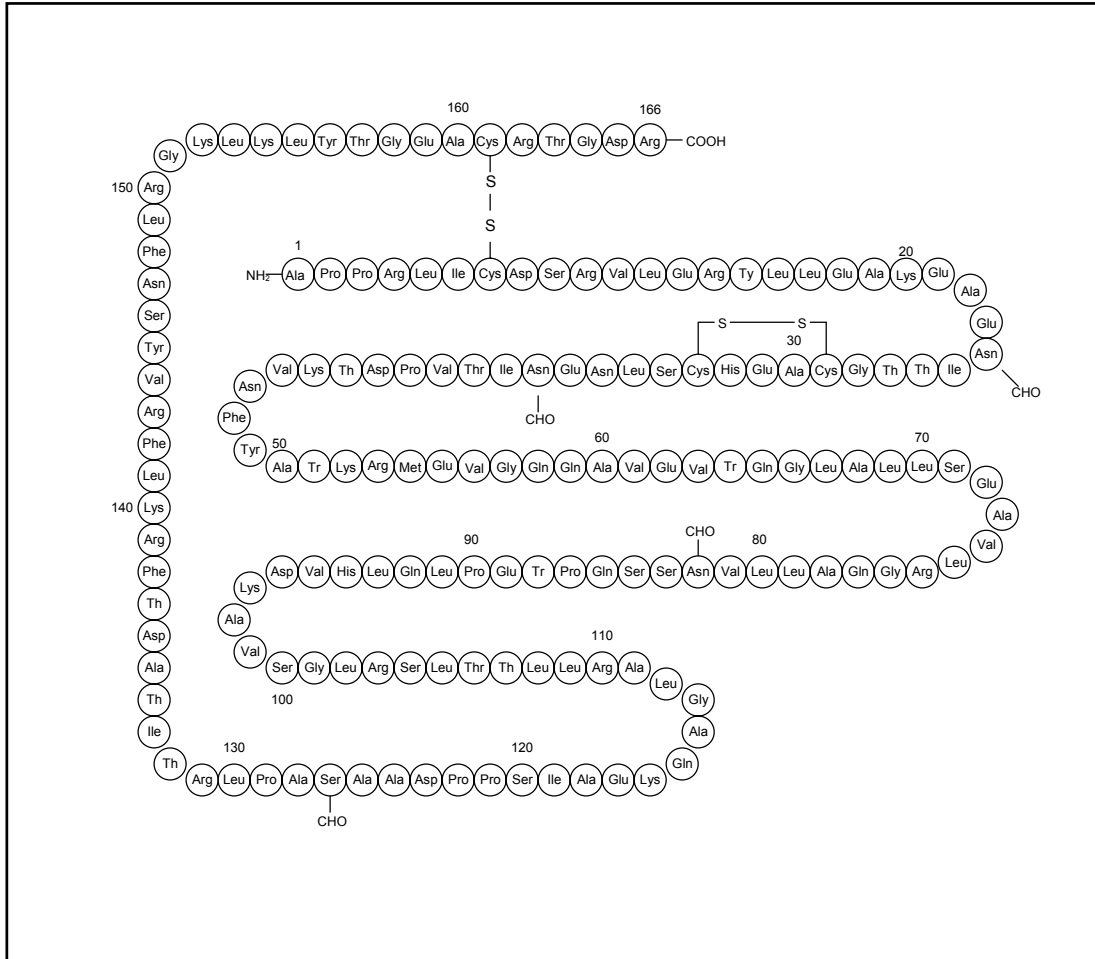
---

### 1.3.3. Estructura química de l'eritropoetina

L'eritropoetina és una glucoproteïna amb un pm de 30.4 kDa. L'any 1977, s'aïllà per primer cop eritropoetina pura procedent d'orina de pacients amb anèmia aplàsica (Miyake T et al., 1977) i el 1985 (Lin F-K et al., 1985; Jacobs K et al., 1985) s'aconseguí clonar el gen de l'eritropoetina. Aquest gen localitzat en el cromosoma 7 codifica 193 residus, dels quals els primers 27 són el pèptid senyal. La proteïna madura la formen els 166 residus polipeptídics que presenten un pm de 18,4 kDa, amb un 39% de carbohidrats.

L'eritropoetina humana presenta 4 llocs de glicosilació: tres N-glicosilació en les posicions asparagina 24, 38 i 83 i una O-glicosilació en la posició serina 126. Conté dos enllaços disulfur entre la cisteïna 29 i la 33 i entre la 7 i la 161, que són essencials per a la seva funció biològica (Figura 3). La desialació (pèrdua de l'àcid neuramínic) o la deglicosilació provoquen la pèrdua d'activitat de la molècula. La identificació i clonació del gen de l'eritropoetina va permetre la seva transfecció a cèl·lules d'ovari de hámster xinès (CHO) amb l'obtenció l'any 1985 d'eritropoetina recombinant humana (rHuEPO) que presenta la mateixa composició en aminoàcids i sucres que l'eritropoetina humana. Des d'aquesta data, la seva utilització en processos que cursen amb una producció disminuïda o insuficient d'eritropoetina endògena no ha parat de créixer.

**Figura 3.** Seqüència primària d'aminoàcids de l'eritropoetina humana

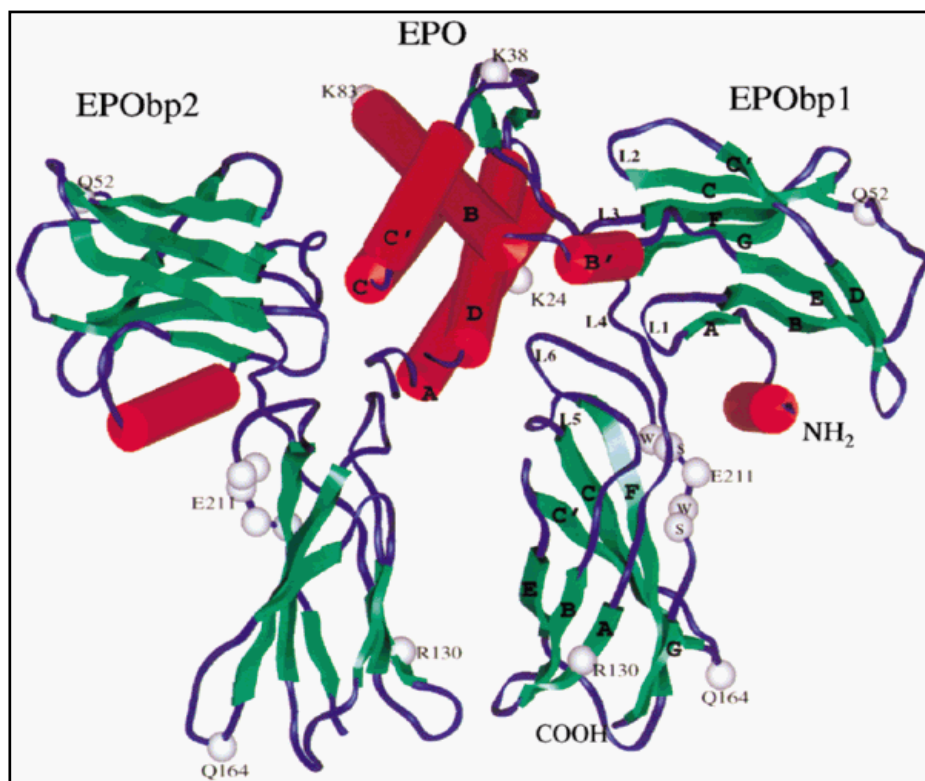


En aquesta il·lustració la seqüència es troba plegada de forma arbitrària. Hi ha dos enllaços disulfur, que uneixen la Cys 7 amb la Cys 161 i la Cys 29 amb la Cys 33. Les tres localitzacions de la N-glicosilació són als residus 24, 38 i 83 d'aspartat. A nivell de Ser 126 es troba la O-glicosilació. Adaptat de Lappin TRJ et al. 1990. (Eritropoyetina, capítol: Química y ensayos sobre eritropoyetina).

### 1.3.4. Receptor de l'eritropoetina

El receptor de l'eritropoetina forma part de la família de receptors de citoquines de classe 1. L'eritropoetina actua mitjançant la unió i orientació de dos receptors de superfície (EPObp o EPO-R), que inicien un procés de fosforilació intracel·lular (Fig 4). La resposta màxima en un assaig de proliferació cel·lular es produeix a una concentració d'eritropoetina de 10 pM. La màxima capacitat d'unió dels dos receptors de superfície obtinguda amb aproximadament 0.18 nM d'eritropoetina, indica que només un 6% dels receptors s'unirien en presència de 10 pM d'eritropoetina.

**Figura 4.** Estructura cristal·logràfica del complex eritropoetina-receptor (EPO-EPObp).



Adaptat de Rashid SS et al., Nature 1998; 395: 511-516.

## 1.4. Alternatives a la transfusió de sang al·logènica

Destaquen la recollida preoperatòria de sang autòloga, l'hemodilució aguda normovolèmica i tècniques de recuperació de sang en el camp quirúrgic.

Entre els anys 80-90 les tècniques de recollida de sang en predipòsit han tingut un desenvolupament creixent. La transfusió de sang autòloga és actualment la millor forma de transfusió i els programes de donació autòloga preoperatòria (PDAP) han constituït una pràctica habitual en la cirurgia electiva amb necessitats transfusionals a molts hospitals (Kruskall MS et al., 1986; Wasman J et al., 1987; Toy PTCY et al., 1987; Goodnough LT et al., 1990; Renner SW et al., 1992).

Hi ha però veus crítiques que avaluen la donació de sang autòloga com un procediment no rendible econòmicament, si es compara amb la transfusió procedent de donants voluntaris, per moltes raons, entre les quals hi ha les següents: els procediments d'elecció dels donants de sang autòloga són més complexos, ja que aquests són pacients de més edat i precisen un seguiment més acurat; els bancs de sang rebutgen la sang autòloga no utilitzada després dels costos derivats de la recollida, tipificació serològica i emmagatzematge (Etchason J et al., 1995). A tot això, s'afegeix la incorporació de proves serològiques altament sensibles que han disminuït el risc de transmissió de malalties infeccioses a taxes molt baixes.

No hem d'oblidar però els problemes no infecciosos que es poden derivar de la transfusió de sang al·logènica: reaccions febrils, al·lèrgiques i hemolítiques. En el cas de subjectes amb aloimmunitzacions aconseguir sang compatible pot resultar més car, i altres complicacions més serioses com són les reaccions de l'empelt enfront l'hoste, presenten un índex de mortalitat elevat (68- 90%). Altres qüestions que generen controvèrsia són aquelles que fan referència a la immunosupressió posttransfusió de sang al·logènica i que predisposaria a un major risc de complicacions infeccioses postcirurgia o a una recurrència més precoç en el cas de pacients amb càncer.

Una forma de reduir els costos de la predonació de sang autòloga seria la no obligació legal de testar serològicament cadascuna de les bosses d'un pacient, o bé recórrer a l'hemodilució normovolèmica intraoperatòria on immediatament abans de la cirurgia es sagnen d'una a dues bosses de sang i es substitueixen per cristal·loides. La sang es guarda a temperatura ambient dins el mateix quiròfan i es comença a reinfondre un cop finalitzada la intervenció, sense necessitat de cap tipus de prova serològica especial.

### **1.4.1. La donació de sang autòloga en predipòsit**

Es defineix com la col·lecció d'una o més unitats de sang pròpia en pacients candidats a cirurgia amb l'objectiu de cobrir les necessitats transfusionals amb la sang d'un mateix. El número d'unitats i la freqüència de sagnat, s'estableixen durant un primer examen que sol tenir lloc uns 40 dies abans de la cirurgia i depèn de les condicions del pacient (edat, pes, xifres basals d'hemoglobina i patologies associades), del tipus de cirurgia, i de les pèrdues de sang estimades durant i posteriorment a l'acte quirúrgic.

#### **1.4.1.1. Principis generals**

Els valors d'hemoglobina han de disminuir fins a 10 g/dl (de vegades 9 g/dL) amb rapidesa, ja que l'objectiu és aconseguir un estímul eritropoètic màxim. Si el moll de l'os funciona correctament i es complementa l'eritropoesi mitjançant l'administració de ferro oral (farmacològic i amb dieta) i si s'escau amb altres vitamines hemoactives, el pic de reticulòcits té lloc en 10 dies.

En un pacient de 70 kg de pes, l'extracció de  $400 \pm 40$  mL de sang provoca un descens aproximat d'1g en les xifres d'hemoglobina i d'un 3% en l'hematòcrit. Hi ha taules que calculen aquestes dades en relació al sexe, pes i alçada.

Prèviament a la donació s'ha de fer un àpat lleuger i posteriorment s'ha de beure aigua amb freqüència la resta del dia. Es recomana que els pacients vagin acompanyats per un familiar o amic que l'acompanyin en tornar a casa.

Individus joves i amb tendència a la hipotensió, han de fer repòs especialment després de la menjada, per tal d'evitar la redistribució circulatòria esplàncnica postprandrial i les conseqüents lipotímies.

S'ha d'informar el pacient de la possibilitat de transfondre la menys quantitat possible de sang homòloga, si el nombre d'unitats de sang autòloga predonades són insuficients per les necessitats de la cirurgia.

La sang autòloga s'ha de guardar al Banc de Sang etiquetada i ha d'estar disponible per a ser utilitzada per cada pacient fins a la data de caducitat o fins que el pacient és donat d'alta de l'hospital.

### 1.4.1.2. Selecció de pacients

#### Casos especials:

- Pacients amb isquèmia coronària o cerebral, predonen una unitat de sang cada 6-7 dies i durant 3-4 setmanes i sempre l'hemoglobina calculada postextracció ha de superar els 11 g/dL.
- Els pacients amb malaltia pulmonar obstructiva crònica desenvolupen una poliglobúlia compensadora amb xifres d'hemoglobina que sovint superen els 15 g/dL, es recomana planificar les sagnies per tal de no fer baixar les xifres d'hemoglobina més d'un 20% dels valors inicials.
- En els pacients amb processos neoplàsics, l'anèmia que acompanya la malaltia i la que es deriva dels tractaments quimioteràpics poden limitar o bé impedir l'autotransfusió.

#### Contraindicacions:

Situacions que requereixen una valoració individual:

- Infart agut de miocardi previ.
- Insuficiència cerebrovascular
- Insuficiència respiratòria crònica
- Malaltia hepàtica
- Tractament anticoagulant

Contraindicacions absolutes:

- Febre alta
- Probable bacterièmia documentada
- Hipovolèmia
- Fallida hepàtica aguda
- Cardiopaties (arítmies, angina de pit, baix dèbit cardíac)
- Estat de salut desfavorable en general.

### 1.4.1.3 Costos econòmics

La donació preoperatòria de sang s'utilitzava en comptades ocasions abans de l'aparició de l'HIV. Des del coneixement per part de l'opinió pública de la possibilitat de transmissió de l'HIV a partir de la transfusió, el seu ús en determinats tipus de cirurgia electiva va anar creixent i l'any 1992 als Estats Units, 1 de cada 12 bosses (8.5%) de sang eren producte d'una donació autòloga.

La meitat de la sang autòloga aconseguida no s'utilitza (Renner SW et al., 1992) i les raons d'aquesta sobrecol·lecció de sang són múltiples: motius legals i la percepció que la donació de sang autòloga té poques complicacions serioses. El descens de les probabilitats de transmissió dels virus més temuts i les pressions per reduir despeses en el camp de la sanitat han provocat que la donació de sang autòloga sigui reavaluada (Goodnough et al., 1994; Linden JV et al., 1997; Cohen JA et al., 1996).

La donació de sang autòloga no es troba lliure de complicacions: una de cada 16783 donacions presenta algun tipus de reacció adversa que requereix hospitalització (Popovsky MA et al., 1995), això correspon a 12 vegades el risc associat a donacions en voluntaris sans, també la descripció d'isquèmia coronària associada que no provocada, en determinats casos a l'autotransfusió. A més, la transfusió de sang autòloga presenta les mateixes complicacions que la transfusió de sang al·logènica (risc de contaminació bacteriana i hemòlisi per incompatibilitat ABO), (Linden JV et al., 1997).

En conseqüència, des de 1992 els percentatges de sang autòloga obtinguda i transfosa han disminuït (Goodnough et al., 1999) al Estats Units i l'any 1997, una de cada 20 bosses de sang era producte d'una donació autòloga (5%).

A Catalunya l'any 2000 aquesta última xifra era del 3%.

S'han efectuat estudis de cost-efectivitat de l'autotransfusió en diferents tipus de cirurgia. Aquests estudis s'expressen com a despeses ajustades a qualitat per any de vida (QALY), en els quals QALY és una mesura dels anys de vida addicionals per l'individu, ajustats a la qualitat en salut (mesurada en una escala de l'1 al 10) de la qual gaudirà l'individu en qüestió durant aquests anys. Les despeses per QALY són una forma de poder comparar totes les accions mèdiques. Una intervenció mèdica generalment es considera que és efectiva si té un QALY de 50.000\$ o menys. S'estimen les despeses en QALY de la donació autòloga en una artroplàstia de maluc (235,000\$-740,000\$), en un bypass coronari (494,000\$-508,000\$), en una resecció transuretral de pròstata (1,358,000\$), en una prostatectomia (531,000\$) i en una histerectomia abdominal (23,643,000\$).



Aquests estudis (Birkmeyer JD, et al., 1993; Healy JC et al., 1994, Etchason J et al., 1995) conclouen que la donació de sang autòloga és un procediment car en relació als beneficis en expectatives de salut aconseguits. Aquest elevat cost es produeix per la baixa freqüència actual en la transmissió de malalties víriques posttransfusió i en els escassos requeriments transfusionals d'alguns procediments quirúrgics.

Etchason estableix el cost directe d'una unitat de sang autòloga en 198.04\$, en comparació amb el d'una unitat al·logènica de 149.80\$ (1992, UCLA). El cost addicional total d'una unitat de sang autòloga respecte a una d'al·logènica oscil·la entre 68 i 4,783 dòlars segons el procediment quirúrgic (en cirurgia ortopèdica: 68\$; bypass coronari: 107\$; histerectomia abdominal: 594\$ i en la resecció transuretral de pròstata: 4,783\$).

En un estudi de donació de sang autòloga abans de cirurgia per bypass coronari, la donació preoperatòria de dos unitats de sang té un cost estimat mitjà de 500,000 dòlars per qualitat de vida ajustada i any (\$/QALY) (Birkmeyer JD et al., 1994). En pacients joves en els quals la supervivència postoperatòria projectada és més llarga i en centres on la probabilitat de transfusió és alta, el benefici de la donació autòloga seria més gran.

El fet és que aquestes estimacions estan fetes d'acord amb riscos coneguts, demostrats i acceptats per la comunitat científica, mai en base a potencials factors de risc; en tots aquests estudis no s'ha tingut en compte el possible augment dels dies d'estada hospitalària, producte d'un possible augment de les complicacions postoperatòries, principalment de tipus infeccions associades a la transfusió al·logènica. Les xifres podrien variar si aparegués un nou risc (un agent infecció nou transmissible per la sang), si es confirmés que la transfusió augmenta el risc d'infeccions o de recidiva en el càncer o si la demanda creixent de sang no pogués ser atesa amb les donacions altruistes.

De fet tots aquests estudis cost-eficàcia estan sotmesos actualment a revisió en la mesura que es van assumint els efectes adversos immunològics que comporta la transfusió de sang al·logènica (Marchetti M et al., 2000), tant pel que fa als efectes en la salut del receptor (risc d'infecció postoperatòria i recidiva de càncer), com per les majors despeses econòmiques derivades de la necessitat de desleucotitzar de forma universal tots els components de la sang. A Catalunya des de principis de l'any 2002, aquest últim fet ha suposat un increment del 40% en el cost dels productes sanguinis.

#### **1.4.1.4. Indicacions de la donació de sang autòloga.**

S'han publicat diferents guies sobre els pacients i el tipus de cirurgia on l'aplicació de la donació autòloga és més apropiada (*Consensus Conference*, 1996; *British Committee for Standards*, 1993). La quantitat d'unitats de sang autòloga a obtenir es basa en el número d'unitats que es creuarien abans de la cirurgia si s'utilitzés sang al·logènica, de forma que s'obtingués suficient sang perquè menys del 10% de pacients necessitessin rebre sang al·logènica. No tots els països s'adhereixen a aquestes recomanacions; recentment la *British Consensus Conference* sobre transfusió autòloga, només considera la possibilitat d'aquest tipus de donació si la probabilitat de transfusió és més gran del 50% (Thomas MGH et al., 1996).

Quan s'utilitza la donació autòloga en procediments quirúrgics en què rarament es necessita transfusió (histerectomia abdominal, histerectomia vaginal, resecció transuretral de pròstata), més del 90% de la sang obtinguda no s'utilitza (AuBuchon JP et al, 1994, Goodnough LT et al., 1992).

Larocque et al. (1997), troben que el 80% de pacients sotmesos a cirurgia ortopèdica tenen un risc baix de transfusió i per tant no recomanen la donació autòloga.

Diferents algorismes tenen en compte la pèrdua estimada de sang i l'hematòcrit preoperatori per tal d'identificar el risc dels pacients de ser transfusos (Mercuriali F et al., 1996), el problema d'aquests algorismes és que les pèrdues de sang són difícils de predir ja que intervencions similars i realitzades pel mateix cirurgia presenten un rang ampli quant a pèrdues de sang.

### **1.4.2. Alternatives farmacològiques**

#### **1.4.2.1. Prevenció del dèficit de ferro en el pacient quirúrgic**

El dèficit de ferro és la causa més important d'anèmia i augmenta les necessitats transfusionals dels pacients abans, durant o després de la cirurgia. Amb una adequada repleció dels dipòsits de ferro abans de la cirurgia és possible estalviar una part de les transfusions.

### Etiologia del dèficit de ferro

- Captació anòmala de ferro amb l'alimentació  
Una causa important és l'augment del pH gàstric, que disminueix la solubilitat del ferro inorgànic impedit la seva absorció. Intervencions quirúrgiques com la vagotomia o hemigastrectomia per ulcus gàstric són algunes de les causes; actualment la més freqüent és la utilització indiscriminada d'antiàcids anti-histamina H2. Alguns defectes del budell prim, com són la malaltia celíaca o la malaltia de Crohn poden disminuir l'absorció de ferro.
- Pèrdua de sang  
La pèrdua de sang pel tracte gastrointestinal és la causa més habitual de dèficit de ferro. En adults s'ha de descartar un ulcus pèptic, hèrnia d'hiatus, lesions benignes i també la presència d'un procés neoplàsic maligne. En les dones la menstruació és una causa fisiològica de pèrdua de sang, un 2% de les dones premenopàusiques presenten anèmia per dèficit de ferro.

### Diagnòstic del dèficit de ferro

A part dels signes físics com poden ser la fatiga, fragilitat d'ungles i cabell, glossitis, pal·lidesa cutània i altres, l'avaluació del laboratori és essencial per al seu diagnòstic (Taula 3)

**Taula 3.** Paràmetres de laboratori en el dèficit de ferro

	Hemoglobina	Ferritina	% Saturació Transferrina	RDW	Risc transfusional
Ferropènia sense anèmia	Normal	Disminuïda	Disminuïda	Normal	+
Ferropènia i anèmia	Disminuïda	Disminuïda	Disminuïda	Incrementat	+++

% Saturació transferrina: Ferro sèric/ Capacitat d'unió del ferro (TIBC)  
RDW: Distribució de cèl·lules vermelles

### **Tractament del dèficit de ferro**

El sulfat de ferro, que és el més recomanat, provoca problemes importants d'intolerància gastrointestinal en comparació amb el gluconat de ferro. Cada comprimit de 300 mg de gluconat de ferro conté 50 mg de ferro elemental. El ferro s'absorbeix millor si es consumeix entre menjades ja que alguns aliments impedeixen la seva captació, però en canvi la disconformitat abdominal és més gran. Un detall a tenir en compte és que l'àcid ascòrbic augmenta l'absorció del ferro.

