



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI CATANIA

**DOTTORATO DI RICERCA IN
BIOMEDICINA TRASLAZIONALE**

Coordinatore: Prof. Lorenzo Malatino

Eva Intagliata

**LE ALTERAZIONI EMOCOAGULATIVE ED
IMMUNOLOGICHE DOPO CHIRURGIA OPEN
E LAPAROSCOPICA**

Tesi di Dottorato

Tutor: Chiar.mo Prof. Francesco Basile

ANNO ACCADEMICO 2016/2017

INDICE

INTRODUZIONE	PAG. 3
FISIOLOGIA E FISIOPATOLOGIA	PAG. 4
MATERIALI E METODI.....	PAG. 17
RISULTATI.....	PAG. 20
ALTERAZIONI EMOCOAGULATIVE POST-CHIRURGICHE.....	PAG. 35
PREVENZIONE DEL TROMBOEMBOLISMO VENOSO	PAG. 47
CORRELAZIONI TRA SISTEMA EMOCOAGULATIVO E SISTEMA IMMUNITARIO	PAG. 54
RAPPORTO NEUTROFILI / LINFOCITI CIRCOLANTI	PAG. 67
CONCLUSIONI.....	PAG. 69
BIBLIOGRAFIA	PAG. 73

INTRODUZIONE

Nonostante l'applicazione di una corretta tromboprofilassi, il tasso residuo di tromboembolismo venoso (TEV) nei pazienti chirurgici si aggira in Letteratura intorno al 10 – 15 % [1].

Negli ultimi anni, con il sopravvento della chirurgia laparoscopica, gli Autori in Letteratura hanno iniziato a discutere le differenze emergenti in termini di aspetti medici e clinici tra la chirurgia tradizionale e la chirurgia laparoscopia, come le alterazioni emocoagulative ed immunologiche.

La chirurgia laparoscopica è stata considerata una procedura a basso rischio di sviluppare trombosi venosa profonda ed embolia polmonare, in quanto comporta un limitato trauma chirurgico ed una precoce deambulazione post-operatoria. In realtà, l'incidenza di trombosi venosa profonda e di embolia polmonare dopo chirurgia laparoscopica è poco chiara, in quanto studi sulle alterazioni dell'emostasi dopo laparoscopia mostrano risultati contraddittori.

Gli interventi chirurgici possono inoltre indurre profonde alterazioni nelle capacità immunitarie dell'organismo che sono proporzionali alla grandezza del trauma chirurgico, e che contribuiscono allo stato di ipercoagulabilità ematica. Tale immuno-modulazione può inoltre predisporre i pazienti ad episodi settici post-operatori e anche alla progressione di un eventuale tumore residuo, come dimostrato da sempre crescenti evidenze sperimentali. Piuttosto che provare a contrapporre specifici elementi dell'intricata risposta immunitaria all'insulto chirurgico, vari Autori in Letteratura sostengono che, riducendo il danno tissutale, come avviene in chirurgia mininvasiva, la reazione immunitaria del paziente venga alterata in minore misura rispetto che alla chirurgia tradizionale.

Obiettivo di questo studio è studiare e comparare i cambiamenti immunitari, emocoagulativi e dei parametri fibrinolitici in 2 gruppi omogenei di pazienti sottoposti rispettivamente a chirurgia laparoscopica e chirurgia tradizionale (open), allo scopo di individuare i meccanismi molecolari delle alterazioni emocoagulative, per perfezionare la profilassi antitrombotica e per lo sviluppo di nuove terapie volte a curare i disordini trombo-embolici. La presente ricerca inoltre migliorerà le conoscenze circa le alterazioni indotte dall'insulto chirurgico sull'assetto emocoagulativo ed immunitario, permetterà di stabilire e di comparare i benefici e i rischi della metodica laparoscopica e tradizionale, e di programmare strategie mediche e chirurgiche secondo le necessità specifiche del singolo paziente.

Keywords: coagulazione e immunità; tromboembolismo venoso; laparoscopia.

FISIOLOGIA E FISIOPATOLOGIA

Il tromboembolismo venoso (TEV) è la forma di rischio più comune e temibile del paziente sottoposto ad intervento chirurgico, da non sottovalutare nel paziente asintomatico. È una comune causa di morte prevenibile [2,3] nei pazienti ospedalizzati. L'incidenza delle complicanze tromboemboliche riportata in Letteratura arriva fino al 80% [4-9], con una mortalità del 33,3% negli Stati Uniti [2]. L'incidenza è più alta nei pazienti con patologia maligna [3].

Per meglio comprendere la fisiopatologia della trombosi venosa profonda (TVP), occorre fare riferimento alla triade di Virchow, che descrive le tre grandi categorie di fattori responsabili della trombosi:

1. Variazioni emodinamiche (stasi, turbolenza);
2. Lesioni endoteliali;

3. Stato di ipercoagulabilità.

Fenomeni di stasi si hanno in presenza di stasi venosa, vene varicose, immobilità prolungata, stenosi mitralica, pneumoperitoneo. Lesioni e/o traumi endoteliali sono conseguenti a rottura vasale, danni da taglio (chirurgia, trauma), ipertensione, contatto con superfici procoagulanti (batteri, materiali estranei, impianti di biomateriali o di dispositivi medici, membrane delle piastrine attivate e dei monociti durante una infiammazione cronica). Stati di ipercoagulabilità sono presenti in corso di iperviscosità ematica, deficit di ATIII, PC, PS o del fattore V di Leiden, sindrome nefrosica, gravi traumi o ustioni, patologia tumorale maligna, gravidanza avanzata, fumo di sigaretta, contraccettivi orali e obesità.

Gould et al. nelle linee guida per la prevenzione del TEV in pazienti chirurgici non ortopedici, il rischio di TEV varia secondo fattori paziente-specifici e procedure-specifiche [2]. Tra i fattori paziente-specifici si annoverano: età > 60 anni, pregressa TEV, cancro, durata dell'anestesia ≥ 2 ore, allettamento ≥ 4 giorni, sesso maschile, sepsi, gravidanza, puerperio, cateterismo venoso centrale, ospedalizzazione > 2 giorni, complicanze post-operatorie (infezioni, insufficienza renale acuta, trasfusioni post-operatorie, infarto miocardico acuto peri-operatorio e polmonite) [10-13].

Per quanto riguarda i fattori legati alle procedure, secondo Gould et al. [2] esempi di procedure a basso rischio di TEV sono la colecistectomia laparoscopica, l'appendicectomia, la resezione di prostata trans-uretrale, l'erniorraffia inguinale e la mastectomia uni- o bilaterale. La chirurgia addominale e pelvica per cancro è a più alto rischio di TEV [2], mentre la piccola chirurgia ambulatoriale nel paziente giovane è a più basso rischio di TEV [10,11,14,15].

I pazienti affetti da cancro coloretale costituiscono un gruppo particolare di pazienti ad alto rischio di TEV. Nonostante la profilassi antitrombotica, essi hanno un rischio 2 volte maggiore di TEV post-operatoria rispetto ai pazienti non oncologici [16]. Se questi pazienti si ammalano di TEV, corrono un rischio 3 volte maggiore di embolia polmonare fatale [17].

La chirurgia laparoscopica è stata considerata una procedura a basso rischio di sviluppare TVP ed embolia polmonare, in quanto comporta un limitato trauma chirurgico e una precoce deambulazione post-operatoria [5,8,18]. Sebbene sporadiche, complicanze tromboemboliche dopo chirurgia laparoscopica sono state riportate negli anni da pochi Autori in Letteratura [9,19]. Finora l'incidenza di TEV dopo chirurgia laparoscopica è poco conosciuta, e gli studi riportati sull'assetto emocoagulativo post-operatorio talvolta mostrano risultati contraddittori.

La scelta dei parametri più adeguata per raggiungere tale scopo è vertita sui valori di: piastrinemia, PT, aPTT, fibrinogeno, D-dimero, LAC, ATIII, PC, PS, anticorpi anti-cardiolipina (ACA) M e G, anticorpi anti-fosfolipidi M e G, anticorpi anti- β 2glicoproteina M e G, e sull'esecuzione di un tromboelastogramma. Per meglio seguire le variazioni nel tempo di tali parametri, i campioni di sangue sono stati prelevati nel periodo pre-operatorio (il giorno dell'intervento), 24 ore dopo l'intervento chirurgico e 5 giorni dopo l'intervento stesso.

Di seguito riporto una breve disamina sulla funzione di ogni parametro emocoagulativo ed immunologico.

- Il tempo di protrombina (PT) o “tempo di Quick” misura la qualità della via estrinseca della coagulazione. Viene usato per determinare la tendenza alla

coagulazione, per misurare i fattori della coagulazione I, II, V, VII e X, per adeguare il dosaggio del Warfarin, per determinare la gravità di una epatopatia e lo stato della vitamina k. Il range di normalità del PT è di 10 – 13 secondi. È il tempo impiegato dal plasma a coagulare dopo l'aggiunta del fattore tissutale. La PT è una proteina sintetizzata dal fegato secondo un meccanismo vitamina k – dipendente.

- Il tempo di tromboplastina parziale (PTT) valuta l'efficacia della via intrinseca e della via comune della coagulazione. Il tempo di tromboplastina parziale attivata (aPTT) è la versione più sensibile del PTT e viene usata per controllare la risposta del paziente all'eparina nel trattamento dei disturbi trombo-embolici, per caratterizzare i coaguli e a scopo di ricerca nelle emofilie [20]. Valuta i fattori I (fibrinogeno), II (protrombina), V, VIII, IX, X, XI e XII, ma eventuali carenze non saranno rilevate finché non saranno diminuite dal 30% al 40% del valore normale. Un valore di aPTT alto (> 30-40 secondi) indica una carenza di uno o più fattori della coagulazione, l'uso di eparina, lupus anticoagulans, la presenza di un inibitore non specifico dei fattori della coagulazione. Un calo di aPTT indica un aumento del fattore VIII per patologia acuta o cronica o per flogosi o un prelievo difficile.
- Il fibrinogeno è una glicoproteina plasmatica sintetizzata dal fegato e dal tessuto endoteliale. Viene trasformato in fibrina dalla trombina, necessaria alla formazione del trombo emostatico.

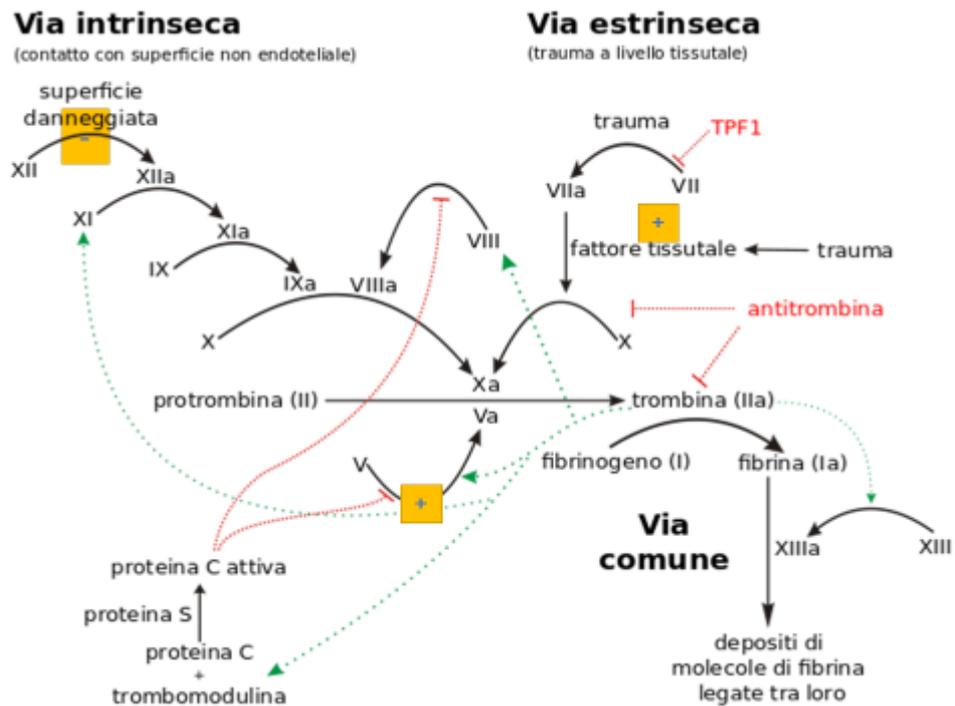
- Il D-dimero è un prodotto della degradazione della fibrina ad opera della plasmina. Teoricamente non dovrebbe essere presente nel plasma, tranne quando viene attivato il sistema della coagulazione. In realtà una sua bassa concentrazione è sempre presente nei soggetti sani, ad indicare un equilibrio dinamico tra la formazione della fibrina e la sua degradazione (bilancia emostatica). Il D-dimero aumenta in condizioni fisiologiche quali età > 65 anni (aterosclerosi), periodo neonatale, gravidanza (ipercoagulabilità), e patologiche (ospedalizzazione, infezioni, traumi maggiori, ictus, scompenso cardiaco, neoplasie, coagulazione intravascolare disseminata (CID), interventi chirurgici, malattie epatiche e renali, malattie infiammatorie croniche, tromboembolismo venoso, terapia trombolitica).
- L'antitrombina III (ATIII) è una glicoproteina di 58.000 Dalton sintetizzata dal fegato e con emivita di circa 3 giorni. Inibisce principalmente la trombina (fattore IIa) e i fattori Xa, XIIa, XIa e IXa, e la Callicreina. La sua azione è accelerata dall'eparina (attività cofattore dell'eparina). L'attività dell'ATIII è direttamente legata alla sua struttura che caratteristicamente ha 2 siti attivi, uno per il legame con le proteasi seriniche, l'altro con l'eparina. Il sito di legame dell'ATIII alle proteasi seriniche consente la formazione di complessi equimolecolari stabili (irreversibili) e inattivi, rapidamente depurati dal fegato. Il complesso con l'eparina provoca un cambiamento dell'ATIII, che rende accessibile il sito di legame alle proteasi seriniche, accelerandone l'inibizione. Dopo avere facilitato la formazione del complesso ATIII – proteasi seriniche, l'eparina si distacca, legandosi a

nuove molecole di ATIII. Carenze acquisite di ATIII sono legate a: trattamento con eparina (riduzione del 10 – 20% per una più rapida eliminazione dell'ATIII legata all'eparina); periodo post-operatorio per trauma con coagulopatia da consumo (riduzione del 10 – 15%), CID, cirrosi, sindrome nefrosiche.

- La proteina C (PC) è uno zimogeno circolante che viene attivato dalla trombina quando complessata con il recettore endoteliale della trombomodulina. La PC attivata risultante, inattiva i fattori Va e VIIIa, amplificati dal cofattore PS, e sopprime la generazione di trombina e di ulteriori trombi [21]. La funzione anticoagulante della PC si esplica maggiormente sull'endotelio piuttosto che sulla superficie piastrinica [22].
- La proteina S (PS) è una proteina vitamina k – dipendente ed è principalmente sintetizzata dal fegato e dalle cellule endoteliali. Ha funzione di cofattore della proteina C e ne potenzia l'attività di degradazione proteolitica del fattore V e VIII. Inoltre è molto importante nella fagocitosi di cellule apoptotiche, media il legame tra i fagociti e la cellula morente da eliminare, facendone da ponte. È anche un anticoagulante fisiologico e la sua diminuzione o la sua alterata funzionalità porta alla diminuzione della degradazione dei fattori V e VIII, e quindi ad un aumento del rischio trombotico venoso. Il deficit acquisito della PS avviene a causa di un trattamento con warfarin, terapia ormonale sostitutiva, gravidanza, alcune

malattie epatiche, infezioni croniche (HIV). Il deficit può causare CID, TVP ed embolia polmonare.

- Gli anticorpi antifosfolipidi sono un gruppo eterogeneo di autoanticorpi prodotti dall'organismo secondo meccanismi non ancora del tutto noti, e sono diretti contro i fosfolipidi e le proteine plasmatiche che hanno affinità per le superfici a carica negativa, come la β 2microglobulina, PT, PC, PS, trombomodulina, annessina V, attivatore tissutale del plasminogeno, chininogenici, fattore XII della coagulazione, lipoproteine a bassa densità ossidate (ox-LDL). Gli anticorpi antifosfolipidi sono divisi in tre classi (lupus anticoagulans, anti- β 2glicoproteina e anticorpi anti-cardiolipina), inibiscono l'inattivazione del fattore V attivato dalla PC su una superficie fosfolipidica, inibiscono il fattore tissutale, espongono i fosfolipidi anionici a seguito della dislocazione dell'annessina V, riducono la fibrinolisi a seguito della riduzione dell'autoattivazione del fattore XII della coagulazione fosfolipide-dipendente, inibiscono i complessi eparina – antitrombina, stimolano la sintesi e l'esposizione del fattore tissutale su monociti e cellule endoteliali, danneggiano l'endotelio provocandone l'apoptosi, promuovono l'adesione cellulare a superfici vascolari, inducono l'attivazione piastrinica, cross-reagiscono con le LDL ossidate, aumentano l'endotelina 1, alterano la sintesi degli eicosanoidi e aumentano il PAI-1. I parametri più comunemente alterati sono aPTT e specifici fattori della coagulazione basati sull'aPTT [23].



- Il Lupus-like anticoagulant (LAC) è un fattore anticoagulante che provoca un aumento del tempo di tromboplastina parziale attivata (aPTT), esplicando la sua azione prevalentemente a livello dei fosfolipidi e correggibile con l'aggiunta di fosfolipidi piastrinici o plasmatici. Nei pazienti affetti da connettivopatie sono presenti anticorpi anti-fosfolipidi a cui si associano manifestazioni tromboemboliche arteriose e venose, trombocitopenia e aborti. Un rialzo del LAC è riscontrabile anche nelle puerpere.
- La β 2glicoproteina (vecchio nome di apolipoproteina H) altera l'aggregazione piastrinica ADP-mediata, in quanto inibisce il rilascio di serotonina da parte delle piastrine e previene così l'aggregazione piastrinica ADP-indotta. Inoltre inibisce la produzione del fattore Xa e l'attivazione del

fattore XIIIa. La β 2glicoproteina è quindi un anticoagulante, ma può avere attività pro-coagulante in determinate condizioni. Essa inibisce l'attività della PC, che è coinvolta nella degradazione del fattore Va. Se si aggiungono fosfolipidi, questa attività inibitoria si riduce. Gli anticorpi anti- β 2glicoproteina (anticorpi anti-lipoproteina H) inibiscono l'attività anticoagulante in presenza di β 2glicoproteina, interferiscono con l'inibizione del fattore X stimolata dalla β 2glicoproteina, inibiscono l'autoattivazione del fattore XII, aumentano la formazione della trombina mediante amplificazione delle reazioni pro-coagulanti sul TF.

- La cardiolipina è un fosfolipide della membrana interna mitocondriale, ed è responsabile dell'impermeabilità ai protoni. Il suo nome è dovuto al fatto che fu scoperta nelle cellule cardiache. Nelle malattie in cui si ha un forte rimaneggiamento cellulare (sifilide, sindrome da anticorpi antifosfolipidi, vasculiti, sindrome di Behcet, LES, aborto spontaneo idiopatico), essa può essere liberata dalle cellule e stimolare la formazione di anticorpi specifici per essa, chiamati anticorpi anti-cardiolipina (ACA) o "reagine". Esse possono presentarsi come Ig-M, Ig-G o Ig-A, oppure essere β 2glicoproteina – dipendenti o indipendenti. Solo un sottoinsieme di ACA lega la β 2glicoproteina, con conseguente rialzo del rischio trombotico.
- Il tromboelastogramma misura le proprietà viscoelastiche del sangue coagulato e non (citrato) dopo induzione della coagulazione in condizioni

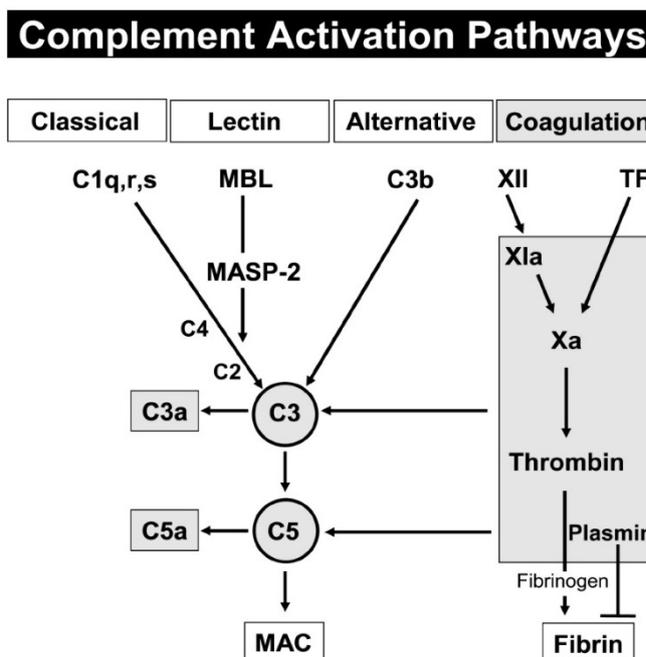
similari alle proprietà reologiche venose in vivo. Il tipo di cambiamento nella viscoelasticità riflette le cinetiche di tutte le fasi che portano alla formazione del trombo (reazione (r), tempo di coagulazione (k), tempo di coagulo (CT) e tempo di formazione del coagulo (CFT)), la stabilità del coagulo, che è funzione dell'interazione tra piastrine e fibrina e della polimerizzazione della fibrina (ampiezza massima (MA), stabilità massima del coagulo (MCF)), come pure il suo dissolvimento (fibrinolisi) [20].

