

Otolog ve homolog kan transfüzyonunun karın içi enfeksiyon modelinde TNF-alfa düzeyleri ve sağkalıma etkisi

Effects of autologous and homologous blood transfusion on TNF-alpha levels and survival in an intraabdominal infection model

Yusuf Alper KILIÇ,¹ Hande CANPINAR,² Dicle GÜÇ,² İskender SAYEK¹

AMAÇ

Homolog kan transfüzyonunun immünmodülatuar etkilerinin cerrahi hastalarda kanser nüksü ve enfeksiyon gelişimi üzerine olumsuz etkileri olabileceği yönünde bulgular vardır. Bu olumsuz etkileri ortadan kaldırmaya yönelik bir yaklaşım otolog kan transfüzyonudur. Bununla birlikte, otolog transfüzyonun bu açıdan yararı netlik kazanmamıştır. Bu çalışmada, sıçanda karın içi enfeksiyon modelinde otolog ve homolog kan transfüzyonunun TNF-alfa düzeyleri ve sağkalım üzerine etkileri araştırıldı.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada toplam 92 adet Sprague-Dawley cinsi sıçan kullanıldı. 44 sıçanda kan transfüzyonunu takip eden 7. günde çekal ligasyon delme yöntemi ile karın içi enfeksiyon oluşturuldu, ardından 90. dakika ve 6. saatte kan örnekleri alınarak ELISA yöntemi ile TNF-alfa düzeylerine bakıldı. 48 sıçanda ise (Sağkalımın değerlendirilmesi için kullanılan sıçanlar homolog ve otolog gruplarda 12'şer sıçandan oluştu.) transfüzyon ve çekal ligasyon delme işlemini takiben bir hafta süreyle sağkalım gözlemlendi.

BULGULAR

Çalışma sonucunda otolog transfüzyon grubuna göre, homolog kan transfüzyonu grubunda TNF-alfa yanıtında belirgin bir baskılanma olduğu görüldü, fakat gruplar arasında sağkalım açısından bir fark bulunamadı.

SONUÇ

Bu bulgulara dayanarak, otolog kan transfüzyonunun transfüzyona bağlı immünmodülasyonu azaltacak bir seçenek olduğu, fakat karın içi enfeksiyonda mortaliteyi azaltmadığı sonucuna varılmıştır.

Anahtar Sözcükler: Homolog kan transfüzyonu; immünmodülasyon; kan transfüzyonu; karın içi enfeksiyon; otolog kan transfüzyonu.

BACKGROUND

Autologous blood transfusion is one of the approaches used for prevention of the undesirable immunomodulatory effects of homologous blood transfusion that can cause an increase in cancer recurrence and surgical site infections. On the other hand, the benefits of autologous blood transfusion in that respect are not yet clearly identified. In this experimental study, we investigated the differences in effects of autologous and homologous blood transfusion on tumor necrosis factor (TNF)-alpha levels and survival in an intraabdominal infection model in rats.

METHODS

A total of 92 Sprague-Dawley rats were used in the study. Forty-four of those rats were divided into autologous and homologous transfusion groups, and intraabdominal infection was instituted by cecal ligation puncture method on the 7th day after blood transfusion. Blood samples were taken at the 90th minute and at 6-hour intervals after cecal ligation puncture and were used for measurement of TNF-alpha levels by ELISA method. In the remaining 48 rats, survival was investigated within the first week of cecal ligation puncture.

RESULTS

Our results revealed significantly depressed TNF-alpha levels in the homologous blood transfusion group, but with respect to survival, no difference was detected between the groups.

CONCLUSION

Based on these findings, we concluded that autologous blood transfusion decreases transfusion-related immunomodulation but does not cause a decrease in mortality due to intraabdominal infection.

Key Words: Homologous blood transfusion; immunomodulation; blood transfusion; intraabdominal infection; autologous blood transfusion.

¹Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Ankara; ²Hacettepe Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü, Temel Onkoloji Anabilim Dalı, Ankara.

¹Department of General Surgery, Hacettepe University Faculty of Medicine, Ankara; ²Department of Basic Oncology, Hacettepe University Oncology Institute, Ankara, Turkey.