La dieta pot constituir també un aport addicional de ferro molt important: tomates, llenties, carn vermella, fetge, suc de taronja i altres fruites àcides.

Als Estats Units és habitual l'administració de ferro parenteral en forma de ferro-dextran, ja sigui per via intramuscular o endovenosa en el cas que el ferro oral no sigui ben tolerat o en el cas de necessitar un augment ràpid de les reserves de ferro o quan l'absorció gastrointestinal és insuficient.

La repleció amb ferro oral per corregir una anèmia ferropènica és un procés dependent del temps. Una persona de 70 kg de pes amb una hemoglobina de 8.5 g/dL pot tenir un dèficit de ferro de 1700 mg. L'absorció diària de ferro en condicions normals és de 2 mg. Augmentant aquesta absorció fins a 10 mg/dia necessitarem prop de 6 mesos per corregir completament aquest dèficit de ferro.

El tipus de cirurgia i les pèrdues de sang també s'han de tenir en compte en el moment de calcular les necessitats de ferro. La sang total conté prop de mig gram de ferro per mL de sang. La pèrdua de 500 mL de sang implica la pèrdua de 250 mg de ferro. Si els dipòsits de ferro del pacient són insuficients, la pèrdua de sang no podrà ser corregida. En canvi la repleció dels dipòsits prèviament a la cirurgia pot evitar algunes transfusions.

#### **1.4.2.2. Eritropoetina recombinant humana (rHuEPO): aplicacions clíniques**

La primera utilització clínica de la rHuEPO es va produir en el tractament de l'anèmia associada a insuficiència renal crònica en pacients dialitzats, en els quals els nivells plasmàtics d'eritropoetina endògena no augmentaven en resposta a concentracions sostingudament baixes d'hemoglobina, això feia sospitar que la causa de l'anèmia estava provocada per un dèficit de síntesi de l'hormona; els resultats obtinguts després del tractament amb rHuEPO van resultar espectaculars (Winearls CG et al., 1986; Eschbach JW et al., 1987; Evans RW et al., 1990; Eschbach JW et al., 1989).

Actualment l'ús de la rHuEPO s'ha ampliat entre d'altres al camp de l'oncologia (Ludwig H et al., 1990), en concret al tractament de l'anèmia secundària al mateix càncer o la que es deriva dels tractaments quimioteràpics (Mercadante S et al., 2000), al tractament de l'anèmia secundària a processos inflamatoris crònics, de malalts amb VIH (Fischl M et al., 1990), de pacients en estat crític (Van Iperen CE et al., 2000) i de nounats prematurs (Widness JA et al., 1996).

Malgrat els avenços aconseguits en la seguretat i eficàcia de la transfusió de sang (Card JW et al., 1988; Alter HJ et al., 1989; Schreiber MP et al., 1996; Conry-Cantilena C et al., 1996; Glynn SA et al., 2000) la cerca d'alternatives transfusionals és contínua, l'eritropoetina amb d'altres substàncies més habituals i conegudes com el ferro, la vitamina B<sub>12</sub> i l'àcid fòlic poden utilitzar-se en lloc de la transfusió si les condicions clíniques del pacient permeten esperar el temps necessari perquè aquestes facin el seu efecte.

Un més gran coneixement en el camp de la farmacocinètica i farmacodinàmica de l'eritropoetina ha permès el desenvolupament de diferents estudis amb l'objectiu de provar la seva eficàcia en reduir les necessitats transfusionals perioperatòries, ja sigui mitjançant la seva utilització com a tractament coadjuvant en programes de recol·lecció de sang autòloga abans de la cirurgia, o únicament com a tractament coadjuvant perioperatòri.

En l'actualitat l'ús d'eritropoetina en programes de recol·lecció autològa de sang està autoritzat a Japó, Canadà i en alguns països de la Unió Europea (França, Alemanya, Itàlia i Anglaterra). Des del 1997 està aprovat el seu ús en determinats processos quirúrgics no cardíacs a Canadà i Estats Units (Goodnough et al., 1997). A Espanya la utilització clínica d'eritropoetina és restringida al tractament de l'anèmia associada a insuficiència renal en pacients amb o sense diàlisi, al tractament de l'anèmia secundària a quimioteràpia en pacients amb processos neoplàsics i des de fa un parell d'anys, encara en fase d'estudi, s'inclou la seva utilització en programes de donació autòloga.

#### **1.4.2.3. Nova proteïna estimuladora de la eritropoesi**

Aquesta nova eritropoetina (NESP, novel erythropoiesis-stimulating protein), anomenada darbepoetina alfa és una nova molècula bioquímicament diferent a la rHuEPO. Presenta un major contingut en carbohidrats (5 N-glicosilacions, dues més que la rHuEPO), un major pes molecular i una major càrrega negativa. Comparada amb la rHuEPO presenta una vida mitjana 3 vegades més llarga i es pot administrar de forma més espaiada en el temps per obtenir la mateixa resposta biològica (Egrie

JC et al, 2001). Actualment està sent avaluada en diferents assaigs clínics on s'administra una única dosi setmanal subcutània en comparació amb l'administració actual de rHuEPO tres cops per setmana. S'observa una relació entre les dosis administrades i l'augment en les xifres d'hemoglobina en finalitzar el tractament (Glaspy J et al., 2001).

#### **1.4.2.4. Substituts dels glòbuls rojos**

Des de fa uns anys, s'estan fent investigacions per tal de desenvolupar substituts de les cèl·lules vermelles: solucions d'hemoglobina lliure de cèl·lules i emulsions de perfluorocarboni com a transportadors sintètics d'oxigen (Winslow RM et al., 1995). Les solucions d'hemoglobina són polímers que maximitzen el temps de circulació en sang i minimitzen la nefrotoxicitat.

Els avantatges d'aquests productes són els següents: vida plasmàtica llarga, conservació a temperatura ambient, compatibilitat universal i que són sotmesos a procediments d'inactivació viral (Scott MG et al., 1997). Els desavantatges inclouen interferències amb proves de laboratori, temps de circulació en sang curt (24 a 48 hores) i el fet que els perfluorocarbonis necessiten concentracions inspiratòries forçades d'oxigen del 100% per ser efectius. La seva utilització en investigacions clíniques s'han dut a terme en pacients amb traumes aguts i en cirurgia amb i sense hemodilució. El seu ús en els procediments d'hemodilució seria doble: permetria una hemodilució més agressiva amb xifres d'hemoglobina diana més baixes i més ben tolerades i al mateix temps l'hemoglobina cel·lular obtinguda substituiria l'ús d'aquests transportadors d'oxigen durant la cirurgia o en el postoperatòri immediat (Goodnough et al., 1999).

Estudis fets en pacients quirúrgics anestesiats amb aquestes solucions han demostrat que la capacitat d'aquests transportadors d'oxigen en augmentar el flux d'oxigen es troba limitada per la seva capacitat vasoactiva (Kasper SM et al., 1998). Es creu que aquesta vasoactivitat és un efecte directe de l'hemoglobina lliure, amb una afinitat per l'oxigen més pròxima a l'òxid nítric que a l'hemoglobina cel·lular (Loscalzo et al, 1997).

Alguns d'aquests productes es troben en desenvolupament i semblarien indicats en situacions agudes traumatològiques o militars; el seu paper en la cirurgia habitual vindria marcat per la política en l'ús de sang i els costos derivats.

## **1.5. Eritropoetina recombinant humana en la medicina transfusional de pacients quirúrgics**

### **1.5.1. Resposta de l'eritropoetina endògena en la donació de sang autòloga**

Les donacions de sang autòloga es programen en intervals d'un cop per setmana i en ocasions de dos cops per setmana. Després de la donació de 450 ml de sang, el volum sanguini es recupera en un espai de temps de 48 a 72 hores, en canvi la recuperació dels eritròcits és més lenta.

Diferents estudis han evidenciat que entre un 15% i un 35% dels pacients sotmesos a un protocol d'autotransfusió en predipòsit no són capaços de predonar la quantitat de sang establerta en funció de les necessitats quirúrgiques (Goodnough LT et al., 1989; Goodnough LT et al., 1990).

La recuperació de les cèl·lules vermelles depèn en gran mesura dels nivells d'eritropoetina endògena obtinguts en resposta a la sagnia; els resultats mesurats després de l'extracció d'aproximadament 450 ml de sang ens mostren un patró de síntesi d'eritropoetina amb un pic plasmàtic a les 24 hores que disminueix des del tercer al setè dia, però mantenint concentracions plasmàtiques lleugerament superiors a les basals; el mateix succeeix en la segona i successives extraccions setmanals, (Kickler TS et al., 1988; Lorentz A et al., 1991). En el cas d'efectuar dos extraccions per setmana es produeix una estimulació més intensa en un espai més curt de temps (Lorentz A et al., 1992).

El descens de l'hemoglobina fins a 10-11 g/dL, concentració d'hemoglobina permissibile per poder realitzar una sagnia, és insuficient per provocar una síntesi significativa d'eritropoetina capaç d'iniciar amb rapidesa i garantia la recuperació eritrocitària. Diferents dades apunten que el descens de 2,1 g/dL d'hemoglobina partint de xifres de 14 g/dL provoquen un increment absolut d'eritropoetina plasmàtica d'entre 10-15 UI/L; en canvi el mateix descens des d'una hemoglobina de 10-11 g/dl provocaria un augment de la xifra d'eritropoetina 10 vegades superior a l'anterior.

### **1.5.2. Estudis farmacocinètics d'eritropoetina recombinant humana**

Per motius obvis les propietats farmacocinètiques i farmacodinàmiques de la rHuEPO han estat ben estudiades en pacients renals, en els quals hi ha una disminució de la producció, absorció i eliminació d'eritropoetina (Jensen JD et al.,

1994). En aquest tipus de pacients i en voluntaris sans, els primers estudis es van efectuar per via endovenosa donat que aquesta forma d'administració era la més fàcil i addient en pacients sotmesos a hemodiàlisi; posteriorment la utilització del fàrmac en pacients amb diàlisi peritoneal contínua ambulatoria o en pacients que no havien iniciat el programa de diàlisi, van obligar a plantejar la utilització de la via subcutània.

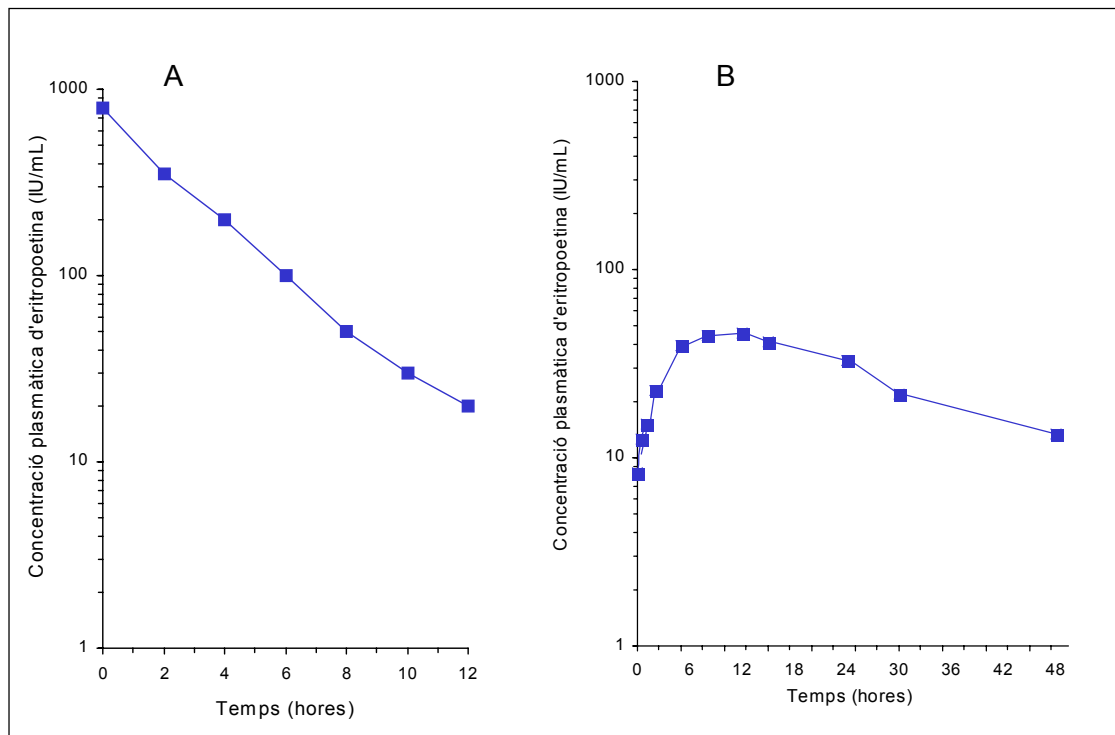
La farmacocinètica de l'eritropoetina endovenosa es caracteritza per pics plasmàtics breus, amb una vida mitjana al voltant de 6-8 hores (Fig 5A), els últims estudis demostren una cinètica d'eliminació no lineal. En canvi, la injecció del fàrmac per via subcutània (Fig 5B) produeix concentracions plasmàtiques més baixes que les obtingudes endovenosament però més perllongades durant el temps amb una vida mitjana al voltant de les 20-22 hores i amb un temps mitjà de residència en plasma més llarg (Flaharty KK et al.; 1990; Salmonson T et al., 1990; Kampf D et al., 1992). Clínicament, dosis més baixes d'eritropoetina administrades per via subcutània són tan efectives com dosis superiors administrades per via endovenosa (Granolleras C et al., 1989).

La influència de repetides dosis en la farmacocinètica de l'eritropoetina s'ha estudiat principalment per via endovenosa (Weng-Pedersen et al., 1995; Widness JA et al., 1996) mentre que els resultats obtinguts a nivell subcutani són pocs i contradictoris (Kampf D et al., 1992; Schouten JP et al., 1993). L'administració de dosis repetides d'eritropoetina endovenosa dóna lloc a una disminució del temps d'eliminació i un augment de l'aclariment plasmàtic, com si es produís una inducció enzimàtica que comportés una eliminació més ràpida del fàrmac; en canvi els mateixos estudis a nivell subcutani no troben diferències significatives.

Les primeres dosis recomanades per la FDA en el tractament de l'anèmia de pacients amb insuficiència renal crònica eren de 50 a 150 UI/kg tres cops per setmana per via endovenosa; actualment s'estan administrant entre 30-40 UI/kg, dos o tres cops per setmana per via subcutània fins arribar a un hematòcrit del 30-34% que permet reduir la dosi fins assolir-ne una mínima de manteniment.



**Figura 5.** Concentració plasmàtica subcutània i endovenosa d'eritropoetina després de l'administració de rHuEPO.



Concentració plasmàtica postadministració de 50 UI/kg de rHuEPO per via endovenosa (A) i postadministració de 50 UI/kg de rHuEPO per via subcutània (B).

### **1.5.3. Utilització d'eritropoetina en la medicina transfusional**

#### **1.5.3.1. Utilització d'eritropoetina recombinant humana en programes de transfusió autòloga**

La constatació que aproximadament entre un 15 i un 30 per cent dels pacients que participen en un programa de donació preoperatòria de sang autòloga acaben rebent sang al·logènica, suggerien que l'administració d'eritropoetina exògena podria facilitar la donació. Així es va demostrar en l'estudi de Goodnough et al., en què l'administració de 600 UI/kg per via endovenosa, 2 cops per setmana durant tres setmanes, en el marc d'un protocol agressiu de donació autòloga (6 unitats de sang) va permetre obtenir un més gran nombre de bosses de sang en el grup tractat amb rHuEPO que en el grup placebo.

Un millor coneixement de la farmacocinètica de la rHuEPO va demostrar que la utilització de la via subcutània comportava millors resultats clínics en comparació amb la via endovenosa i també una millora substancial per als pacients. Diferents estudis (Taula 4: Goodnough LT et al., 1989; Goodnough LT et al., 1994; Beris P et al., 1993; Biesma DH et al., 1994; Hayashi J et al., 1994) han assajat diverses dosis i pautes de tractament amb el propòsit de millorar el cost-benefici d'un tractament excessivament car, 0.01 dòlars per unitat de rHuEPO. Actualment l'objectiu és trobar aquella dosi i freqüència d'administració més apropiada que, aprofitant la regeneració eritrocitària provocada per la predonació autòloga, faci més econòmic el tractament. El nostre grup ha obtingut bons resultats amb l'administració de tan sols 100 UI/kg per via subcutània, 2 cops per setmana durant dues setmanes en pacients candidats a cirurgia electiva ortopèdica (dosi total de 400 UI/kg) (Sans T et al., 1996).

Ara bé, tots aquests estudis han posat en evidència que la utilització de rHuEPO en pacients amb un hematòcrit superior o igual a 39% no redueix l'exposició a la transfusió de sang al·logènica respecte a la d'un grup placebo, probablement perquè els pacients que reben placebo ja són capaços de predonar una quantitat suficient de sang. Únicament en pacients amb un hematòcrit per sota del 39% (Mercuriali F et al., 1993; Price TH et al., 1996; Mercuriali F et al., 1994) i/o volums de sang petits, la teràpia amb rHuEPO pot ser efectiva en reduir l'exposició a la transfusió de sang al·logènica.

### **1.5.3.2. Utilització de rHuEPO sense donació de sang autòloga**

Diferents autors han estudiat l'efectivitat de l'administració preoperatoria de rHuEPO sense donació de sang autòloga i han trobat que les necessitats de transfusió de sang al·logènica es redueixen a la meitat en el grup dels pacients tractats amb eritropoetina enfront el grup placebo (Canadian Orthopedic Study Group, 1993; Faris PM et al., 1996). Recentment un estudi randomitzat, doble-cec en 211 pacients candidats a artroplàstia de maluc, compara l'administració subcutània de 4 dosis, una per setmana de 40.000 UI (600 UI/kg) i 20.000 UI/kg (300 UI/kg) enfront a placebo. Els dos règims redueixen significativament les necessitats de transfusió al·logènica. Un 11.4% dels pacients del primer grup i un 22.8% del segon es van transfondre amb sang al·logènica en comparació amb el 44.9% dels pacients del grup placebo (Feagan BG et al., 2000). Un altre estudi randomitzat en pacients candidats a prostatectomia radical, compara la utilització de 600 i 300 UI/kg de rHuEPO administrada el dia 14 i 7 del preoperatori. L'increment en les xifres d'hematòcrit és del 4.50% i 4.69% respectivament. L'exposició a sang al·logènica resulta ser del 6% i del 7%, xifres comparables a les obtingudes en aquest grup amb la predonació de 3 unitats de sang autòloga.

El cost econòmic d'aquest tractament és de 1.218 i 656 dòlars USA respectivament (Nieder AM et al., 2001).

Un bon model matemàtic prediu quins pacients poden beneficiar-se del tractament amb eritropoetina basant-se en l'hematòcrit inicial del pacient, el volum sanguini i les probables pèrdues quirúrgiques, Fig.6 (Cohen JA et al., 1995). Els resultats són que la teràpia única amb rHuEPO es troba indicada en aquells pacients que s'han de sotmetre a cirurgia electiva amb pèrdues de sang probables d'entre 1000 i 3000 ml i hematòcrits inicials entre 33%-39%. L'objectiu seria aconseguir augmentar l'hematòcrit preoperatori fins aproximadament el 45% (Goodnoug LT et al., 1999)

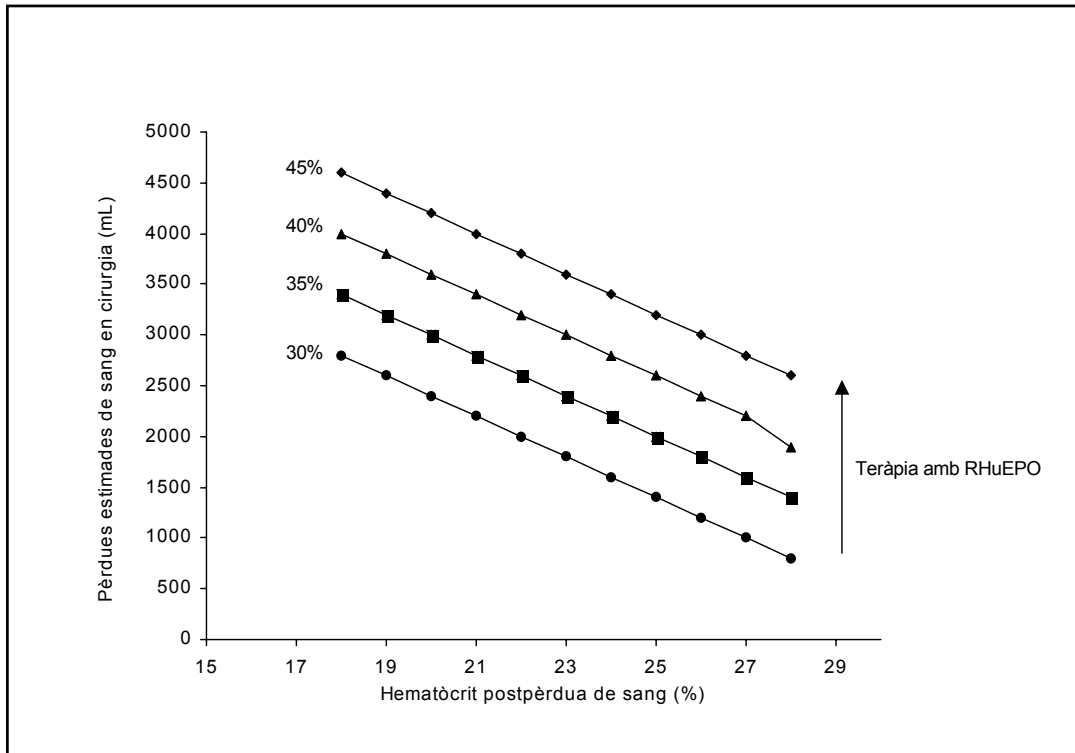
Taula 4. Estudis clínics de rHuEPO en pacients sotmesos a cirurgia no cardíaca

Grup	EPO		% malalts transf. Homòloga		P	Nº pacients
	Dos total (UI/kg)	Dies (N dosis)	Placebo	EPO		
<b>Autotransfusió</b>						
<i>Hematòcrit&gt;39%</i>						
• Goodnough et al.(ev) 1989	3600	21 (6)	8	4	NS	47
• Goodnough et al.(ev) 1994	3600	21 (6)		17	NS	91
	1800	21 (6)	9	4		
	900	21 (6)		8		
• Beris et al. (sc) 1993	900	14 (6)	13	6	NS	101
• Biesma et al. (sc) 1994	3000	21 (6)	36	10	<0.001	95
• Sans et al (sc) 1996	400	14 (4)	7.7	0	NS	52
	240	14 (4)		9		
	120	14 (4)		9		
<i>Hematòcrit&lt;39%</i>						
• Mercuriali et al (ev) 1993	1800	21 (6)	50	25	<0.05	50
	3600	21 (6)				
• Price et al. (sc) 1996	3600	21 (6)	31	20	NS	173
<b>Hemodilució</b>						
• Monk et al. (sc) 1995	1500	21 (3)				76
<b>Sense donació autòloga</b>						
• Canadian Orthopedic EPO Study Group (sc)1993	4200	14(14)	44	23	<0.05	208
	2700	9 (9)		25		
• Faris et al. (sc) 1996	4500	15 (15)	54	17	<0.01	200
	1500	15 (15)		25		
<b>Autotransfusió vers.EPO</b>						
• Chun TY et al. 1997	PDAP sense				NS	
	EPO	14 (2)	9.6	9.6		
	1200					

(ev)= endovenosa (sc)= subcutània

NS= No significatiu. PDAP=Programa de donació autòloga preoperatòria.