Il sistema emocoagulativo è caratterizzato dalla rapida attivazione topica e sequenziale di una serie di proteasi sieriche, che culminano nella produzione di trombina con conseguente conversione del fibrinogeno in un coagulo di fibrina. L'emostasi è il risultato dell'attivazione di due diversi sistemi, la via intrinseca e la via estrinseca della coagulazione, che vengono attivate a contatto con le superfici di piastrine, particelle estranee, biomateriali, o endotelio attivato [24].

Il fattore tissutale (TF) è il *promotore chiave* della cascata emocoagulativa ed è espresso maggiormente dalle cellule parietali vasali subendoteliali e dai fibroblasti dell'avventizia. Secondo alcuni studiosi, il TF è prodotto anche dai monociti e dai neutrofili in microparticelle o in forma solubile. In seguito al danneggiamento dell'endotelio vascolare, il TF è esposto alla circolazione sanguigna e forma un complesso col fattore VII attivato, attivando i fattori IX e X. Entrambe le vie emocoagulative culminano nel rilascio del fattore Xa.

Il fattore Xa converte la protrombina in trombina, attivando i fattori V e VIII. I fattori VIII attivato e V attivato sono rispettivamente cofattori per il fattore IX attivato, che a sua volta attiva il fattore X, e per il fattore X attivato, che converte

La modulazione dell'estensione del coagulo e la restaurazione dell'integrità vascolare con la guarigione, è mediata dal sistema fibrinolitico, che coinvolge una distinta cascata enzimatica che porta alla rimozione dei depositi di fibrina. La componente chiave del sistema fibrinolitico è il plasminogeno, che viene attivato in plasmina da due serin-proteasi: l'attivatore del plasminogeno tissutale e l'attivatore urochinasico del plasminogeno. Il primo è coinvolto nella fibrinolisi; il secondo nella produzione di plasmina. La plasmina è un potente enzima proteolitico che rompe i coaguli di fibrina in prodotti di degradazione, i quali sono chemiotattici per i neutrofilo. La plasmina contribuisce anche alla risposta infiammatoria, attivando la via classica del complemento.



Il sistema fibrinolitico modula il sistema immunitario, è regolata dai mediatori infiammatori e viene reclutata anche dai patogeni, spesso a scapito dell'organismo.

La cellula endoteliale promuove un bilanciato equilibrio tra attività antitrombotiche e protrombotiche, agenti su tutti i versanti del processo emostatico. L'integrità della superficie endoteliale previene di per sé la deposizione, nonché l'adesione piastrinica; le cellule endoteliali secernono inoltre PGI₂ ed NO, potenti vasodilatatori ed antiaggreganti piastrinici. L'endotelio esprime inoltre sia la trombomodulina, recettore della trombina che la rende affine alla proteina C (potenziata dal legame con la proteina S), che catene di eparansolfato, catalizzanti l'interazione tra ATIII e trombina. Infine, la corrente sanguigna stimola la secrezione endoteliale di tPA ed uPA.

Di contro, la superficie luminale vasale costituisce la principale fonte di produzione di PAF (fattore attivante le piastrine) e vWF, potenti attivatori dell'aggregazione piastrinica. Endotossine o citochine, quali TNF e IL1, inducono la produzione di TF, innescando la via estrinseca della coagulazione. Infine la fibrinolisi può risultare inattivata dalla liberazione di PAI, inattivatore del plasminogeno.

In condizioni fisiologiche, la bilancia emostatica endoteliale pende comunque più verso la produzione di fattori antitrombotici.

Questi processi biochimici sono fisiologicamente rilevanti, in quanto la loro alterazione predispone spesso a disordini trombotici.

MATERIALI E METODI

Un totale di 30 pazienti sono stati arruolati nel mio studio, e due gruppi di pazienti omogenei per numero, età, sesso, comorbidità, e tempi operatori, sono stati prospetticamente creati.

Criteri di esclusione sono: pregresso intervento chirurgico addominale, malattie immunitarie, età < 18 anni e > 65 anni, condizioni che interferiscono con la coagulazione e/o con la funzionalità del sistema immunitario (sepsi, storia di tromboembolismo arterioso o venoso, chirurgia o traumi recenti, assunzione di corticosteroidi e/o di antiaggreganti/anticoagulanti).

Quattordici pazienti del primo gruppo sono stati sottoposti a chirurgia laparoscopica (gruppo A): 7 (50%) per colecistectomia, 3 (21,4%) per splenectomia, 1 (7,1%) per emicolectomia destra e 3 (21,4%) per emicolectomia sinistra. Sedici pazienti del gruppo B sono stati sottoposti a chirurgia open: 8 (50%) per isterectomia, 1 (6,2%) per resezione duodenale, e 7 (43,7%) per ernioplastica inguinale.

L'età media dei pazienti era di anni 52.2 nel gruppo laparoscopico con il rapporto maschi-femmine uguale a 0,76; anni 48 con rapporto maschi-femmine pari a 0,24. La chirurgia laparoscopica è stata eseguita in tutti i casi con pneumoperitoneo mantenuto ad una pressione di 12 mmHg. Il tempo operatorio medio è stato di 55 minuti (range: 40-116 min) nel gruppo laparoscopico e 70 minuti (range: 45-120 min) nel gruppo open.

Tutti i pazienti sono stati sottoposti a profilassi pre-operatoria antitrombotica secondo le linee guida internazionali e in base alla classe di rischio tromboembolico, e a profilassi antibiotica il giorno dell'intervento.

Il consenso informato per l'inclusione del paziente nello studio e per il trattamento dei dati personali ai fini dello svolgimento dello stesso, è stato ottenuto da tutti i pazienti e lo studio è stato approvato dal comitato etico dell'ospedale.

Campioni di sangue venoso per la determinazione dei parametri emostatici e immunitari sono stati raccolti prima dell'intervento chirurgico, 24 ore dopo l'intervento chirurgico e 5 giorni dopo in entrambi i gruppi presso la Clinica Chirurgia dell'ospedale Vittorio Emanuele di Catania, e sono stati inviati presso la U.O. di Ematologia dell'ospedale Ferrarotto di Catania per essere analizzati.

I parametri considerati nel presente progetto di ricerca sono, per quanto riguarda lo studio dell'emostasi, i marcatori della coagulazione, e per il profilo immunologico, il rapporto neutrofili/linfociti (NLR). Tali marcatori sono di seguito elencati: piastrinemia, fibrinogenemia, D-dimero, tempo di protrombina (PT), tempo di tromboplastina parziale attivata (aPTT), lupus like anti-coagulans (LAC), antitrombina III (ATIII), proteina C (PC), proteina S (PS), anticorpi anticardiolipina (ACA) IgM e IgG, anticorpi antifosfolipidi IgM e IgG, anti β 2glicoproteina IgM e IgG. Un tromboelastogramma è stato eseguito in tutti i tempi stabiliti ed in tutti i pazienti per valutare il processo coagulativo nel suo complesso.

Una provetta di emocromo (contenente EDTA), 4 provette da coagulazione (contenenti una soluzione tamponata di sodio citrato), e 2 provette da siero (con microparticelle di silice) sono state impiegate per ciascun paziente per prelevare il sangue venoso nel periodo preoperatorio (il giorno stesso dell'intervento), 24 ore dopo l'intervento e 5 giorni dopo l'intervento chirurgico.

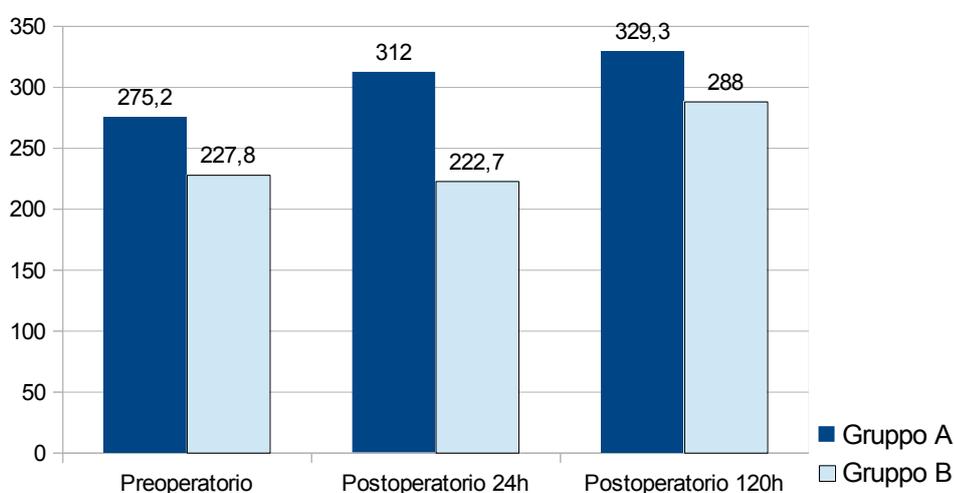
Tali provette sono state analizzate presso la U.O. di Ematologia dell'ospedale Ferrarotto di Catania per la parte che riguarda lo studio emocoagulativo.

La significatività statistica della variazione dei parametri medi all'interno di ogni singolo gruppo nelle diverse occasioni prese in esame è stata saggiata mediante test t di Student per dati non appaiati. I confronti incrociati tra i due gruppi sono invece stati realizzati mediante one-way ANOVA. In entrambi i casi la significatività statistica è verificata da un p-value < 0,05. La distribuzione è normale.

I dati provengono da pazienti operati presso la U.O. Clinica Chirurgica dell'Università degli Studi di Catania diretta dal prof. Francesco Basile, sono stati valutati nell'ambito del progetto FIR di cui è responsabile il prof. Rosario Vecchio, in collaborazione con la U.O. di Ematologia dell'ospedale Ferrarotto di Catania.

RISULTATI

Piastrine (U/10³μL)

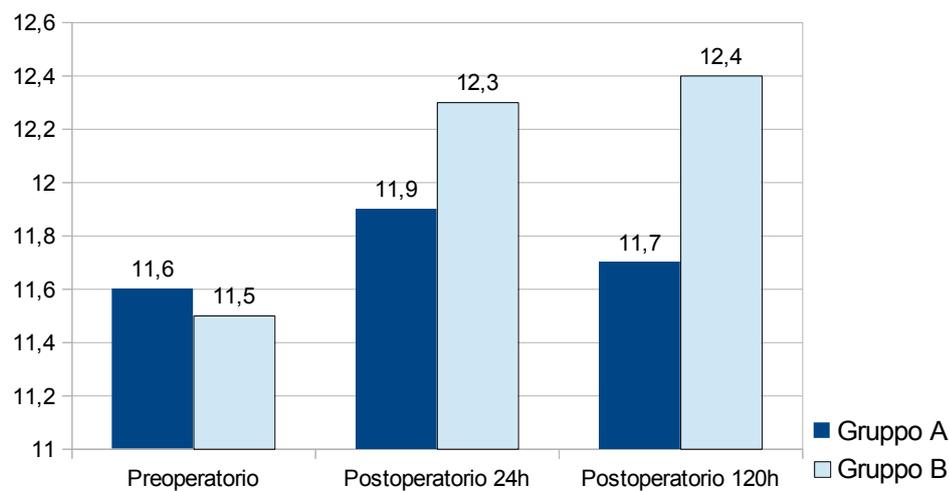


Il valore medio piastrinico preoperatorio risulta pari a $275 \pm 16,1$ U/103 μ L (range 255-295) nel gruppo A e $227 \pm 66,5$ U/103 μ L (range 173-327) nel gruppo B. Nel primo gruppo si osserva un lieve incremento del valore medio, che si porta a $312 \pm 98,1$ U/103 μ L (range 187-438) a 24 ore dall'intervento ($p=0,38$) ed a $329,3 \pm 196,6$ U/103 μ L (range 185-553) a 5 giorni dallo stesso ($p=0,49$).

Il secondo gruppo mostra un valore medio paragonabile a quello preoperatorio a 24 ore dall'intervento ($p=0,92$), pari a $222,7 \pm 66,5$ U/103 μ L (range 173-327) ed una risalita dello stesso a 5 giorni ($p=0,48$) che risulta pari a $288 \pm 0,0$ U/103 μ L (range 288-288).

L'ANOVA tra i due gruppi mostra valori pari a: $p=0,13$ nel preoperatorio, $p=0,21$ a 24 ore e $p=0,87$ a 120 ore.

PT (secondi)

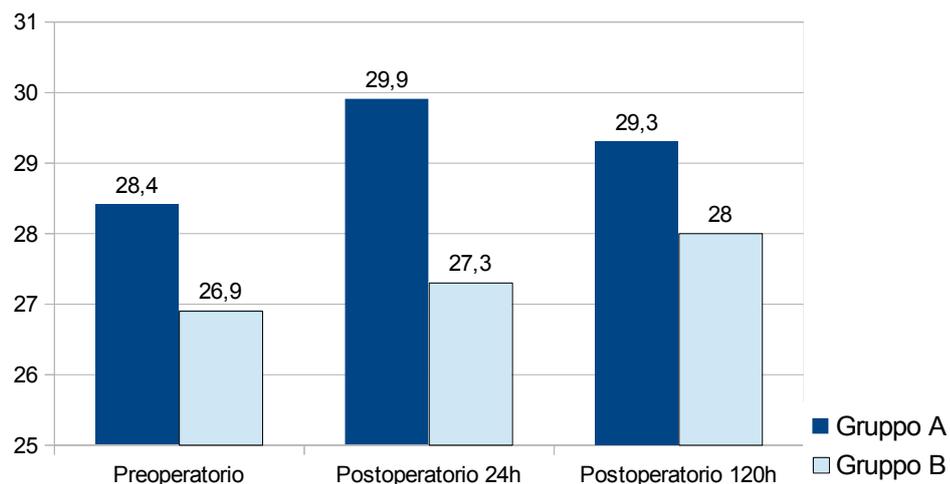


Il valore medio del PT (tempo di protrombina) preoperatorio risulta pari a 11,6 \pm 0,9 sec (range 10,7-13,2) nel gruppo A e 11,5 \pm 1 sec (range 9,9-12,7) nel gruppo B. Nel primo gruppo si osserva un lievissimo incremento del valore medio, che si porta a 11,9 \pm 1,2 sec (range 10,3-13,6) a 24 ore dall'intervento (p=0,51) ed un ritorno ai valori iniziali, con media pari a 11,7 \pm 0,3 sec (range 11,3-12) a 5 giorni dallo stesso (p=0,87).

Il secondo gruppo mostra un valore medio in crescita, pari a 12,3 \pm 1,2 sec (range 10,4-14,4), rispetto al preoperatorio, sia a 24 ore dall'intervento (p=0,11), che prosegue a 5 giorni (p=0,17) risultando pari a 12,4 \pm 0,7 sec (range 11,8-13,2).

L'ANOVA tra i due gruppi mostra valori pari a: p=0,8 nel preoperatorio, p=0,53 a 24 ore e p=0,13 a 120 ore.

aPTT (secondi)



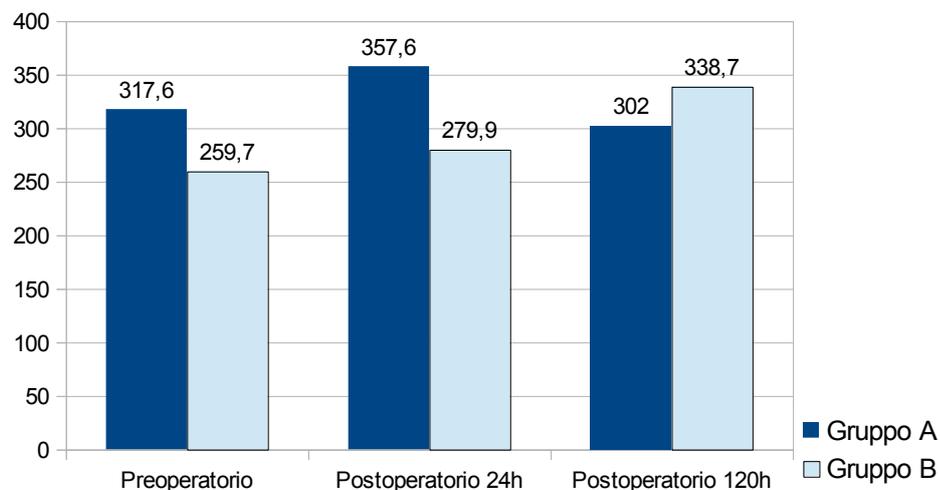
Il valore medio dell'aPTT (tempo di tromboplastina parziale) preoperatorio risulta pari a 28,4 \pm 4,8 sec (range 25-39) nel gruppo A e 26,9 \pm 3 sec (range 23-34)

nel gruppo B. Nel primo gruppo si osserva un incremento del valore medio, che si porta a $29,9 \pm 4,5$ sec (range 23-34) a 24 ore dall'intervento ($p=0,51$), il quale torna a scendere, con media pari a $29,3 \pm 3$ sec (range 26-33), a 5 giorni dallo stesso ($p=0,75$).

Il secondo gruppo mostra un valore medio in lieve crescita, pari a $27,3 \pm 2,7$ sec (range 23-31), rispetto al preoperatorio, sia a 24 ore dall'intervento ($p=0,72$), che prosegue a 5 giorni ($p=0,6$) risultando pari a $28 \pm 3,6$ sec (range 24-31).

L'ANOVA tra i due gruppi mostra valori pari a: $p=0,14$ nel preoperatorio, $p=0,23$ a 24 ore e $p=0,73$ a 120 ore.

Fibrinogeno (mg/dL)



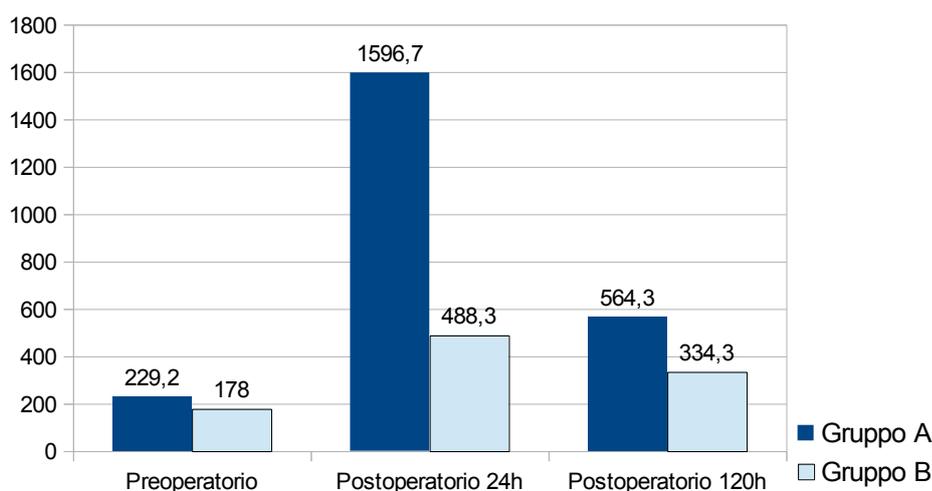
I valori medi del fibrinogeno preoperatorio risultano pari a $317,6 \pm 92,4$ mg/dl (range 219-514) nel gruppo A e $259,7 \pm 48,5$ mg/dl (range 152-343) nel gruppo B. Nel primo gruppo si osserva un incremento del valore medio, che si porta a $357,6 \pm 208,4$ mg/dl (range 178-803) a 24 ore dall'intervento ($p=0,6$) ed una lieve discesa

rispetto ai valori basali, con media pari a $302 \pm 61,6$ mg/dl (range 249-340) a 5 giorni dallo stesso ($p=0,37$).