Cerrahi uygulanan hastalarda, cerrahi travma, anestezi, kanama, karın içi enfeksiyon ve kan transfüzyonu gibi pek çok faktörün bağışıklık sistemini baskıladığı düşünülmektedir. Bugüne kadar yapılan çalışmalar homolog (allojenik) kan transfüzyonunun immünsüpresif etkilerini şüpheye yer bırakmayacak şekilde ortaya koymuştur.^[1] Bu etkiden, immünsüpresif ilaçların gelişmesinden önceki dönemlerde transplantasyon yapılacak hastalarda rejeksiyonu önlemek amacıyla yararlanılmıştır. Günümüzde homolog kan transfüzyonunun immünsüpresif etkileri tümör nüksü ve ameliyat sonrası enfeksiyonlarda artışa neden olan bir sorun olup, cerrahları ameliyat sırasında ve ameliyat sonrası erken dönemde kan transfüzyonundan olabildiğince kaçınmaya zorlamaktadır. Bununla birlikte, ameliyat sırasında ve ameliyat sonrası erken dönemde doku perfüzyonunun idame ettirilmesi gerek yaşamsal organların gerekse yara iyileşmesi sürecinin olumsuz etkilenmemesi için gereklidir.

Bu nedenle, ameliyat sırasında ve sonrasında homolog kan yerine kullanılacak diğer alternatifler üzerinde çalışılmaktadır. Bunlar, perflorokarbonlar, sentetik hemoglobin preparatları, beyaz küre sayısını azaltmaya yönelik yaklaşımlar ve otolog kan transfüzyonudur.^[1,2] Tüm bu yaklaşımlar kendilerine has üstünlüklere ve sorunlara sahiptir. Perflorokarbonlar ve sentetik hemoglobin preparatları biyokompatibilite sorunları yanında, özellikle sentetik hemoglobin preparatlarının mikrodolaşım üzerindeki olumsuz etkileri nedeniyle rutin kullanıma girecek düzeye erişememişlerdir. Otolog kan transfüzyonu ise hastanın kendi kanının ameliyat öncesi dönemde depolanmasını, ameliyatın geciktirilmesini ve kan bankası açısından belirgin bir iş yükü ve maliyeti beraberinde getirmektedir. Ameliyat sırasında, kanamaya bağlı vücut boşluklarında biriken otolog kanın hastaya tekrar verilmesi ise son derece pahalı teknolojilerin kullanılmasını gerektirmekte ve kanser ya da enfeksiyon yayılımı olasılığı nedeniyle çoğu genel cerrahi hastasında kullanılamamaktadır.

Öte yandan ameliyat sonrası dönemde ortaya çıkabilecek cerrahi alan enfeksiyonları hem hastanede

kalış süresini ve morbiditeyi hem de tedavi maliyetini belirgin derecede artırmaktadır. Uzun süreli antibiyotik kullanımı gereği antibiyotiklere direnç gelişmesine neden olmakta, cerrahi enfeksiyonun tetiklediği sistemik enflamatuvar süreç pek çok hastada sınırlı yoğun bakım olanaklarının kullanılmasını gerektirecek çoklu organ yetersizliğine yol açmaktadır.

Yapılan araştırmalar otolog kan transfüzyonunun enfeksiyon gelişimini önleme konusundaki etkinliği açısından farklı sonuçlar vermiştir.^[1]

Bu çalışmada, sıçanda karın içi enfeksiyon modelinde, homolog ve otolog kan transfüzyonunun pre-enflamatuvar yanıt ve sağkalım üzerine etkilerinin karşılaştırılması hedeflendi.