**Figura 6.** Pèrdua de sang tolerable a partir de diferents hematòcrits inicials (30, 35, 40 i 45 per cent) en un pacient amb un volum sanguini de 5000 mL.



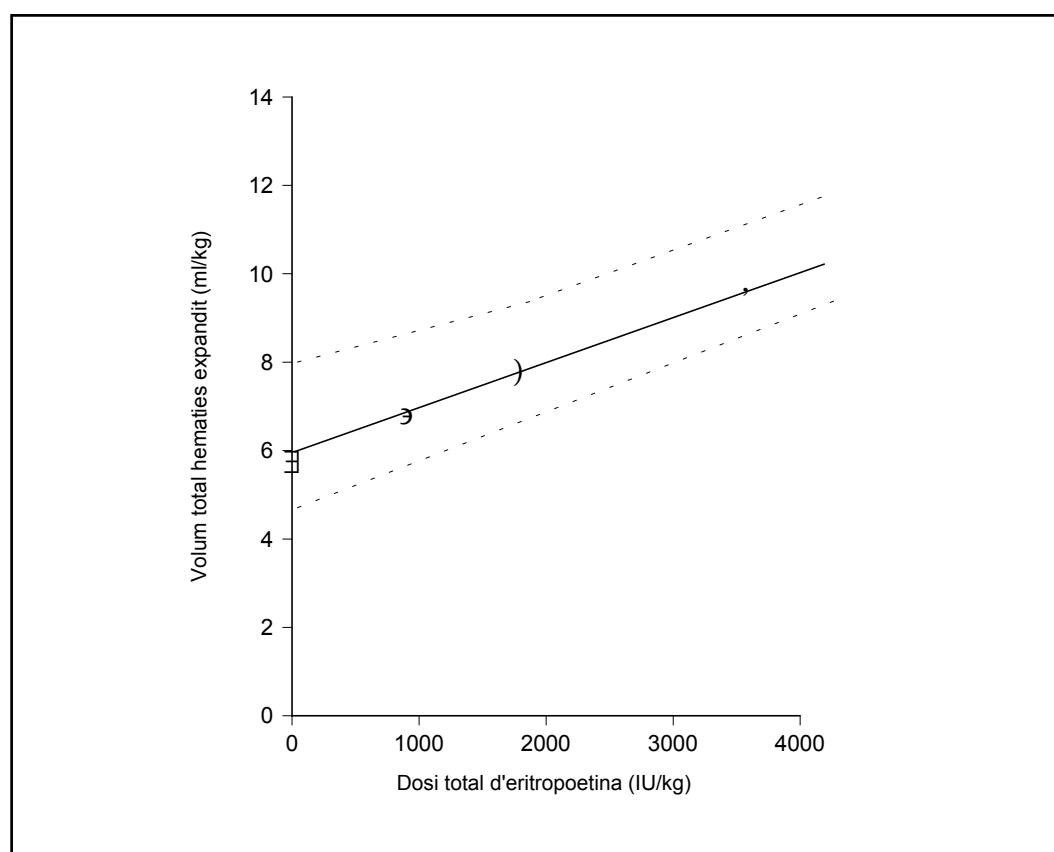
La utilització de rHuEPO permet saltar des d'una corba d'hematòcrit baix a una altra de més alt i per tant es disposa d'un marge més elevat abans de transfondre amb sang al·logènica.

En el cas d'un pacient, sa, amb un volum sanguini de 5000 ml i un hematòcrit del 45%, pot perdre fins a 3500 ml de sang i arribar a un hematòcrit del 22% sense necessitat de transfusió; en canvi, en el cas d'un segon pacient amb un hematòcrit inicial de 35% i problemes cardíocirculatoris, la pèrdua de tan sols 1200 ml implica un descens de l'hematòcrit fins a un 29% i pràcticament la necessitat d'iniciar la transfusió de sang, en canvi si se li administra rHuEPO en el preoperatori fins aconseguir un hematòcrit del 40%, haurà de perdre prop de 2500 ml de sang abans d'arribar a un hematòcrit del 28% i haver d'iniciar la transfusió. Cohen JA et al., Transfusion 1995; 35:640-4.

### 1.5.4. Eritropoetina i resposta eritropoètica

Hi ha una bona correlació entre la dosi total d'eritropoetina administrada i la producció de cèl·lules vermelles (Figura 7). L'eritropoetina estimula l'eritropoesi independentment de l'edat i el sexe, en canvi la variabilitat de la resposta es deu a les reserves de ferro de cada individu. L'expansió o increment de les cèl·lules vermelles en individus no anèmics, s'observa a partir del tercer dia de tractament amb rHuEPO amb un increment en el recompte de reticulòcits. (Goodnough LT et al., 1990).

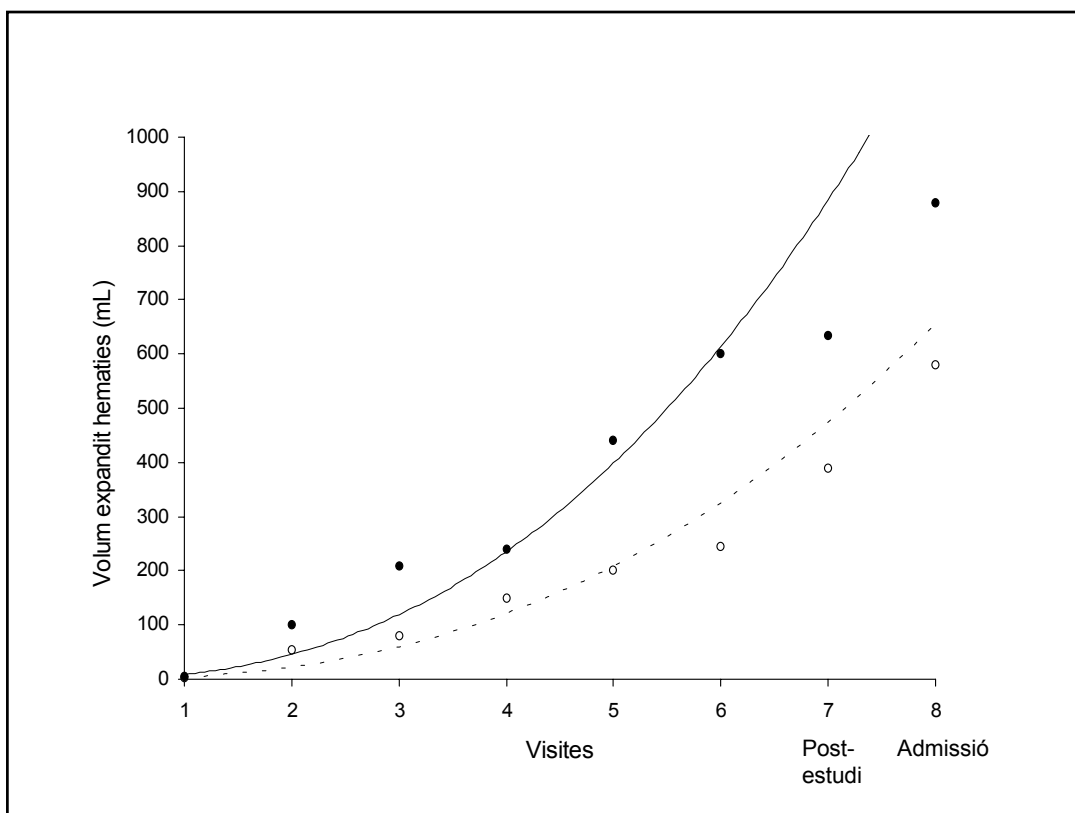
**Figura 7.** Relació entre dosi total d'eritropoetina administrada i increment de producció d'hematies.



Pacients tractats endovenosament amb placebo(□), 150 UI/kg (▲), 300 UI/kg (●) i 600 UI/kg (■) durant sis tractaments en el període de tres setmanes (unitats totals d'eritropoetina per kg de pes). L'increment en el volum d'hematies ve donat amb mil·lilitre per kg de pes. Goodnough et al. J Amer Coll surg, 1994; 179: 171-176.

Com observem en la figura 8, l'equivalent a una unitat de sang es produeix en el setè dia i l'equivalent a 5 unitats es produeix més enllà del dia 28. Si necessitem entre 3-4 bosses de sang per poder afrontar una cirurgia ortopèdica, el període de temps necessari per poder estimular l'eritropoesi amb EPO s'estima en 3-4 setmanes (Goodnough LT et al., 1992).

**Figura 8.** Increment de producció d'hematies durant el tractament amb rHuEPO en la donació autòloga



Producció d'hematies durant la donació autòloga en 23 pacients tractats amb placebo (O) i en 21 pacients tractats amb 600 UI/kg d'eritropoetina endovenosa (●). Els punts representen la producció d'hematies (mL) en cada una de les visites (1-6), la visita post-estudi i en el moment de l'ingrés. La producció de cèl·lules vermelles es calcula mitjançant una corba de regressió polinomial. La mitjana acumulada de temps des de la visita 1, és de 3.5 dies en la visita 2; 7.2 dies en la visita 3; 10.6 dies en la visita 4; 14.2 dies en la visita 5; 17.6 dies en la visita 6; 20.9 dies en la visita 7 (post-estudi) i 26.3 dies en la visita 8 (moment de l'ingrés). De Goodnough et al. Transfusion 1992; 32: 441-445.

### 1.5.5. Anàlisi cost-dosificació d'eritropoetina

L'eficàcia de l'ús d'eritropoetina ha estat provada en diferents estudis tal com s'ha descrit en la taula 5. Actualment l'objectiu de la majoria d'aquests assaigs és intentar millorar la relació dosi-resposta amb l'objectiu de reduir els costos. El primer avanç s'ha produït en el canvi de la via subcutània en lloc de l'endovenosa que permet administrar dosis més baixes i obtenir millors resultats (MacMahon et al., 1990; Besarab A et al., 1992). Altres autors troben millors resultats administrant rHuEPO un cop per setmana en comparació amb l'administració diària (Goldberg MA et al., 1996). Goodnough (1992) va desenvolupar una fórmula matemàtica a partir d'un estudi de pacients en protocol d'autotransfusió amb predipòsit als que s'administrava diferents dosis de rHuEPO per via endovenosa i que permet calcular la dosi de eritropoetina necessària per aconseguir un augment determinat de cèl·lules vermelles:

$$\text{Volum de cèl·lules roges (ml/kg)} = 6.34 + 0.0013X, r=0.98.$$

On X és igual al nombre total d'unitats de rHuEPO administrada per kg de pes.

Per exemple, en el cas de cirurgia amb pèrdues de 2500 ml de sang en un pacient de 70 kg de pes amb un hematòcrit del 38%, la quantitat de rHuEPO necessària per fer augmentar l'hematòcrit fins al 45% és de 1030 UI/kg, que repartida en 4 dosis serien aproximadament 250 UI/kg durant 4 setmanes. El cost total d'aquest tractament és de 720 dòlars, mentre que el cost actual de 3 bosses de sang al·logènica és de 450 dòlars.

Una metanàlisi econòmica on s'avalua el tractament únic amb rHuEPO i el combinat amb la donació autòloga en pacients amb cirurgia ortopèdica, conclou que la utilització de rHuEPO no és cost-efectiva (Coyle D et al., 1999). Nosaltres (Sans T et al., 1996) aconseguim bons resultats combinant la predonació autòloga amb dosis de 100 UI/kg, 2 cops per setmana durant dues setmanes en pacients amb cirurgia protèsica de maluc i genoll, però es tracta de pacients no anèmics i tot i això hi ha risc d'exposició, encara que petit, a la transfusió de sang al·logènica. Tots aquests règims continuen sent cars i si no s'acompanyen d'obtenció de sang autòloga s'associen a taxes d'exposició a sang al·logènica del 16-25%.

Els costos del tractament amb rHuEPO (0.01 dòlars/unitat) en diferents estudis els exposem en la taula 5.



**Taula 5.** Costos econòmics del tractament amb rHuEPO

<b>Dosi</b>	<b>Cost (dòlars)</b>	<b>Referències</b>
300 UI/kg x 14 dies (294,000 UI)	2,940	Canadian orthopedic EPO group, 1993; Faris et al, 1996
600 UI/kg x 4 setmanes (168,000 UI)	1,680	Goldberg MA et al, 1996
100 UI/kg x 2 x 2 setmanes (28,000 UI)	280	Sans T et al, 1996
300 UI/kg x 6 durant 21 dies (126,000 UI)	1,260	Coyle D et al, 1999
600 UI/kg x 2 (121,800UI)	1,218	Nieder AM et al., 2001
300 UI/kg x 2 (65.600 UI)	656	Nieder AM et al. 2001

## 1.6. Ferro, eritropoetina i eritropoesi

### 1.6.1. Anèmia i donació de sang autòloga

Els pacients que participen en un programa de donació de sang autòloga poden donar 10.5 ml/kg (450 ± 45 mL), 2 cops per setmana fins a 48 hores abans de la cirurgia; molt sovint però, la donació de sang es fa un cop per setmana. En tots dos casos es prescriuen suplementes de ferro oral.

Les sagnies setmanals s'acompanyen d'un augment en els nivells d'eritropoetina endògena, que superen de forma significativa les xifres basals, però que continuen dins el rang de la normalitat (Goodnough LT et al., 1998). La resposta eritropoètica en aquests casos és modesta (Taula 6). Els càlculs realitzats amb els resultats de diferents estudis estimen la producció d'hematies entre 220 i 351 mL (d'un 11% a un 19% de producció neta de cèl·lules vermelles, o l'equivalent a 1 o 1.75 d'unitats de sang). (Kasper SM et al., 1997; Kasper SM et al., 1997).

En pacients sotmesos a flebotomies més agressives, 2 cops per setmana, la resposta d'eritropoetina endògena és superior (Taula 6). En aquest cas l'eritropoesi, mesurada en producció de cèl·lules vermelles és de 397 a 568 mL (19% - 26% o l'equivalent entre 2 a 3 unitats de sang). (Weisbach V et al., 1999; Goodnough LT et al., 1989; 1992; 1994)

L'eritropoesi en resposta a un protocol agressiu de flebotomies amb l'administració d'eritropoetina (Taula 7), s'estima que pot augmentar des de 358 fins a 756 mL (28% a 78% de producció neta de cèl·lules vermelles, l'equivalent a 2-9 unitats de sang) en un període de 25 a 35 dies, depenent de la dosi d'eritropoetina administrada (Goodnough LT et al., 1989; 1992; 1994; Mercuriali F et al., 1998).

**Taula 6.** Eritropoesi en la donació autòloga

Pacients (n)	Sang donada		Sang produïda					Teràpia Ferro	Referència
	Requerides/ donades (U)	RBC (mL)	Basal RBC (mL)	RBC (mL)	Recuperació (%)				
Flebotomia estàndard									
108	3	2.7	522	1884	351	19	VO	Kasper, 1997	
22	3	2.8	590	1936	220	11	Cap	Kasper, 1998	
45	3	2.9	621	1991	331	17	VO	Kasper, 1998	
41	3	2.9	603	1918	315	18	VO + EV	Kasper, 1998	
Flebotomia agressiva									
30	≥ 3	3.0	540	2075	397	19	Cap	Weisbach, 1999	
30	≥ 3	3.1	558	2024	473	23	VO	Weisbach, 1999	
30	≥ 3	2.9	522	2057	436	21	EV	Weisbach, 1999	
24	6	4.1	683	2157	568	26	VO	Goodnough, 1989	
23	6	4.6	757	2257	440	19	VO	Goodnough, 1994	

VO= oral; EV= endovenosa

**Taula 7.** Eritropoesi en la donació autòloga i tractament amb rHuEPO

Pacients (n/sex)	Sang donada		Sang produïda					Teràpia Ferro	Referència
	Dosi total EPO (UI/kg)	Unitats	RBC (mL)	Basal RBC (mL)	RBC (mL)	Recuperació (%)			
10/F	900 (sc.)	3.4	435	1285	358	28	EV	Mercuriali, 1998	
24	900 (ev)	5.2	864	1949	621	32	VO	Goodnough, 1994	
10/F	1800 (sc)	4.3	526	1293	474	37	EV	Mercuriali, 1998	
26	1800 (ev)	5.5	917	2032	644	32	VO	Goodnough, 1994	
11/F	3600 (ev)	4.9	809	1796	701	39	VO	Goodnough, 89-92	
12/M	3600 (ev)	5.9	1097	2296	1102	48	VO	Goodnough, 89-92	
23	3600 (ev)	5.4	970	2049	911	45	VO	Goodnough, 89-92	
18	3600 (ev)	5.6	972	2019	856	42	VO	Goodnough, 1994	

VO= oral; EV= endovenosa

### 1.6.2. Anèmia i teràpia amb eritropoetina

Durant el tractament amb eritropoetina es produeix una limitació de l'eritropoesi, incloent-hi aquells pacients amb dipòsits òptims de ferro. Encara que es produeix un augment de fins a 8 vegades l'absorció intestinal de ferro (Skikne et al., 1992), les concentracions plasmàtiques de ferritina i l'índex de saturació de la transferrina disminueixen en un 50% durant el tractament (Heiss MM et al., 1996). Un augment de 4 vegades l'activitat eritropoètica, s'acompanya d'una disminució en els recomptes de reticulòcits i de l'aparició de cèl·lules vermelles hipocròmiques a partir de la segona setmana de tractament (Biesma DH et al., 1994).

Els precursors de les cèl·lules vermelles també poden ser un factor limitant. La síntesi màxima d'hemoglobina s'aconsegueix amb 50 molècules d'eritropoetina per diana cel·lular (Sawanda K et al., 1988). Això fa pensar que les elevades concentracions d'eritropoetina aconseguides endovenosament no són del tot utilitzades en l'eritropoesi. Per tant, seria més adequat obtenir nivells menors durant més temps i d'acord amb això, la resposta reticulocitària en individus sans i la mobilització del ferro de reserva és més efectiva després de múltiples dosis que no pas després d'una única dosi màxima (Rutherford CJ et al., 1994). La teràpia amb eritropoetina en situacions de demanda aguda (sagnies) estimula de forma gradual l'expansió de les unitats formadores de colònies preeritroides (CFU-E), en canvi en situacions de demanda crònica (anèmia hemolítica crònica) l'actuació es produeix en precursors eritroides més madurs. L'expansió i maduració d'aquests precursors eritroides són també un factor limitant en la resposta eritropoètica.

### 1.6.3. Anèmia i teràpia amb ferro

La importància de les reserves en ferro corporal d'individus no anèmics sotmesos a programa d'autotransfusió convencional sembla no ser determinant. No s'han trobat diferències significatives en dos estudis realitzats en pacients amb i sense reserves corporals de ferro, en els quals la mitjana de producció neta de cèl·lules vermelles ha estat del 20% i del 22 % en un estudi (Goodnough LT et al., 1998) i del 23% i 24% respectivament en el segon estudi (Price TH et al., 1996).

En canvi quan l'autotransfusió s'acompanya de l'administració d'eritropoetina, aquells individus amb menors dipòsits de ferro presenten una eritropoesi reduïda, comparats amb els pacients amb reserves òptimes (Goodnough LT et al., 1998; Price TH et al., 1996).

Aquests resultats fan pensar que l'administració única de ferro oral pot ser suficient en poder estimular l'eritropoesi secundària a l'eritropoetina endògena de les

sagnies, però podria no ser suficient quan s'afegeix tractament amb eritropoetina, especialment en situacions de reducció de la reserva corporal de ferro.

L'administració de ferro endovenós permet multiplicar per 5 la resposta eritropoètica en resposta a una pèrdua significativa de sang en individus sans. Una limitació de l'administració endovenosa de ferro en pacients sense tractament amb eritropoetina, és que una part important del ferro administrat es transporta al sistema reticuloendotelial en forma de ferro de dipòsit, que és menys disponible per l'eritropoesis (Beutler E, 1958).

La importància de l'administració de ferro endovenós en pacients amb teràpia amb eritropoetina no queda clara i en el nostre país no és una pràctica habitual. En un estudi (Mercuriali F et al., 1993) sembla que hi ha diferències significatives entre l'administració de ferro endovenós i oral; en canvi en un altre de més recent no s'observen diferències (Megens JGN et al., 1999). Un altre estudi conclou que l'administració de ferro endovenós no s'acompanya de la corresponent resposta eritropoètica davant de dosis creixents d'eritropoetina: un augment del doble de la dosi s'associa amb un 32% d'increment en la producció de cèl·lules vermelles, similar als resultats obtinguts utilitzant ferro oral (Mercuriali F et al., 1998).

L'administració endovenosa de ferro a individus sans tractats amb eritropoetina impedeix la reducció de la concentració sèrica de ferritina i augmenta el contingut en hemoglobina dels reticulòcits, en canvi el nombre total de reticulòcits generats fins a 8 dies després del tractament no s'afecta (Major A et al., 1997). Finalment l'exposició a sang al·logènica no és diferent en pacients amb o sense dipòsits de ferro, si s'administra ferro oral o endovenós (Goodnough LT et al., 1998; Price TH et al., 1996).

Els escassos però seriosos efectes indesitjables del ferro utilitzat per via endovenosa, fan que no sigui recomanable el seu ús, fins no disposar d'assaigs clínics controlats.



## **HIPÒTESI I OBJECTIUS**





## **2. Hipòtesi i Objectius**

### **2.1. Hipòtesi**

L'eritropoetina recombinant pot ser eficaç en estimular l'eritropoesi de pacients sotmesos a un protocol d'autotransfusió en predipòsit en cirurgia traumatològica electiva.

### **2.2. Objectius**

Aquest treball té com a objectiu general conèixer l'efectivitat de l'eritropoetina recombinant humana administrada subcutàniament a pacients quirúrgics traumatològics que es troben en un programa de predonació de sang autòloga. Els objectius concrets han estat:

- Conèixer la dosi mínima d'eritropoetina recombinant humana administrada per via subcutània que pot ser eficaç en estimular l'eritropoesi, en el marc d'un protocol de donació de sang autòloga previ a cirurgia ortopèdica en un període curt de temps.
- Estudiar el comportament farmacocinètic i farmacodinàmic de dosis baixes d'eritropoetina recombinant humana (30, 60 i 100 UI/kg), administrades a voluntaris sans per via subcutània.

#### **Objectiu secundari:**

- Definir quin tipus de pacient i quins tipus de procediments quirúrgics poden ser els principals beneficiaris del tractament amb eritropoetina recombinant humana.



## Estudi 1

Assaig clínic comparatiu aleatori doble cec, on s'estudia l'ús de l'eritropoetina recombinant humana a dosis baixes dins d'un protocol de transfusió autòloga en predipòsit.

**Sans T**, Bofill C, Joven J, Cliville X, Simó JM, Llobet X, Galbany J. *Effectiveness of very low doses of subcutaneous recombinant human erythropoietin in facilitating autologous blood donation before orthopedic surgery*. *Transfusion* 1996; 36:822-826.