Il secondo gruppo mostra un valore medio in crescita rispetto al preoperatorio sia a 24 ore dall'intervento ($p=0,62$), portandosi a $279,9 \pm 57,7$ mg/dl (range 210-421), che soprattutto a 5 giorni ($p=0,21$) risultando pari a $338,7 \pm 198,8$ mg/dl (range 178-561).

L'ANOVA tra i due gruppi mostra valori pari a: $p=0,14$ nel preoperatorio, $p=0,23$ a 24 ore e $p=0,73$ a 120 ore.

D-Dimero ($\mu\text{g/L}$)

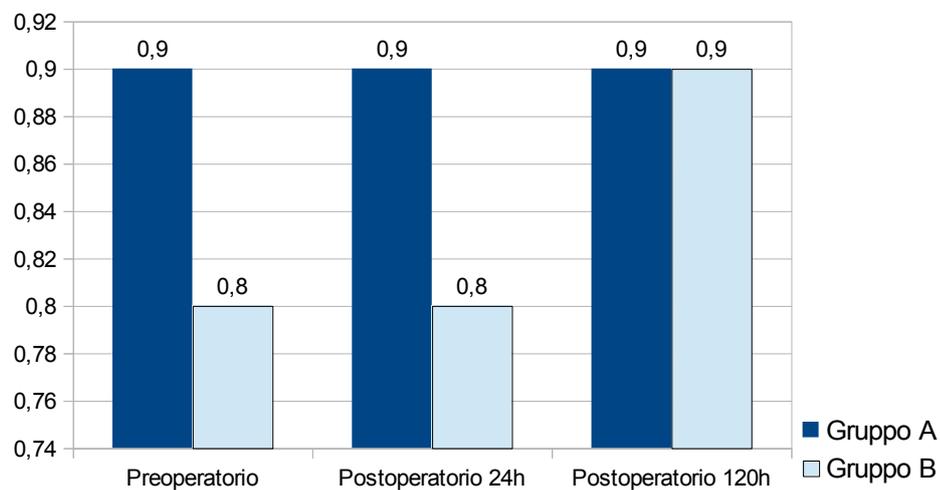


Il valore medio preoperatorio del D-Dimero risulta pari a $229,2 \pm 215,8$ $\mu\text{g/L}$ (range 91-661) nel gruppo A e 178 ± 77 $\mu\text{g/L}$ (range 99-296) nel gruppo B. Nel primo gruppo si osserva un valore medio in netta risalita che si porta a $1596,7 \pm 1672,2$ $\mu\text{g/L}$ (range 359-3499) a 24 ore dall'intervento ($p=0,0001$), ed una repentina discesa dello stesso, il quale risulta pari a $564,3 \pm 536,1$ $\mu\text{g/L}$ (range 96-1149) a 5 giorni dallo stesso ($p=0,2$).

Il secondo gruppo mostra un notevole incremento del valore medio, a 24 ore dall'intervento ($p=0,07$), pari a $488,3 \pm 138,1 \mu\text{g/L}$ (range 335-755) ed un lieve decremento dello stesso a 5 giorni ($p=0,0032$) che risulta pari a $334,3 \pm 277,9 \mu\text{g/L}$ (range 87-635).

L'ANOVA tra i due gruppi mostra valori pari a: $p=0,54$ nel preoperatorio, $p=0,05$ a 24 ore e $p=0,54$ a 120 ore.

LAC



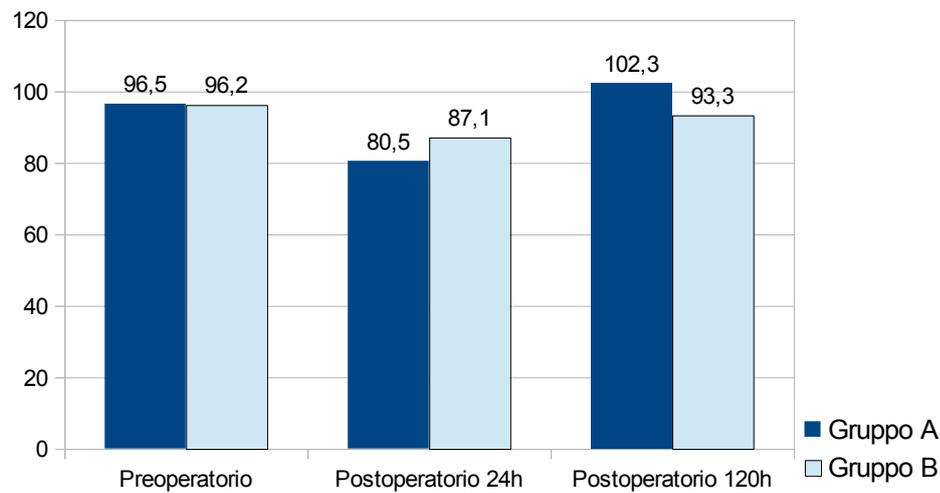
Il valori medi preoperatori del LAC (lupus anti-coagulant) risultano paragonabili e pari a $0,9 \pm 0,2$ Ratio (range 0,75-1,11) nel gruppo A e $0,8 \pm 0,1$ Ratio (range 0,7-0,9) nel gruppo B.

Nel primo gruppo il valore medio si mostra sostanzialmente invariato sia a 24 ore ($p=0,63$), $0,9 \pm 0,2$ Ratio (range 0,8-1), che a 5 giorni dall'intervento ($p=0,74$), $0,9 \pm 0,1$ Ratio (range 0,8-1).

Nel secondo gruppo il valore medio risulta invariato a quello preoperatorio a 24 ore dall'intervento ($p=0,13$), $0,8\pm 0,1$ Ratio (range 0,7-0,9) e lievemente in risalita a 5 giorni ($p=0,11$) risultando pari a $0,9\pm 0$ Ratio (range 0,9-1).

L'ANOVA tra i due gruppi mostra valori pari a: $p=0,28$ nel preoperatorio, $p=0,26$ a 24 ore e $p=0,76$ a 120 ore.

AT III (%)

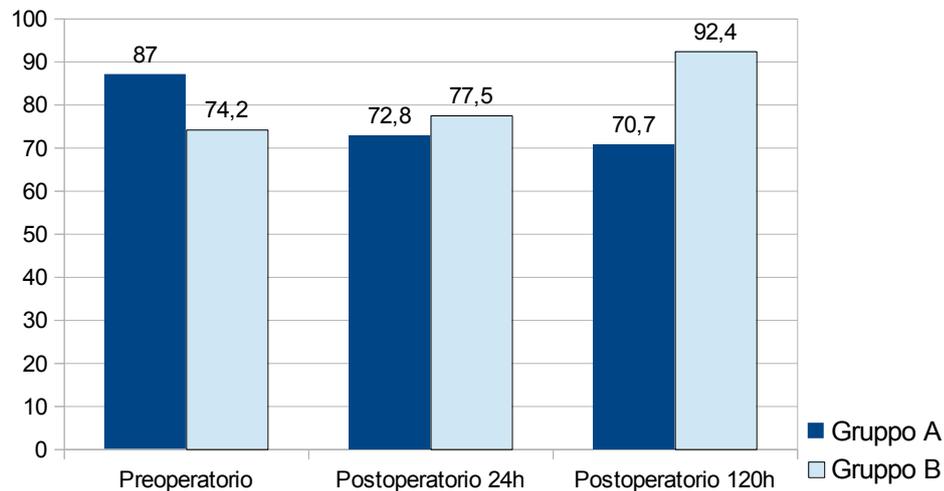


Il valore medio di ATIII preoperatorio risulta paragonabile tra i due gruppi e pari a $96,5 \pm 13\%$ (range 80-116) nel gruppo A e $96,2 \pm 9,2\%$ (range 83-113) nel gruppo B. Nel primo gruppo si osserva una diminuzione del valore medio, che si porta a $80,5 \pm 13,9\%$ (range 71-103) a 24 ore dall'intervento ($p=0,19$) ed una netta risalita dello stesso a 5 giorni ($p=0,93$), con valore pari a $102,3 \pm 17,2\%$ (range 83-116).

Il secondo gruppo mostra un valore medio in discesa rispetto a quello preoperatorio, $87,1 \pm 9,4\%$ (range 77-100) a 24 ore dall'intervento ($p=0,05$), ed un rientro dello stesso a 5 giorni ($p=0,75$), con valore pari a $93,3 \pm 24,1\%$ (range 73-120).

L'ANOVA tra i due gruppi mostra valori pari a: $p=0,96$ nel preoperatorio, $p=0,74$ a 24 ore e $p=0,62$ a 120 ore.

Proteina C (%)

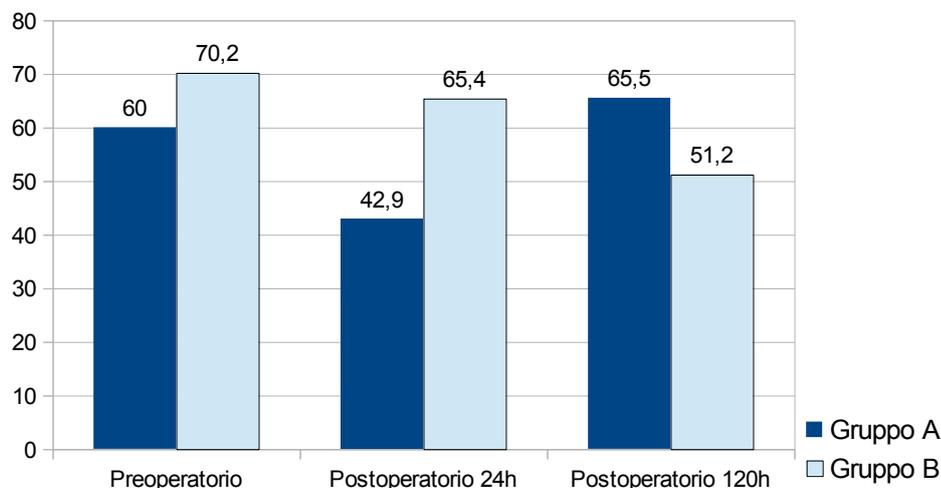


I valori medi preoperatori di proteina C risultano pari a $87 \pm 41\%$ (range 4,8-131) nel gruppo A e $74,2 \pm 46,4\%$ (range 0,6-134) nel gruppo B. Nel primo gruppo si osserva un decremento del valore medio, che si porta a $72,8 \pm 17,1\%$ (range 50-98), a 24 ore dall'intervento ($p=0,49$) per rimanere su valori simili, $70,7 \pm 51,6\%$ (range 4,8-131), a 5 giorni dallo stesso ($p=0,59$).

Il secondo gruppo mostra un valore medio paragonabile a quello preoperatorio a 24 ore dall'intervento ($p=0,83$), risultando pari a $77,5 \pm 28,6\%$ (range 23,7-132), per poi mostrare un netto incremento a 5 giorni ($p=0,7$) attestandosi a $92,4 \pm 42,3\%$ (range 64,1-141).

L'ANOVA tra i due gruppi mostra valori pari a: $p=0,55$ nel preoperatorio, $p=0,76$ a 24 ore e $p=0,58$ a 120 ore.

Proteina S (%)

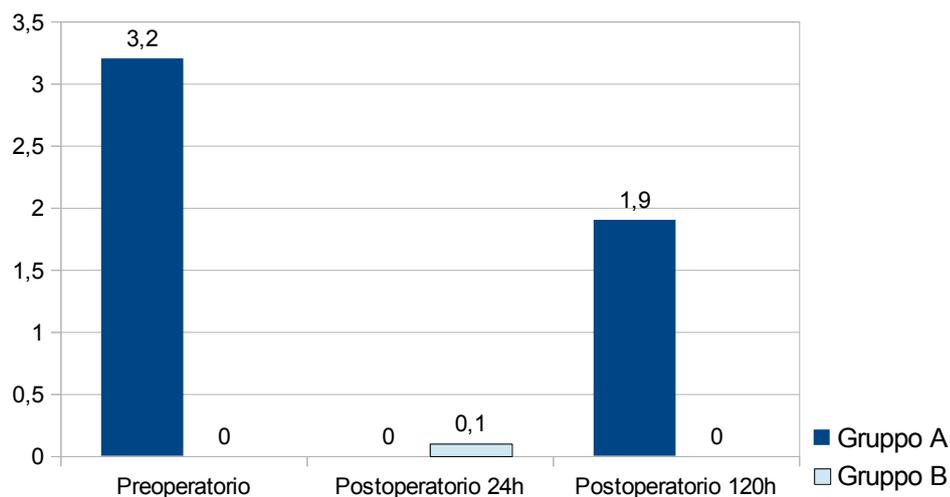


Il valore medio di proteina S preoperatorio risulta pari a $60 \pm 15,1\%$ (range 40,1-85) nel gruppo A e $70,2 \pm 12,2\%$ (range 53,5-87,3) nel gruppo B. Nel primo gruppo si osserva una diminuzione del valore medio, che si porta a $42,9 \pm 13,7\%$ (range 30,6-58,1) a 24 ore dall'intervento ($p=0,10$) ed una normalizzazione dello stesso a 5 giorni ($p=0,47$), con valore pari a $65,5 \pm 11,1\%$ (range 58-78,2).

Il secondo gruppo mostra un valore medio in discesa rispetto a quello preoperatorio, $65,4 \pm 11,4\%$ (range 47,9-85,2) a 24 ore dall'intervento ($p=0,4$), ed un rientro dello stesso a 5 giorni ($p=0,10$), con valore pari a $51,2 \pm 22,4\%$ (range 35,3-67).

L'ANOVA tra i due gruppi mostra valori pari a: $p=0,17$ nel preoperatorio, $p=0,010$ a 24 ore e $p=0,39$ a 120 ore.

ACA IgM (MPL/mL)

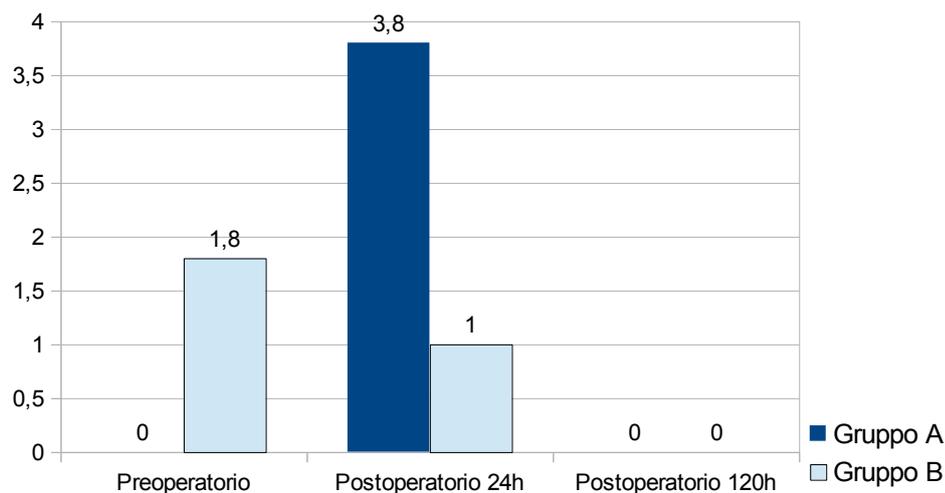


Il valore medio preoperatorio di ACA IgM risulta pari a $3,2 \pm 7,5$ MPL/mL (range 0-18,5) nel gruppo A e 0 MPL/mL nel gruppo B.

Il primo gruppo mostra un azzeramento del valore a 24 ore dall'intervento ($p=0,37$) e valori pari a $1,9 \pm 0,9$ MPL/mL (range 1,2-2,5) a 120 ore dallo stesso. Nel secondo gruppo si osserva una lieve positivizzazione del valore iniziale, con valore pari a $0,1 \pm 0,1$ MPL/mL (range 0-0,3), a 24 ore dall'intervento ($p=0,21$) ed un suo azzeramento a 120 ore.

L'ANOVA tra i due gruppi mostra valori pari a: $p=0,28$ nel preoperatorio, $p=0,30$ a 24 ore e $p=0,10$ a 120 ore.

ACA IgG (GPL/mL)



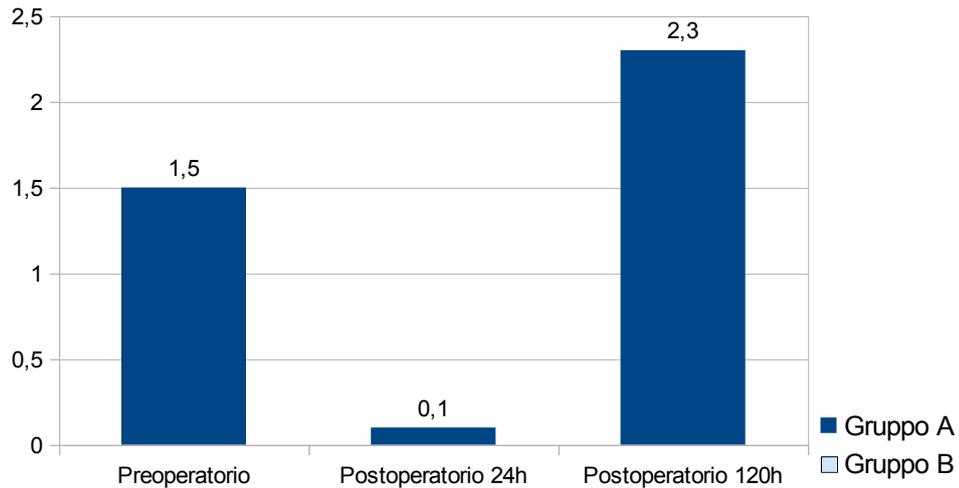
Il valore medio preoperatorio di ACA IgG risulta pari a $0 \pm 0,1$ GPL/mL (range 0-0,2) nel gruppo A e $1,8 \pm 4,4$ GPL/mL (range 0-11,7) nel gruppo B.

Il primo gruppo mostra un innalzamento a 24 ore dall'intervento ($p=0,26$) pari a $3,8 \pm 7,9$ GPL/mL (range 0-17,9) ed un azzeramento a 120 ore dallo stesso.

Nel secondo gruppo si osserva una positivizzazione del valore iniziale, con valore pari a $1 \pm 3,1$ GPL/mL (range 0-9,2), a 24 ore dall'intervento ($p=0,69$) ed un suo azzeramento a 120 ore.

L'ANOVA tra i due gruppi mostra valori pari a: $p=0,35$ nel preoperatorio, $p=0,35$ a 24 ore.

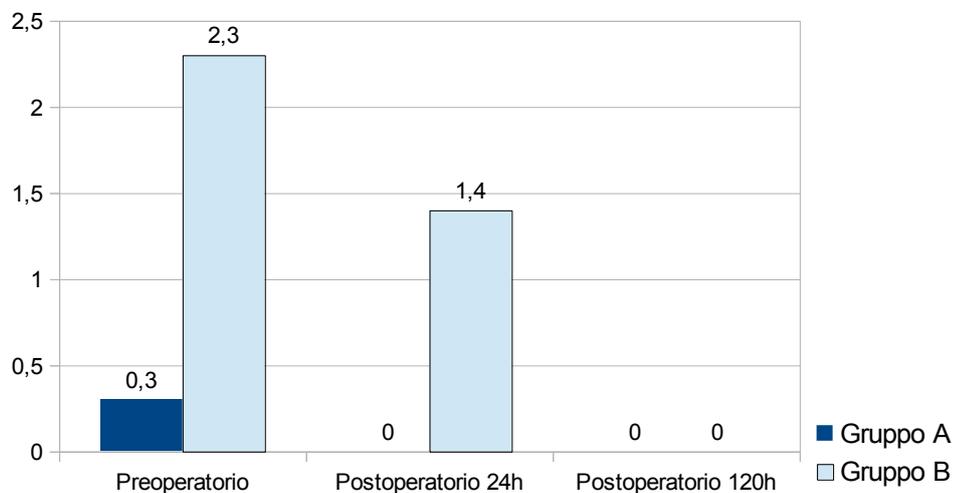
Anti β 2 glicoproteina I IgM (UA/mL)



Il valore medio preoperatorio di anti-β2 glicoproteina I IgM del gruppo A risulta pari a 1,5 ±3,4 UA/mL (range 0-8,5) per scendere a 0,1 ±0,2 UA/mL (range 0-0,4) a 24 ore (p=0,4) dall'intervento e risalire a 2,3 ±1,3 UA/mL (range 1,3-3,2) a 120 ore(p=0,78). Il gruppo B mostra valori pari a 0 in tutte le rilevazioni effettuate.