GEREÇ VE YÖNTEM

Araştırma 92 adet erişkin inbred Spreague-Dawley sıçan (250-300 gr ağırlığında) üzerinde yapıldı, homolog kan transfüzyonu için donör olarak inbred erkek Wistar sıçanlar kullanıldı. Hayvanların deney protokolü süresince su ve yiyeceğe erişimleri kısıtlanmadı. Hayvanların bakımı ve izlemi Hacettepe Üniversitesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda yapıldı, deneyler Hacettepe Üniversitesi Cerrahi Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi. Sıçanlardan 44'ü sitokin ölçümleri için kullanılırken, 48 sıçan sağkalım gruplarında kullanıldı (Tablo 1). Sağkalımın değerlendirilmesi için kullanılan sıçanlar homolog ve otolog gruplarda 12'şer sıçandan oluşturuldu. Sağkalım değerlendirmesi 18 ve 22 G iğne kullanılarak iki kez yapıldığından bu grupta toplam 48 sıçan kullanıldı. Ayrıca, 10 adet Wistar Albino cinsi sıçan homolog kan transfüzyonu için donör olarak kullanıldı, bu sıçanlar kan alındıktan sonra anestezi altında öldürüldü.

Anestezi

Deney protokolü süresince hayvanlara ilki kan transfüzyonu için 0. günde, ikincisi çekal ligasyon delme için 7. günde olmak üzere iki kez anestezi verildi. Anestezi, ksilazin (5 mg/kg - Rompun®) ve ketamin (30 mg/kg - Ketalar®) karışımının tek intramusküler enjeksiyonla verilmesiyle uygulandı.

Tablo 1. Sıçanların gruplara göre dağılımı

TNF-alfa Düzeyleri						Sağkalım			
90. dakika			6. saat			CLP – 18 G		CLP – 22 G	
Homolog	Otolog	Sham	Homolog	Otolog	Sham	Homolog	Otolog	Homolog	Otolog
8	8	6	8	8	6	12	12	12	12
22			22			24		24	

Transfüzyon

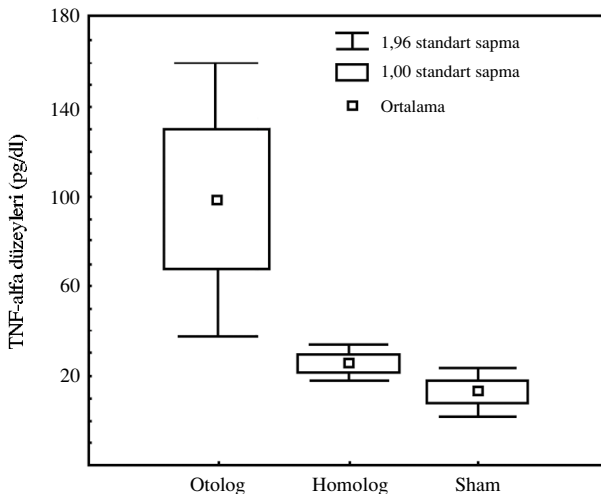
Transfüzyonlar sol ana femoral ven 24 G intraket ile kateterize edilerek yapıldı, kanama ve hava embolisi olasılığını azaltmak için venin diseksiyonu mikroskop altında (Zeiss Binocular ameliyat mikroskop) gerçekleştirildi. Homolog grupta hipervolemi gelişmesi olasılığını azaltmaya yönelik, toplam kan hacminin %10'una denk gelen 1,5 ml kan preheparinize enjektörlere alındıktan 1 saat sonra, otolog grupta sıçanın kendi kanı, homolog grupta ise donör olarak kullanılan Wistar Albino sıçanların kanı transfüze edildi.

Karın İçi Enfeksiyon

Karın içi enfeksiyon modelinde, Baker'in tanımladığı yöntemle çekal ligasyon delme uygulandı.^[3] Bu amaçla, işlem öncesi yiyeceğe erişimi kısıtlanmamış olan sıçanın sağ kolon içeriği çekuma doğru sıvazlandıktan sonra çekum, ileum ile kolon arasında pasajı engellemeyecek şekilde proksimalinden bağlandı. Daha sonra hem ön hem de arka duvarını içerecek şekilde 18 G iğne ile iki yerinden delindi. Bu yaklaşımla, peritonite bağlı erken mortalite her iki grupta da yüksek olduğundan, sağkalım grubu 22 G iğne ile tekrarlandı. Çekal ligasyon delmeyi takiben tüm sıçanlar 2,5 ml subkütan serum fizyolojik ile resüsite edildi. Kan örnekleri belirlenen zaman aralıklarında (90. dakikada ve 6. saatte) kardiyak ponksiyon ile alındı, işlem sonrası sıçanlar anestezi altında öldürüldü. Sağkalım, işlem sonrası 6., 24., 30., 54. ve 72. saatlerde ve 7. günde mortalite değerlendirildi (Tablo 1).