En el nostre hospital des de començament dels anys 80, els pacients que s'han de sotmetre a una intervenció quirúrgica en la qual previsiblement es necessitaran més de dues unitats de sang, són inclosos si és possible en un protocol de donació de sang autòloga preoperatòria amb la intenció de disminuir al màxim la utilització de sang homòloga. L'experiència ens havia demostrat que molts dels pacients que en la primera donació de sang restaven anèmics no podien predonar la quantitat de sang necessària per poder afrontar la cirurgia sense transfusió de sang homòloga. Altres autors, en especial Goodnough et al., ja havien demostrat l'any 1989 que la utilització d'eritropoetina recombinant humana administrada a dosis altes (600 UI/kg, 2 cops per setmana durant 3 setmanes) per via endovenosa en un protocol agressiu de donació de sang, permetia una més gran recollida de bosses si es comparava amb un grup placebo.

Amb la preocupació de disminuir la quantitat de fàrmac administrat per poder evitar una sobrecol·lecció de sang i reduir a la vegada el cost econòmic del tractament, ens vam proposar assajar la utilització de rHuEPO administrada aquest cop per via subcutània i a dosis molt més baixes que les administrades abans a la literatura.



## Estudi 2

Farmacocinètica de repetides dosis subcutànies d'eritropoetina recombinant humana administrada en voluntaris sans a dosis baixes.

**Sans T**, Joven J, Vilella E, Masdeu G, Farrè M. *Pharmacokinetics of several subcutaneous doses of erythropoietin: Potential implications for blood transfusion*. Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology, 2000; 27: 179-184.

Diferents autors han demostrat l'eficàcia de la utilització d'eritropoetina recombinant humana amb o sense programes de donació preoperatòria de sang autòloga. En un intent de reduir les dosis utilitzades ens vam proposar estudiar els paràmetres farmacocinètics i farmacodinàmics d'eritropoetina recombinant humana administrada per via subcutània en voluntaris sans.

El nostre objectiu era esbrinar si es produïen canvis a nivell dels paràmetres farmacocinètics quan s'administraven repetides dosis del fàrmac en períodes curts de temps.



## **PACIENTS I MÈTODES**





### **3.1. Pacients i voluntaris.**

#### **Estudi 1**

75 pacients van ser visitats inicialment en el dispensari d'autotransfusió de l'Hospital Sant Joan de Reus. Tots ells s'havien sotmetut a cirurgia traumatològica per col·locació d'una pròtesi de genoll o de maluc, amb previsions de necessitar 3 o més bosses de sang durant la intervenció.

#### **Criteris d'exclusió:**

Dels 75 pacients inicials, 23 van ser rebutjats a l'inici de l'estudi per presentar un o més dels següents criteris d'exclusió: hipertensió arterial, sobrepès, valors d'hemoglobina inferiors a 11 g/dL, malalties infeccioses o neoplàsiques, malalties amb afectació renal o hepàtica i ingesta de medicaments amb possible efecte sobre la producció d'eritropoetina.

Dels 52 pacients que finalment van entrar en l'estudi, 6 van abandonar el protocol pels següents motius: 2 per reacció vaso-vagal, 1 cas d'angina de pit, 1 cas de diarrea, 1 d'edemes bimalleolars bilaterals i 1 pel descobriment d'una neoplàsia pulmonar després d'haver iniciat el protocol.

#### **Estudi 2**

Es van reclutar 9 voluntaris sans, 7 homes i 2 dones amb una mitjana d'edat de 35.7 ± 4.9 anys i pes de 72.6 ± 14.9 kg.

#### **Criteris d'exclusió:**

Es va descartar la presència d'obesitat, diabetis i malaltia renal o hepàtica, així com de pèrdua recent de sang per sagnat o per donació.

Tots presentaven hematòcrits i dipòsits de ferro normals, comprovats per la mesura del ferro, la ferritina i la transferrina en sèrum.

Tots els individus van ser avisats de la impossibilitat de consum d'alcohol o fàrmacs, al menys dues setmanes abans i al llarg del temps de l'estudi.

## 3.2. Protocols d'estudi

### Estudi 1

#### Protocol general

El protocol va ser aprovat pel Comitè d'Ètica Hospitalari i tots els pacients van donar el seu consentiment informat.

Els pacients iniciaven el protocol dues setmanes abans de la intervenció quirúrgica. Eren assignats aleatòriament a doble cec a rebre placebo o eritropoetina a dosis de 30 (grup A), 60 (grup B) o 100 UI/kg (grup C), dos cops per setmana durant dues setmanes. L'objectiu era aconseguir un màxim de 4 unitats de sang autòloga (dues unitats setmanals), xifra que es considerava apropiada per afrontar les necessitats transfusionals d'aquest tipus de cirurgia.

Es procedia a la donació de sang (400-450 mL) si l'hematòcrit calculat post-sagnia (equació 2) era superior al 30% en dones i 33% en homes. Immediatament, tant si es procedia a l'extracció com si no, s'administrava la dosi corresponent de placebo o eritropoetina.

Tots els pacients rebien des d'un mes abans, una dieta rica en ferro oral i suplementes de ferro oral (270 mg, 2 cops al dia), (Bofill C et al., 1994).

Els criteris transfusionals estaven estandarditzats d'acord a guies publicades i reconegudes internacionalment en base a les pèrdues de sang, xifres d'hemoglobina i estat hemodinàmic dels pacients.

#### Paràmetres de laboratori i valors calculats:

En la primera analítica inicial es mesurava la funció renal i hepàtica i altres paràmetres bioquímics bàsics, entre ells el ferro, la transferrina i la ferritina.

A tots els pacients es realitzava una exploració física acurada i una analítica hematològica bàsica (hemograma i recompte reticulocitari) abans de cada una de les sagnies i a les 48 hores de la cirurgia; també s'obtenien mostres plasmàtiques per determinar la concentració d'eritropoetina.

L'alçada (H, cm) i el pes (W,kg) es mesuraven en la primera exploració física i es procedia al càlcul del volum sanguini (PBV) per cada individu: (Nadler SB et al., 1962)

$$PBV = 0.0236 \times H^{0.725} \times W^{0.425} - 1.299 \text{ (L, en homes)} \quad (1a)$$

$$PBV = 0.0248 \times H^{0.725} \times W^{0.425} - 1.954 \text{ (L, en dones)} \quad (1b)$$

La recuperació o expansió d'hematies entre donacions, assumint que l'hematòcrit de la sang donada correspon al que presenta el pacient immediatament abans de la donació i que el volum sanguini del pacient no varia al llarg del protocol, es calculà segons les següents equacions (Tasaki T et al., 1992).

L'hematòcrit esperat després d'una donació de sang (Ht 1') és:

$$Ht 1' = Ht 1 - (V1 \times Ht 1) / PBV \text{ (mL)} \quad (2)$$

On Ht 1 és l'hematòcrit abans de la donació i V1 és el volum de sang col·leccionada en la donació. Si l'Ht 2 és l'hematòcrit mesurat abans de la segona donació, l'increment en el volum d'hematies serà:

$$PBV \text{ (mL)} \times (Ht 2 - Ht 1') \quad (3)$$

L'increment de volum en les successives donacions es calcularia d'igual forma. L'increment acumulat de volum d'hematies correspon al sumatori dels increments de cada donació.

El volum d'hematies de cada bossa de sang autòloga es calcula multiplicant el volum de sang de cada bossa per l'hematòcrit immediatament abans de la donació.

### **Anàlisi estadística**

Vam procedir a la realització del test de Kolmogorov-Smirnov per determinar si els diferents paràmetres estudiats presentaven una distribució normal.

Per avaluar les diferències entre mitjanes es va fer servir el *t* test o el Mann-Whitney U test.

Per mesurar els canvis de valors percentuals es va fer servir el test de Fisher i per comparar la quantitat de bosses obtingudes per cada grup, el test de Kruskal-Wallis.

Per mesurar la diferència de rebre sang al·logènica entre grups es va utilitzar el test chi-quadrat ( $X^2$ ). Es va considerar estadísticament significatiu un valor de  $P < 0.05$ .

## Estudi 2

### Protocol general

El protocol va ser aprovat pel Comitè d'Ètica hospitalari i tots els voluntaris van donar el seu consentiment informat.

Els voluntaris rebien rHuEPO els dies 1, 4 i 8 de l'estudi. Tres grups (A, B i C) rebien 30, 60 i 100 UI/kg ( $n=3$ , per cadascun dels grups) respectivament, per via subcutània a la part superior del braç; el lloc de l'administració anava canviant en les successives injeccions.

Els dies 1 i 8 es procedia a l'extracció de mostres sanguínies seriades immediatament abans de l'administració del fàrmac i a 1, 2, 5, 8, 12, 18, 24, 30 i 48 hores després de l'administració. Es procedia a l'extracció d'una única mostra basal els dies 3, 4, 5, 6, 11 i 16 després de l'administració del fàrmac.

### Paràmetres de laboratori

La funció renal i hepàtica i altres variables bioquímiques incloent-hi el ferro, transferrina i ferritina, es van mesurar per procediments estàndard setmanes abans d'iniciar l'estudi.

En cada una de les mostres obtingudes, postadministració de rHuEPO es van mesurar les concentracions plasmàtiques d'eritropoetina.

La resposta a la rHuEPO es va avaluar amb la mesura dels reticulòcits, hemoglobina i hematòcrit, mitjançant assaigs convencionals abans i postadministració de rHuEPO.

### Anàlisis farmacocinètiques i estadístiques

Assumint nivells endògens d'eritropoetina plasmàtics constants durant el curs de la investigació, els nivells basals d'eritropoetina endògena es van restar de les concentracions plasmàtiques obtingudes en cada una de les extraccions obtingudes postadministració.

La concentració màxima d'eritropoetina plasmàtica ( $C_{max}$ ) i el temps en que s'assolia aquesta concentració ( $t_{max}$ ) es van anotar directament. L'àrea (AUC) obtinguda amb les concentracions plasmàtiques d'eritropoetina en el temps, des de les 0 a les 48 hores ( $AUC_{0-48h}$ ) es va calcular utilitzant el mètode trapezoïdal.

El temps de residència mitjà (MRT) es va calcular a partir de la següent equació:  $MRT = AUMC/AUC$ , on AUMC és l'àrea calculada en el primer moment de la corba.

La resta de paràmetres es van calcular utilitzant un programa de regressió no lineal (PKCALC, Shumaker 1986) que calculava la semivida d'absorció ( $t_{1/2\alpha}$ ) i la semivida d'eliminació ( $t_{1/2\beta}$ ).

L'AUC dels reticulòcits des del primer dia al dia 16 es va calcular amb el mateix mètode trapezoïdal.

Les anàlisis estadístiques es van realitzar mitjançant el sistema informàtic SPSS/PC. La  $C_{max}$  i l'AUC es van comparar utilitzant tests paramètrics després de la seva conversió logarítmica. La resta de paràmetres es van testar per comprovar la seva distribució normal i es van utilitzar tests no paramètrics. La  $t$  de Student per dades aparellades (Student's paired t-test) i el test de Wilcoxon s'utilitzaven per poder comparar resultats en el mateix grup entre els dies 1 i 8. La  $t$  de Student i el test ANOVA (Kruskall-Wallis, anàlisi de la variança) es van utilitzar per comparar resultats entre grups.

En cada grup el recompte reticulocitari va ser comparat entre els dies 1 (basal) i els dies 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9 i 16, mitjançant un Student's paired t-test.

La correlació de la resposta reticulocitària entre els dies 4 i 9 es va calcular amb el coeficient de correlació lineal de Spearman.

En tots els casos es va considerar significatiu un valor de  $P < 0.05$ .

### 3.3. Mètodes

En aquest apartat es descriu en detall la tècnica més rellevant utilitzada en els dos estudis.

#### **Enzimoimmunoassaig**

La determinació de les concentracions plasmàtiques d'eritropoetina (EPO) en els dos estudis es va realitzar mitjançant un enzimoimmunoassaig fotomètric en placa microtiter (Boehringer Mannheim®).

El rang d'aquest ELISA es troba entre 5 i 300 IU/L i no discrimina entre la eritropoetina endògena i la recombinant. Les variacions inter i intra assaig són inferiors al 6%.

#### **Fonaments de la tècnica:**

L'assaig és un ELISA quantitatiu que utilitza un antisèrum policlonal i un anticòs monoclonal enfront l'EPO humana. Tant l'antisèrum com l'anticòs reconeixen també rHuEPO procedent de cèl·lules d'ovari de hàsters xinesos (CHO).

Durant la primera fase d'incubació, les mostres, els controls i els estàndards es pipetejen en els pouets de la placa microtiter que es troben recoberts amb antisèrum policlonal. L'EPO reaccionarà amb l'antisèrum i seguidament s'afegirà el segon anticòs monoclonal marcat amb peroxidasa (POD). Després de la fase de rentat, la POD lligada es revelarà mitjançant el substrat tetrametylbenzidina (TMB) que es pot mesurar fotomètricament. El desenvolupament de color és proporcional a la concentració d'EPO. Amb els estàndards de concentració definida es calcula una corba de calibració (absorbència envers concentració) que permet conèixer la concentració d'EPO de les mostres.

---

**Reactius**

---

**Solució 1: Control positiu**

Control liofilitzat . S'ha de reconstituir amb 250µL d'aigua destil·lada. S'ha de diluir 1:2.5 amb solució 5 com les mostres.

**Solució 2: Anti-EPO-POD**

Liofilitzat. S'ha de reconstituir amb 250 µL d'aigua destil·lada.

**Solució 3a-3f: Estàndards d'EPO**

Reconstituir el liofilitzat amb 250 µL d'aigua destil·lada. Són 6 nivells

**Solució 4: Tampó d'incubació****Solució 5: Tampó per diluir les mostres i el control****Solució 6: Tampó de rentat****Solució 7: Solució de substrat TMB****Solució 8: Immunoreactiu**

Per preparar 5 ml de reactiu s'hi ha d'afegir 4.75 ml de solució 4 a 250 µL d'anti EPO-POD (Solució 2) i mesclar. És suficient per 100 pouets

**Solució 9: Solució de parada de la reacció**

S'ha que preparar una solució d'1M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>: afegir 560µL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrat (95%-97%) a 8 ml d'aigua destil·lada freda, mesclar i afegir fins a 10 ml.

---

**Procediment:**

1. Pipetejar 50 µL dels estàndards, control positiu (diluït 1:2.5 amb el tampó de dilució de mostres) i mostres (diluïdes 1:2.5, amb el tampó de dilució de mostres) dins dels pouets de la placa microtiter.
2. Afegir a cada pouet 50 µL de solució 8 i cobrir els pouets amb plàstic adhesiu.
3. Incubar durant 3 hores a Ta ambient en agitació.

4. Succionar el contingut dels pouets de forma acurada i rentar 3 cops amb 300  $\mu\text{L}$  de solució de rentat n 6. Al final succionar aquesta solució acuradament.
5. Pipetejar 100  $\mu\text{L}$  de solució substrat a cada pouet. Cobrir la microplaca amb plàstic adhesiu i incubar a  $T_a$  ambient en agitació a 300 rpm fins que s'hagi desenvolupat suficient color (15-20 minuts).
6. Pipetejar 25  $\mu\text{L}$  de solució final (solució 9) i incubar la microplaca aproximadament 1 minut en agitació a 300 rpm i mesurar a 450 nm. La mesura es pot realitzar fins a 5 minuts després d'haver afegit la solució. Un alternativa és no afegir l'última solució que atura la reacció i efectuar la lectura a 370 nm cada 10-15 minuts. La màxima absorbència és 2.5.



## **RESULTATS**



# ESTUDI 1

---

**Assaig clínic comparatiu randomitzat doble cec, on s'estudia l'ús d'eritropoetina recombinant humana a dosis baixes dins d'un protocol de transfusió autòloga en predipòsit.**

---

**Sans T**, Bofill C, Joven J, Cliville X, Simó JM, Llobet X, Galbany J. *Effectiveness of very low doses of subcutaneous recombinant human erythropoietin in facilitating autologous blood donation before orthopedic surgery. Transfusion* 1996; 36:822-826.



## Descripció dels pacients

Entre els grups de l'estudi no es van constatar diferències demogràfiques o de paràmetres de laboratori significatives abans de l'inici de l'estudi (Taula 1).

## Paràmetres hematològics

El descens de l'hematòcrit durant el període de sagnies no va comportar simptomatologia clínica rellevant en els pacients que van completar l'estudi i va ser molt semblant en els grups A, B i placebo (Fig. 1A). Els pacients que rebien 100 UI/kg (grup C) presentaven xifres d'hematòcrit significativament més elevades que el grup placebo en la 3a i 4a visita preoperatòria ( $39.5 \pm 2.8$  vs.  $36.4 \pm 2.0\%$ ,  $p < 0.001$ , i  $38.6 \pm 2.8$  vs.  $36.1 \pm 2.1\%$ ,  $p < 0.005$ ). En el postoperatori, les xifres d'hematòcrit encara que més elevades en el grup C, no presentaven diferències significatives.

El recompte de reticulòcits suggeria una resposta dosi dependent amb diferències significatives entre els grups B i C i el grup placebo (Fig. 1B), encara que tots els grups presentaven increments significatius des de la 1a a la 4a visita (grup placebo, des de  $55.0 \pm 14.6$  a  $106.0 \pm 49.8 \times 10^9/L$ ; grup A des de  $52.7 \pm 17.0$  a  $135.2 \pm 48.3 \times 10^9/L$ ; grup B des de  $52.4 \pm 18.7$  a  $147.8 \pm 38.2 \times 10^9/L$ ; grup C des de  $57.9 \pm 22.4$  a  $224.4 \pm 51.3 \times 10^9/L$ ).

La mitjana de volum d'hematies per unitat de sang autòloga era molt semblant en el grup placebo i en el grup A i B (Fig. 2A), en canvi era significativament més gran ( $p < 0.05$ ) en el grup C que en el grup placebo en la tercera ( $182 \pm 12$  vs  $161 \pm 17$  mL) i quarta visita ( $178 \pm 10$  vs  $163 \pm 14$  mL). En conseqüència el volum total d'hematies obtingut per pacient era significativament més gran ( $p < 0.05$ ) en el grup C ( $602 \pm 56$  mL) que en el grup placebo ( $493 \pm 65$  mL).

No es van produir diferències en l'increment acumulat de volum d'hematies entre el grup placebo ( $121 \pm 44$  mL), el grup A ( $141 \pm 73$  mL) i el grup B ( $159 \pm 87$  mL), però sí que va ser significativament més gran ( $p < 0.01$ ) l'increment en el grup C ( $297 \pm 127$  mL) respecte al grup placebo (Fig. 2B).

Les concentracions plasmàtiques d'eritropoetina van augmentar gradualment en tots els pacients durant les successives donacions, encara que aquest increment va

resultar ser major en els pacients que rebien rHuEPO i només significativament en el grup C (Fig. 3).

### **Unitats de sang autòloga col·leccionada i transfosa**

No es van produir diferències significatives entre grups en la quantitat d'unitats de sang predonades. Els pacients del grup placebo van donar 39 unitats ( $3.0 \pm 0.7$ ), els del grup A, 34 unitats ( $3.1 \pm 0.1$ ), en el grup B, 33 unitats ( $2.8 \pm 0.7$ ) i en el grup C, 36 unitats ( $3.3 \pm 1.0$ ). Només el 23% dels pacients en el grup placebo i el 27% en els grups A i B van ser capaços de donar 4 unitats de sang si es compara amb els 7 d'onze pacients en el grup C (64%,  $p < 0.05$ ).

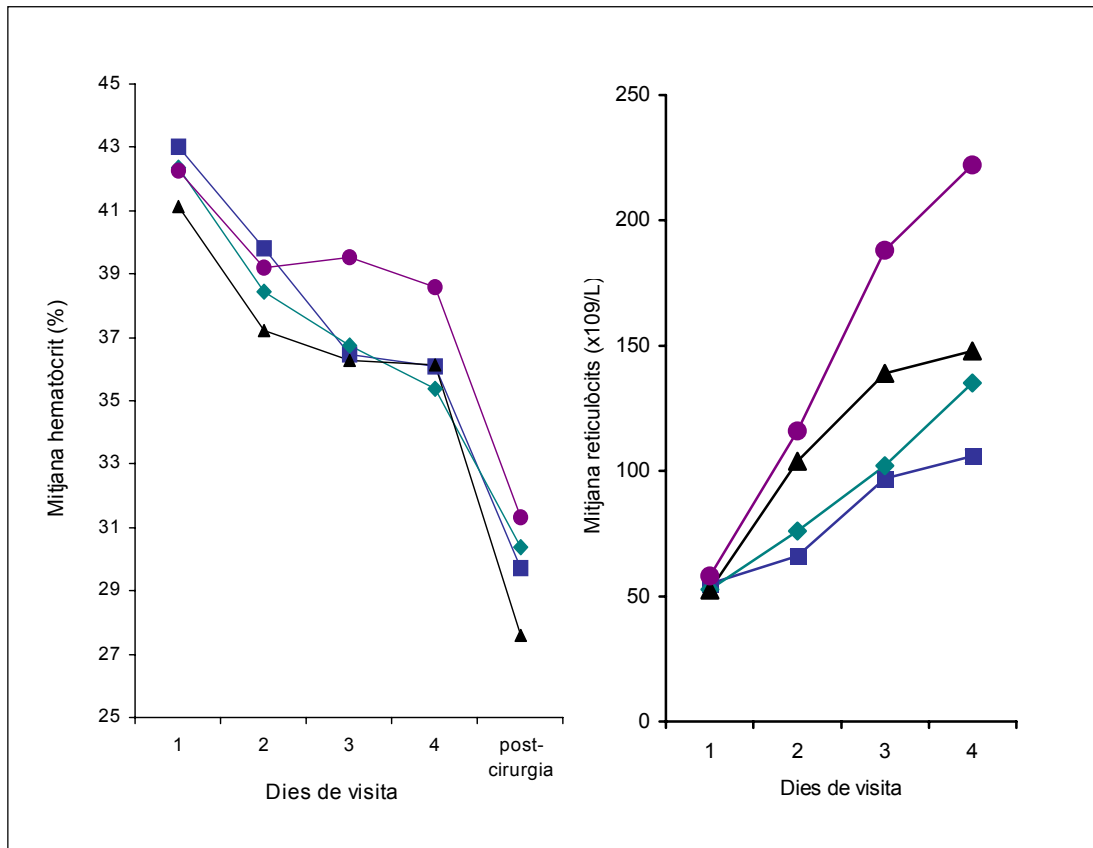
No es van utilitzar mètodes de recollida de sang intraoperatòria i les intervencions van ser semblants quant a duració i pèrdues de sang. Es va poder observar una relació inversa entre la quantitat de sang autòloga que es va transfondre i la quantitat de rHuEPO administrada: 77% (28/36) en el grup C, 87% (28/33) en el grup B i 91% (31/34) en el grup A. En el grup placebo, el 97% de les unitats de sang obtingudes (38/39) es va transfondre, aquesta diferència era significativa ( $p < 0.05$ ) en comparació amb el grup C. No es van produir diferències significatives quant a quantitat de sang al·logènica transfosa ( 1 unitat en el grup placebo, 2 en cadascun dels grups A i B i cap en el grup C).