L'ANOVA tra i due gruppi mostra valori pari a: p=0,27 nel preoperatorio, p=0,077 a 24 ore e p=0,14 a 120 ore.

Anti β2 glicoproteina I IgG (UA/mL)

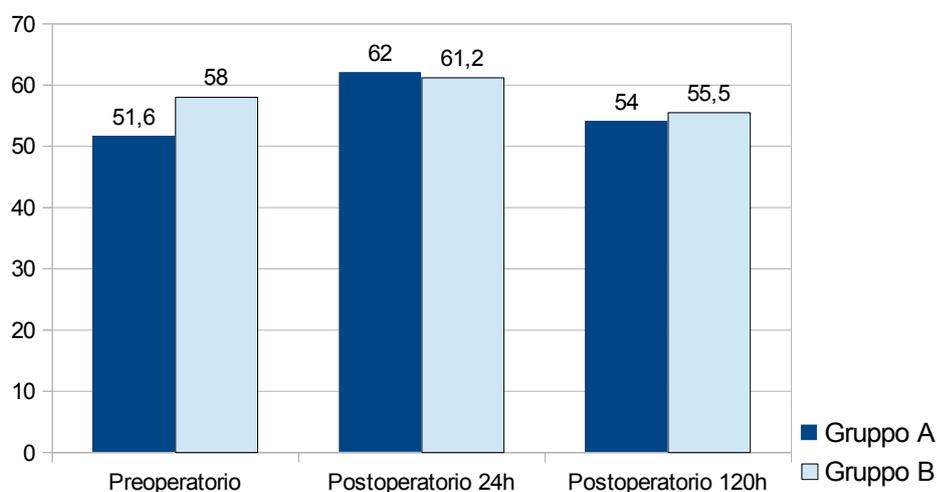


Il valore medio preoperatorio di anti- $\beta 2$ glicoproteina I IgG risulta pari a $0,3 \pm 0,7$ UA/mL (range 0-1,6) nel gruppo A e $2,3 \pm 4,5$ UA/mL (range 0-12,4) nel gruppo B.

Il primo gruppo mostra un azzeramento che si mantiene sia a 24 ore ($p=0,38$) che a 72h dall'intervento. Nel secondo gruppo si osserva un abbassamento dello stesso a 24 ore ($p=0,64$), con valore pari a $1,4 \pm 3,3$ UA/mL (range 0-12,4) ed un suo azzeramento a 120 ore ($p=0,51$).

L'ANOVA tra i due gruppi mostra valori pari a: $p=0,30$ nel preoperatorio, $p=0,37$ a 24 ore.

Tromboelastogramma (mm)



Nell'intento di avere una visione complessiva sui processi coagulativi è infine stato saggiato il tromboelastogramma (valutazione ampiezza massima) su ogni campione ematico. Il valore medio preoperatorio del tromboelastogramma risulta pari a $51,6 \pm 18,13$ mm (range 23-67) nel gruppo A e 58 ± 16 mm (range 19-66) nel gruppo B. Nel primo gruppo si osserva un lieve incremento del valore medio, che

si porta a $62 \pm 2,8$ mm (range 60-64), a 24 ore dall'intervento ($p=0,48$) ed una normalizzazione dello stesso a 5 giorni ($p=0,87$), risultando pari a 54 ± 17 mm (range 42-66).

Il secondo gruppo mostra un valore medio in lieve risalita a 24 ore dall'intervento ($p=0,34$), pari a $61,2 \pm 6,3$ mm (range 47-68) ed un lieve decremento dello stesso a 5 giorni ($p=0,84$) che risulta pari a $55,5 \pm 1$ mm (range 47-64).

L'ANOVA tra i due gruppi mostra valori pari a: $p=0,52$ nel preoperatorio, $p=0,87$ a 24 ore e $p=0,93$ a 120 ore.

ANOVA tra i gruppi (p-value)

	Preop.	Post. 24 ore	Post. 5gg
Piastrine	0,13	0,21	0,87
PT	0,8	0,53	0,13
aPTT	0,41	0,13	0,63
Fibrinog.	0,14	0,23	0,73
D-D	0,54	<u>0,05</u>	0,54
LAC	0,28	0,26	0,76
ATIII	0,96	0,74	0,62
PC	0,55	0,76	0,58
PS	0,17	<u>0,010</u>	0,39
ACA IgM	0,28	0,30	0,10
ACA IgG	0,35	0,35	--
AntiB2GLP I IgM	0,27	0,077	0,14
AntiB2GLP I IgG	0,30	0,37	--
Tromboelast.	0,52	0,87	0,93

Non si sono verificate complicanze tromboemboliche clinicamente evidenti in entrambi i gruppi.

Nel gruppo A i pazienti che presentavano valore di NLR > 2 erano: 7/14 (50%) nel pre-operatorio, 14/14 (100%) a 24 ore e 13/14 (92%) a 120 ore. Nel gruppo B i pazienti che presentavano valore di NLR > 2 erano: 8/16 (50%) nel pre-operatorio, 0% a 24 ore e 2/16 (12,5%) a 120 ore.

ALTERAZIONI EMOCOAGULATIVE POST-CHIRURGICHE

Uno stato di ipercoagulabilità dopo chirurgia open e laparoscopica è stato riportato in Letteratura [5,25,26] da pochi Autori, che hanno monitorato l'assetto coagulativo e la risposta infiammatoria sistemica nell'immediato periodo post-operatorio [5,25-32].

Prisco et al. [33] nel loro trial randomizzato hanno comparato le alterazioni peri-operatorie di fibrinogeno, frammenti di protrombina, D-dimero e PAI-1 nella colecistectomia open e laparoscopica, ed hanno osservato un significativo aumento post-operatorio dei valori di fibrinogenemia nel gruppo open ed un significativo aumento post-operatorio dei frammenti di protrombina in entrambi i gruppi, concludendo che anche la chirurgia laparoscopica induce una attivazione del sistema della coagulazione, anche se in minore misura e di breve durata rispetto alla chirurgia open.

Schietroma et al. [34] hanno osservato un significativo aumento dei livelli del complesso trombina-antitrombina, del fibrinogeno, del D-dimero e dei frammenti di protrombina dopo colecistectomia open rispetto a dopo la colecistectomia

laparoscopica. Secondo gli Autori, ciò si spiega col fatto che il trauma chirurgico indotto dalla chirurgia open causi un più alto grado di attivazione della coagulazione e della fibrinolisi.

In uno studio prospettico randomizzato, Tsiminikakis et al. [5] hanno riportato un significativo aumento dei valori del complesso trombina anti-trombina, dei frammenti di protrombina e del D-dimero nel periodo post-operatorio del gruppo di pazienti operati di colecistectomia laparoscopica, ma in misura minore rispetto a quelli operati con chirurgia tradizionale. Il fibrinogeno invece ha mostrato un lieve calo sia dopo chirurgia open che dopo chirurgia laparoscopica, con una frequenza superiore nel gruppo open ed una differenza statisticamente significativa nell'incidenza tra i due gruppi. Gli Autori riportano un marcato calo della piastrinemia post-operatoria nel gruppo laparoscopico, ed ipotizzano una piastrinopenia da consumo con conseguente aumentato rischio di trombosi. Le conclusioni riportate dagli Autori sono una più alta attivazione del sistema emocoagulativo e dell'attività fibrinolitica dopo chirurgia open, il che implica un maggiore rischio tromboembolico. Sebbene di minore grado, uno stato di ipercoagulabilità è stato anche osservato dopo chirurgia laparoscopica, il quale, associato alla stasi venosa degli arti inferiori indotta dallo pneumoperitoneo, spiega le complicanze tromboemboliche che si verificano dopo chirurgia laparoscopica.

Analoghi risultati con le stesse conclusioni sono stati riportati da Diamantis et al. [8]. Nessun paziente della loro serie ha presentato TEV.

Dedej et al. [25] hanno descritto un significativo aumento dei valori di aPTT, fibrinogeno, D-dimero e PC dopo chirurgia open, mentre il livello di PT e della piastrinemia diminuiva significativamente. Gli Autori hanno inoltre rilevato una

forte correlazione nel movimento post-operatorio dei livelli di PC e D-dimero, a dimostrazione che uno stato di ipercoagulabilità si osserva dopo chirurgia open, e che questo stato è amplificato dall'inflammazione.

Nguyen et al. [35] hanno comparato i livelli di plasminogeno, complesso trombina-antitrombina, frammenti di protrombina, fibrinogeno, D-dimero, ATIII e PC di due gruppi randomizzati di pazienti sottoposti rispettivamente a bypass gastrico open versus laparoscopico. Essi hanno trovato un aumento non significativo dei livelli di frammenti di protrombina e del complesso trombina-antitrombina, insieme ad una diminuzione non significativa dei livelli di plasminogeno in entrambi i gruppi. D'altro canto i livelli di D-dimero erano significativamente più alti nel gruppo open, ma gli Autori hanno concluso dicendo che, poiché l'intervento di bypass gastrico è una procedura chirurgica maggiore che pertanto aumenta lo stress chirurgico, l'attivazione della coagulazione è di più alto grado indipendentemente dalla procedura chirurgica scelta (open o laparoscopica).

In un altro trial randomizzato, Milic et al. [26] hanno comparato i livelli pre- e post-operatori dei frammenti di protrombina, D-dimero, ATIII, PT e PTT, e l'incidenza di trombosi venosa profonda dopo colecistectomia open e laparoscopica. Non è stata dimostrata una differenza statisticamente significativa dei livelli plasmatici dei suddetti marcatori tra i due gruppi di pazienti. D'altro canto, l'incidenza di TVP era significativamente più alta nel gruppo open.

Di Vita et al. [30] hanno comparato due gruppi omogenei di 9 pazienti ciascuno, sottoposti rispettivamente a colecistectomia open e laparoscopica. I valori di PT, PTT, ATIII e dei prodotti di degradazione del fibrinogeno sono stati valutati a 6, 12, 24 e 48 ore dopo l'intervento chirurgico. I loro risultati riportano che non ci

sono state alterazioni post-operatorie rilevanti di PT, PTT e ATIII dopo l'intervento chirurgico nei due gruppi. I prodotti di degradazione del fibrinogeno erano invece aumentati in entrambi i gruppi 24 e 48 ore dopo l'intervento, ad indicare che la chirurgia open e laparoscopica aumentano il rischio di TEV a causa del trauma tissutale, ma la precoce mobilizzazione e la ridotta invasività che si hanno con la chirurgia laparoscopica contrastano gli effetti della stasi ematica negli arti inferiori dovuto alla posizione di anti-Trendelenburg ed allo pneumoperitoneo.

Vecchio et al. [18] hanno riportato i risultati pre-operatori e a 24 ore nel post-operatorio di un gruppo omogeneo di 16 pazienti sottoposti a colecistectomia laparoscopica, ed hanno riscontrato un significativo rialzo della fibrinogenemia, della β -tromboglobulina e del D-dimero, mentre PT, aPTT e i frammenti di protrombina non hanno subito una rilevante alterazione. Gli Autori concludono affermando che la chirurgia laparoscopica induce l'attivazione della coagulazione e dei parametri fibrinolitici. Nessun paziente della loro serie di pazienti sottoposti a colecistectomia laparoscopica ha presentato segni e sintomi di TEV.

Gli studi in Letteratura sull'assetto emocoagulativo pre- e post-operatorio e sulla sua correlazione con la metodica chirurgica utilizzata sono ben pochi e un aumento post-operatorio dei livelli di fibrinogeno, frammenti di protrombina, D-dimero, complesso trombina-antitrombina, piastrine, PT, aPTT, è stato nella maggior parte degli studi più marcato dopo chirurgia open che dopo chirurgia laparoscopica [26,33,34]. Dati contrastanti sono altresì riportati in Letteratura.

Tsiminikakis e Diamantis nei loro studi su 40 pazienti, hanno riportato un calo della fibrinogenemia sia dopo colecistectomia open che dopo colecistectomia laparoscopica, e della piastrinemia dopo colecistectomia laparoscopica [5,8].

Dedej ha osservato un calo del PT e un aumento del PTT in 50 pazienti sottoposti a chirurgia addominale open [25].

Milic et al. [26] riferisce che nel suo studio prospettico randomizzato eseguito su 58 pazienti sottoposti a colecistectomia laparoscopica e su 56 pazienti sottoposti a colecistectomia open, non è stata dimostrata alcuna differenza statisticamente significativa sul rialzo dei marcatori della coagulazione (frammenti di protrombina, D-dimero, PT e PTT) nel post-operatorio tra i due gruppi. Quattro pazienti del gruppo chirurgico open e 9 pazienti del gruppo laparoscopico hanno presentato TEV.

Nguyen ha riportato un non significativo aumento dei livelli dei frammenti di protrombina e del complesso trombina-antitrombina sia dopo chirurgia open che dopo chirurgia laparoscopica [35].

Papaziogas et al. [36] hanno comparato 2 gruppi di pazienti sottoposti rispettivamente a colecistectomia open e laparoscopica e non hanno rilevato alcuna alterazione significativa di PT, PTT, fibrinogenemia e piastrinemia, un aumento significativo dei livelli di ATIII a 24 ore dall'intervento, e una diminuzione significativa dei livelli di D-dimero a 24 e 48 ore nel gruppo laparoscopico rispetto al gruppo open, dimostrando che la chirurgia laparoscopica induce una minore attivazione dei meccanismi emostatici paragonata alla chirurgia open.

I risultati riportati dai vari Autori non vanno oltre le 72 ore post-operatorie e ben pochi lavori della Letteratura riportano risultati oltre le 72 ore dall'intervento chirurgico [9].

Ulrych et al. [9] ha rilevato i livelli sia dei marcatori della risposta infiammatoria sistemica che dei marcatori della coagulazione ad una settimana e ad un mese dall'intervento chirurgico in due gruppi di pazienti operati rispettivamente di ernioplastica addominale open e di colecistectomia laparoscopica. Nella settima giornata post-operatoria, i livelli di marcatori della flogosi e della coagulazione erano significativamente elevati in entrambi i gruppi. Ad un mese persisteva un rialzo significativo dei livelli di fibrinogeno e dei frammenti di protrombina in entrambi i gruppi, mentre il D-dimero rimaneva elevato solo nel gruppo open. Un solo paziente sottoposto a chirurgia open ha presentato complicanze trombotiche (0,46%). La conclusione era che uno stato di ipercoagulabilità persisteva ad un mese dall'intervento chirurgico.

La tabella 1 riassume e confronta i risultati ottenuti dagli Autori.

	FB	FRAMMENTI DI PT	D-DIMERO	TAT	PLT	PT	aPTT	PC	ATIII
PRISCO	↑ open	↑ open e lap.							
SHIETROMA	↑ open	↑ open	↑ open	↑ open					
TSIMINIKAKIS	↓ open e lap.	↑ lap.	↑ lap.	↑ lap.	↓ lap.				
DIAMANTIS	↓ open e lap.	↑ lap.	↑ lap.	↑ lap.	↓ lap.				
DEDEJ	↑ open		↑ open		↓ open	↓ open	↑ open	↑ open	
NGUYEN		= open e lap.	↑ open	= open e lap.					
MILIC		= open e lap.	= open e lap.			= open e lap.	= open e lap.		= open e lap.
DI VITA			↑ open e lap.			= open e lap.	= open e lap.		= open e lap.
VECCHIO	↑ lap.		↑ lap.			= lap.	= lap.		
ULRYCH			↑ open e lap.						
PAPAZIOGAS	↑ open e lap.		↓ lap.		↑ open e lap.	= open e lap.	= open e lap.		↑ lap.

Nel presente studio, le piastrine hanno mostrato un aumento a 24 ore e a 120 ore nel gruppo A, verosimilmente per alterazione del flusso ematico e per danno endoteliale indotti dallo pneumoperitoneo, che attiva le piastrine; nel gruppo B esse hanno subito un lieve calo a 24 ore, verosimilmente da consumo, ed un rialzo a 120 ore.

Prendendo in esame i tempi medi della funzione coagulativa del mio studio, il gruppo A mostra una sostanziale omogeneità tra i valori di PT rilevati nei 3 prelievi, mentre nel gruppo B si osserva un leggero allungamento dei tempi sia a 24 ore che a 120 ore.

L'aPTT mostra di converso un leggero allungamento a 24 ore in entrambi i gruppi, più spiccato nel gruppo A, che tende a regredire nel gruppo A e ad aumentare nel gruppo B a 120 ore.

I valori medi di fibrinogeno mostrano nel gruppo A una lieve risalita a 24 ore verosimilmente da flogosi peritoneale e stasi cavale indotte dallo pneumoperitoneo, per poi scendere al di sotto del valore basale a 120 ore. Di contro osserviamo nel gruppo B un incremento moderato del valore a 24 ore ed una marcata crescita dello stesso a 120 ore, indice di una permanente attivazione dello stato di ipercoagulabilità indotto dalla metodica chirurgica tradizionale.

I valori di D-Dimero, indice di attivazione della fibrinolisi, mostrano un significativo incremento a 24 ore nel gruppo A, probabilmente per stasi venosa indotta dallo pneumoperitoneo, ed una repentina diminuzione a 120 ore; il gruppo B mostra una notevole crescita del valore a 24 ore che lievemente decresce a 120 ore.

Per quanto concerne i valori di ATIII, nel gruppo A si osserva una decrescita a 24 ore dall'intervento seguita da una risalita a 120 ore, con valore medio più elevato rispetto a quello preoperatorio (esiste un consensuale aumento del fibrinogeno); il gruppo B mostra valori sostanzialmente invariati tra i 3 prelievi, con un valore a 120 ore leggermente in decremento rispetto a quello basale (stato di ipercoagulabilità).

Analizzando i valori di proteina C, osserviamo nel gruppo A una diminuzione a 24 ore che persiste a 120 ore; di contro nel gruppo B osserviamo un sensibile incremento tra i valori preoperatori e quelli a 120 ore. La proteina C è attivata dalla trombina, ed è l'unico fattore anti-coagulante che aumenta dopo chirurgia open.

Di converso l'andamento dei valori di proteina S mostrano nel gruppo A una diminuzione importante a 24 ore, prontamente recuperata a 120 ore; il valore nel gruppo B tende invece a scendere sia a 24 che a 120 ore nel postoperatorio, probabilmente dovuta ad alterazione della funzione epatica indotta dallo pneumoperitoneo, con conseguente tendenza verso fenomeni trombo-embolici.

I valori medi di LAC nel gruppo A rimangono sostanzialmente invariati a 24 ore e 120 ore; di contro osserviamo un lieve rialzo medio degli stessi a 120 ore nel gruppo B.

Per quanto concerne gli ACA IgM osserviamo un loro azzeramento nel gruppo A a 24 ore ed una loro ripresentazione, con valori inferiori rispetto a quelli preoperatori, a 120 ore. Nel gruppo B i valori risultano pari a 0 in ciascuno dei tre rilievi.

Andamento opposto mostrano gli ACA IgG nel gruppo A, che si positivizzano in modo marcato a 24 ore per tornare ad azzerarsi a 120 ore; andamento opposto si osserva nel gruppo B.

I valori di Anti- β 2 glicoproteina I IgM, subiscono nel gruppo A una drastica discesa a 24 ore dall'intervento ed una risalita a 120 ore rispetto ai valori preoperatori. Il gruppo B mostra in tutti i rilievi valori pari a 0.

Analizzando i valori di anti- β 2 glicoproteina I IgG, si assiste nel gruppo A ad un azzeramento dei valori nel postoperatorio sia a 24 ore che a 120 ore; nel gruppo B il valore medio tende ad abbassarsi a 24 ore per poi azzerarsi a 120 ore.

Ulteriori studi sono necessari per chiarire le cause delle variazioni post-operatorie di ACA (IgM ed IgG) ed anti- β 2 glicoproteina I (IgM ed IgG), nonché la loro influenza sui parametri emostatici tradizionali.

Nell'intento di avere una visione complessiva sui processi coagulativi è infine stato saggiato il tromboelastogramma (valutazione ampiezza massima) su ogni campione ematico. Entrambi i gruppi mostrano a tal riguardo un incremento del valore medio a 24h che tende alla normalizzazione a 120h.

L'andamento nei due gruppi è sovrapponibile, tranne che per i valori di PS e D-Dimero (one way – ANOVA).