TNF-alfa Ölçümü

TNF-alfa ölçümü Hacettepe Onkoloji Enstitüsü



Şekil 1. TNF-alfa düzeylerinin gruplar arasındaki dağılımı.

Temel Onkoloji Laboratuvarı'nda -20°C'de saklanan sıçan serumlarında solid faz sandviç ELISA (Biosource Cytoscreen Kit, USA Enzyme-immunosorbent-Assay) yöntemi ile ölçüldü.

İstatistiksel değerlendirmede TNF-alfa düzeyleri için Mann-Whitney U testi, sağkalımın karşılaştırılması için ki-kare testi kullanıldı. Değerlendirme STATISTICA for Windows (StatSoft Inc.) programı kullanılarak yapıldı.

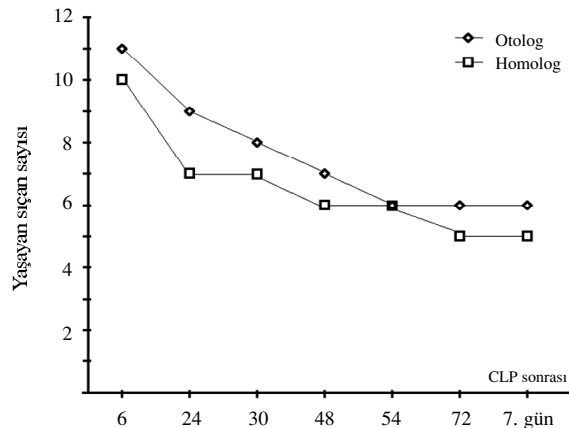
BULGULAR

Altıncı saatte ölçülen TNF-alfa düzeyleri her iki grupta önemsenemeyecek düzeylerde olmakla birlikte, 90. dakikada alınan örneklerde yapılan ölçümler açısından, otolog ve homolog transfüzyon grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ($p < 0,05$). TNF-alfa düzeyleri otolog grupta $98 \pm 31,13$ pg/ml iken homolog grupta $24 \pm 4,14$ pg/ml'dir (Şekil 1).

Çekal ligasyon delme yönteminde 18 G iğne kullanılan sıçanlarda her iki grupta da erken dönemde mortalite çok yüksek olduğundan istatistiksel bir karşılaştırma yapılamamıştır. Çekal ligasyon delme için 22 G iğne kullanılan sıçanlarda mortalite açısından, 6., 24., 30., 48., 54. ve 72. saatlerde ve 7. günde yapılan değerlendirmede gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamakla birlikte, tüm bu zaman aralıklarında mortalitenin homolog grupta daha yüksek olduğu görülmüştür (Şekil 2).

TARTIŞMA

Homolog (allojenik) kan transfüzyonu alıcının, vericiye ait dentritik antijen sunan hücrelerde bulunan HLA-DR antijenleri de dahil pek çok yabancı



Şekil 2. Çekal ligasyon delme işleminin 18 G iğne ile yapıldığı grupta otolog ve homolog transfüzyon gruplarında sağkalımın zaman ile ilişkisi.