**Taula 1.** Dades biomètriques i paràmetres analítics dels pacients a l'inici de l'estudi

	<b>Grup Placebo (n=13)</b>	<b>Grup A (n=11)</b>	<b>Grup B (n=11)</b>	<b>Grup C (n=11)</b>
<b>Edat</b> (anys, mitjana±SD)	68.5 ±4.1	62.1 ±11.7	65.81± 11.1	67.1 ±5.9
<b>Sexe</b>				
Homes	7	4	3	6
Dones	6	7	8	5
<b>Pes</b> (kg, mitjana±SD)	75.7± 8.4	74.5 ±11.8	72.5 ±10.5	75.6± 13.9
<b>Hemoglobina</b> (g/L, mitjana±SD)	145 ±5	145± 11	138± 10	144 ±11
<b>Ferro sèric</b> (μmol/L, mitjana±SD)	12.0±3.7	13.5 ±3.4	10.8± 3.8	14.3± 4.7
<b>Ferritina sèrica</b> (μg/L, mitjana±SD)	97.2± 7.1	106.2± 75.2	106.8±133.8	188.6±198.0
<b>Procediment quirúrgic</b>				
Recanvi maluc	5	3	3	4
Recanvi genoll	8	8	8	7



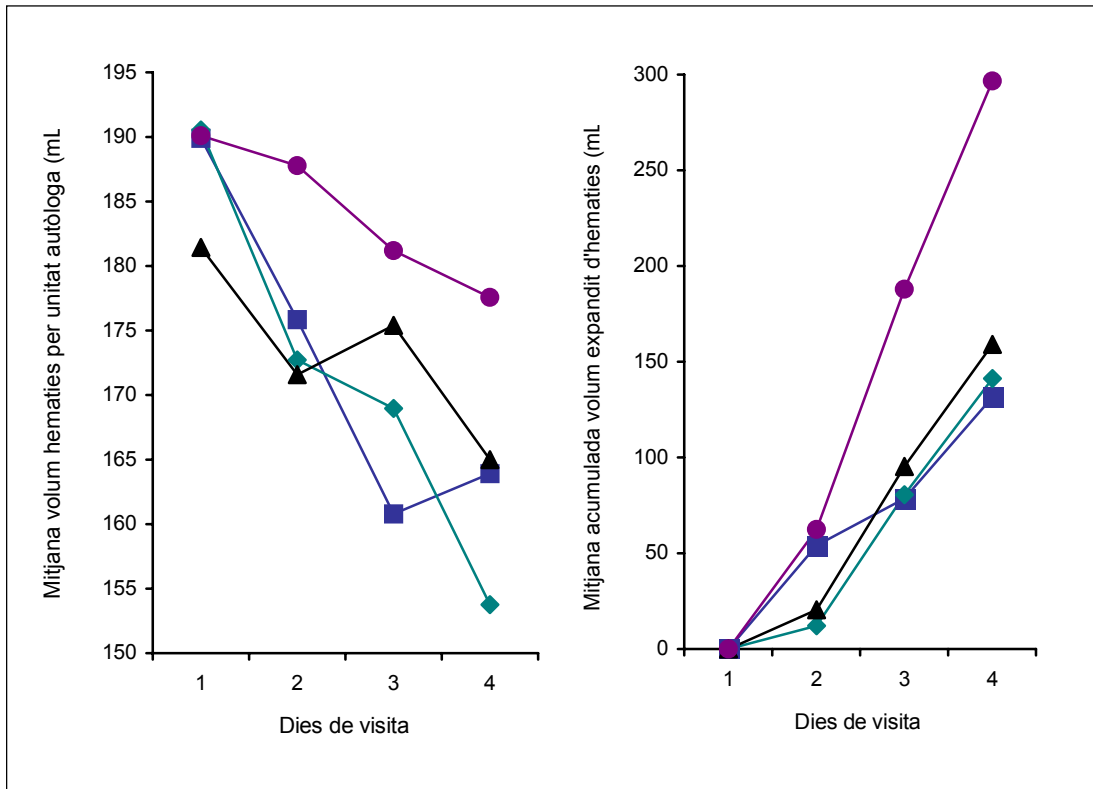


**Figura 1.** Hematòcrit i reticulòcits al llarg de les successives extraccions

Mitjanes d'hematòcrit (A) (%) i de recompte de reticulòcits (B) ( $\times 10^9/\text{L}$ ) de tots els grups (Grup placebo {■}, pacients que reben 30 UI/kg {grup A, ◆}, 60 UI/kg {grup B, ▲} i 100 UI/kg {grup C, ●}). Per claredat les desviacions estàndard s'ometen. \* $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.001$ .

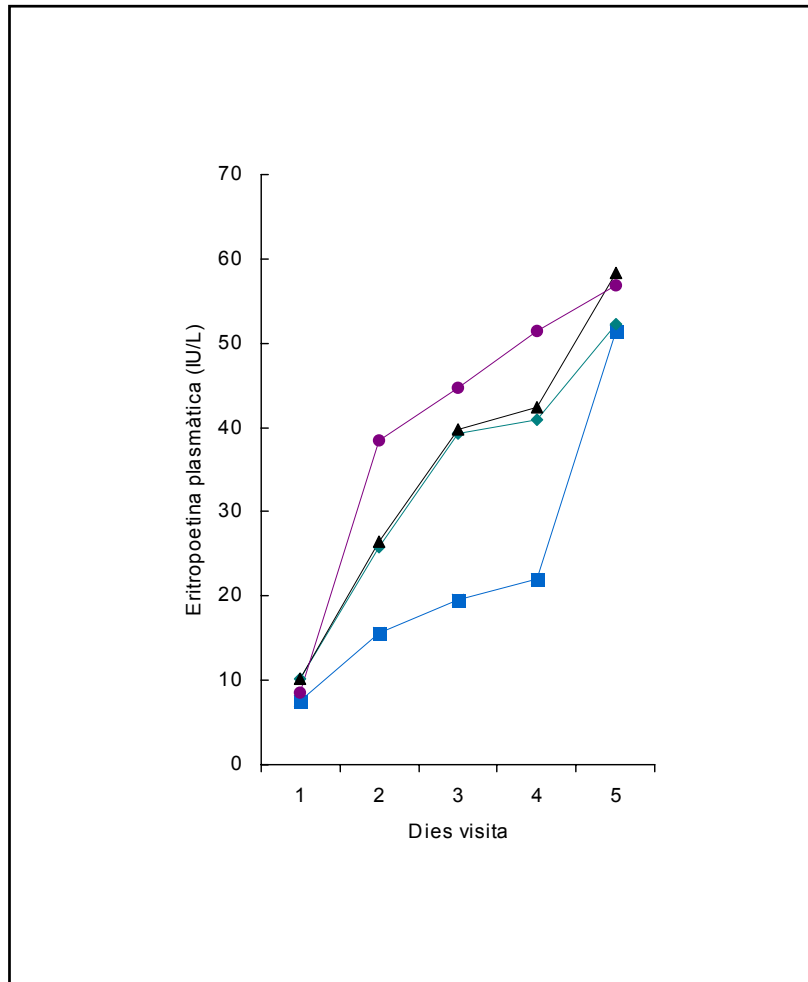


**Figura 2.** Volum d'hematies per unitat de sang autòloga i increments acumulats d'hematies al llarg de les successives visites.



Mitjanes de volum d'hematies per unitat de sang autòloga recollida en cada visita (A) i mitjanes acumulades d'increments d'hematies entre visites (B) per cada grup (Grup placebo {■}, pacients que reben 30 UI/kg {grup A, ◆}, 60 UI/kg {grup B, ▲} i 100 UI/kg {grup C, ●}). Per claredat les respectives SD s'ometen; \* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.01$ .



**Figura 3.** Concentracions plasmàtiques d'eritropoetina

Concentracions plasmàtiques mitjanes d'eritropoetina per cada grup (Grup placebo {■}, pacients que reben 30 UI/kg {grup A, ◆}, 60 UI/kg {grup B, ▲} i 100 UI/kg {grup C, ●} de rHuEPO des de la 1a a la 4a visita



## ESTUDI 2

---

**Farmacocinètica de repetides dosis d'eritropoetina recombinant humana subcutània en voluntaris sans. Implicacions en programes de donació de sang autòloga.**

---

**Sans T, Joven J, Vilella E, Masdeu G, Farrè M.** *Pharmacokinetics of several subcutaneous doses of erythropoietin: Potential implications for blood transfusion.* Clinical and experimental Pharmacology and Physiology 2000; 27: 179-184.





## Resultats

Les injeccions de rHuEPO van ser ben tolerades per tots els voluntaris. Les concentracions plasmàtiques d'eritropoetina endògena basal es trobaven dins els valors de referència corresponents a la població sana no anèmica i eren similars en els tres grups. Els paràmetres cinètics es poden observar en les taules 1-3. La representació gràfica de les corbes de concentració plasmàtica de rHuEPO enfront el temps per cada un dels grups, es mostren a la figura 1.

### Valors farmacocinètics després de la injecció inicial de rHuEPO

S'observa una relació lineal entre  $C_{max}$  i la dosi administrada (coeficient de correlació ( $r = 0.845$ ,  $p < 0.005$ ), suggerint un índex d'absorció independent de la quantitat de rHuEPO administrada (Fig. 2).

L'AUC augmentava proporcionalment amb l'augment de la dosi de rHuEPO ( $r = 0.884$ ,  $P < 0.005$ ; Fig. 3).

Les mitjanes corresponents a  $C_{max}$  i AUC es movien respectivament des de 21.7 IU/L i 632.7 IU·h/L en el grup de 30 IU/kg a 83.6 IU/L i 2475 IU·h/L en el grup de 100 IU/kg. Aquestes xifres representen un increment de 3.9 vegades.

La mitjana de  $t_{max}$  era semblant en tots els individus malgrat les diferències en la quantitat injectada ( $12.2 \pm 3.1$ h) i per tant és probable que no hi hagi un retard en la fase d'alliberament des de teixit subcutani a plasma depenent de les dosis.

La dosi de rHuEPO administrada no afecta al  $t_{1/2\alpha}$ ,  $t_{1/2\beta}$  i al MRT.

### Valors farmacocinètics després de repetides injeccions de rHuEPO

La cinètica subcutània de rHuEPO es va analitzar el dia 8, després de la tercera dosi. Si es compara amb el primer dia, la forma de la corba (concentració plasmàtica envers temps) és menys suau, amb una major variabilitat i amb característiques de discontinuïtat (Fig. 1).

Es va observar també una relació lineal entre  $C_{max}$  i dosi ( $r = 0.881$ ;  $P < 0.005$ ) i curvilíneal entre AUC i dosi ( $r = 0.759$ ;  $P < 0.05$ ; Figs 2, 3).

Els valors mitjans de  $C_{max}$  i AUC considerant tots els individus com un únic grup, eren significativament inferiors ( $P=0.001$  i  $P=0.003$ ), respectivament als observats després de l'administració inicial. No es van observar diferències en els valors mitjans de  $t_{1/2\alpha}$ , però en canvi els valors de MRT i  $t_{1/2\beta}$  com a grup total eren significativament superiors ( $P=0.038$  i  $P=0.010$ ) als observats en l'administració inicial. La  $t_{max}$  es va produir a les  $17.4 \pm 8.1$  h., cinc hores després que en l'administració inicial.

### **Efecte de la rHuEPO en l'eritropoesi**

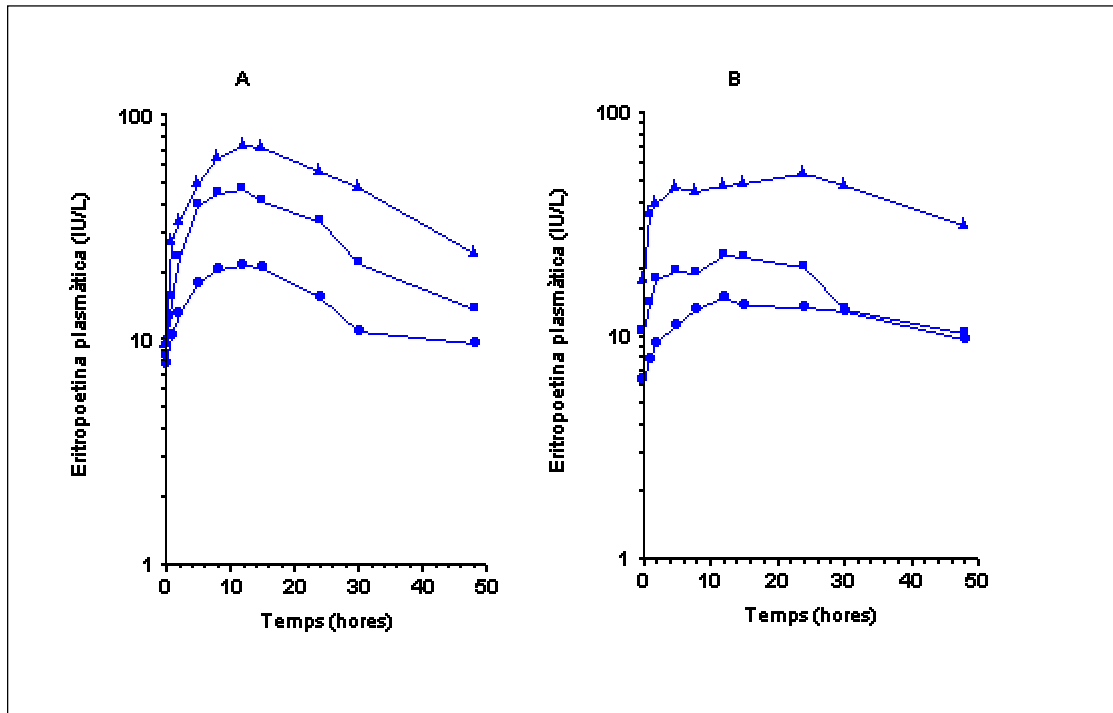
La taula 4 contempla les mitjanes del recompte de reticulòcits després de l'administració de rHuEPO en els dies 1,4 i 8 en relació amb les xifres basals del primer dia.

Encara que s'observa una relació evident entre les mitjanes de l'AUC reticulocitària i la dosi ( $r= 0.929$ ,  $P=0.052$ ) i que en el grup de 100 UI/kg es produeix una reticulocitosi superior, no es van objectivar diferències significatives en relació a la dosi administrada.

En comparació amb les xifres basals, es va observar un increment significatiu els dies 6 i 7 en el grup A, del dia 4 en endavant en el grup B i des del dia 2 en el grup C. L'increment més marcat va ser de 2.05 vegades en el grup A el dia 6, i en els grups B i C aquests increments van ser de 2.82 i 2.87 vegades respectivament, el dia 9.

Per saber si aquests canvis en els reticulòcits eren deguts al tractament amb rHuEPO, es va calcular la relació en el recompte de reticulòcits entre el dia 4 i el 9 ( $r^2=0.809$ ,  $p<0.008$ ;  $y = 1.22x +21.58$ , Fig. 4). Les xifres d'hemoglobina i hematòcrit no van mostrar diferències significatives respecte a les xifres basals.

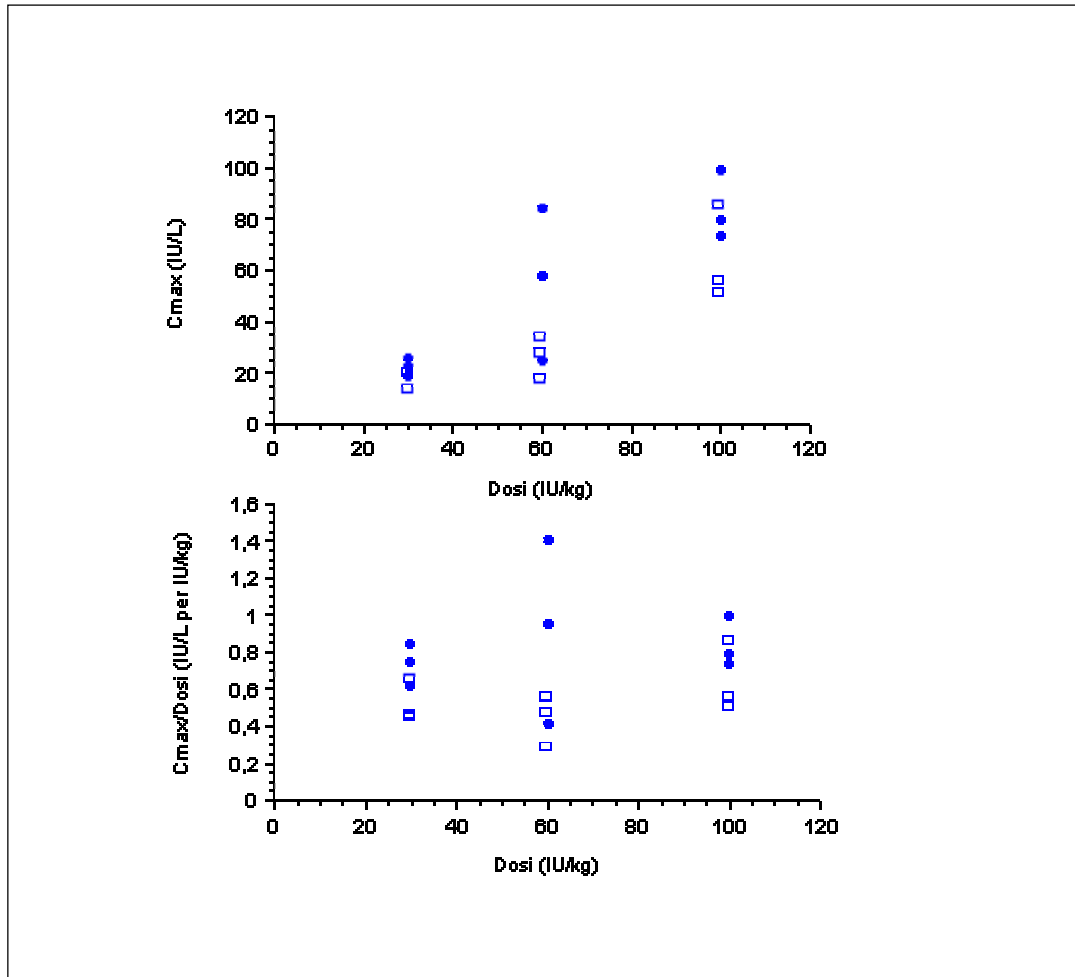
**Figura 1.** Concentracions plasmàtiques d'eritropoetina després de l'administració de rHuEPO subcutània



Concentració plasmàtica d'eritropoetina i temps després de la primera (A, dia 1) i tercera (B, dia 8) injecció subcutània de 30 (●), 60 (■) i 100 (▲) UI/kg. Cada punt representa els valors mitjans dels tres voluntaris.

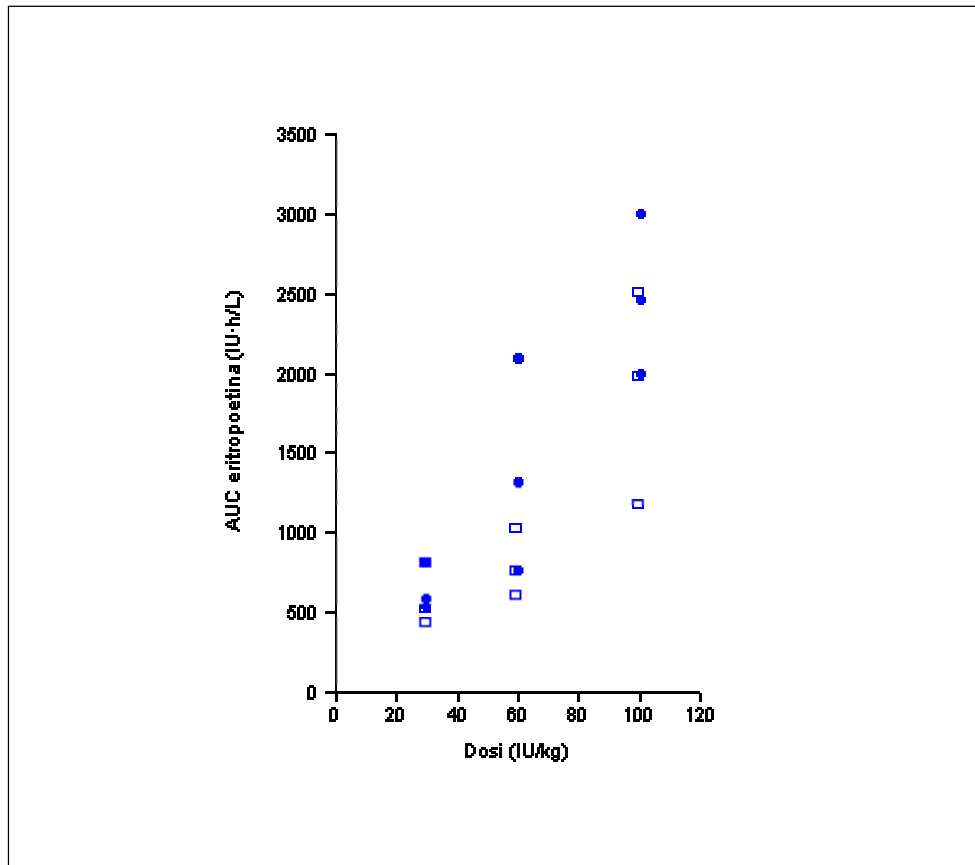


**Figura 2.**  $C_{max}$  obtingudes en plasma i dosi de rHuEPO administrada



Relació entre  $C_{max}$  i dosi d'eritropoetina recombinant humana administrada el dia 1 (●) i el dia 8 (□) per cada un dels individus dels tres grups. (A). S'observa una relació lineal entre  $C_{max}$  i dosi en el dia 1 ( $r = 0.845$ ) i en el dia 8 ( $r = 0.881$ ). (B) Valors de  $C_{max}$  normalitzats per la dosi en funció de la dosi.

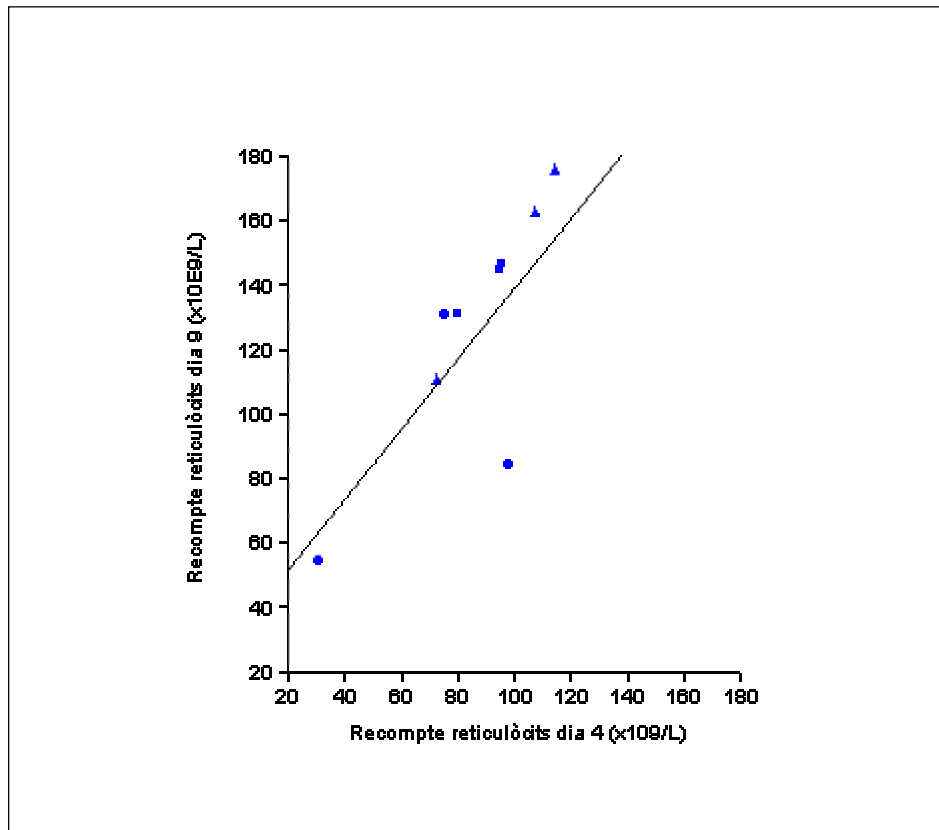


**Figura 3.** AUC eritropoetina i dosi de rHuEPO administrada

Relació entre AUC eritropoetina i dosi d'eritropoetina recombinant humana administrada el dia 1 (●) i el dia 8 (□) per cada voluntari. S'observa una relació curvilíneal entre L'AUC de l'eritropoetina i la dosi en el dia 1 ( $r = 0.884$ ) i en el dia 8 ( $r = 0.759$ ).