In definitiva, dai risultati del presente studio si evince che sia la chirurgia laparoscopica che quella open sono correlate a diverse condizioni pro-trombotiche.

L'andamento post-operatorio del D-Dimero e della piastrinemia sottendono una condizione pro-coagulante nel gruppo laparoscopico, mentre l'ATIII una condizione anti-coagulante.

L'andamento post-operatorio di fibrinogeno e PS indicano una condizione pro-coagulante nel gruppo open, mentre si assiste al rialzo di PC anticoagulante.

In conclusione, i risultati del nostro studio, concordemente alla presente revisione della Letteratura, mostra come la chirurgia laparoscopica sia correlata ad un transitorio stato di ipercoagulabilità postoperatorio, di minor entità e durata rispetto a ciò che avviene in seguito all'espletamento di chirurgia tradizionale. Si osserva inoltre una precoce riattivazione postoperatoria (o addirittura potenziamento) dell'attività fibrinolitica.

Si può quindi affermare che la differenza nei risultati dei due gruppi riportati dal mio studio e dai vari Autori della Letteratura, è essenzialmente legata alla metodica chirurgica usata. A conferma di ciò, gli in Letteratura paragonano i risultati di due gruppi di pazienti sottoposti a chirurgia open e laparoscopica omogenei per età, dati demografici, patologia da trattare, comorbilità e terapia medica [5,8,9,26,33,34]. I fattori legati alla metodica laparoscopica che verosimilmente sono responsabili delle variazioni post-operatorie dei marcatori emocoagulativi ed infiammatori, predisponendo alla TEV, sono riportati in Letteratura [5,6,18,25,26,30,35,36], e vengono così schematizzati:

1. Il trauma o stress chirurgico, che attiva in modo proporzionale i fattori della coagulazione e della fase acuta dell'infiammazione. Diversi Autori [5,18,25,35,36] hanno dimostrato che, sebbene la chirurgia laparoscopica induca l'attivazione della coagulazione, della fibrinolisi e piastrinica, che

sono prerequisiti di complicanze tromboemboliche, tale attivazione risulta minore rispetto alla chirurgia open. Inoltre, minore è il trauma chirurgico (come avviene in chirurgia laparoscopica), più precoce sarà la mobilizzazione del paziente, e maggiore sarà l'attivazione fibrinolitica in chirurgia laparoscopica rispetto alla chirurgia open [5,18,25,35].

2. Lo pneumoperitoneo (chirurgia laparoscopica), che mediante l'aumento della pressione intra-addominale causa stasi venosa agli arti inferiori per compressione sulla vena cava inferiore [5,18,26,30] e stasi portale con alterazioni della funzione epatica e della escrezione della bilirubina con conseguente riduzione della sintesi di fattori della coagulazione vitamina k-dipendenti. Si ipotizza inoltre che lo pneumoperitoneo danneggi la parete vasale, causando l'esposizione dell'endotelio con conseguente attivazione piastrinica e della coagulazione [18,26].
3. La posizione di anti-Trendelenburg, che aumenta la stasi venosa agli arti inferiori [6,18,30].

In pratica si viene a creare una sorta di “compensazione” delle condizioni predisponenti la TEV nelle tecniche open e laparoscopica, tra il prolungamento della durata dell'intervento chirurgico per via laparoscopica e il più prolungato allettamento post-operatorio dei pazienti sottoposti a chirurgia open [1], tra l'uso dello pneumoperitoneo in laparoscopia e il maggiore trauma chirurgico in open.

PREVENZIONE DEL TROMBO-EMBOLISMO VENOSO

La prevenzione del TEV è una misura di sicurezza in molte iniziative volte al miglioramento della qualità assistenziale [3].

I pazienti da sottoporre ad intervento chirurgico devono essere classificati per classi di rischio di TEV secondo fattori legati all'individuo, alla patologia ed alla procedura chirurgica con lo scopo di commisurare il tipo di profilassi con il rischio individuale di TEV.

Esistono diverse linee guida per la stratificazione del rischio. Ciascuna possiede delle limitazioni, ma due modelli sono stati validati e inclusi nelle raccomandazioni dell' "American College of Chest Physician" (ACCP): il "Roger score" ed il "Caprini score" [3]. L'ACCP ha creato un modello di stratificazione del rischio basato su questi due sistemi di punteggio (tabella 2) [3].

Risk category	Rogers Score	Caprini Score	Observed risk of VTE (%)	Estimated baseline risk without prophylaxis (%)
Very low	< 7	0	0	< 0.5
Low	7-10	1-2	0.7	1.5
Moderate	>10	3-4	1.0	3.0
High	NA	5 or > 5	1.9	6.0

Abbreviations: NA, not applicable; VTE, venous thromboembolism.

Il Roger score usa come variabili il tipo di intervento chirurgico, diverse caratteristiche del paziente e specifici esami di laboratorio (tabella 3). Le categorie incluse possono essere scomode per un calcolo veloce con il Roger score, il quale è quindi utilizzato per supplementare altri modelli di stratificazione del rischio.

Table 1 Risk assessment model from the patient safety in surgery study: Rogers Score

General risk factor	Specific risk factor	Risk score points
Operation type	Respiratory	9
	Thoracoabdominal aneurysm	7
	Abdominal aneurysm	4
	Mouth, palate	4
	Stomach, small/large intestine	4
	Integument	3
	Hernia	2
ASA	3,4,5	2
	2	1
Female sex		
Work RVU	>17	3
	10–17	2
2 point conditions	Disseminated cancer	2
	Chemotherapy within 30 d	2
	Preoperative serum sodium > 145 mmol/L	2
	Transfusion > 4 units packed RBCs in 72 h within operation	2
	Ventilator dependent	2
One point conditions	Wound class 3 or 4	1
	Preoperative Hct < 38	1
	Preoperative bili > 1.0	1
	Dyspnea	1
	Albumin < 3.5	1
	Emergency	1
Zero point conditions	ASA class 1	0
	Work RVU < 10	0
	Male sex	0

Abbreviations: ASA, American Society of Anesthesiologists; Hct, hematocrit; RBCs, red blood cells; RVU, relative value update.

Il secondo modello incluso nelle linee guida dell'ACCP del 2012 [37] è il “Caprini risk score”, che è uno metodo ideato per stabilire il rischio di TEV in pazienti sottoposti a chirurgia (tabella 4) e riassume tutti i relativi fattori di rischio. Esso immette punteggi per ogni fattore di rischio di TEV e stratifica i pazienti in 4 classi di rischio: molto basso (0 – 1 punti), basso (2 punti), moderato (3 – 4 punti), alto (5 punti). Rispetto al Roger score, è più facile da usare, distingue meglio i pazienti per classi di rischio ed è stato validato in un grosso studio retrospettivo di pazienti

chirurgici. Esso inoltre prende in considerazione la profilassi antitrombotica, variabile che l'ACCP ha eliminato per calcolare la stima del rischio di TEV in assenza di profilassi.

Venous Thromboembolism Prophylaxis Laryea, Champagne

Table 2 Caprini risk assessment model

One point	Two points	Three points	Five points
Age 41–60 y	Age 61–74 y	Age > 75 y	Stroke (< 1 mo)
Minor surgery	Arthroscopic surgery	History of VTE	Elective arthroplasty
BMI > 25 kg/m ²	Major open surgery (> 45 min)	Factor V Leiden	Hip, pelvis, or leg fracture
Swollen legs	Laparoscopic surgery (> 45 min)	Lupus anticoagulant	Acute spinal cord injury (< 1 mo)
Varicose veins	Malignancy	Anticardiolipin antibodies	
Pregnancy or postpartum	Confined to bed (> 72 hour)	Elevated serum homocysteine	
History of spontaneous abortion	Immobilizing cast	Heparin-induced thrombocytopenia	
Oral contraceptives	Central venous access	Other congenital or acquired thrombophilia	
Sepsis (< 1 mo)			
COPD, pneumonia (< 1 mo)			
Abnormal PFTs			
Acute myocardial infarction			
Congestive heart failure			
inflammatory bowel disease			
Bed rest			

Abbreviations: BMI, body mass index; COPD, chronic obstructive pulmonary disease; PFTs, pulmonary function tests; VTE, venous thromboembolism.

Molte strategie di prevenzione del TEV prevedono l'uso combinato di dispositivi meccanici con gli agenti farmacologici. I dispositivi meccanici sono le calze a compressione graduata, gli strumenti per la compressione pneumatica intermittente, e gli agenti farmacologici sono l'eparina non frazionata, l'eparina a basso peso molecolare e il Fondaparinux.

1. Le calze a compressione graduale sembra che aumentino i livelli plasmatici dell'inibitore della via del fattore tissutale, che è un inibitore Xa-dipendente della via estrinseca della cascata coagulativa.
2. Il meccanismo d'azione degli strumenti di compressione pneumatica intermittente aumentano il flusso venoso pulsatile, che migliora il ritorno venoso. Diminuendo così la pressione venosa, aumenta il gradiente artero-venoso e quindi aumenta il flusso arterioso, la forza meccanica applicata da questi dispositivi aumenta le pressioni sulle cellule endoteliali. Ciò porta ad aumentati effetti anti-trombotici, pro-fibrinolitici e vasodilatatori, ivi compreso il rilascio dell'attivatore tissutale del plasminogeno (t-PA) [38]. L'aumento del t-PA risulta in una diminuzione dell'inibitore del t-PA (t-PAI 1).

Esistono due tipi di dispositivi di compressione pneumatica intermittente: quelli a compressione graduata sequenziale, che producono una compressione in senso prossimale degli arti inferiori, e quelli che producono una compressione uniforme. Entrambi hanno la stessa efficacia nel ridurre il rischio di TEV.

3. L'eparina a bassa dose non frazionata e le eparine a basso peso molecolare (LMWH) sono i principali agenti usati nella profilassi farmacologica del TEV. L'eparina a bassa dose non frazionata viene solitamente somministrata sottocute ogni 12 ore con un dosaggio dipendente dal peso corporeo del paziente.
4. Le LMWH inattivano il fattore Xa, ma hanno scarso effetto sulla trombina dovuta alla loro struttura. Tra di essi si annoverano l'enoxaparina, la

dalteparina e la tinzaparina. Esse hanno differenti strutture e proprietà farmacologiche, pertanto non sono intercambiabili.

5. Il Fondaparinux è un pentasaccaride sintetico che lega l'antitrombina, ma non ha effetti sulla trombina. Non interagisce con le piastrine o col fattore IV piastrinico, pertanto non causa trombocitopenia indotta dall'eparina. La scelta dell'agente farmacologico spesso dipende dal costo e dalle preferenze dagli ospedali.

Molti studi dimostrano che sia l'eparina a bassa dose non frazionata che le eparine a basso peso molecolare sono efficaci in uguale misura nel prevenire la TEV e l'embolia polmonare. Una metanalisi riporta che le LMWH diminuiscono il rischio di trombosi venosa distale del 72%, di embolia polmonare sintomatica del 75% e di TEV clinica del 71%. Non è riportata una diminuzione significativa del rischio di mortalità, ma bensì un significativo aumento delle complicanze emorragiche [39-41].

I pazienti sottoposti a chirurgia coloretale minore senza ulteriori fattori di rischio di TEV, che hanno un Rogers score inferiore a 7 e un Caprini score di 0, sono considerati a rischio molto basso. Per essi è raccomandata la deambulazione precoce e frequente senza profilassi meccanica o farmacologica [37].

I pazienti considerati a basso rischio (Rogers Score = 7-10; Caprini score = 1-2) beneficiano di profilassi meccanica con compressione pneumatica intermittente [37]. Per le procedure del colon-retto, i pazienti a basso rischio sono quelli non oncologici di età superiore ai 40 anni, sottoposti a chirurgia anoretale con uno o pochi fattori di rischio aggiuntivi.

Per i pazienti a rischio moderato con patologia del colon-retto (Rogers Score > 10, Caprini score = 3-4), gli approcci consigliati comprendono quelli farmacologici (eparina a bassa dose non frazionata due volte al giorno, LMWH o Fondaparinux) oppure profilassi meccanica. I pazienti non ad alto rischio di emorragia ma con rischio moderato di TEV dovrebbero ricevere uno dei agenti farmacologici su indicati, mentre quelli ad alto rischio di emorragia dovrebbero usare i dispositivi meccanici [37].

I pazienti ad alto rischio di TEV (Caprini Score \geq 5), ma non ad alto rischio di sanguinamento, dovrebbero ricevere profilassi sia meccanica che farmacologica. I pazienti con carcinoma coloretale sono considerati a rischio molto alto e la tromboprofilassi (eparina a bassa dose non frazionata 3 volte al giorno, LMWH o fondaparinux) dovrebbe essere combinata con la profilassi meccanica. Fondaparinux dovrebbe essere considerato nei pazienti con cancro coloretale senza un aumentato rischio di sanguinamento. Come indicato sopra, il Fondaparinux rispetto alla LMWH riduce significativamente il rischio di TEV nei pazienti con cancro addominale e pelvico [42]. Inoltre, si raccomanda che i pazienti con cancro coloretale e malattia maligna residua dopo chirurgia, i pazienti obesi, o i pazienti con anamnesi di TEV ricevono profilassi estesa fino a 4 settimane con LMWH [43].

Può accadere che i pazienti classificati a rischio moderato di TEV prima dell'intervento, possono salire ad una categoria di rischio più elevato dopo l'intervento chirurgico, se presenti complicanze intra- o post-operatorie che ne cambiano il punteggio complessivo.

Nonostante l'applicazione di una corretta tromboprofilassi, il tasso residuo di TEV nei pazienti chirurgici si aggira in Letteratura intorno al 10 – 15 % [1].

CORRELAZIONI TRA SISTEMA EMOCOAGULATIVO E SISTEMA IMMUNITARIO

Tradizionalmente il sistema emocoagulativo ed il sistema immunitario sono considerati e studiati come entità separate. Pochi studi svolti negli ultimi decenni hanno scoperto una notevole interazione tra i due sistemi, e i meccanismi cellulari e molecolari sono stati pressoché definiti [44]. Il sistema emocoagulativo appartiene alla prima linea di difesa contro i traumi e gli antigeni estranei, ed è considerato una parte cruciale dell'immunità innata, in quanto mura i tessuti danneggiati, fa da barriera contro l'invasione batterica, e sigilla i vasi danneggiati [44].

La risposta dell'organismo a lesioni e / o all'invasione di agenti patogeni con l'induzione simultanea dell'attività procoagulante e proinfiammatoria, si concentra intorno al TF. Componenti batterici attivano il recettore TLR sui monociti, inducendo il rilascio di citochine proinfiammatorie e l'up-regulation delle molecole di adesione leucocitarie, mentre aumenta anche l'espressione del TF [45]. Qualunque sia l'evento iniziale, segue un feedback positivo, in cui il sistema infiammatorio sostiene l'espressione del TF attraverso l'azione di citochine, chemochine e componenti del complemento attivato, amplificati da interazioni con i granulociti attivati e le piastrine. Il principale inibitore della coagulazione indotta dal TF è il TFPI. Con l'attivazione TLR - dipendente dei neutrofilii indotta dall'infiammazione, il TFPI è degradato e / o soppresso, lasciando il TF disponibile per ulteriore promozione della coagulazione e dell'infiammazione. Gli squilibri di questo processo sono associati ad un esito negativo nei pazienti con sepsi e

sindrome da distress respiratorio acuto, e dimostra ulteriormente l'interazione tra l'immunità innata e la coagulazione.

Come per il sistema emocoagulativo, al risposta immunitaria innata verso le cellule danneggiate ed i patogeni, è immediata e locale, limitando così il danno e promuovendo la guarigione. Essa si sviluppa con un rapido riconoscimento dei potenziali agenti lesivi e con un simultaneo reclutamento di cellule, molecole e meccanismi chimici volti alla loro inattivazione, distruzione e/o rimozione.

La disregolazione delle attività in cascata o degli inibitori in uno o in entrambi i sistemi (emocoagulativo ed immunitario) possono portare a manifestazioni cliniche di malattia, quali sepsi, lupus eritematoso sistemico, danno da ischemia-riperfusion, con trombosi e / o complicanze infiammatorie.

Il complemento è responsabile dell'amplificazione della risposta immunitaria umorale, e facilita l'eliminazione da parte del sistema immunitario degli antigeni estranei legati agli anticorpi. Studi recenti hanno dimostrato che il complemento partecipa in diversi processi non infiammatori, come la coagulazione, l'ematopoiesi, la riproduzione, la rigenerazione epatica, l'apoptosi, l'omeostasi, il metabolismo e lo sviluppo del sistema nervoso centrale [46]. Viceversa, varie serinproteasi appartenenti al sistema della coagulazione sono in grado di attivare la cascata del complemento indipendentemente dai percorsi noti finora.

Le principali attività biologiche del complemento sono:

1. Opsonizzazione dei patogeni mediata dai prodotti di clivaggio C3 e C4;
2. Reclutamento e attivazione delle cellule infiammatorie per mezzo delle anafilotossine C3a e C5a;

3. Eliminazione dei patogeni mediante fagocitosi per mezzo dei recettori del complemento per lisi cellulare dopo formazione del complesso di attacco di membrana (MAC);
4. Regolazione dell'immunità mediante stimolazione delle cellule B e T.

La coagulazione e il complemento hanno in comune diverse funzioni che sono spesso trascurate:

1. Entrambi i sistemi costituiscono una prima linea di difesa innata contro le invasioni microbiche;
2. Essi vengono innescati dalla presenza di superfici cellulari estranee o alterate;
3. Sono regolati dagli stessi inibitori o cofattori;
4. Alcuni loro componenti interagiscono con le superfici cellulari, causando risposte biologiche a valle.

I componenti del sistema del complemento e della coagulazione sono finemente orchestrate a formare due distinte cascate enzimatiche con diversi punti in comune.

Il complemento è attivato sia direttamente che indirettamente dalla cascata emocoagulativa.

La frazione C5 attivata dall'azione enzimatica della trombina, ha un'importante attività chemiotattica per i neutrofilo, indicando che la trombina partecipa all'attivazione della flogosi mediante i PAR (platelet activating receptor). Diversi studi hanno mostrato che C3 e C5 possono essere attivate proteoliticamente da diversi componenti della cascata emocoagulativa, oltre che dalla trombina [44]. Anche l'attivazione piastrinica è associata all'attivazione del complemento, quale

meccanismo di infiammazione localizzata al sito di danno vascolare di recente scoperta [47]. Il condroitin-solfato presente sulla superficie piastrinica lega varie componenti del complemento.

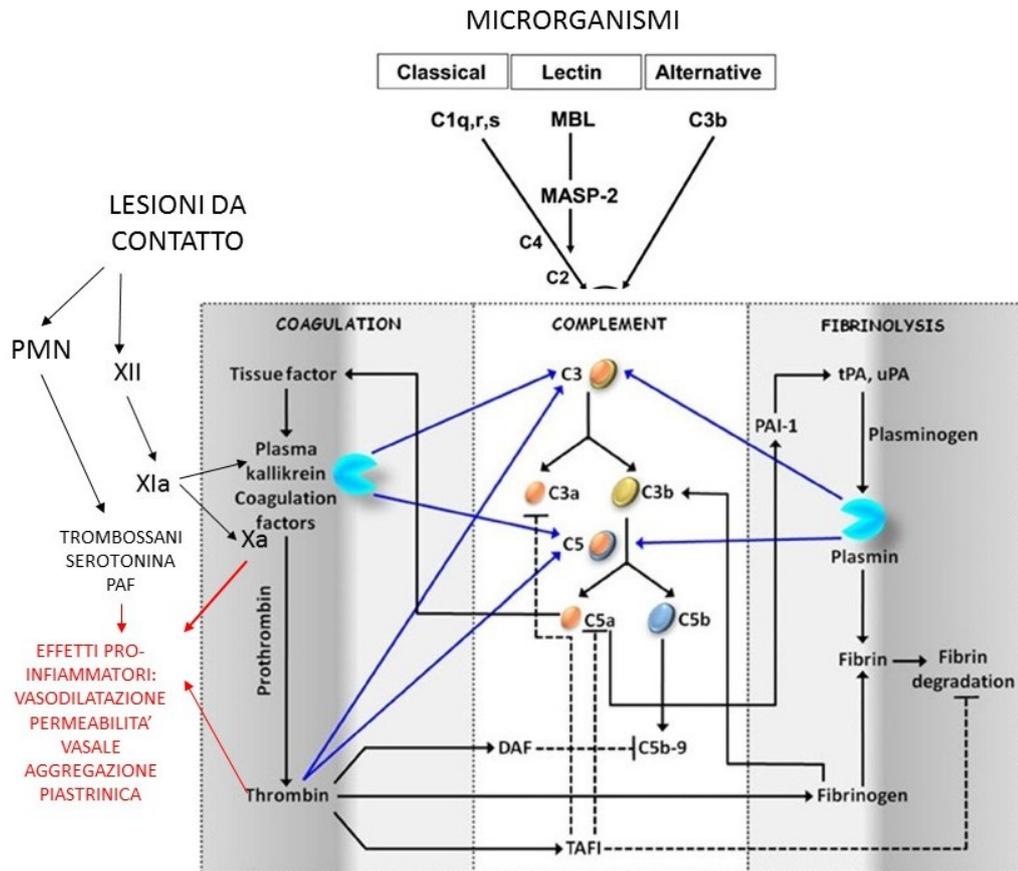
Il fattore XIIa attiva la frazione C1 del complemento, dando inizio alla via classica del complemento. Inoltre, l'interazione della fibrina con le molecole che attivano il complemento mediante la via della lectina, possono modulare l'attivazione di C3 e C4 e la deposizione del complemento sulla superficie dei microrganismi patogeni.