antijen ile karşı karşıya gelmesine neden olur.^[1,4] Genel olarak en az bir HLA-DR antijeninde farklılık olan durumlarda antijene tolerans gelişirken, tümüyle HLA-DR uyumsuzluğu olan durumlarda alloimmünizasyon ortaya çıkmaktadır.^[4] Homolog kan transfüzyonunun yardımcı T-hücre sayısında, mitojenlere lenfosit yanıtında, yardımcı/baskılayıcı T-lenfosit oranında, “*natural killer*” hücre fonksiyonunda, gecikmiş tipte hipersensitivitede azalmaya neden olduğu bilinmektedir. Bu etkiler topluca transfüzyona bağlı immünmodülasyon (“*transfusion related immunomodulation*” - TRIM) olarak adlandırılmaktadır.^[1] Dzik’e göre TRIM etkisinin, birincisi HLA ilişkili adaptif immüneyi etkileyen, ikincisi bağışıklık üzerinde daha genel bir etki gösteren olmak üzere, başlıca iki nedeni vardır. Bunlardan ikincisi banka kanında ortaya çıkan apoptotik hücrelerin infüzyonu sonucu TGF-beta düzeylerinin etkilenmesine bağlıdır.^[5] Ayrıca pek çok çalışmada banka kanının nötrofillerin sitotoksitesini ve süperoksit dismutaz üretimini artırdığını ve pulmoner endotel hücrelerini aktive ettiğini, bu etkilerin banka kanının depolanma süresi ile paralellik gösteren bir doz-etki ilişkisi içinde olduğu gösterilmiştir.^[6-9]

Transfüzyona bağlı immünmodülasyon, masif kan transfüzyonunun organ naklinde rejeksiyonu engelleyecek bir etken olarak kullanılmasını sağlamıştır. Siklosporinin kullanılmadığı dönemlerde bile, diğer araştırmalardan bağımsız olarak transfüzyon bir yıllık greft sağkalımını %20 oranında artırmış, siklosporin kullanılan hastalarda da immünsupresyon açısından sinerjistik etkileri olduğu gözlenmiştir.^[10]

Transplantasyon uygulanan hastalardaki bu etkilere dayanarak 1981 yılında Gantt kan transfüzyonunun kanser nüksünü artırabileceği görüşünü ortaya atmış ve transfüzyonun ameliyat sonrası dönemde enfeksiyon gelişimi olasılığını artırabileceği yönündeki gözlemlerin de etkisiyle, bu konuda çok sayıda deneysel ve klinik çalışma yapılmıştır.^[11-23] Bununla birlikte transfüzyona bağlı immünmodülasyonun mekanizması ve olumsuz etkilerinin ciddiyeti halen tam olarak ortaya konabilmiş değildir.^[1]

Öte yandan TRIM’a bağlı kanser nüksünde ve ameliyat sonrası enfeksiyonlarda artış olabileceği yönündeki bulgular, cerrahları ameliyat sırasında ve ameliyat sonrası erken dönemde kan transfüzyonundan mümkün olduğunca kaçınmaya yönlendirmiştir. Yine de özellikle kanser nedeniyle yapılan büyük ameliyatlarda ve travma hastalarında, hastanın yaşamsal bulgularının normal sınırlarda istikrarlı tutu-

labilmesi çoğu zaman sistemik perfüzyonun idamesini, dolayısıyla kan transfüzyonunu gerektirir. Ayrıca yara iyileşmesi süreci de perfüzyondaki bozulmalardan olumsuz etkilenmektedir.

Bu nedenlerle, sistemik perfüzyonu homolog kan transfüzyonuna gerek duyulmadan idame edebilecek ya da homolog kan transfüzyonunun bağışıklık sistemi üzerinde olumsuz etkilerini azaltabilecek yaklaşımlar üzerinde çalışılmaktadır.

Perflorokarbonlar ve sentetik hemoglobin preparatları homolog kan transfüzyonu gereksinimini ortadan kaldıracak seçenekler olabilirse de, bu ürünlerin biyokompatibilitelerinin yetersiz oluşu önemli bir sorundur. Ayrıca, bazı sentetik hemoglobin preparatları nitrik oksiti bağlayarak vazokonstriksiyona neden olmakta ve doku perfüzyonunu olumsuz etkilemektedirler.

Diğer yaklaşımlar transfüzyona bağlı immünmodülasyonun aşağıda sıralanan olası nedenlerini engellemeyi hedefler:^[1]

1. İmmünolojik olarak etkin allojenik beyaz küreler,
2. Banka kanında biriken beyaz küre kaynaklı çözülmüş mediyatörler,
3. Allojenik plazmada çözülmüş halde bulunan HLA peptidleri.