**Figura 4.** Reticulòcits després la injecció de rHuEPO

Correlació entre el recompte de reticulòcits del dia 4 i del dia 9 després de la injecció subcutània de 30 (●), 60 (■) i 100 (▲) UI/kg per cada subjecte. Mitjançant l'anàlisi de Spearman ( $r=0.809$ ) s'obté una correlació significativa ( $P<0.008$ ). L'equació de la línia:  $y = 1.22x + 21.58$ .



**Taula 1.** Paràmetres cinètics en cada voluntari després de la primera i tercera injecció subcutània ( dia 1 i dia 8 respectivament) de 30 IUI/kg de rHuEPO

Subj	C <sub>max</sub> (IU/L)		T <sub>max</sub> (h)		T <sub>1/2<math>\alpha</math></sub> (h)		t <sub>1/2<math>\beta</math></sub> (h)		AUC (IU. h/L)		MRT (h)	
	Dia 1	Dia 8	Dia1	Dia 8	Dia 1	Dia 8	Dia 1	Dia 8	Dia 1	Dia 8	Dia 1	Dia 8
1	22.1	13.4	12	24	3.1	4.5	18.0	37.8	517.3	512.7	14.4	23.5
2	24.9	19.6	12	30	3.3	7.1	33.2	66.9	805.1	796.0	21.2	23.9
3	18.1	13.6	15	12	3.6	2.8	24.3	36.7	575.7	417.6	20.5	21.6
<b>Mitjana</b>	21.7	15.5	13	22	3.3	4.8	25.2	47.2	632.7	575.4	18.7	23.0
<b>SD</b>	3.5	3.52	2	9	0.2	2.1	7.6	17.1	152.1	196.9	3.7	1.3

**Taula 2.** Paràmetres cinètics en cada voluntari després de la primera i tercera injecció subcutània ( dia 1 i dia 8 respectivament) de 60 IUI/kg de rHuEPO.

Subjec	C <sub>max</sub> (IU/L)		T <sub>max</sub> (h)		T <sub>1/2<math>\alpha</math></sub> (h)		t <sub>1/2<math>\beta</math></sub> (h)		AUC (IU. h/L)		MRT (h)	
	Dia 1	Dia 8	Dia1	Dia 8	Dia 1	Dia 8	Dia 1	Dia 8	Dia 1	Dia 8	Dia 1	Dia 8
4	56.9	27.7	5	12	1.8	3.5	22.6	18.7	1296.9	751.2	18.9	19.2
5	83.6	33.3	12	15	3.7	4.8	14.4	25.7	2079.3	1013.8	19.1	21.3
6	24.1	17.2	15	24	6.9	4.2	24.4	37.0	751.9	595.4	22.8	22.7
<b>Mitjana</b>	54.8	26.1	11	17	4.1	4.1	20.5	27.1	1376.1	786.8	20.2	21.1
<b>SD</b>	29.8	8.2	5	6	2.6	0.7	5.3	9.2	667.2	211.4	2.1	1.8

**Taula 3.** Paràmetres cinètics en cada voluntari després de la primera i tercera injecció subcutània (dia 1 i dia 8 respectivament) de 100 IUI/kg de rHuEPO

Subj	C <sub>max</sub> (IU/L)		T <sub>max</sub> (h)		t <sub>1/2<math>\alpha</math></sub> (h)		t <sub>1/2<math>\beta</math></sub> (h)		AUC (IU. h/L)		MRT (h)	
	Dia 1	Dia 8	Dia1	Dia 8	Dia 1	Dia 8	Dia 1	Dia 8	Dia 1	Dia 8	Dia 1	Dia 8
7	78.6	85.0	12	5	4.8	2.3	12.5	22.4	2449.6	2500.1	19.4	19.8
8	98.4	50.5	12	24	4.6	11.1	23.6	59.9	2987.1	1971.5	21.7	25.3
9	72.8	55.6	15	8	3.9	3.0	19.3	30.3	1988.6	1165.6	20.8	20.3
<b>Mitjana</b>	83.6	63.7	13	18	4.5	5.5	18.5	37.5	2475.1	1879.1	20.6	21.8
<b>SD</b>	13.4	18.7	2	9	0.4	4.9	5.6	19.7	499.7	672.0	1.1	3.0



**Taula 4.** Recompte reticulocitari en el Grup A (30 UI/kg pes corporal), Grup B (60 UI/kg pes corporal) i Grup C (100 UI/kg pes corporal), abans (dia 1) i després de repetides administracions subcutànies de rHuEPO

Dia	Grup	Reticulocytes (x10 <sup>9</sup> /L)
1 (Basal)	A	53.0 ± 17.7
	B	49.6 ± 5.1
	C	51.6 ± 10.4
2	A	67.3 ± 20.6
	B	78.3 ± 12.0*
	C	77.0 ± 12.0*
3	A	66.3 ± 29.0
	B	70.7 ± 6.1
	C	94.7 ± 13.3**
4	A	72.7 ± 41.5
	B	90.3 ± 8.9**
	C	98.7 ± 22.5*
5	A	87.7 ± 37.5
	B	96.0 ± 2.8
	C	116.6 ± 26.8*
6	A	108.6 ± 35.2*
	B	131.7 ± 12.6**
	C	139.3 ± 38.6*
7	A	97.6 ± 35.6*
	B	102.7 ± 6.42**
	C	133.3 ± 37.0*
9	A	89.3 ± 38.3
	B	140.0 ± 8.7**
	C	149.0 ± 34.3*
11	A	79.6 ± 39.8
	B	120.0 ± 12.5*
	C	121.0 ± 53.7
16	A	67.0 ± 32.0
	B	78.7 ± 10.8*
	C	80.3 ± 28.6

Els resultats corresponen a les mitjanes ± S.D. \*P<0.05, \*\*P<0.01, relatives al dia 1.



## **DISCUSSIÓ**





A l'Hospital Sant Joan de Reus, quasi tots els pacients que s'han d'intervenir quirúrgicament de forma electiva, són avaluats en l'àrea de Medicina Transfusional per tal de determinar si es poden incloure en un programa de donació preoperatòria de sang autòloga que té com a objectiu eliminar o reduir la transfusió de sang al·logènica. Molts cops la quantitat de sang autòloga predonada no és suficient, ja sigui per la limitació del temps o per una inadequada resposta eritropoètica; en aquest últim supòsit, la majoria de pacients presenten a l'inici del protocol xifres d'hemoglobina i/o reserves de ferro corporal disminuïts. Aquestes limitacions es podrien solucionar en part amb la utilització de rHuEPO.

Des de la publicació, l'any 1989 de l'article de Goodnough, en què l'administració de 600 UI per kg de rHuEPO per via endovenosa, dos cops per setmana, permetia augmentar significativament la quantitat de sang autòloga predonada; s'han dut a terme múltiples estudis per tal d'ajustar les dosis i evitar la sobrecol·lecció de sang. L'administració de rHuEPO per via subcutània presenta marcades diferències a nivell farmacocinètic i farmacodinàmic si es compara amb l'administració per via endovenosa: els pics de concentració plasmàtica de l'eritropoetina són inferiors però, en canvi, el temps de permanència del fàrmac en sang i la seva vida mitjana són superiors quan utilitzem la via subcutània (Salmonson T et al., 1990; McMahon FG et al., 1990). En els treballs de Biesma et al. i Beris et al. dosis de 250 i 180 UI/kg administrades subcutàniament, resultaven beneficioses.

L'estudi planteja dues vessants, d'una banda l'assaig clínic en pacients candidats a cirurgia ortopèdica electiva amb dosis totals inferiors o iguals a 400 UI/kg per via subcutània, en el marc d'un protocol d'autotransfusió i d'altra, l'estudi dels paràmetres farmacocinètics i farmacodinàmics de rHuEPO administrada per via subcutània en voluntaris sans.

*Una bona estratègia per tal d'aconseguir la quantitat suficient de sang per afrontar les pèrdues de sang derivades de la cirurgia es basa en disminuir l'interval entre les successives donacions i millorar les reserves de ferro.*

Nosaltres creiem que una bona estratègia es basa en aconseguir millorar les reserves de ferro dels candidats a PDA amb dieta i ferro oral, i disminuir el temps entre donacions.

Diferents estudis conclouen que en protocols agressius de donació de sang autòloga, especialment si s'acompanyen de tractament amb eritropoetina, les reserves corporals de ferro són determinants per poder afrontar una correcta eritropoesi (Goodnough LT et al., 1998; Price TH et al., 1996). El tractament amb

eritropoetina provoca la disminució de la ferritina i de l'índex de saturació de la transferrina en un 50% i augmenta l'eritropoesi en 3-4 vegades.

En segon lloc, les sagnies setmanals encara que provoquen lleugeres elevacions en els nivells d'eritropoetina endògena, no són suficients per estimular com voldríem l'eritropoesi. L'aplicació d'un programa més agressiu de sagnat (dos cops per setmana) provoca un major augment de l'eritropoetina endògena i conseqüentment una més gran estimulació eritropoètica.

D'altra banda amb el nostre estudi es pretén reduir la quantitat de rHuEPO administrada per tal de poder economitzar el tractament i evitar la sobrecol·lecció de sang.

*La utilització de rHuEPO en el marc d'un programa de donació de sang autòloga és un procediment car. És possible reduir la dosi administrada de rHuEPO per tal de reduir les despeses i millorar l'eficàcia del procediment?*

En el primer estudi es va decidir administrar dosis  $\leq 100$  UI/kg (placebo, 30, 60 i 100 UI/kg) per via subcutània, 2 cops per setmana durant dues setmanes amb l'objectiu d'aconseguir 4 bosses de sang (en aquells moments i actualment, en el nostre hospital els requeriments de sang per afrontar una cirurgia traumatològica de maluc i genoll es trobava al voltant de 2 a 3 bosses de sang al·logènica). Els resultats demostren que dosis inferiors o iguals a 60 UI/kg són ineficients en poder augmentar l'estímul eritropoètic per sobre del grup al qual s'administra placebo. En canvi sí resulta ser efectiva l'administració de 100 UI/kg de rHuEPO subcutània en aconseguir una millor eritropoesi: hi ha una menor disminució de l'hematòcrit després de les sagnies repetides, un increment significatiu de la resposta reticulocitària, una recuperació de cèl·lules vermelles postsagnies més elevada i a més el contingut de cèl·lules vermelles de les unitats de sang autòloga obtingudes és més gran. Tots aquests canvis permeten disminuir els requeriments transfusionals en els pacients del grup C.

La dosi mitjana de rHuEPO utilitzada en el grup C va ser de 30.240 unitats, això representa un cost de 302 dòlars. Si tenim en compte que aquests pacients guanyen gairebé 200 ml (1 unitat de sang al·logènica) més de cèl·lules vermelles que el grup placebo i que el preu d'una unitat al·logènica és de 149 dòlars, el cost final seria d'aproximadament 150 dòlars. Per tant l'ús racional de rHuEPO pot contribuir a una millor distribució dels costos sanitaris en el camp de la donació de sang autòloga.

La via d'administració més avaluada a nivell farmacocinètic de la rHuEPO ha estat l'endovenosa com a conseqüència de la seva utilització inicial en pacients amb hemodiàlisi, en canvi els resultats obtinguts amb l'administració per via subcutània han estat contradictoris (Faulds D et al., 1989; Braun A et al., 1993; Yamazaki C et al., 1993)

*Quines són les diferències entre l'administració subcutània de rHuEPO i l'administració endovenosa?*

Alguns estudis en voluntaris sans havien demostrat que l'administració subcutània de rHuEPO provocava una menor  $C_{max}$ , una menor AUC, i una més llarga  $t_{1/2\beta}$  (Salmonson T et al., 1990). Tanmateix el canvi d'administració de la via endovenosa a la subcutània permetia reduir en un 30%-40% les dosis administrades sense canvis a nivell terapèutic (Granolleras C et al., 1989), sempre i quan es mantingués un òptim estat de les reserves de ferro amb l'administració de 150-200 mg/dia de ferro oral (Biesma et al., 1992). Aquesta reducció de la dosi es veu compensada amb una major vida mitjana d'eliminació i amb un temps de residència del fàrmac en plasma més gran. Tot indica que concentracions plasmàtiques inferiors però sostingudes durant més temps per sobre dels nivells basals, són beneficioses (Hayashi et al., 1994; Kulier AH et al., 1993; Goldberg MA et al., 1996).

Assumint aquests fets, un dels objectius per fer viable econòmicament la seva utilització en programes de recol·lecció de sang autòloga és intentar disminuir la dosi que fins al moment s'ha estat administrant. Nosaltres ja havíem obtingut un bon resultat utilitzant rHuEPO subcutània a dosis de 100 UI/kg, dos cops per setmana durant dues setmanes en pacients candidats a cirurgia traumatològica.

Dades obtingudes de Golberg et al., demostraven que una pauta subcutània de 600 UI/kg per setmana durant 4 setmanes (2400 UI/kg), era similar a una altra de 300 UI/kg i dia durant 15 dies (4500 UI/kg) en poder evitar la transfusió de sang al·logènica.

La nostra preocupació era saber si l'administració repetida de rHuEPO provocava algun tipus d'alteració en els paràmetres farmacocinètics que pogués condicionar la seva forma d'administració, ja que alguns estudis realitzats amb la via endovenosa suggerien que l'administració repetida provocava un escurçament de la semivida d'eliminació com a conseqüència d'un major aclariment plasmàtic del fàrmac (MacMahon FG et al, 1990).

*L'administració repetida de rHuEPO subcutània dóna lloc a canvis en els paràmetres farmacocinètics estudiats? Poden aquests canvis afectar la resposta eritropoètica?*

Els resultats obtinguts en els 9 voluntaris sans, abans i després d'una setmana de tractament amb tres injeccions de rHuEPO van confirmar els resultats obtinguts en altres estudis amb voluntaris sans (Salmonson T et al., 1990; MacMahon FG et al., 1990; Flaharty et al., 1990). La principal aportació va ser que repetides dosis de rHuEPO produeixen un descens de la  $C_{max}$  i de l'AUC, però al mateix temps es perllonga el  $t_{1/2\beta}$  i el MRT. Resultats semblants havien estat aportats per d'altres autors (Cheung WK et al., 1998). El  $t_{1/2\alpha}$  no canvia després de la tercera injecció i tampoc hi ha canvis en el lloc d'injecció per sospitar una alteració en l'absorció, encara que és una possibilitat que no es pot descartar; a més els canvis que es detecten en la  $C_{max}$  i AUC podrien ser deguts a aquesta suposada menor absorció.

Els canvis observats en l'eliminació es poden explicar per canvis en l'aclariment plasmàtic i/o en el volum de distribució. Un increment en el volum de distribució pot provocar concentracions plasmàtiques menors i un augment del temps d'eliminació. Una explicació més complexa implicaria les dos hipòtesis: un increment del volum de distribució i un retard de l'absorció del fàrmac. El nostre estudi no permet esbrinar quina de les dues hipòtesis és la certa.

Els efectes de la rHuEPO a nivell de les cèl·lules progenitores del moll de l'os, indiquen que l'increment de la xifra de reticulòcits és troba relacionat amb la dosi administrada i que aquest increment es manté durant el temps que dura l'exposició a rHuEPO.

En resum, l'administració subcutània de rHuEPO en repetides dosis, dóna lloc a concentracions inferiors en plasma però a canvi la seva eliminació és més lenta i per tant més perllongada en el temps i d'això no se'n deriva una inferior resposta reticulocitària. Per tant l'administració de dosis més petites i amb una major freqüència de rHuEPO pot ser tan eficaç com l'administració de dosis més elevades i més espaiades en el temps.

## **CONCLUSIONS**



## Conclusions

L'administració subcutània de 100 UI/kg de rHuEPO, 2 cops per setmana durant dues setmanes, a pacients candidats a cirurgia traumatològica en el marc d'un programa de donació agressiva preoperatòria de sang autòloga, amb l'objectiu d'aconseguir 4 unitats de sang autòloga, ha demostrat estimular de forma eficaç l'eritropoesi.

Això es demostra amb un descens menor de les xifres d'hematòcrit en resposta a les repetides sagnies, un major increment de la resposta reticulocitària, un major increment del volum de cèl·lules vermelles circulants i un major contingut de cèl·lules vermelles en les unitats de sang autòloga, comparat amb el tractament amb placebo i amb dosis de rHuEPO inferiors o iguals a 60 UI/kg.

Encara que els requeriments transfusionals són inferiors en el grup de pacients tractats amb 100 UI/kg de rHuEPO, l'estudi no pot demostrar que el tractament amb rHuEPO sigui eficaç en poder disminuir la transfusió de sang al·logènica, probablement perquè aquesta sigui ja molt baixa en el grup de pacients que reben placebo.

La rHuEPO administrada repetidament a individus sans per via subcutània s'elimina més lentament i persisteix durant un major període de temps encara que la concentració plasmàtica aconseguida sigui inferior.

D'aquests fets no es deriva una manca de resposta reticulocitària. Per tant l'administració més freqüent i a dosis més petites de rHuEPO pot ser una pauta eficaç per contribuir a reduir l'exposició de sang al·logènica quan l'administració de rHuEPO estigui clínicament i/o econòmicament indicada.

## Conclusions generals

Encara que al llarg d'aquests anys la probabilitat de transmissió de virus causants d'hepatitis i VIH ha estat pràcticament eliminat, la transfusió de sang autòloga encara s'ha de considerar com un procés estàndard per cobrir les necessitats de sang en la cirurgia electiva. No és lògic eliminar-la només per implicacions econòmiques.

Les anàlisis cost-benefici no semblen ser favorables a la predonació de sang autòloga, per tant és necessari adoptar tota una mena d'estratègies que la facin més eficient.

Aquestes mesures han d'anar encaminades a reduir els costos directes de la col·lecció i emmagatzematge de sang, d'estandardització dels criteris de preadmissió dels pacients, de reducció del temps d'entrevista amb els pacients, de simplificar els processos de donació i d'evitar la separació dels diferents components sanguinis.

S'ha d'optimitzar al màxim la capacitat que ens ofereix la predonació de sang en termes de producció de noves cèl·lules vermelles. Això es pot obtenir sagnant amb major freqüència al menys dos cops, amb el temps suficient abans de l'intervenció per aprofitar la producció de noves cèl·lules i combinat sempre amb l'aportació de ferro.

Les intervencions amb un risc transfusional baix han de ser excloses i el nombre d'unitats col·leccionades ha de ser personalitzat d'acord amb el pacient i el tipus de cirurgia per tal d'evitar una sobrecol·lecció de sang.

Els pacients diana són aquells en els quals el risc de la transfusió de sang al·logènica és més alt que el risc que comporta la donació de sang o el retard de la intervenció quirúrgica: pacients pendents de cirurgia electiva amb elevada probabilitat de ser transfosos i amb 3-5 setmanes de temps.

El procés intensiu de les donacions de sang autòloga, necessari donat el temps limitat d'emmagatzematge de la sang, comporta el risc de desenvolupament d'anèmia. Així, si bé és cert que reduïm el risc d'exposició a sang al·logènica, també augmentem el risc de transfusió durant la cirurgia, si durant el programa de predonació fem baixar massa l'hematòcrit.



Els pacients amb xifres basals d'hematòcrit lleugerament baixes no són uns bons candidats a la predonació autòloga, aquests pacients es podrien beneficiar del tractament únic amb rHuEPO o de la combinació de predonació autòloga i rHuEPO.

L'ús de rHuEPO ha demostrat ser efectiu, com a teràpia única o com a tractament coadjuvant de la predonació autòloga en reduir les necessitats de sang al·logènica de procediments quirúrgics majors, especialment en aquells pacients en què les expectatives d'assolir unes determinades necessitats transfusionals amb la pròpia sang no es preveien poder complir.

El fet de no disposar de conclusions definitives sobre els efectes de la transfusió al·logènica en la recurrència del càncer i les complicacions infeccioses postoperatòries, i a causa de l'elevat cost del tractament amb rHuEPO, conjuntament amb les necessitats d'optimitzar costos en el sistema sanitari, han provocat que el seu ús rutinari no s'hagi generalitzat.

Per tant, actualment el seu ús seria aplicable en casos específics: pacients amb xifres d'hematòcrit inicial de 33-39%, i amb previsible pèrdues de sang quirúrgiques entre 1000 i 3000 ml, en els quals si no s'administra rHuEPO combinada o no amb tècniques de donació de sang autòloga, la transfusió de sang al·logènica és molt més que probable.



## **GLOSSARI**



**Absorció:** Procés amb què un fàrmac passa del lloc d'administració a la circulació general.

**AUC<sub>0-48h</sub>:** Àrea obtinguda amb les concentracions plasmàtiques d'un fàrmac en relació al temps, en aquest cas des de les 0 a les 48 hores.

**Biodisponibilitat:** Percentatge de fàrmac administrat que arriba a la circulació general.

**CDC (Center for Disease Control):** Administració dels Estats Units per a la prevenció i control de malalties infeccioses.

**C<sub>max</sub>:** Concentració màxima que assoleix qualsevol substància en sang o plasma.

**Distribució:** Procés pel qual un fàrmac es reparteix en el conjunt dels òrgans i teixits.

**DO<sub>2</sub>:** Flux d'O<sub>2</sub> aportat als teixits a través de la circulació.

**EPO:** Eritropoetina.

**EPO-R:** Receptor cel·lular de l'eritropoetina.

**FDA (Food and Drug Administration):** Administració dels Estats Units que s'encarrega del control de tots els productes relacionats amb la salut, incloent fàrmacs i aliments.

**FI<sub>O<sub>2</sub></sub>:** Fracció inspiratòria d'oxigen.

**HAN:** Hemodilució aguda normovolèmica.

**MRT:** Temps mitjà de residència de qualsevol substància mesurable en sang o plasma, és l'interval mitjà de temps durant el qual el fàrmac administrat resideix en el cos.

**NESP (Novel protein-stimulating erythropoiesis):** Nova proteïna estimuladora de l'eritropoesi.

**PDA:** Programa de donació autòloga

**PBV (Predicted blood volume):** Volum sanguini calculat en funció del sexe, pes i alçada.

**RHuEPO:** Eritropoetina recombinant humana

**SaO<sub>2</sub>:** Saturació arterial d'oxigen

**SvO<sub>2</sub>:** Saturació venosa d'oxigen

**t<sub>1/2α</sub>:** Vida mitjana d'absorció. Interval de temps en què la meitat de la concentració plasmàtica administrada d'un fàrmac s'absorbeix.

**t<sub>1/2β</sub>:** Vida mitjana d'eliminació. Interval de temps en què la concentració plasmàtica d'un fàrmac es redueix a la meitat.