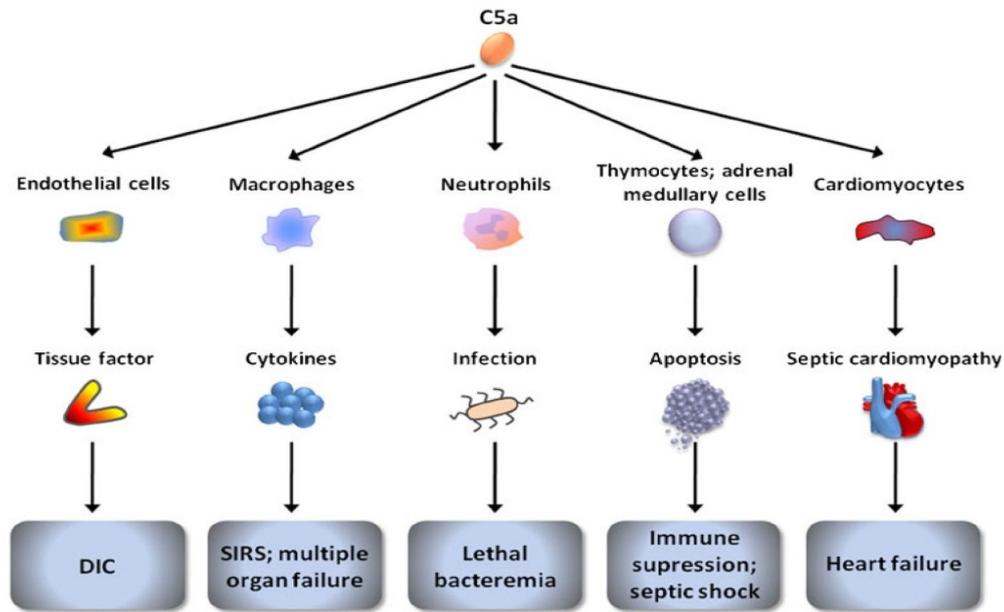
Il complemento può facilitare i cambiamenti biochimici e morfologici dell'endotelio, modulando la propensione ematica alla coagulazione. La frazione C5a combinata con gli anticorpi diretti contro l'endotelio, può indurlo a produrre proteinglicano eparan-solfato, che regola l'attivazione dell'AT, un inibitore di diversi componenti emocoagulativi. La frazione C5a è generata in assenza di C3 per mezzo della trombina che agisce come una potente C5 convertasi [48]. La frazione C5a induce l'attività TF sulle cellule endoteliali [49] e può attivare così la via estrinseca della coagulazione.

L'attività del complemento può modulare anche l'aggregazione piastrinica: il complesso C5b-9 e la frazione C1q attivano le piastrine, inducendo la produzione di trombina e la formazione del coagulo. Il MAC induce la produzione di siti di legame per il fattore Va sulla membrana di piastrine e di cellule endoteliali, che funge da base per la generazione della trombina.

Le mast-cell sono spesso presenti sul sito di infiammazione e possono prevenire la formazione del trombo tramite l'espressione di tPA, che genera la plasmina. Inducendo l'espressione di PAI-1, la frazione C5a può annullare l'attività

fibrinolitica delle mast-cell, giocando un ruolo pro-coagulante [50]. La trombina attiva anche C3 in C3a, la quale aumenta la risposta chemotattica delle mast-cell per più di tre volte.





Si pensa che le anafilotossine C5a e C3a influenzino la produzione di TNF- α e IL-6 dalle cellule di Kupffer. Sia il TNF- α che IL-6 inducono l'espressione del TF dalle cellule ematiche ed endoteliali, mentre IL-6 influenza la propensione all'aggregazione piastrinica.

L'inibitore C1-esterasi limita sia la cascata del complemento che quella della coagulazione; essa blocca l'attivazione dell'enzima callicreina da parte del fattore XIIa, impedendo la formazione di bradichinina, neurotrasmettitore peptidico prodotto localmente dai tessuti in seguito ad un trauma, che aumenta la permeabilità vasale e la vasodilatazione, e ha un ruolo importante nella trasmissione del dolore [51,52].

Oltre al ruolo chiave della trombina nella coagulazione, le proprietà proinfiammatorie della trombina sono ben documentate. La trombina attiva il recettore PAR-1 e induce il rilascio di una serie di citochine proinfiammatorie dalle

cellule endoteliali, cellule murali, cellule epiteliali, adipociti e cellule immunitarie mediante attivazione del recettore PAR posto sulla loro superficie con effetti vascolari e infiammatori che coinvolgono l'aggregazione piastrinica [53-55]. È chemotattico per i monociti ed i neutrofilo, induce l'espressione di molecole di adesione e promuove il rilascio di fattori di crescita e chemochine dalle piastrine. La trombina attiva direttamente sia C3 che C5 [48,56] e modula la risposta immunitaria innata, alterando l'espressione del recettore da parte delle cellule che presentano antigene [57]. La trombina a basse concentrazioni può migliorare la funzione di barriera endoteliale, ma a concentrazioni più elevate, aumenta la permeabilità endoteliale, caratteristica dell'infiammazione [58].

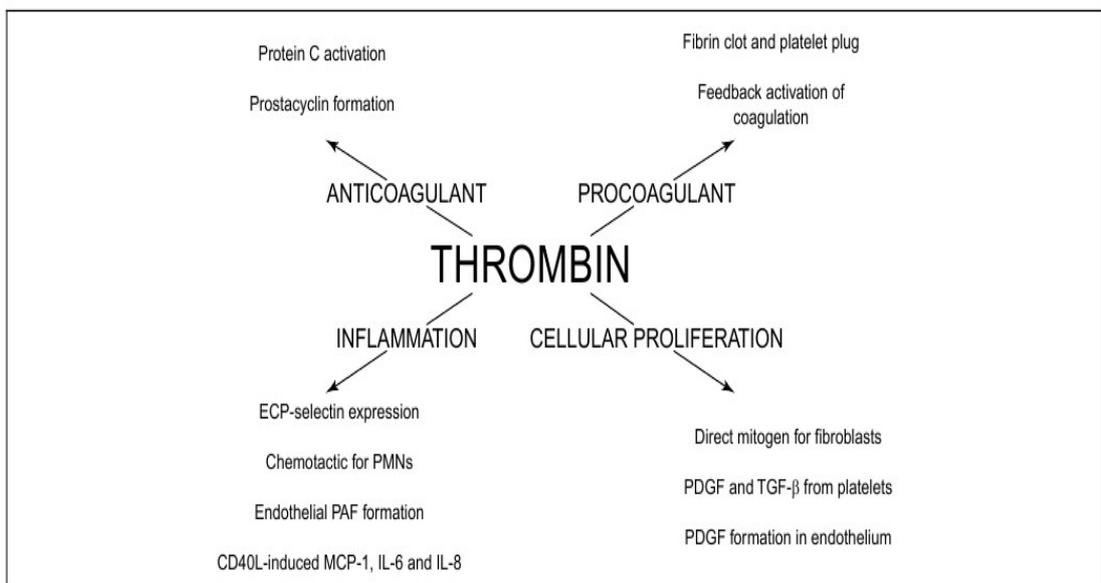


Figure 3. Thrombin is a multifunctional enzyme. Thrombin generates procoagulant, anticoagulant, inflammatory and mitogenic responses. These responses shift the hemostatic balance. Abbreviations: CD40L, CD40 ligand; EC, endothelial cell; IL-6, interleukin-6; MCP-1, macrophage chemotactic protein-1; PAF, platelet activating factor; PDGF, platelet-derived growth factor; PMNs, polymorphonucleocytes; TGF- β , transforming growth factor- β . Reproduced with permission from Ref. [77].

www.sciencedirect.com

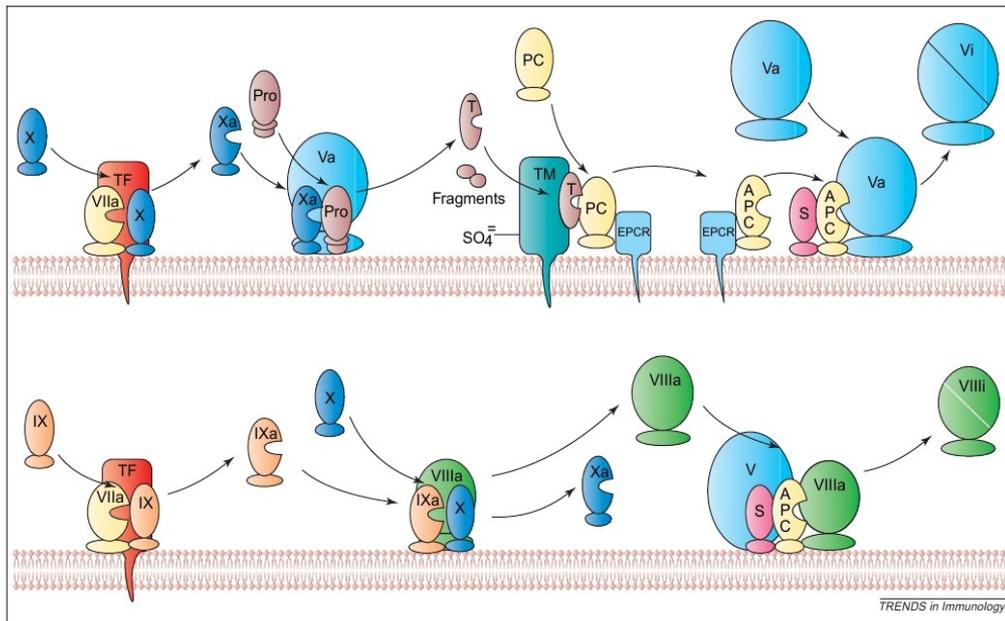


Figure 1. The function of membranes and cofactors in blood coagulation. The enzymes associate with cofactors on membrane surfaces. Factor VIIa associates with tissue factor (TF) to activate either factor X or factor IX. Factor IXa associates with factor VIIIa to activate factor X. Factor Va associates with factor Xa to activate prothrombin (Pro). Thrombin (T) associates with thrombomodulin (TM) to activate protein C (PC) and the activated protein C (APC) complexes with protein S (S) to inactivate factors Va and VIIIa, thereby blocking the coagulation cascade.

In modo simile alla trombina, il fattore Xa presenta un'ampia gamma di proprietà proinfiammatorie, la maggior parte mediate dai recettori PAR, che sono espressi da varie cellule, tra cui i monociti, le cellule NK, le piastrine e le cellule endoteliali. Il segnale PAR è critico per l'attivazione trombina-mediata delle piastrine, ed ha quindi un ruolo chiave nell'emostasi. Molte serin-proteasi del sistema emocoagulativo e fibrinolitico agiscono come ligandi per conferire proprietà pro- ed antinfiammatorie sulle cellule attraverso i recettori PAR. La trombina attiva il recettore PAR-1 con effetti vascolari ed infiammatori che coinvolgono l'aggregazione piastrinica. La plasmina regola il recettore PAR e scatena risposte chemotattiche da parte dei monociti e dei macrofagi.

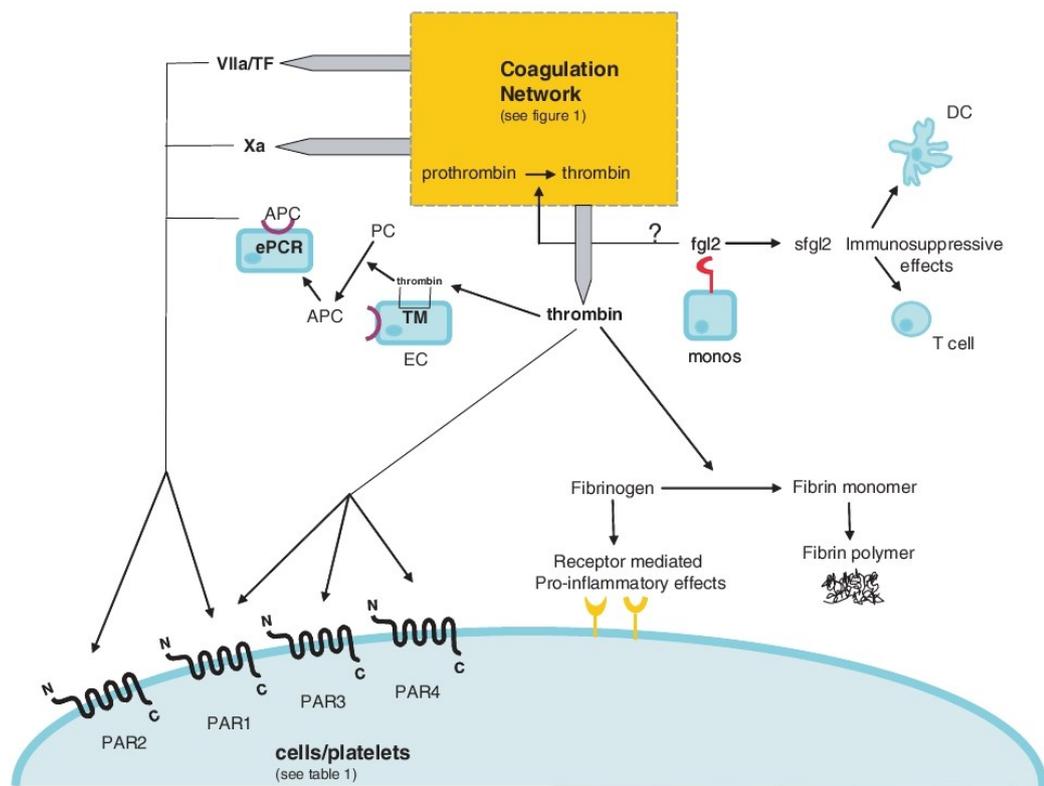


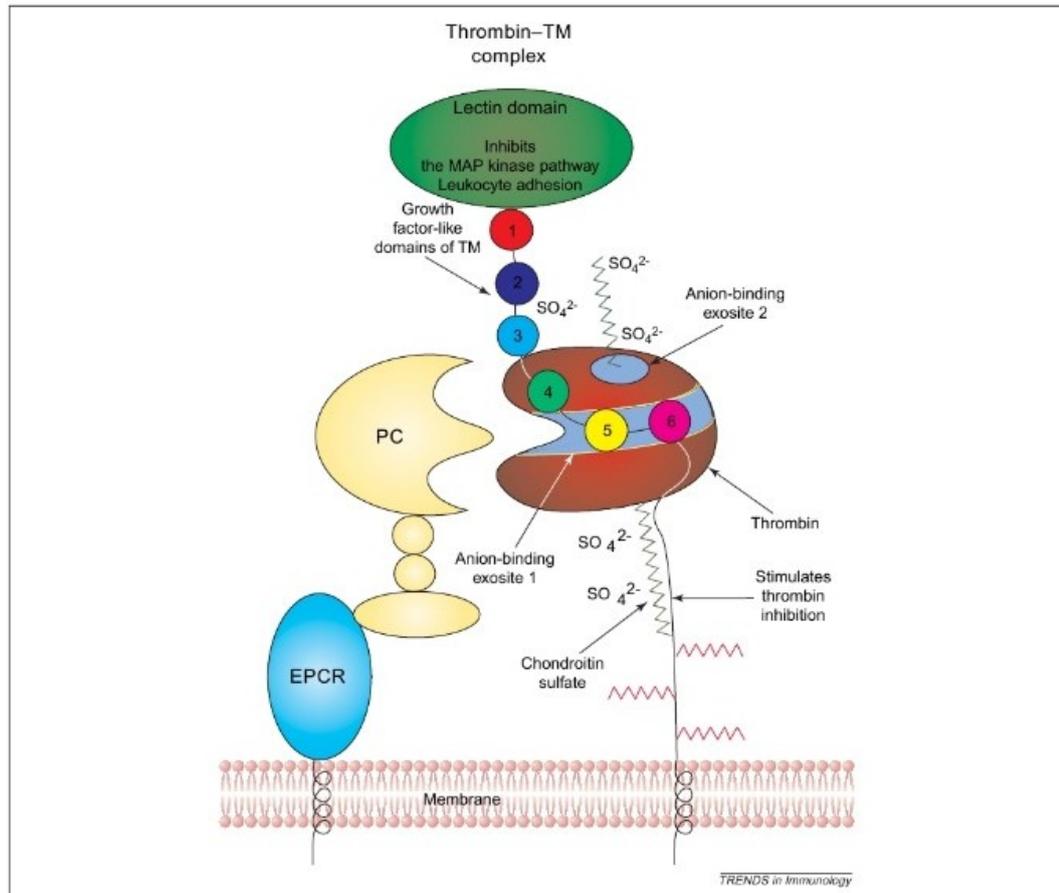
Figure 2. The biologically active mediators released from the coagulation network, with reference to inflammation and immunity. The dynamic PC system is initiated when thrombin binds to the endothelial cell (EC) receptor thrombomodulin (TM), which then converts PC to APC. Some of these proteins, namely thrombin, factor VIIa/TF complex and factor Xa as well as APC [once it is bound to its membrane receptor, endothelial protein C receptor (ePCR)] play a role in inflammation by acting through membrane-bound protease activated receptors (PAR) which are present on various cell types with relevance to the immune system (refer to Table1). Fibrinogen has been shown to have proinflammatory effects *in vitro* on a variety of cell types via a number of different receptors. The protein fgl-2 in its membrane-bound form on monocytes (monos) has been shown in some studies to act as a prothrombinase, directly converting prothrombin to thrombin. A soluble form has been shown in some studies to have immunosuppressive effects on both dendritic (DC) and T cells. The actions of fgl-2 are annotated with a question mark (?) because of recent data from a second strain of fgl-2 knockout mice (see text and Ref. (56)).

Tuttavia, diverse proteasi, coinvolte sia nella coagulazione che nell'inflammatione, regolano il segnale di PAR, che può essere pro-inflammatione o anti-inflammatione. La trombina, il complesso VIIa/TF, il fattore Xa e la PC attivata quando è legata al suo recettore endoteliale, giocano un ruolo nell'inflammatione, agendo attraverso i PAR. Il segnale di PAR-1 nelle cellule endoteliali può essere antinflammatione, mentre nelle cellule dendritiche è pro-inflammatione. L'attivazione di PAR-2 da parte del fattore Xa o VIIa/TF promuove l'espressione di citochine proinflammatione e chemochine.

L'AT svolge un ruolo chiave nella protezione contro la trombosi, neutralizzando la trombina e i fattori IXa, Xa, XIa e XIIa [59]. Durante la sepsi, la diminuita sintesi epatica, la clearance più rapida e la degradazione dell'elastasi neutrofila causa la diminuzione dei livelli di AT, contribuendo allo stato di ipercoagulabilità. In vitro, l'AT interferisce con la cellula endoteliale, col rilascio di citochine monocitarie, con l'espressione di TF e di molecole di adesione leucocitarie, e interferisce indirettamente con l'aggregazione piastrinica [60]. Le proprietà protettive dell'AT esogena erano state osservate in diverse sepsi batteriche. Purtroppo, gli studi di fase 3 non hanno dimostrato che l'AT potrebbe ridurre i tassi di mortalità nei pazienti con grave sepsi [61]. Tuttavia, è probabile che l'AT abbia un'importanza fisiologica nella modulazione della risposta infiammatoria.