Bunlardan ilk ikisi için homolog kanın depolanması öncesi ya da sonrasında allojenik beyaz kürelerin sayısının azaltılmasına yönelik önlemler alınabilir.

Özellikle allojenik beyaz kürelerin sayısının azaltılmasına yönelik olarak kardiyopulmoner baypas devresinin arteriyel girişine beyaz küre filtresi yerleştirilmesi günümüzde önerilen ve enfeksiyöz komplikasyonlarda azalma sağlayan bir yaklaşımdır.^[24-28] Ayrıca bu hasta grubunda homolog kan transfüzyonunun çoklu organ yetersizliği gelişimini ve mekanik ventilatörde kalış süresini de artırdığı gösterilmiştir.^[29-32] Kalp cerrahisi hastaları dışında kalan hastalarda yapılan beyaz küre azaltıcı yöntemlerin etkinliğini araştıran çalışmalarda ise, bu yöntemin rutin kullanılmasının gereğine işaret eden yeterli bilgi yoktur.^[1,13,33,34]

İmmünolojik olarak etkin allojenik beyaz küreler ve allojenik plazmada çözülmüş halde bulunan HLA peptidlerinin yalnızca homolog transfüzyon yapılan durumlarda sorun yaratacağı düşünülürse, hastanın kendi kanı depolanarak ameliyat sırasında gerektiğinde bu kanın kullanılması akılcı bir çözüm gibi gö-

rünmektedir. Ayrıca bu yaklaşım, ameliyat öncesi hastanın hematokritinin kontrollü şekilde azaltılması yoluyla reolojik bir avantaj sağlayabileceği gibi, belirli bir hacimde kanama ile kaybedilen alyuvar sayısını da azaltabilir.

Bununla birlikte, bu yaklaşım ameliyatın bir süre ertelenmesini, hastadan kademeli olarak kan alınarak depolanmasını gerektirir. Bu da kan bankası açısından belirgin bir iş yükü ve maliyeti beraberinde getirmektedir.

Otolog kan transfüzyonunun transfüzyona bağlı immünmodülasyonu engelleyerek, enfeksiyon gelişimini azaltacağı yönünde beklentilere rağmen gerek deneysel gerekse klinik çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir.^[12-23] Ameliyat öncesi kan depolanması yöntemi ile yapılan otolog kan transfüzyonunun kolorektal kanser nedeniyle ameliyat edilen hastalarda enfeksiyon gelişimi ve kanser nüksü açısından etkisini araştıran iki randomize kontrollü çalışmadan birincisinde; herhangi bir fark gözlenmezken, ameliyat sonrası enfeksiyonların bu grupta daha az olduğunu göstermiştir.^[20,21]

Bizim çalışmamızda da otolog transfüzyon yapılan sıçanlarda erken dönemde TNF-alfa yanıtı, homolog transfüzyon grubuna göre belirgin derecede yüksek bulunmakla birlikte, gruplar arasında sağkalım açısından bir fark gösterilememiştir. TNF-alfanın enflamatuvar yanıtta erken ortaya çıkan ve kısa sürede ölçülemeyecek düzeylere gerileyen bir sitokin olmasına karşın, homolog transfüzyon yapılan sıçanlarda bu derece belirgin bir baskılanma olması, otolog transfüzyonun transfüzyona bağlı immünmodülasyonu ortadan kaldırabilecek bir tedavi seçeneği olduğunu göstermektedir. Sağkalım açısından gruplar arasında bir fark olmaması ise kullanılan karın içi enfeksiyon modelinin yüksek mortaliteye neden olan bir model olmasına bağlanmıştır. Ayrıca sepsis ve sistemik enflamasyonun kaotik yapısı nedeniyle sitokin düzeyleri ile sağkalım arasında doğrudan bir ilişki olmayabileceği de düşünülebilir.^[35,36] Nitekim sepsiste sağkalımın esas belirleyicisi proenflamatuvar yanıtın şiddeti değil, proenflamatuvar ve anti-enflamatuvar yanıtlar arasındaki dengedir.