**t<sub>max</sub>:** Temps en què s'assoleix la concentració màxima de qualsevol substància en sang o plasma.

**Transfusió al·logènica u homòloga:** Transfusió de sang amb hematies que antigènica són diferents als propis.

**Transfusió autòloga:** Transfusió de les pròpies hematies

**VO<sub>2</sub>:** Quantitat de O<sub>2</sub> consumit en els teixits

**Volum de distribució:** Relació entre la quantitat de fàrmac que hi ha a l'organisme i la seva concentració plasmàtica en estat d'equilibri.

## **REFERÈNCIES BIBLIOGRÀFIQUES**





- Adams RC, Lundy JS. Anesthesia in cases of poor surgical risks. Some suggestions for decreasing the risk. *Surg Gynecol Obstet*, 1942; 74: 1011-1019.
- Alter HJ, Purcell RH, Shih JW, Melpolder JC, Houghton M, Choo QL, Kuo G. Detection of antibody to hepatitis C virus in prospectively followed recipients with acute and chronic non-A, non-B hepatitis. *N Engl J Med* 1989; 321:1494-1500.
- Alter HJ. New Kit on the block: evaluation of second-generation assays for detection of antibody to the hepatitis C virus. *Hepatology* 1992;15:350-353.
- Alter MJ, Margolis HS, Krawczynski K, Judson FN, Mares A, Alexander WJ, Hu PY, Miller JK, Gerber MA, Sampliner RE, et al. The natural history of community-acquired hepatitis C in the United States. *N Engl J Med* 1992;327:1899-1905.
- American College of Physicians. Practice strategies for elective red blood transfusion. *Ann Intern Med* 1992;116:403-406.
- American Society of Anesthesiologists. Standards for basic anesthetic monitoring. American Society of Anesthesiologists. 520 Northwest Highway Park Ridge, Illinois (last amended on October 21, 1998).
- Ammann AJ, Cowan MJ, Wara DW, Weintrub P, Dritz S, Goldman H, Perkins HA. Acquired immunodeficiency in an infant: possible transmission by means of blood products. *Lancet* 1983; 1:956-958.
- Anderson KC, Goodnough LT, Sayers M, Pisciotto PT, Kurtz SR, Lane TA, Anderson CS, Silberstein LE. Variation in blood component irradiation practice: implications for prevention of transfusion-associated graft-versus-host disease. *Blood* 1991; 77:2096-2102.
- Anderson KC, Weinstein HJ. Transfusion-associated graft-versus-host-disease. *New Engl J Med*, 1990; 323: 315-321.
- AuBuchon JP, Gettinger A, Littenberg B. Determinants of physician ordering of preoperative autologous donations. *Vox Sang* 1994;66:176-181.
- Ault A. FDA bans UK blood donation. *Nature Med*, 1999; 5:720.
- Bachmann S, Le Hir M, Eckardt KU. Co-localization of erythropoietin mRNA and ecto-5'-nucleotidase immunoreactivity in peritubular cells of rat renal cortex indicates that fibroblasts produce erythropoietin. *J Histochem Cytochem* 1993; 41:335-341.
- Bachmann S, Ramasubbu K. Immunohistochemical colocalization of the alpha-subunit of neutrophil NADPH oxidase and ecto-5'-nucleotidase in kidney and liver. *Kidney Int* 1997, 51:2,479-482.
- Barrett BB, Andersen JW, Anderson KC. Strategies for the avoidance of bacterial contamination of blood components. *Transfusion* 1993; 33: 228-233.
- Beenson PB. Jaundice occurring one to four months after transfusion of blood or plasma. *J Am Med Assoc* 1943;121:1332.
- Beris P, Mermillod B, Levy G, Laubriat M, Soulier-Lauper M, Tullen E, Hugli A, Miescher PA. Recombinant human erythropoietin as adjuvant treatment for autologous blood donation. *Vox Sang* 1993;65:212-218.
- Besarab A, Flaharty KK, Erslev AJ, McCrea JB, Vlasses PH, Medina F, Caro J, Morris. Clinical pharmacology and economics of recombinant human erythropoietin in end-stage renal disease: The case for subcutaneous administration. *J Am Soc Nephrol*

- 1992;2:1405-1416.
- Beutler E. The utilization of saccharated Fe<sup>59</sup> oxide in red cell formation. *J Lab Clin Med* 1958; 51:415-419.
- Biesma DH, Kraaijenhagen RJ, Poortman J, Marx JJM, Van De Wiel A. The effect of oral iron supplementation on erythropoiesis in autologous blood donors. *Transfusion* 1992; 32:162-165.
- Biesma DH, Marx JJ, Kraaijenhagen RJ, Franke W, Messinger D, van de Wiel A. Lower homologous blood requirement in autologous blood donation after treatment with recombinant human erythropoietin. *Lancet* 1994; 344:367-370.
- Biesma DH, Van De Wiel A, Beguin Y, Kraaijenhagen RJ, Marx JJM. Erythropoietic activity and iron metabolism in autologous blood donors during recombinant human erythropoietin therapy. *Eur J Clin Invest* 1994; 24:426-432.
- Birkmeyer JD, Au Buchon JP, Littenberg B, O'Connor GT, Nease RF, Nugent WC, Goodnough LT. Cost-effectiveness of preoperative autologous donation in coronary artery bypass grafting. *Ann Thorac Surg* 1994; 57:161-169.
- Birkmeyer JD, Goodnough LT, AuBuchon JP, Noordsij PG, Littenberg B. The cost-effectiveness of preoperative autologous blood donation for total hip and knee replacement. *Transfusion* 1993; 33:544-551.
- Birkmeyer JD, Goodnough LT, AuBuchon JP, Noordsij PG, Littenberg B. The cost-effectiveness of preoperative blood donation for total hip and knee replacement. *Transfusion* 1993;33:544-551.
- Blum LN, Allen JR, Genel M, Howe JP III. Crossover use of donated blood for autologous transfusions: report of the Council on Scientific Affairs, American Medical Association. *Transfusion* 1998;38:891-895.
- Blumberg N, Scott A, Kirkley MD, Joanna M. A cost analysis of autologous and allogeneic transfusions in hip-replacement surgery. *Am J Surg* 1996; 171: 324-330.
- Blundell J. *Researches Physiological and Pathological*. London: E Cox. 1824.
- Bofill C, Joven J, Bages J, Vilella E, Sans T, Cavalle P, Miralles R, Llobet J, Camps J. Response to repeated phlebotomies in patients with non insulin dependent Diabetes Mellitus. *Metabolism* 1994; 5:614-620.
- Bofill C, Salas J, Vernis M, Surroca RM, Joven J. Evolución de la autotransfusión: influencia de la dieta y/o la ingesta de hierro. *Sangre* 1990; 35: 179-183.
- Bohr C, Hasselbach KA, Krogh A. Ueber einen in biologischer Beziehung wichtigen Einfluss, den die Kholensäurespannung des Blutes auf dessen Sauerstoffbindung übt. *Skand Physiological Society*, 1904; 16: 403-412.
- Bourke DL, Smith TC. Estimating allowable hemodilution. *Anesthesiology*, 1974; 41: 609-612.
- Braun A, Ding R, Seidel C, Fies T, Kurtz A, Scharer K: Pharmacokinetics of recombinant human erythropoietin applied subcutaneously to children with chronic renal failure. *Pediatr. Nephrol.* 1993; 7: 61-64.
- Brecher ME, Rosenfeld M. Mathematical and computer modeling of acute normovolemic hemodilution. *Transfusion* 1994; 34:176-179.

- British Committee for Standards in Hematology of the Blood Transfusion Task Force. Guidelines for autologous transfusion. *Transfus Med* 1993;3:307-316.
- Brysson GL, Laupacis A, Wells GA. Does acute normovolemic hemodilution reduce perioperative allogeneic transfusion? A meta-analysis. *Anesth Analg*, 1998; 86: 9-15.
- Bunn HF, Jandl JH. Control of hemoglobin function within the red cell. *N Engl J Med* 1970;282:1414-1421.
- Busch MP; Young MJ; Samson SM; Mosley JW; Ward JW; Perkins HA . Risk of human immunodeficiency virus (HIV) transmission by blood transfusions before the implementation of HIV-1 antibody screening. *Transfusion* 1991;31:4-11.
- Busch ORC, Hop WCJ, Hoynick van Papaendrecht MAW, Marquet RL, Jeekel J. Blood transfusions and prognosis in colorectal cancer. *N Engl J Med* 1993;328:1372-1376.
- Cain SM. Effects of time and vasoconstriction tone on O<sub>2</sub> extraction during hypoxic hypoxia. *J Appl Physiol*, 1994; 76:1454.
- Cain SM. Peripheral oxygen uptake and delivery in health and disease. *Clin Chest Med* 1983; 4: 139.
- Canadian Orthopedic perioperative recombinant human erythropoietin study group. Effectiveness of perioperative recombinant human erythropoietin in elective hip replacement. *The Lancet* 1993;341: 1227-1232.
- Carnot P, Deflandre C. Sur l'activité hemopoïetique des differents organes au cors de la regeneration du sang. *CR Acad Sci Paris* 1906; 143: 432-435.
- Carson JL, Terrin ML, Barton FB, Aaron R, Greenburg AG, Heck DA, Magaziner J, Merlino FE, Bunce G, McClelland B, Duff A, Noveck H. A pilot randomized trial comparing symptomatic vs. hemoglobin-level-driven red blood cell transfusion following hip fracture. *Transfusion* 1998;38:522-529.
- Cazzola M, Pootrabul P, Bergamashi G, et al. Adequacy of iron supply for erythropoiesis: In vivo observations in humans. *J Clin Lab Med* 1987;110:734-739.
- Centers for Disease Control and Prevention, U.S.P.H.S. Working Group, Guidelines for counseling persons infected with human T-lymphotropic virus type I (HTLV-1) and type II (HTLV-II). *Ann Intern Med* 1993;118:448-454.
- Cheung WK, Goon BL, Guilfoyle MC, Wacholtz MC. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of recombinant human erythropoietin after single and multiple subcutaneous doses to healthy subjects. *Clin Pharmacol Ther* 1998; 64:412-423.
- Chiu EK, Yuen KY, Lie AK, Liang R, Lau YL, Lee AC, Kwong YL, Wong S, Ng MH, Chan TK. A prospective study of symptomatic bacteriemia following platelet transfusion in its management. *Transfusion* 1994; 34: 950-954.
- Chun TY, Martin S, Lepor H. Preoperative recombinant human erythropoietin injection versus preoperative autologous blood donation in patients undergoing radical retropubic prostatectomy. *Urology* 1997;50:5:727-732.
- Cohen JA, Brecher ME. Preoperative autologous blood donation: benefit or detriment? A mathematical analysis. *Transfusion* 1995; 35:640-644.
- Conry-Cantilena C, Van Raden M, Gobble J, Melpolder J, Shakil AO, Viladomiu L, Cheung L, Di Bisceglie A, Hoofnagle J, Shih JW, et al. Routes of infection, viremia, and liver disease in blood donors found to have hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 1996;

- 334:1691-1696
- Consensus conference on autologous transfusion: final consensus statement. *Transfusion* 1996; 36:667.
- Consensus Conference. Perioperative red blood cell transfusion. *JAMA*, 1988; 260: 2700-2703.
- Coyle D, Lee KM, Ferguson DA, Laupacis A. Economic analysis of erythropoietin use in orthopaedic surgery. *Transfusion Med*, 1999; 9:21-39.
- Denis J. A letter concerning a new way of curing sundry diseases by transfusion of blood . *Philosophical Transactions Royal Society London* 1667;2:489.
- Department of Health Education and Welfare. National Blood Policy. Federal Register 1974;9326.
- Duran-Jorda F. The Barcelona blood transfusion service. *Lancet* 1939;1:773.
- Eckardt KU. Erythropoietin production in liver and kidneys. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1996; 5:1, 28-34.
- Egrie JC, Browne JK. Development and characterization of novel erythropoiesis stimulating protein (NESP). *Br J of Cancer* 2001; 84 (Suppl 1):3-10.
- Egrie JC, Browne JK. Development and characterization of novel erythropoiesis stimulating protein (NESP). *Br J of Cancer* 2001; 84 (Suppl 1):3-10.
- Erslev A. Humoral regulation of red cell production. *Blood* 1953; 8:349-357.
- Erslev AJ, Caro J, Miller O, Silver R. Plasma erythropoietin in health and disease. *Ann Clin Lab Sci* 1980; 10:250-257.
- Eschbach JW, Egrie JC, Downing MR, Browne JK, Adamson JW. Correction of the anemia of end-stage renal disease with recombinant human erythropoietin: results of a combined Phase I and II clinical trial. *N Engl J Med* 1987; 316:73-78.
- Eschbach JW, Kelly MR, Haley NR, Abels IR, Adamson JW. Treatment of the anemia of progressive renal failure with recombinant human erythropoietin. *N Engl J Med* 1989; 321:158-163.
- Etchason J, Petz L, Keeler E, Calhoun L, Kleinman S, Snider C, Fink A, Brook R. The cost effectiveness of preoperative autologous blood donations. *N Engl J Med* 1995; 332:719-724.
- Evans RW, Rader B, Manninen DL, Cooperative Multicenter EPO Clinical Trial Group. The quality of life of hemodialysis recipients treated with recombinant human erythropoietin. *JAMA* 1990; 263:825-830.
- Expert Working Group. Guidelines for red blood cell and plasma transfusions for adults and children. *Can Med Assoc J* 1997;156:Suppl 11:S1-S24.
- Fantus B. The therapy of the Cook County Hospital. *J Am Med Assoc* 1937;109:128.
- Faris PM, Ritter MA, Abels RI and the American Erythropoietin Study Group. The effects of recombinant human erythropoietin on perioperative transfusion requirements in patients having a major orthopaedic operation. *J Bone Joint Surg Am.* 1996;78-A:62-72.
- Faulds D, Sorkin EM: Epoetin. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and therapeutic potential in anaemia and the stimulation of erythropoiesis. *Drugs* 1989; 38: 863-899.

- Feagan BG, Wong CJ, Kirkley A, Johnston DW, Smith FC, Whitsitt P, Wheeler SL, Lau CY. Erythropoietin with iron supplementation to prevent allogeneic blood transfusion in total hip joint arthroplasty. A randomized, controlled trial. *Ann Intern Med* 2000; 133:845-854.
- Fischl M, Galpin JE, Levine JD, Groopman JE, Henry DH, Kennedy P, Miles S, Robbins W, Starrett B, Zalusky R, et al. Recombinant human erythropoietin for patients with AIDS treated with zidovudine. *N Engl J Med* 1990; 322: 1488-1493.
- Flaharty KK, Caro J, Erslev A, Wallen JJ, Morris EM, Bjornsson TD, Vlasses PH. Pharmacokinetics and erythropoietic response to human recombinant human erythropoietin in healthy men. *Clin Pharmacol Ther* 1990;47:557-564.
- Frances C, Mouquet C, Calvez V. Human herpesvirus 8 and renal transplantation. *New Engl J Med*, 1999; 340: 1045.
- Gatenby PA, Cameron K, Simes RJ, Adelstein S, Bennett MJ, Jansen RP, Shearman RP, Stewart GJ, Whittle M, Doran TJ. Treatment of recurrent spontaneous abortion by immunization with paternal lymphocytes: results of a controlled trial. *Am J Reprod Immunol* 1993;29:88-94.
- Glaspay J, Jadeja S, Justice G, Kessler J, Richards D, Schwartzberg L, Rigas J, Kuter D, Harmon D, Prow D, Demetri G, Gordon D, Arseneau J, Saven A, Hynes H, Boccia R, O'Byrne J, Colowick AB. A dose-finding and safety study of novel erythropoiesis stimulating protein (NESP) for the treatment of anaemia in patients receiving multicycle chemotherapy. *B J of Cancer* 2001; 84 (Suppl1):17-23.
- Glynn SA, Kleinman SH, Schreiber GB, Busch MP, Wright DJ, Smith JW, Nass CC, Williams AE. Trends in incidence and prevalence of major transfusion-transmissible viral infections in US blood donors, 1991 to 1996. *JAMA* 2000; 284:229-235.
- Goldberg MA, McCutchen JW, Jove M, Di Cesare P, Friedman RJ, Poss R, Guilfoyle M, Frei D, Young D. A safety and efficacy comparison study of two dosing regimens of epoetin alfa in patients undergoing major orthopedic surgery. *Am J Orthop* 1996;25:544-552.
- Goldberg, MA, Dunning SP, Bunn HF. Regulation of the erythropoietin gene: evidence that the oxygen sensor is a heme protein. *Science* 1988; 242: 1412-1415.
- Goodnough LT, Brecher ME, Kanter MH, AuBuchon JP. Transfusion medicine. First of two parts-blood transfusion. *New Engl J Med* 1999; 340: 438-447.
- Goodnough LT, Brecher ME, Kanter MH, AuBuchon JP. Transfusion Medicine. Second of two parts. Blood conservation. *N Engl J Med* 1999;340:525-533.
- Goodnough LT, Brittenham GM. Limitations of the erythropoietic response to serial phlebotomy: implications for autologous blood donor programs. *J Lab Clin Med* 1990; 115:28-35.
- Goodnough LT, Marcus RE. Erythropoiesis in patients stimulated with erythropoietin: The relevance of storage iron. *Vox Sang* 1998; 75: 128-133.
- Goodnough LT, Mercuriali F. Compensatory erythropoiesis during routine autologous blood donation. *Transfusion* 1998; 36:613-614.
- Goodnough LT, Monk TG, Andriole GL. Erythropoietin Therapy. *N Engl J Med* 1997; 13:933-38.

- Goodnough LT, Monk TG, Brecher ME. Acute normovolemic hemodilution in surgery. *Hematol* 1997;2: 413-420.
- Goodnough LT, Price TH, Friedman KD, Johnston M, Ciavarella D, Khan N, Sacher R, Vogler WR, Wissel M, Abels RI. A phase III trial of recombinant human erythropoietin therapy in nonanemic orthopedic patients subjected to aggressive removal of blood for autologous use: dose, response, toxicity and efficacy. *Transfusion* 1994; 34:66-71.
- Goodnough LT, Price TH, Rudnick S, Soegiarso RW. Preoperative red blood cell production in patients undergoing aggressive autologous blood phlebotomy with and without erythropoietin therapy. *Transfusion* 1992; 32:441-445.
- Goodnough LT, Price TH, Rudnick S. Iron-restricted erythropoiesis as a limitation to autologous blood donation in the erythropoietin-stimulated bone marrow. *J Lab Clin Med* 1991; 118: 289-296.
- Goodnough LT, Rudnick S, Price TH, Ballas SK, Collins ML, Crowley JP, Kosmin M, Kruskall MS, Lenes BA, Menitove JE; et al. Increased preoperative collection of autologous blood with recombinant human erythropoietin therapy. *N Engl J Med* 1989; 321:1163-8.
- Goodnough LT, Saha P, Hirschler NV, Yomtovian R. Autologous blood donation in nonorthopaedic surgical procedures as a blood conservation strategy. *Vox Sang* 1992;63:96-101.
- Goodnough LT, Shaffron D, Marcus RE. Impact of preoperative autologous blood donation on orthopaedic surgical practice. *Vox Sang* 1990; 59:65-9.
- Goodnough LT, Skikne, B, Brugnara C. Erythropoietin, iron and erythropoiesis. *Blood* 2000; 96:823-833.
- Goodnough LT, Verbrugge D, Marcus RE, Goldberg V. The effect of patient size and dose of recombinant human erythropoietin therapy on red blood cell expansion in autologous blood phlebotomy with and without erythropoietin therapy. *Transfusion* 1992; 32:441-5.
- Goodnough LT, Vizmeg K, Verbrugge D. The impact of autologous blood ordering and blood procurement practices on allogeneic blood exposure in elective orthopedic surgery patients. *Am J Clin Pathol* 1994; 101: 354-7.
- Goodnough LT, Wasman J, Corlucci K, Chernosky A. Limitations to donating adequate autologous blood prior to elective orthopedic surgery. *Arch Surg* 1989; 124: 494-6.
- Granolleras C, Branger B, Beau MC, Deschodt G, Alsabadani B, Shaldon S: Experience with daily self-administered subcutaneous erythropoietin. *Contrib. Nephrol.* 1989; 76:143-8.
- Harvey, W. *Exercitatio Anatomica Demortu Cordis et sanguinis in Anamalibus*. Translated by Leake, CD. Springfield, Illinois: CC Thomas. 1628
- Hayashi J, Kumon K, Takanashi S, Kawashima Y, Eguchi S, Takaku F, Yamamura H. Subcutaneous administration of recombinant human erythropoietin before cardiac surgery: a double-blind, multicenter trial in Japan. *Transfusion* 1994; 34:142-46.

- Healy JC, Frankforter SA, Graves BK, Reddy RL, Beck JR. Preoperative autologous blood donation in total-hip arthroplasty: a cost-effectiveness analysis. *Arch Pathol Lab Med* 1994; 118:465-70.
- Hebert PC, Wells G, Blajchman MA, Marshall J, Martin C, Pagliarello G, Tweeddale M, Schweitzer I, Yetisir E. A multicenter, randomized, controlled clinical trial of transfusion requirements in critical care. *N Engl J Med* 1999;340:409-17.
- Heddle NM, Soutar RL, O'Hoski PL, Singer J, McBride JA, Ali MA, Kelton JG. A prospective study to determine the frequency and clinical significance of alloimmunization post-transfusion. *British J Haemato*, 1995; 91: 1000-1005.
- Heiss MM, Tarabichi A, Delanoff C, Allgayer H, Jauch KW, Hernandez-Richter T, Mempel W, Beck KG, Schildberg FW, Messmer K. Perisurgical erythropoietin application in anemic patients with colorectal cancer: a double-blind randomized study. *Surgery* 1996; 119: 522-527.
- Heiss MM. Risk of allogeneic transfusions. *British J Anaesthesia*, 1998; 84: (suppl 1): 16-19.
- Hjelle B, Wilson C, Cyrus S, Bradshaw P, Lo J, Schammel C, Wiltbank T, Alexander S. Human T-cell leukemia virus type II infection frequently goes undetected in contemporary US blood donors. *Blood* 1993;81:1641-1644.
- Hogue CW Jr, Goodnough LT, Monk TG. Perioperative myocardial ischemic episodes are related to hematocrit level in patients undergoing radical prostatectomy. *Transfusion* 1998;38:924-931.
- Houbiers JG, Brand A, van de Watering LM, Hermans J, Verwey PJ, Bijnen AB, Pahlplatz P, Eeftinck Schattenkerk M, Wobbles T, de Vries JE. Randomised controlled trial comparing transfusion of leucocyte-depleted or buffy-coat-depleted blood in surgery for colorectal cancer. *Lancet*, 1994; 344: 573-578.
- Jacobs K, Shoemaker C, Rudersdorf R, Neill SD, Kaufman RJ, Mufson A, Seehra J, Jones SS, Hewick R, Fritsch EF et al. Isolation and characterization of genomic and cDNA clones of human erythropoietin. *Nature* 1985; 313: 806-810.
- Jacobson LO, Goldwasser E, Fried W, Plzak L. Role of the kidney in erythropoiesis. *Nature* 1957; 179:633-634.
- Jennings C. *Transfusion: Its history, indications and modes of application*. Leonard & Co. New York 1883:108.
- Jia L, Bonaventura C, Bonaventura J, Stamler JS. S-nitrosohemoglobin: a dynamic activity of blood involved in vascular control. *Nature* 1996;380:221-226.
- Johnson RG, Thurer RL, Kruskall MS, Sirois C, Gervino EV, Critchlow J, Weintraub RM. Comparison of two transfusion strategies after elective operations for myocardial revascularization. *J Thorc Cardiovasc Surg* 1992;104:307-14.
- Joint Statement on acquired immune deficiency syndrome (AIDS) related to transfusion. *Transfusion* 1983;23:87-8.
- Kampf D, Eckardt KU, Fisher HC, Schmalisch C, Ehmer B, Schostak M. Pharmacokinetics of recombinant human erythropoietin in dialysis patients after single and multiple subcutaneous administrations. *Nephron* 1992; 61: 393-398.
- Kasper SM, Gerlich W, Buzello W. Preoperative red cell production in patients undergoing weekly autologous blood donation. *Transfusion* 1997; 37: 1058-1062.