La PC-attivata, il recettore endoteliale per la PC (EPCR), la PS e la trombomodulina sono criticamente coinvolti nella regolazione della coagulazione, dell'infiammazione, e della risposta immunitaria innata. La via della PC dà una forte evidenza dell'interazione tra coagulazione e infiammazione / immunità innata, e sottolinea l'importanza di delineare queste interazioni per lo sviluppo di nuove terapie. Disturbi trombotici sono associati ai difetti di PC e PS e alla resistenza del fattore Va alla PC attivata. La PC ha diversi modi con i quali attenua l'infiammazione: inibisce l'espressione del TF e il rilascio di citochine proinfiammatorie da parte dei monociti, blocca l'espressione delle molecole di adesione leucocitarie, inibisce la chemiotassi neutrofila ed è citoprotettiva. La PC attivata è anche protettiva nei confronti della barriera endoteliale, un effetto che sembra essere mediato dal PAR-1 e dall'EPCR. Quando legato all'EPCR, la PC attivata trasmette i suoi segnali antinfiammatori. Così, EPCR è un interruttore

molecolare per la PC attivata nel determinare se quest'ultimo funzionerà come anticoagulante o molecola antiinfiammatoria.



Un nesso tra il complemento e la coagulazione può essere anche suggerito dall'utilizzo efficace della PC attivata ricombinante durante la sepsi [62,63].

Il deficit di PS è associato a una diatesi trombotica. La PS fornisce un diretto collegamento tra coagulazione e immunità innata. Circa il 60% di PS circola in complesso con un componente del complemento, la proteina C4b-binding (C4bBP), un cofattore che regola in senso negativo l'attivazione del complemento. Quando è

legato al C4bBP, PS perde la funzione di cofattore anticoagulante. Nelle prime fasi dell'infiammazione, il PS libero si lega anche alle cellule apoptotiche, fornendo una piattaforma per un complesso PS-C4bBP che promuove la fagocitosi delle cellule apoptotiche.

Critico per la generazione di coaguli di fibrina, il fibrinogeno svolge anche un ruolo nell'immunità innata, perchè stimola la secrezione monocitaria di diverse citochine per mezzo del TLR4 [64]. Il fibrinogeno interagisce direttamente con le integrine su monociti, macrofagi, neutrofili e cellule dendritiche, promuovendo così diverse risposte proinfiammatorie.

Il fattore XIIIa svolge anche un ruolo nella risposta immunitaria innata, sebbene i percorsi non siano completamente delineati. Esso aumenta la funzione di barriera endoteliale, ma aumenta anche l'adesione e la migrazione dei leucociti. Il fattore XIII viene attivato anche dentro i monociti, aumentandone le proprie proprietà fagocitiche tramite alterazione del citoscheletro [65]. L'elastasi dei neutrofili attivati degrada il fattore XIIIa, interferendo con le sue funzioni nella coagulazione e nell'infiammazione.

Le piastrine sono ben riconosciute per il loro ruolo vitale nel mantenimento dell'emostasi e nel promuovere la crescita del trombo. Le piastrine attivate provvedono una superficie carica negativamente, su cui inizia la cascata emocoagulativa. Hanno anche ruolo critico nella sorveglianza immunitaria, e sono un'interfaccia chiave tra coagulazione e infiammazione. In risposta a lesioni e infezioni, le piastrine si attivano rapidamente, si localizzano in siti di lesione ed infezione, rilasciando mediatori protrombotici, proinfiammatori e antimicrobici, e interagiscono bidirezionalmente con altre cellule immunitarie innate. Le piastrine

sono attivate da una gamma di agonisti, e rilasciano fattori che bersagliano le cellule dell'immunità innata e non. Infatti, l'elenco dei fattori infiammatori ed immunomodulanti che vengono secreti dalle piastrine attivate, è lungo, sottolineando il ruolo vitale delle piastrine nell'emostasi e nell'immunità. I recettori piastrinici promuovono l'infiammazione e la trombosi. La P-selectina associata alle piastrine si lega al recettore PSGL-1 sui leucociti, promuovendo la loro adesione alle cellule endoteliali e l'aggregazione delle piastrine sui leucociti. L'attivazione di TLR4 sulle piastrine induce anche il legame piastrinico ai neutrofilo, seguiti da una robusta attivazione dei neutrofilo e alla formazione di cosiddette trappole neutrofile contro i batteri [66,67]. Questi affascinanti risultati (che anche forniscono nuovi approfondimenti sulla patogenesi della sindrome da distress respiratorio), sottolineano il ruolo delle piastrine, tradizionalmente considerate come "cellule dell'emostasi", nel rafforzare la prima linea di difesa immunitaria innata da parte dei neutrofilo.

È evidente l'interazione tra l'immunità innata e la coagulazione in molte malattie. La sindrome da anticorpi antifosfolipidi rappresenta un esempio di grave disordine, in cui recenti studi hanno fornito importanti nuove intuizioni nella patogenesi che influenzerà le strategie terapeutiche. La sindrome da anticorpi antifosfolipidi è caratterizzata dalla presenza di trombosi arteriose e / o venose associate e / o aborti ricorrenti. Le manifestazioni cliniche in questo esempio di malattia di difficile gestione, dimostrano l'importanza di inquadrare tutte le malattie trombotiche e infiammatorie nel contesto sia della coagulazione che dell'infiammazione, il cui punto finale può influenzare la selezione delle terapie.

RAPPORTO NEUTROFILI / LINFOCITI CIRCOLANTI

La reazione fisiologica usuale a lesioni chirurgiche e non chirurgiche, è data per prima da un aumento dei livelli sierici di ormone dello stress (cortisolo) insieme ad una diminuzione della risposta immunitaria cellulare, che si manifesta come una riduzione dell'interazione dei linfociti e dei macrofagi, diminuzione dell'attività delle cellule natural killer (NK), diminuita chemiotassi dei linfociti e neutrofilo, e riduzione della risposta di ipersensibilità di tipo ritardato. Le maggiori conoscenze di questi meccanismi hanno portato a scoprire nuovi biomarcatori, che potrebbero essere usati per massimizzare il beneficio delle correnti terapie o per selezionare il corretto target per lo sviluppo di nuovi farmaci.

Esistono diversi metodi descritti in molti studi retrospettivi della Letteratura, per lo studio dell'immunità. Studi recenti hanno valutato il valore di NLR e hanno scoperto in esso un significato quale indice di funzionalità immunitaria semplice da eseguire ed economico, con numerose implicazioni cliniche in ambito chirurgico [68-71]. Si è visto che un alto valore di NLR è associato a dimezzamento della conta dei linfociti T helper e T citotossici, dei linfociti B e delle cellule NK, e ad un aumento dei neutrofilo, che corrisponde ad uno stato di immunosoppressione [72-74].

Vari studi clinici hanno dimostrato inoltre che determinati valori di NLR sono significativamente correlati all'incidenza di complicanze post-operatorie e che ha valore prognostico, essendo inversamente proporzionale alla sopravvivenza nei pazienti oncologici [75-79].

In dettaglio, un valore pre-operatorio di $NLR > 2$ è correlato ad un aumento delle complicanze post-operatorie globali, tra cui complicanze infettive, sindrome aderenziale, progressione di malattia oncologica [77-81].

Un valore di $NLR < 2$ è invece correlato ad una aumentata incidenza di deiscenza anastomotica e ad una aumentata sopravvivenza mediana dei malati oncologici con malattia residua o sistemica [77-79].

Pochissimi studi sono inoltre riportati in Letteratura circa la valutazione ed il confronto della risposta immunitaria post-operatoria dopo chirurgia tradizionale e laparoscopica.

I risultati del mio studio dimostrano che il gruppo open ha una incidenza post-operatoria significativamente aumentata di $NLR > 2$ a 24 e a 120 ore nel post-operatorio rispetto al gruppo laparoscopico e quindi un maggiore grado di immunodepressione, il che indica una maggiore risposta infiammatoria sistemica dopo chirurgia tradizionale, dovuta ad un maggiore danno tissutale e all'inizio dei processi riparativi [82]. Un valore di $NLR < 2$ indica una ridotta risposta della fase acuta dell'infiammazione ed una migliore preservazione dei meccanismi immunitari cellulari, come si riscontra nel gruppo laparoscopico, dove il trauma tissutale è minore [83-85]. Ciò sembra suggerire che, a prescindere dal fatto che le risposte immunitarie intraperitoneali siano modulate da fattori correlati all'uso dello pneumoperitoneo in chirurgia laparoscopica e all'esposizione della cavità addominale all'aria ambiente in chirurgia tradizionale, i pazienti sottoposti a chirurgia laparoscopica abbiano una minore immunodepressione sistemica e che quindi siano meno suscettibili a complicanze infettive e a sindromi aderenziali, con

maggior tempo di sopravvivenza mediana in caso di patologia oncologica addominale residua [68,77-79].

Quindi il NLR pre-operatorio potrebbe essere utile per pianificare strategie chirurgiche, come ad esempio scegliere tra il confezionare una stomia diversiva nelle resezioni coloretali per cancro o una anastomosi colo-rettale.

Allo stato attuale, il NLR è l'unico score predittivo di rischio di deiscenza anastomotica che possa essere calcolato pre-operatoriamente, e non ci sono ancora studi in Letteratura che paragonino le alterazioni post-operatorie del NLR dopo chirurgia tradizionale e laparoscopica, e le conseguenti implicazioni cliniche.

Dal punto di vista emocoagulativo, poiché il TFPI è degradato e/o soppresso dai neutrofili, lasciando il TF disponibile per ulteriore promozione della coagulazione e dell'inflammatione, la neutrofilia che si riscontra nel periodo post-operatorio del gruppo open gioca un ruolo pro-coagulante e pro-trombotico.

CONCLUSIONI

L'insulto chirurgico apporta un trauma tissutale, di entità variabile secondo il tipo di chirurgia (open o laparoscopica), il tipo di intervento chirurgico (chirurgia maggiore o minore), e la durata dell'intervento.

Terapie sperimentali in fase di studio sono riportate in Letteratura per le alterazioni emocoagulative ed immunitarie nel corso di eventi estremi, quali il trauma, la sepsi e le patologie immunitarie pro-trombotiche.

C'è sempre più evidenza che la rapida attivazione della cascata di coagulazione dopo un trauma o la sepsi, sia accompagnata da una risposta infiammatoria sistemica (SIRS) incontrollata e progressiva, con conseguenze spesso letali

(disfunzione multi-organo o MODS) [86-88]. La MODS è la causa principale di morte nei pazienti settici [89], è il risultato della deposizione di fibrina intravascolare a seguito dell'attivazione locale della coagulazione, dell'inibizione di fattori anticoagulanti (ad esempio AT) o del blocco della fibrinolisi [87,90], ed è accompagnata da cambiamenti emostatici, del complemento e dall'attivazione piastrinica, con rilascio di mediatori proinfiammatori [91-93].

Mentre la sepsi progredisce, le cellule immunitarie ed endoteliali sono stimolate da citochine proinfiammatorie, e la risultante espressione di TF può portare ad una attivazione sistemica della coagulazione [94]. La CID è caratterizzata da una maggiore formazione di trombina o di diatesi emorragica a seguito del consumo di piastrine e di proteine della coagulazione [91,95], e contribuisce alla MODS.

Il trauma tissutale, la perdita acuta di sangue, come pure la sepsi attivano la cascata del complemento [96,97], il cui livello di attivazione può determinare il risultato clinico del paziente. In particolare, la generazione dell'anafilotossina C3a è indicata come marcatore della gravità del trauma e indicatore prognostico di sopravvivenza [96]. Il recettore solubile 1 del complemento ha rivelato alcuni effetti protettivi durante lo shock emorragico, bloccando la disfunzione endoteliale e la vasocostrizione post-shock [98].

La trombomodulina solubile ricombinante è stata usata nei modelli sperimentali per la sua capacità di provocare un significativo aumento dei livelli di PC e il blocco dell'attività coagulante della trombina [99]. Mentre studi pre-clinici hanno suggerito che il trattamento con la trombomodulina attenua alcuni degli effetti procoagulanti e infiammatori legati alla sepsi, il trattamento dei pazienti settici affetti da CID non risultava in una diminuzione della mortalità a 28 giorni [100-102].

La proteina TFPI, anch'essa usata per frenare la cascata emocoagulativa, non ha dimostrato chiari benefici sulla sopravvivenza dei pazienti settici [99].

L'uso della PC attivata ricombinante aumenta la sopravvivenza e riduce l'incidenza di MOFS nella sepsi severa, basandosi sul razionale che la depressione della via della proteina C può contribuire significativamente alla fisiopatologia della CID [62,63]. La caratterizzazione della PC come più che una molecola anticoagulante e la sua introduzione nella clinica per trattare pazienti con grave sepsi, è solo un primo passo.

La frazione C5a ha un ruolo prominente in corso di sepsi [87,103,104]. Tra gli inibitori del complemento, l'anticorpo anti-C5 Eculizumab inibisce l'attivazione della frazione C5, prevenendo così la formazione del MAC [105]. La sua somministrazione ha ridotto il rischio clinico di tromboembolismo in pazienti con emoglobinuria parossistica notturna.

Allo stesso modo l'anticorpo Pexelizumab, anticorpo contro il fattore C5, sembra avere un ruolo come terapia aggiuntiva nell'ischemia miocardica e ne riduce il danno tissutale [106].

Scoperte biochimiche, biologiche e cliniche dimostrano che il sistema immunitario e quello della coagulazione sono interconnessi in vari livelli. Queste interazioni possono costituire delle vie alternative in cui i componenti del sistema immunitario e della coagulazione possono essere potenzialmente attivate. Perciò possono anche essere degli obiettivi per lo sviluppo di nuove terapie.

Alla luce di quanto esposto, si potrebbe ipotizzare quale potenziale terapia per la profilassi ed il trattamento della TEV da affiancare a quella già esistente:

1. Un agonista competitivo della plasmina che degradi la fibrina senza attivare i fattori C3 e C5 del complemento (limitando così il danno tissutale, il rilascio tissutale di citochine pro-infiammatorie e pro-coagulanti e il rischio di CID);
2. Un antagonista del thrombin activatable fibrinolysis inhibitor (TAFI);
3. Una combinazione dei due precedenti;
4. Un inibitore del rilascio da parte dei PMN e del tessuto lesionato, di trombossani, PAF e serotonina (che attivano le piastrine);
5. Un antagonista del fattore XII di Hageman;
6. Un inibitore dell' α 2-antiplasmina;
7. Un antagonista del PAI-1.

Deve essere tenuta in considerazione la necessità di non inficiare l'emostasi, fondamentale nella buona riuscita dell'intervento chirurgico. Pertanto dovrà essere stabilita la tempistica di somministrazione, in modo da avere un adeguato assetto emocoagulativo necessario per l'emostasi, senza l'esubero della trombosi e, nei casi estremi, della CID e della MOFS.

L'equilibrio tra i componenti del sistema immunitario e della coagulazione e i loro inibitori determina l'attività biologica complessiva e il risultato clinico di una patologia. Studiare questo equilibrio è imperativo per perfezionare la profilassi antitrombotica con lo sviluppo di nuovi farmaci che agiscano anche sul versante immunitario, per prevenire la CID e la MOFS nel periodo post-operatorio o in patologie come il politrauma o la sepsi, in cui le terapie tradizionali dirette verso componenti immunitari possono compromettere ulteriormente la risposta

immunitaria innata e la progressione della malattia, e per scegliere marcatori diagnostici o prognostici per le malattie immunitarie associate alla trombosi.

Identificare quali meccanismi molecolari siano più o meno importanti durante il corso di determinate malattie, continuerà ad essere una sfida, che richiede eccellenti modelli preclinici e test clinici progettati con cura.

Non appena la complessa interazione tra emostasi e sistema immunitario sarà ulteriormente chiarita, essa avrà un impatto sulla nostra comprensione di malattie spesso gravi, aumentando le speranze per lo sviluppo di migliori terapie.

BIBLIOGRAFIA

1. Mastrojeni C, Mandolino T, Incardona S, Canciglia A, Pantè S, Pavia R. Thromboembolic risk and prevention of deep venous thrombosis in open and laparoscopic surgery. *G Chir.* 2005 Oct;26(10):395-8.
2. Gould MK, Garcia DA, Wren SM, Karanicolas PJ, Arcelus JI, Heit JA, Samama CM. Prevention of VTE in Nonorthopedic Surgical Patients. *Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis*. 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. ANTITHROMBOTIC THERAPY AND PREVENTION OF THROMBOSIS, 9TH ED: ACCP GUIDELINES. CHEST / 141 / 2 / FEBRUARY, 2012 SUPPLEMENT.

3. Laryea J, Champagne B. Venous Thromboembolism Prophylaxis. *Clin Colon Rectal Surg* 2013;26:153–159.
4. Clagett GP, Anderson FA, Geerts W, Heit JA, Knudson M, Lieberman JR, Wheeler HB, Merli GJ. Prevention of venous thromboembolism. *Chest* (1998) 114:531S–560S.
5. Tsiminikakis N, Chouillard E, Tsigris C, Diamantis T, Bongiorno C, Ekonomou C, Antoniou C, Bramis I. Fibrinolytic and coagulation pathways after laparoscopic and open surgery: a prospective randomized trial. *Surg Endosc* (2009) 23:2762–2769.
6. Ntourakis D, Sergentanis TN, Georgiopoulos I, Papadopoulou E, Liasis L, Kritikos E, Tzardis P, Laopodis V. Subclinical activation of coagulation and fibrinolysis in laparoscopic cholecystectomy: Do risk factors exist? *International Journal of Surgery* 9 (2011) 374e377.
7. Amin B, Zhang C, Yan W, Sun Z, Zhang Y, Du D, Gong K. Effects of pneumoperitoneum of laparoscopic cholecystectomy on the coagulation system of patients: a prospective observational study. *Chin Med J (Engl)*. 2014;127(14):2599-604.

8. Diamantis T, Tsiminikakis N, Skordylaki A, Samiotaki F, Vernadakis S, Bongiorno C, Tsagarakis N, Marikakis F, Bramis I, Bastounis E. Alterations of hemostasis after laparoscopic and open surgery. *Hematology*. 2007 Dec;12(6):561-70.
9. Ulrych J, Kvasnicka T, Fryba1 V, Komarc M, Malikova I, Burget F, Brzezkoval R, Kvasnicka J, Krska1 Z, Kvasnicka J. 28 day post-operative persisted hypercoagulability after surgery for benign diseases: a prospective cohort study. *BMC Surgery* (2016) 16:16
10. Agnelli G, Bolis G, Capussotti L, et al. A clinical outcome-based prospective study on venous thromboembolism after cancer surgery: the @RISTOS project. *Ann Surg* 2006;243(1):89–95.
11. Clarke-Pearson DL, Dodge RK, Synan I,McClelland RC,Maxwell GL. Venous thromboembolism prophylaxis: patients at high risk to fail intermittent pneumatic compression. *Obstet Gynecol* 2003;101(1):157–163.
12. Spyropoulos AC, Hussein M, Lin J, Battleman D. Rates of venous thromboembolism occurrence in medical patients among the insured population. *Thromb Haemost* 2009;102(5):951–957.

13. Bahl V, Hu HM, Henke PK, Wakefield TW, Campbell DA Jr, Caprini JA. A validation study of a retrospective venous thromboembolism risk scoring method. *Ann Surg* 2010;251(2):344–350.
14. Catheline JM, Capelluto E, Gaillard JL, Turner R, Champault G. Thromboembolism prophylaxis and incidence of thromboembolic complications after laparoscopic surgery. *Int J Surg Investig* 2000;2(1):41–47.
15. Alcalay A, Wun T, Khatri V, et al. Venous thromboembolism in patients with colorectal cancer: incidence and effect on survival. *J Clin Oncol* 2006;24(7):1112–1118.
16. Falanga A, Zacharski L. Deep vein thrombosis in cancer: the scale of the problem and approaches to management. *Ann Oncol* 2005;16 (5):696–701.
17. Kakkar AK, Levine M, Pinedo HM, Wolff R, Wong J. Venous thrombosis in cancer patients: insights from the FRONTLINE survey. *Oncologist* 2003;8(4):381–388.
18. Vecchio R, Cacciola E, Di Martino M, Cacciola RR, MacFadyen BV Jr. Modifications of coagulation and fibrinolytic parameters in laparoscopic cholecystectomy. *Surg Endosc* (2003) 17: 428–433.