- Kasper SM, Grune F, Walter M, Amr N, Erasmi H, Buzello W. The effects of increased doses of bovine hemoglobin on hemodynamics and oxygen transport in patients undergoing preoperative hemodilution for elective abdominal aortic surgery. *Anesth Analg* 1998;87:284-91.
- Kasper SM, Lazansky H, Stark C, Klimek M, Laubinger R, Börner Y. Efficacy of oral iron supplementation is not enhanced by additional intravenous iron during autologous blood donation. *Transfusion* 1998;38:764-770.
- Kickler TS, Spivak JL. Effect of repeated whole blood donations on serum immunoreactive erythropoietin levels in autologous donors. *JAMA* 1988; 260:65-67.
- Koury ST, Bondurant MC, Koury MJ. Localization of erythropoietin synthesizing cells in murine kidney by in situ hybridization. *Blood* 1988; 71:524-27.
- Krantz SB. Erythropoietin. *Blood* 1991; 77:419-34.
- Kruskall MS, Glazer EE, Leonard SS, Willson SC, Pacini DG, Donovan LM, Ransil BJ . Utilization and effectiveness of a hospital autologous preoperative blood donor program. *Transfusion* 1986; 26:335-40.
- Kulier AH, Gombotz H, Fuchs G, Vuckovic U, Metzler H. Subcutaneous recombinant human erythropoietin and autologous blood donation before coronary artery bypass surgery. *Anesth. Analg.* 1993; 76: 102-6.
- Lacombe C, Da Silva JL, Bruneval P, Fournier JG, Wendling F, Casadevall N, Camilleri JP, Bariety J, Varet B, Tambourin P. Peritubular capillary cells are the site of erythropoietin synthesis in murine hypoxic kidney. *J Clin Invest* 1988; 81:620-623.
- Landsteiner K, Weiner AS. An agglutinable factor in human blood recognized by immune sera for rhesus blood. *Proceed Soc Experiment Biol Med* 1940;42:233.
- Landsteiner K. Über agglutinationscheinungen normaler menschlicher bluts. *Wein Klinische Wochenschrift* 1901;14:1132.
- Laperche S. Les retombées pratiques des 3 ans d'expérience de l'hémovigilance nationale en matière de complications virales (Practical repercussions of 3 years of experience of national hemovigilance on the subject of viral complications). *Transfusion Clin Biol*, 1998; 5:211-218.
- Larocque BJ, Gilbert K, Brien WF. A point score system for predicting the likelihood of blood transfusion after hip or knee arthroplasty. *Transfusion* 1997;37:463-467.
- Lehninger AL, Nelson DL, Cox MM. Principles of biochemistry. 2<sup>nd</sup> ed. New York: Worth, 1993.
- Leukoreduction: the techniques used, their effectiveness, and costs. Ottawa, Ont: Canadian Coordinating Office for Health Technology Assessment, 1998.
- Lin FK; Suggs S, Lin CH, Browne JK, Smalling R, Egrie JC, Chen KK, Fox GM, Martin F, Stabinsky Z, et al. Cloning and expression of the human erythropoietic gene. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1985; 82:7580-4.
- Linden JV, Kruskall MS. Autologous blood: always safer?. *Transfusion* 1997;37:455-6.
- Linden JV, Paul B, Dressler KP. A report of 104 transfusion errors in New York State. *Transfusion*, 1992; 32: 601-606.
- Lorentz A, Eckardt KU, Osswald PM, Duchow JR. Erythropoietin levels in patients depositing autologous blood in short intervals. *Ann Hematol* 1992; 64:281-285.



- Lorentz A, Jendrissek A, Eckardt KU, Schippl M, Osswald PM, Kurtz A. Serial immunoreactive erythropoietin levels in autologous blood donors. *Transfusion* 1991; 31:650-654.
- Loscalzo J. Nitric oxide binding and the adverse effects of cell-free hemoglobins: what makes us different from earthworms. *J Lab Clin Med* 1997;129:580-3.
- Loussert-Ajaka I, Ly TD, Chaix M, Ingrand D, Saragosti S; Courouze AM; Brun-Vezinet F; Simon . HIV-1/HIV-2 seronegativity in HIV-1 subtype O infected patients. *Lancet* 1994;343:1393-4.
- Love TR; Hendren WG; O'Keefe DD, Daggett WM. Transfusion of predonated autologous blood in elective cardiac surgery. *Ann Thorac Surg* 1987;43:508-12.
- Lower R. An account of the experiment practised upon a man in London. *Philosophical Transactions Royal Society London* 1667;2:557.
- Lower R. The method observed in transfusing the blood out of one animal into another. *Philosophical Transactions Royal Society London* 1666;1:353.
- Luban NLC. Human parvoviruses: implications for transfusion medicine. *Transfusion* 1994;34:821-7.
- Ludwig H, Fritz E, Kotzmann H, H'cker P, Gisslinger H, Barnas U. Erythropoietin treatment of anaemia associated with multiple myeloma. *N Engl J Med* 1990; 322:1693-
- Major A, Mathez-Loic F, Rholing R, Gautschi K, Brugnara C. The effect of intravenous iron on the reticulocyte response to recombinant human erythropoietin. *Br J Haematol* 1997; 98:292-294.
- Mangano DT, Browner WS, Hollenberg M, London MJ, Tubau JF, Tateo IM. Association of perioperative myocardial ischemia with cardiac morbidity and mortality in men undergoing noncardiac surgery. *N Engl J Med* 1990;323:1781-8.
- Manns A, Wilks RJ, Murphy EL, Haynes G, Figueroa JP, Barnett M, Hanchard B, Blattner WA. A prospective study of transmission by transfusion on HTLV-1 and risk factors associated with seroconversion. *Int J Cancer* 1992;51:886-91.
- Marchetti M, Barosi G. Cost-effectiveness of epoetin and autologous blood donation in reducing allogeneic blood transfusions in coronary artery bypass graft surgery. *Transfusion* 2000; 40:673-681.
- McMahon FG, Vargas R, Ryan M, Jain AK, Abels RI, Perry B, Smith IL. Pharmacokinetics and effects of recombinant human erythropoietin after intravenous and subcutaneous injections in healthy volunteers. *Blood* 1990;76:1718-22.
- Megens JGN, Olijhoek G; Ziekenhuis V, Musto P, Nogarín L. Comparison of efficacy of oral versus intravenous iron supplementation with epoetin alfa treatment in arthroplasty patients. *Br J Anaesthesiol* [abstract]. 1999; 82 (suppl):82.
- Mercadante S, Gebbia A, Marrazzo A, Filosto S. Anaemia in cancer: pathophysiology and treatment. *Cancer Treat Rev* 2000; 26:303-311.
- Mercier B, Barclais A, Botte C , Cantalube J, Coste J, Defer C , Gautreau C , Giannoli C, Halfon P, Lepot I, Loiseau P, Martial J, Montchamont P, Merel P, Ouzan D, Ravera N, Follana J, Cesaire R, Jannot C , Lemaire J, De Micco P, Vezon G, Ferec C. Prevalence of GBV C/HGV RNA i GBV C/HGV antibodies in French volunteer blood donors: result of a collaborative study. *Vox Sang*, 1999; 76:166-169.

- Mercuriali F, Gualtieri G, Sinigaglia L, Inghilleri G, Biffi E, Vinci A, Colotti MT, Barosi G, Lambertengh Delilieri G. Use of recombinant human erythropoietin to assist autologous blood donation by anemic rheumatoid arthritis patients undergoing major orthopedic surgery. *Transfusion* 1994; 34:501-6.
- Mercuriali F, Inghilleri G. Proposal of an algorithm to help the choice of the best transfusion strategy. *Curr Med Res Opin* 1996;13:465-78.
- Mercuriali F, Inghilleri, Biffi E, Colotti MT, Vinci A, Oriani G. Epoietin alfa in low hematocrit patients to facilitate autologous blood donation in total hip replacement: a randomized, double-blind, placebo-controlled, dose ranging study. *Acta Haematol* 1998; 110:69-76.
- Mercuriali F, Zanella A, Barosi G, Inghilleri G, Biffi E, Vinci A, Colotti MT . Use of erythropoietin to increase the volume of autologous blood donated by orthopedic patients. *Transfusion* 1993; 33:55-60
- Mercuriali, Inghilleri. Proposal of an algorithm to help the choice of the best transfusion strategy. *Curr Med Res Opin*, 1996; 13: 465-478.
- Mitchell KTM, Brecher ME. Approaches to the detection of bacterial contamination in cellular blood products. *Transfusion Med Rev*, 1999 13: 132-144.
- Miyake T, Kung CKH, Goldwasser E. Purification of human erythropoietin. *J Biol Chem* 1977; 252:5558-64.
- Monk TG, Goodnough LT, Andriole GL, Colberg JW, Lemon DJ, Martin KJ. Preoperative recombinant human erythropoietin therapy enhances the efficacy of acute normovolemic hemodilution. *Anesth Analg* 1995;80:Suppl:S320. abstract.
- Monk TG, Goodnough LT, Birkmeyer JD, Brecher ME, Catalona WJ. Acute normovolemic hemodilution is a cost effective alternative to preoperative autologous blood donation by patients undergoing radical retropubic prostatectomy. *Transfusion*, 1995; 35: 559-565.
- Monod J, Wyman J, Changeux J-P. On the nature of allosteric transitions: a plausible model. *J Mol. Biol* 1965;12:88-118.
- Nadler SB, Hidalgo JU, Bloch T. Prediction of blood volume in normal adults. *Invest Surg* 1962; 51:224-232.
- Nagano K, Gelman S, Parks DA, Bradley EL. Hepatic oxygen-supply-uptake relationship and metabolism during anesthesia in miniature pigs. *Anesthesiology*, 1990; 72: 902.
- Napier JA, Bruce M, Chapman J, et al. Guidelines for autologous transfusion. II. Perioperative haemodilution and cell salvage. *Br J Anaesth* 1997; 78:768-71.
- Naughton GK, Naughton B, Gordon AS. Erythropoietin production by macrophages in the regenerating liver. *J Surg Oncol* 1985;30:184-97.
- Ness PM, Bourke DL, Walsh PC. A randomized trial of perioperative hemodilution versus transfusion of preoperatively deposited autologous blood in elective surgery. *Transfusion* 1992;32:226-30.
- Nieder AM, Rosenblum N, Lepor H. Comparison of two different doses of preoperative recombinant erythropoietin in men undergoing radical retropubic prostatectomy. *Urology* 2001;57:737-41.

- Nishizawa T, Okamoto H, Konishi K, Yoshizawa H, Miyakawa Y, Mayumi M. A novel virus (TTV) associated with elevated transaminase levels in posttransfusion hepatitis of unknown etiology. *Biochemical Biophysical Research Com*, 1997; 241: 92-97.
- Nutall G, Santrach PJ, Oliver WC, Ereth MH, Horlocker TT, Cabanela ME, Trousdale RT, Bryant S, Currie TW. A prospective randomized trial of the surgical blood order equation for ordering red cells for total hip arthroplasty patients. *Transfusion*, 1998; 38: 828-833.
- Opelz G, Vanrenterghem Y, Kirste G, Gray DW, Horsburgh T, Lachance JG, Largiader F, Lange H, Vujaklija-Stipanovic K, Alvarez-Grande J, Schott W, Hoyer J, Schnuelle P, Descoedres C, Ruder H, Wujciak T, Schwarz V. Prospective evaluation of pretransplant blood transfusions in cadaver kidney recipients. *Transplantation* 1997;63:964-7.
- Popovsky MA, Whitaker B, Arnold NL. Severe outcomes of allogeneic and autologous blood donations: frequency and characterization. *Transfusion* 1995; 35:734-7.
- Practice guidelines for blood component therapy: a report by the American Society of Anesthesiologists Task Force on Blood Component Therapy. *Anesthesiology* 1996;84:732-47.
- Prevention of acquired immune deficiency syndrome (AIDS): report of inter-agency recommendations. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1983;32:101-3.
- Price TH, Goodnough LT, Vogler WR, Sacher RA, Hellman RM, Johnston MF, Bolgiano DC, Abels RI. The effect of recombinant human erythropoietin on the efficacy of autologous blood donation in patients with low hematocrit: A multicenter, randomized, double-blind, controlled trial. *Transfusion* 1996; 36:29-36.
- Provisional Public Health Service inter-agency recommendations for screening donated blood and plasma for antibody to the virus causing acquired immunodeficiency syndrome. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1985;34:1-5.
- Rao LTK, Montoya A. Cardiovascular, electrocardiographic and respiratory changes following acute anemia with volume replacement in patients with coronary artery disease. *Anesth Dev* 1985;12:49-54.
- Räsänen J. Supply-dependent oxygen consumption and mixed venous oxygen oxyhemoglobin saturation during isovolemic hemodilution in pigs. *Chest* 1992; 101:1121-1124.
- Reissman KR: Studies on the mechanism of erythropoietic stimulation in parabiotic rats during hypoxia. *Blood* 1950;5:372-80.
- Renner SW, Howanitz PJ, Bachner P. Preoperative autologous blood donation in 612 hospitals: a College of American Pathologists' Q-Probes study of quality issues in transfusion practice. *Arch Pathol Lab Med*. 1992; 116:613-619.
- Risks associated with human parvovirus B19 infection. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1989;38:81-8,93-7.
- Rutherford CJ, Schneider TJ; Dempsey H, Kim DH, Brugnara C, Goldberg MA. Efficacy of different dosing regimens for recombinant human erythropoietin in a simulated perisurgical setting: the importance of iron availability in optimizing response. *Am J Med* 1994; 96:139-145.

- Salmonsson T, Danielson BG, Wikström B. The pharmacokinetics of recombinant human erythropoietin after intravenous and subcutaneous administration to healthy subjects. *Br J Clin Pharmacol* 1990; 29:709-13.
- Sans T, Bofill C, Joven J, Cliville X, Simó JM, Llobet X, Però A, Galbany J. Effectiveness of very low doses of subcutaneous recombinant human erythropoietin for autologous blood donation before orthopedic surgery. *Transfusion* 1996.
- Sans T, Joven J, Vilella E, Masdeu G, Farrè M. Pharmacokinetics of several subcutaneous doses of erythropoietin: Potential implications for blood transfusion. *Clinical and experimental Pharmacology and Physiology* 2000; 27: 179-184.
- Sawada K, Krantz SB, Sawyer ST, Civin CI. Quantitation of specific binding of erythropoietin to human erythroid colony-forming cells. *J Cell Physiol* 1988; 137:337-345.
- Sawyer ST, Krantz SB, Sawada K. Receptors for erythropoietin in mouse and human erythroid cells and placenta. *Blood* 1989; 74:103-9.
- Schouten JP, Voorhorst G, Helbing AR, Janssen JW, Diderich PPNM, Op de Hoek CT. Pharmacokinetics of epoetin in haemodialysis patients after subcutaneous administration: influence of chronic treatment. *Pharm World Sci* 1993; 15(6):251-256.
- Schreiber GB, Busch MP, Kleinman SH, Korelitz JJ. The risk of transfusion-transmitted viral infections. *New Engl J Med*, 1996; 334: 1685-1690.
- Schuster SJ, Wilson JH, Erslev AJ, Caro J. Physiologic regulation and tissue localization of renal erythropoietin messenger RNA. *Blood* 1987;70:316-18.
- Scott MG, Kucik DF, Goodnough LT, Monk TG. Blood substitutes: evolution and future applications. *Clin Chem* 1997;43:1724-31.
- Selik RM, Ward JW, Buehler JW. Trends in transfusion-associated acquired immune deficiency syndrome in the United States, 1982 through 1991. *Transfusion* 1993;33:890-3.
- Shanks JH, Hill CM, Lappin TR, Maxwell AP. Localization of erythropoietin gene expression in proximal renal tubular cells detected by digoxigenin-labelled oligonucleotide probes. *J Pathol* 1996, 179;3:283-287.
- Silliman CC, Paterson AJ, Dickey Wo, Stroneck DF, Popovsky MA, Calwell SA, Ambruso DR. The association of biologically active lipids with the development of transfusion-related acute lung injury : a retrospective study. *Transfusion*, 1997; 37: 719-726.
- Simmonds P, Davidson F, Lycett C, Prescott LE, MacDonald DM, Ellender J, Yap PL, Ludlam CA, Haydon GH, Gillon J. Jarvis detection of a novel virus (TTV) in blood donors and blood products. *Lancet* 1998; 352: 191-195.
- Simons JN, Leary TP, Dawson GJ, Pilot-Matias TJ, Muerhoff AS, Schlauder GC, Desai SM, Mushahwar IK. Isolation of novel virus-like sequences associated with human hepatitis. *Nature Med*, 1995; 1: 564-569.
- Skikne BS, Cook JD. Effect of enhanced erythropoiesis on iron absorption. *J Lab Clin Med* 1992; 120:746-751.
- Spiess BD, Ley C, Body SC, Siegel LC, Stover EP, Maddi R, D'Ambra M, Jain U, Liu F, Herskowitz A, Mangano DT, Levin J. Hematocrit value on intensive care unit

- influence the frequency of Q-wave myocardial infarction after coronary artery bypass grafting. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1998;116:460-7.
- Spiess BD, Sassetti R, McCarthy RJ, Narbone RF, Tuman KJ, Ivankovich AD. Autologous blood donation: Hemodynamics in a high-risk patient population. *Transfusion* 1992;32:17-22.
- Stamler JS, Jia L, Eu JP, McMahon TJ, Demchenko IT, Bonaventura J, Gernert K, Piantadosi CA. Blood flow regulation by S-nitrosohemoglobin in the physiological oxygen gradient. *Science* 1997;276:2034-7.
- Stehling L, Zauder HL. Acute normovolemic hemodilution. *Transfusion*, 1991; 31: 857-868.
- Stramer SL, Aberle-Grasse J, Brodsky JP, Busch MP, Lackritz EM. US blood donor screening with p24 antigen (Ag): one year experience. *Transfusion* 1997;37:Suppl:1s.abstract.
- Taaning E, Tonnesen F. Pan-reactive platelet antibodies in post-transfusion purpura. *Vox Sang* 1999; 76: 120-123.
- Tasaki T, Ohto H, Hashimoto C, Abe R, Saitoh A, Kikuchi S. Recombinant human erythropoietin for autologous blood donation: effects on perioperative red-blood-cell and serum erythropoietin production. *Lancet* 1992;339:773-775.
- Thomas MJH, Guillon J, Desmond MJ. Consensus conference on autologous transfusion: preoperative autologous donation. *Transfusion* 1996;36:633-9.
- Toy PT, Strauss RG, Stehling LC, Sears R, Price TH, Rossi EC, Collins ML, Crowley JP, Eisenstaedt RS, Goodnough LT, et al . Predeposit autologous blood for elective surgery: a national multicenter study. *N Engl J Med* 1987; 316:517-20.
- Update: HIV-2 infection among blood and plasma donors- United States, June 1992-June 1995. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1995;44:603-6.
- Vallet B. Vascular reactivity and tissue oxygenation. *Intensive Care Med*, 1998; 24:3.
- Vamvakas E, Moore SB. Perioperative blood transfusion i colorectal cancer recurrence: a qualitative statistical overview i meta-analysis. *Trnasfusion*, 1993; Sep; 33: 754-765.
- Van Iperen CE, Gaillard CA, Kraaijenhagen RJ, Braam BG, Marx JJ, Van de Wiel A. Response of erythropoiesis and iron metabolism to recombinant human erythropoietin in intensive care unit patients. *Crit Care Med* 2000; 28:2773-2778.
- Veng-Pedersen P, Widness JA, Pereira LM, Peters C, Schmidt RL, Lowe LS. Kinetic Evaluation of Nonlinear Drug Elimination by a Disposition Decomposition Analysis. Application to the Analysis of the Nonlinear Elimination Kinetics of Erythropoietin in adults humans. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 1995; Vol 84, No.6: 760-767.
- Viault F. Sur l'augmentation considérable du nombre de globules rouges dans le sang chez les habitants des hautes plateaux de l'Amérique du Sud. *CR Acad Sci Paris* 1980; 111:917-18.
- Ward JW, Holmberg SD, Allen JR, Cohn DL, Critchley SE, Kleinman SH, Lenes BA, Ravenholt O, Davis JR, Quinn MG, et al. Transmission of human immunodeficiency virus (HIV) by blood transfusions screened as negative for HIV antibody. *N Engl J Med* 1988; 318:473-8.
- Wasman J, Goodnough LT. Autologous blood donation for elective surgery. *JAMA* 1987; 258:3135-37.

- Weisbach V, Skoda P, Rippel R, Lauer G, Glaser A, Zingsem J, Zimmermann R, Eckstein R. Oral or intravenous iron as an adjunct to autologous blood donation in elective surgery: a randomized, controlled study. *Transfusion* 1999; 39:465-472.
- Weiskopf RB, Viele MK, Feiner J, Kelley S, Liebermann J, Noorani M, Leung JM, Fisher DM, Murray WR, Moore MA. Human cardiovascular and metabolic response to acute, severe isovolemic anemia. *J Am Med Association* 1998; 28:217-221.
- Welch HG, Meehan KR, Goodnough LT. Prudent strategies for elective red blood cell transfusion. *Ann Int Med* 1992; 116 (5): 393-402.
- White KL, Goodnough LT, Merkel KD, Davis MH, Monk TG. A comparison of autologous blood procurement techniques for total hip replacement surgery. *Anesth Analg* 1997;84:Suppl:S58. Abstract.
- Widness JA, Veng-Pedersen P, Peters C, Pereira LM, Schmidt L, Lowe LS. Erythropoietin pharmacokinetics in premature infants: developmental, nonlinearity, and treatment effects. *J Appl Physiol* 1996; 80(1):140-148.
- Williamson LM, Lowe S, Love EM, Cohen H, Soldan K, McClelland DB, Skacel P, Barbara JA. Serious hazards of transfusion (SHOT) initiative: analysis of the first two annual reports. *British Med J* 1999; 319: 16-19.
- Winearls CG, Oliver DO, Pippard MJ, Reid C, Downing MR, Cotes PM. Effect of human erythropoietin derived from recombinant DNA on the anaemia of patients maintained by chronic haemodialysis. *Lancet* 1986; 2:1175-8.
- Winslow RM. Blood substitutes – a moving target. *Nat Med* 1995;1:212-5.
- Wren C. An account of the rise and attempts, to away to convey liquors immediately into the mass of blood. *Philosophical Transactions Royal Society London*, 1665;1:128.
- Yamazaki C, Watanabe Y, Sakamoto N. Pharmacokinetic study of recombinant human erythropoietin treatment in pre-dialysis end stage renal disease patients. *Japanese Journal of Nephrology* 1993; 35 (11): 29-37.
- Yudin SS. Transfusion of cadaver blood. *J Am Med Assoc* 1937;109:128.

**ANNEX**