19. Cushman M. Epidemiology and Risk Factors for Venous Thrombosis. *Semin Hematol.* 2007 April ; 44(2): 62–69.

20. Kozek-Langenecker SA, Afshari A, Albaladejo P, Santullano CA, De Robertis E, Filipescu DC, Fries D, Görlinger K, Haas T, Imberger G, Jacob M, Lancé M, Llau J, Mallett S, Meier J, Rahe-Meyer N, Samama CM, Smith A, Solomon C, Van der Linden P, Wikkelsø AJ, Wouters P, Wyffels P. Management of severe perioperative bleeding: guidelines from the European Society of Anaesthesiology. *Eur J Anaesthesiol.* 2013 Jun;30(6):270-382. Review. Erratum in: *Eur J Anaesthesiol.* 2014 Apr;31(4):247.

21. Van de Wouwer M, Collen D, Conway EM. Thrombomodulin-Protein C-EPCR System: integrated to regulate coagulation and inflammation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004;24(8):1374-1383.

22. Esmon CT. Interactions between the innate immune and blood coagulation systems. *TRENDS in Immunology* Vol.25 No.10 October 2004.

23. Hoffman M, Monroe DM, Roubey RAS. Links Between the Immune and Coagulation Systems: How Do “Antiphospholipid Antibodies” Cause Thrombosis? *Immunologic Research* 2000;22/2–3:191–198.

24. Adams RL, Bird RJ. Review article: coagulation cascade and therapeutics update: relevance to nephrology. Part 1: Overview of coagulation, thrombophilias and history of anticoagulants. *Nephrology (Carlton)*. 2009; 14:462–470.
25. Dedej T, Lamaj E, Marku N, Ostreni V, Bilali S. Alterations in homeostasis after open surgery. A prospective randomized study. *G Chir*. 2013 Jul-Aug;34(7-8):202-9.
26. Milic DJ, Pejcic VD, Zivic S, Jovanovic SZ, Stanojkovic A, Jankovic RJ, Pecic VM, Nestorovic MD, Jankovic ID. Coagulation status and the presence of postoperative deep vein thrombosis in patients undergoing laparoscopic cholecystectomy. *Surg Endosc* (2007) 21: 1588–1592.
27. Gürleyik E, Gürleyik G, Cetinkaya F, Unalmiser S. The inflammatory response to open tension-free inguinal hernioplasty versus conventional repairs. *Am J Surg*. 1998;175:179–82.
28. Vatansev C, Belviranli M, Aksoy F, Tuncer S, Sahin M, Karahan O. The effects of different hernia repair methods on postoperative pain medication and CRP levels. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech*. 2002;12:243–6.

29. Bender O, Balcı FL, Yüney E, Sağlam F, Ozdenkaya Y, Sarı YS. Systemic inflammatory response after Kugel versus laparoscopic groin hernia repair: a prospective randomized trial. *Surg Endosc.* 2009;23:2657–61.
30. Di Vita G, Sciumè C, Milano S, Patti R, Lauria GL, Di Bella G, et al. Inflammatory response in open and laparoscopic cholecystectomy. *Ann Ital Chir.* 2001;72:669–73. discussion 673-4.
31. Karayiannakis AJ, Makri GG, Mantzioka A, Karousos D, Karatzas G. Systemic stress response after laparoscopic or open cholecystectomy: a randomized trial. *Br J Surg.* 1997;84:467–71.
32. Jakeways MS, Mitchell V, Hashim IA, Chadwick SJ, Shenkin A, Green CJ, et al. Metabolic and inflammatory responses after open or laparoscopic cholecystectomy. *Br J Surg.* 1994;81:127–31.
33. Prisco D, De Gaudio AR, Carla R, Gori AM, Fedi S, Cella AP, Gensini GF, Abbate R (2000) Videolaparoscopic cholecystectomy induces a haemostasis activation of a lower degree than does open surgery. *Surg Endosc* 14:170–174.

34. Shietroma M, Carlei F, Mownah A, Franchi L, Mazzotta C, Sozio A, Amicuzzi G (2004) Changes in the blood coagulation, fibrinolysis, and cytokine profile during laparoscopic and open cholecystectomy. *Surg Endosc* 18:1090–1096
35. Nguyen NT, Luketich JD, Shurin MR, Schatz S, Tran Q, Ravid J, Schauer PR. Coagulation modifications after laparoscopic and open cholecystectomy in a swine model. *Surg Endosc*. 1998 Jul;12(7):973-8.
36. Papaziogas B(1), Koutelidakis I, Kabaroudis A, Galanis I, Paraskevas G, Vretzakis G, Atmatzidis K. Modifications of coagulation and fibrinolysis mechanism in laparoscopic vs. open cholecystectomy. *Hepatogastroenterology*. 2007 Jul-Aug;54(77):1335-8.
37. American College of Chest Physicians. Prevention of VTE in non-orthopedic surgical patients antithrombotic therapy and prevention of thrombosis. ACCP Guidelines. 9th ed. Northbrook, IL:American College of Chest Physicians; 2012:s240–242.
38. Chen AH, Frangos SG, Kilaru S, Sumpio BE. Intermittent pneumatic compression devices—physiological mechanisms of action. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2001;21(5):383–392.

39. McLeod RS, GeertsWH, Sniderman KW, et al; Canadian Colorectal Surgery DVT Prophylaxis Trial investigators. Subcutaneous heparin versus low-molecular-weight heparin as thromboprophylaxis in patients undergoing colorectal surgery: results of the Canadian colorectal DVT prophylaxis trial: a randomized, double-blind trial. *Ann Surg* 2001;233(3):438–444.
40. National Collaborating Centre for Acute Care. Venous thromboembolism: reducing the risk of venous thromboembolism (deep vein thrombosis and pulmonary embolism) in patients admitted to hospital. London, England: NICE; 2010.
41. Mismetti P, Laporte S, Darmon JY, Buchmüller A, Decousus H. Meta-analysis of low molecular weight heparin in the prevention of venous thromboembolism in general surgery. *Br J Surg* 2001;88(7):913–930.
42. Agnelli G, Bergqvist D, Cohen A, Gallus A, Gent M; PEGASUS investigators. Randomized clinical trial of postoperative fondaparinux versus perioperative dalteparin for prevention of venous thromboembolism in high-risk abdominal surgery. *J Surg* 2005;92(10):1212–1220.
43. Lyman GH, Khorana AA, Falanga A, et al. American Society of Clinical Oncology. American Society of Clinical Oncology guideline: recommendations for

venous thromboembolism prophylaxis and treatment in patients with cancer. *J Clin Oncol* 2007;25(34):5490–5505.

44. Amara U, Rittirsch D, Flierl M, Bruckner U, Klos A, Gebhard F, Lambris JD, Huber-Lang M. Interaction Between the Coagulation and Complement System. *Adv Exp Med Biol.* 2008 ; 632: 71–79.

45. Opal SM, Esmon CT. Bench-to-bedside review: functional relationships between coagulation and the innate immune response and their respective roles in the pathogenesis of sepsis. *Crit Care.* 2003;7(1):23-38.

46. Ricklin D, Hajishengallis G, Yang K, Lambris JD. Complement: a key system for immune surveillance and homeostasis. *Nat Immunol.* 2010; 11:785–797.

47. Del Conde I, Cruz MA, Zhang H, López JA, Afshar-Kharghan V. Platelet activation leads to activation and propagation of the complement system. *J Exp Med.* 2005; 201:871–879.

48. Huber-Lang M, Sarma JV, Zetoune FS, Rittirsch D, Neff TA, McGuire SR, Lambris JD, Warner RL, Flierl MA, Hoesel LM, Gebhard F, Younger JG, Drouin SM, Wetsel RA, Ward PA. Generation of C5a in the absence of C3: a new complement activation pathway. *Nat Med* 2006;12:682–687.

49. Ikeda K, Nagasawa K, Horiuchi T, Tsuru T, Nishizaka H, Niho Y. C5a induces tissue factor activity on endothelial cells. *Thromb Haemost* 1997;77:394–398.
50. Wojta J, Kaun C, Zorn G, Ghannadan M, Hauswirth AW, Sperr WR, Fritsch G, Printz D, Binder BR, Schatzl G, Zwirner J, Maurer G, Huber K, Valent P. C5a stimulates production of plasminogen activator inhibitor-1 in human mast cells and basophils. *Blood*. 2002; 100:517–523.
51. Jansen PM, Eisele B, de Jong IW, Chang A, Delvos U, Taylor FB Jr, Hack CE. Effect of C1 inhibitor on inflammatory and physiologic response patterns in primates suffering from lethal septic shock. *J Immunol* 1998;160:475–484.
52. Davis AE III. Biological effects of C1 inhibitor. *Drug News Perspect* 2004;17:439–446.
53. Shrivastavaa S, McVeyb JH, Dorling A. The Interface Between Coagulation and Immunity. *American Journal of Transplantation* 2007; 7: 499–506.
54. Fujita T, Yamabe H, Shimada M, et al. Thrombin enhances the production of monocyte chemoattractant protein-1 and macrophage inflammatory protein-2 in

cultured rat glomerular epithelial cells. *Nephrol Dial Transplant.* 2008;23(11):3412-3417.

55. Wadgaonkar R, Somnay K, Garcia JG. Thrombin induced secretion of macrophage migration inhibitory factor (MIF) and its effect on nuclear signaling in endothelium. *J Cell Biochem.* 2008;105(5):1279-1288.

56. Clark A, Weymann A, Hartman E, et al. Evidence for non-traditional activation of complement factor C3 during murine liver regeneration. *Mol Immunol.* 2008;45(11):3125-3132.

57. Naldini A, Aarden L, Pucci A, Bernini C, Carraro F. Inhibition of interleukin-12 expression by alphathrombin in human peripheral blood mononuclear cells: a potential mechanism for modulating Th1/Th2 responses. *Br J Pharmacol.* 2003;140(5):980-986.

58. Feistritzer C, Riewald M. Endothelial barrier protection by activated protein C through PAR1-dependent sphingosine 1-phosphate receptor-1 crossactivation. *Blood.* 2005;105(8):3178-3184.

59. Rau JC, Beaulieu LM, Huntington JA, Church FC. Serpins in thrombosis, hemostasis and fibrinolysis. *J Thromb Haemost.* 2007;5(suppl 1):102-115.

60. Wiedermann C, Romisch J. The anti-inflammatory actions of antithrombin—a review. *Acta Med Austriaca*. 2002;29(3):89-92.
61. Abraham E, Reinhart K, Opal S, et al. Efficacy and safety of tifacogin (recombinant tissue factor pathway inhibitor) in severe sepsis: a randomized controlled trial. *JAMA*. 2003;290(2):238-247.
62. Bernard GR, Vincent JL, Laterre PF, LaRosa SP, Dhainaut JF, Lopez-Rodriguez A, Steingrub JS, Garber GE, Helterbrand JD, Ely EW, Fisher CJ. Efficacy and safety of recombinant human activated protein C for severe sepsis. *N Engl J Med* 2001;344:699–709.
63. Rezende SM, Simmonds RE, Lane DA. Coagulation, inflammation, and apoptosis: different roles for protein S and the protein S-C4b binding protein complex. *Blood* 2004;103:1192–1201.
64. Smiley ST, King JA, Hancock WW. Fibrinogen stimulates macrophage chemokine secretion through toll-like receptor 4. *J Immunol*. 2001;167(5):2887-2894.

65. Sarvary A, Szucs S, Balogh I, et al. Possible role of factor XIII subunit A in Fcγ and complement receptor-mediated phagocytosis. *Cell Immunol.* 2004;228(2):81-90.
66. Clark SR, Ma AC, Tavener SA, et al. Platelet TLR4 activates neutrophil extracellular traps to ensnare bacteria in septic blood. *Nat Med.* 2007;13(4):463-469.
67. Brinkmann V, Reichard U, Goosmann C, et al. Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science.* 2004;303(5663):1532-1535.
68. Kim YH, Choi WJ. The effectiveness of postoperative neutrophils to lymphocytes ratio in predicting long-term recurrence after stomach cancer surgeryJ *Korean Surg Soc* 2012;83:352-359.
69. Sarraf KM, Belcher E, Raevsky E, Nicholson AG, Goldstraw P, Lim E. Neutrophil/lymphocyte ratio and its association with survival after complete resection in non-small cell lung cancer. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2009;137:425-8.
70. Zahorec R. Ratio of neutrophil to lymphocyte counts—rapid and simple parameter of systemic inflammation and stress in critically ill. *Bratisl Lek Listy* 2001;102:5-14.

71. Halazun KJ, Aldoori A, Malik HZ, Al-Mukhtar A, Prasad KR, Toogood GJ, et al. Elevated preoperative neutrophil to lymphocyte ratio predicts survival following hepatic resection for colorectal liver metastases. *Eur J Surg Oncol* 2008;34:55-60.
72. Evans C, Galustian C, Kumar D, et al. Impact of surgery on immunologic function: comparison between minimally invasive techniques and conventional laparotomy for surgical resection of colorectal tumors. *Am J Surg* 2009; 197: 238-45.
73. Tang CL, Eu KW, Tai BC, Soh JG, MacHin D, SeowChoen F. Randomized clinical trial of the effect of open versus laparoscopically assisted colectomy on systemic immunity in patients with colorectal cancer. *Br J Surg* 2001; 88: 801-7.
74. Bolla G, Tuzzato G. Immunologic postoperative competence after laparoscopy versus laparotomy. *Surg Endosc* 2003; 17: 1247-50.
75. Shakhar G, Ben-Eliyahu S. Potential prophylactic measures against postoperative immunosuppression: could they reduce recurrence rates in oncological patients? *Ann Surg Oncol* 2003; 10: 972-92.

76. Stevens L, Pathak S, Nunes QM, Pandanaboyana S, Macutkiewicz C, Smart N, Smith AM. Prognostic significance of pre-operative C-reactive protein and the neutrophil–lymphocyte ratio in resectable pancreatic cancer: a systematic review. *HPB* 2015, 17, 285–291.
77. Proctor MJ, McMillan DC, Morrison DS, Fletcher CD, Horgan PG, Clarke SJ. (2012) A derived neutrophil to lymphocyte ratio predicts survival in patients with cancer. *Br J Cancer* 107:695–699. 21.
78. Pichler M, Hutterer GC, Stoeckigt C, Chromecki TF, Stojakovic T, Golbeck S et al. (2013) Validation of the pre-treatment neutrophil lymphocyte ratio as a prognostic factor in a large European cohort of renal cell carcinoma patients. *Br J Cancer* 108:901–907.
79. Walsh SR, Cook EJ, Goulder F, Justin TA, Keeling NJ. (2005) Neutrophil lymphocyte ratio as a prognostic factor in colorectal cancer. *J Surg Oncol* 91:181–184.
80. Yoneyama Y, Ito M, Sugitou M, Kobayashi A, Nishizawa Y, Saito N. Postoperative lymphocyte percentage influences the long-term disease-free survival following a resection for colorectal carcinoma. *Jpn J Clin Oncol* 2011;41:343-7.

81. Hogan BV, Peter MB, Shenoy HG, Horgan K, Hughes TA. Surgery induced immunosuppression. *Surgeon* 2011;9:38-43.
82. Janež J, Korać T, Rebolj Kodre A, Jelenc F, Ihan A. Laparoscopically assisted colorectal surgery provides better short-term clinical and inflammatory outcomes compared to open colorectal surgery. *Arch Med Sci* 2015; 11, 6: 1217–1226.
83. Ordemann J, Jacobi CA, Schwenk W, Stosslein R, Muller JM. Cellular and humoral inflammatory response after laparoscopic and conventional colorectal resections. *Surg Endosc* 2001; 15: 600-8.
84. Wichmann MW, Huttl TP, Winter H, et al. Immunological effects of laparoscopic vs open colorectal surgery: a prospective clinical study. *Arch Surg* 2005; 140:692-7.
85. Whelan RL, Franklin M, Holubar SD, et al. Postoperative cell mediated immune response is better preserved after laparoscopic vs open colorectal resection in humans. *Surg Endosc* 2003; 17: 972-8.

86. Hierholzer C, Billiar TR. Molecular mechanisms in the early phase of hemorrhagic shock. *Langenbecks Arch Surg* 2001;386:302–308.
87. Rittirsch D, Flierl MA, Ward PA. Harmful molecular mechanisms in sepsis. *Nat Rev Immunol.* 2008; 8:776–787.
88. Ward PA. The dark side of C5a in sepsis. *Nat Rev Immunol.* 2004; 4:133–142.
89. Barie PS, Hydo LJ, Pieracci FM, Shou J, Eachempati SR. Multiple organ dysfunction syndrome in critical surgical illness. *Surg Infect (Larchmt).* 2009; 10:369–377.
90. Knoebl P. Blood coagulation disorders in septic patients. *Wien Med Wochenschr.* 2010; 160:129–138.
91. Gando S. Microvascular thrombosis and multiple organ dysfunction syndrome. *Crit Care Med.*2010; 38:S35–S42.
92. Ten Cate H, Schoenmakers SH, Franco R, Timmerman JJ, Groot AP, Spek CA, Reitsma PH. Microvascular coagulopathy and disseminated intravascular coagulation. *Crit Care Med.* 2001;29:S95–S97.

93. Younger JG, Bracho DO, Chung-Esaki HM, Lee M, Rana GK, Sen A, Jones AE. Complement activation in emergency department patients with severe sepsis. *Acad Emerg Med.* 2010; 1-7:353–359.
94. Levi M, Opal SM. Coagulation abnormalities in critically ill patients. *Crit Care.* 2006; 10:222.
95. Markiewski MM, DeAngelis RA, Lambris JD. Complexity of complement activation in sepsis. *J Cell Mol Med.* 2008; 12:2245–2254.
96. Hecke F, Schmidt U, Kola A, Bautsch W, Klos A, Kohl J. Circulating complement proteins in multiple trauma patients – correlation with injury severity, development of sepsis, and outcome. *Crit Care Med* 1997;25:2015–2024.
97. Laudes IJ, Chu JC, Sikranth S, Huber-Lang M, Guo RF, Riedemann N, Sarma JV, Schmaier AH, Ward PA. Anti-c5a ameliorates coagulation/fibrinolytic protein changes in a rat model of sepsis. *Am J Pathol.* 2002; 160:1867–1875.
98. Fruchterman TM, Spain DA, Wilson MA, Harris PD, Garrison RN. Complement inhibition prevents gut ischemia and endothelial cell dysfunction after hemorrhage/resuscitation. *Surgery* 1998;124:782–791.

99. Levi M, Lowenberg E, Meijers JC. Recombinant anticoagulant factors for adjunctive treatment of sepsis. *Semin Thromb Hemost.* 2010; 36:550–557.
100. Levi M, van der Tom P. The role of natural anticoagulants in the pathogenesis and management of systemic activation of coagulation and inflammation in critically ill patients. *Semin Thromb Hemost.* 2008; 34:459–468.
101. Hagiwara S, Iwasaka H, Matsumoto S, Hasegawa A, Yasuda N, Noguchi T. In vivo and in vitro effects of the anticoagulant, thrombomodulin, on the inflammatory response in rodent models. *Shock.* 2010; 33:282–288.
102. Saito H, Maruyama I, Shimazaki S, Yamamoto Y, Aikawa N, Ohno R, Hirayama A, Matsuda T, Asakura H, Nakashima M, Aoki N. Efficacy and safety of recombinant human soluble thrombomodulin (ART-123) in disseminated intravascular coagulation: results of a phase III, randomized, double-blind clinical trial. *J Thromb Haemost.* 2007; 5:31–41.
103. Ward PA, Gao H. Sepsis, complement and the dysregulated inflammatory response. *J Cell Mol Med.* 2009; 13:4154–4160.

104. Rittirsch D, Flierl MA, Nadeau BA, Day DE, Huber-Lang M, Mackay CR, Zetoune FS, Gerard NP, Cianflone K, Kohl J, Gerard C, Sarma JV, Ward PA. Functional roles for C5a receptors in sepsis. *Nat Med.* 2008; 14:551–557.
105. Hillmen P, Muus P, Duhrsen U, Risitano AM, Schubert J, Luzzatto L, Schrezenmeier H, Szer J, Brodsky RA, Hill A, Socie G, Bessler M, Rollins SA, Bell L, Rother RP, Young NS. Effect of the complement inhibitor eculizumab on thromboembolism in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood.* 2007; 110:4123–4128.
106. Testa L, Van Gaal WJ, Bhindi R, Biondi-Zoccai GG, Abbate A, Agostoni P, Porto I, Andreotti F, Crea F, Banning AP. Pexelizumab in ischemic heart disease: a systematic review and metanalysis on 15,196 patients. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2008; 136:884–893.