KAYNAKLAR

- Vamvakas EC, Blajchman MA. Transfusion-related immunomodulation (TRIM): an update. *Blood Rev* 2007;21:327-48.
- LaMuraglia GM, O'Hara PJ, Baker WH, Naslund TC, Norris EJ, Li J, et al. The reduction of the allogenic transfusion requirement in aortic surgery with a hemoglobin-based solution. *J Vasc Surg* 2000;31:299-308.
- Baker CC, Chaudry IH, Gaines HO, Baue AE. Evaluation of factors affecting mortality rate after sepsis in a murine cecal ligation and puncture model. *Surgery* 1983;94:331-5.
- Lagaaij EL, Ruigrok MB, van Rood JJ, Hendriks GF, van der Woude F, Weimar W, et al. Blood transfusion induced changes in cell-mediated lympholysis: to immunize or not to immunize. *J Immunol* 1991;147:3348-52.
- Dzik WH. Apoptosis, TGF beta and transfusion-related immunosuppression: Biologic versus clinical effects. *Transfus Apher Sci* 2003;29:127-9.
- Silliman CC, Clay KL, Thurman GW, Johnson CA, Ambruso DR. Partial characterization of lipids that develop during the routine storage of blood and prime the neutrophil NADPH oxidase. *J Lab Clin Med* 1994;124:684-94.
- Zallen G, Moore EE, Ciesla DJ, Brown M, Biffl WL, Silliman CC. Stored red blood cells selectively activate human neutrophils to release IL-8 and secretory PLA2. *Shock* 2000;13:29-33.
- Silliman CC, Ambruso DR, Boshkov LK. Transfusion-related acute lung injury. *Blood* 2005;105:2266-73.
- Chin-Yee I, Keeney M, Krueger L, Dietz G, Moses G. Supernatant from stored red cells activates neutrophils. *Transfus Med* 1998;8:49-56.
- Opelz G, Sengar DP, Mickey MR, Terasaki PI. Effect of blood transfusions on subsequent kidney transplants. *Transplant Proc* 1973;5:253-9.
- Gantt CL. Red blood cells for cancer patients. *Lancet* 1981;2:363.
- Roelen DL, van Rood JJ, Brand A, Claas FH. Immunomodulation by blood transfusions. *Vox Sang* 2000;78 Suppl 2:273-5.
- Rothstein DM, Sayegh MH. T-cell costimulatory pathways in allograft rejection and tolerance. *Immunol Rev* 2003;196:85-108.
- Brunson ME, Alexander JW. Mechanisms of transfusion-induced immunosuppression. *Transfusion* 1990;30:651-8.
- Vamvakas EC, Blajchman MA. Deleterious clinical effects of transfusion-associated immunomodulation: fact or fiction? *Blood* 2001;97:1180-95.
- Blumberg N, Heal JM. Effects of transfusion on immune function. Cancer recurrence and infection. *Arch Pathol Lab Med* 1994;118:371-9.
- Vamvakas EC. Possible mechanisms of allogeneic blood transfusion-associated postoperative infection. *Transfus Med Rev* 2002;16:144-60.
- Nathens AB, Nester TA, Rubinfeld GD, Nirula R, Gernsheimer TB. The effects of leukoreduced blood transfusion on infection risk following injury: a randomized controlled trial. *Shock* 2006;26:342-7.
- Jensen LS, Andersen AJ, Christiansen PM, Hokland P, Juhl CO, Madsen G, et al. Postoperative infection and natural killer cell function following blood transfusion in patients undergoing elective colorectal surgery. *Br J Surg* 1992;79:513-6.
- Busch OR, Hop WC, Hoyneck van Papendrecht MA, Marquet RL, Jeekel J. Blood transfusions and prognosis in colorectal cancer. *N Engl J Med* 1993;328:1372-6.
- Heiss MM, Mempel W, Jauch KW, Delanoff C, Mayer G, Mempel M, et al. Beneficial effect of autologous blood transfusion on infectious complications after colorectal can-

- cer surgery. *Lancet* 1993;342:1328-33.
22. Mynster T, Nielsen HJ. The impact of storage time of transfused blood on postoperative infectious complications in rectal cancer surgery. Danish RANX05 Colorectal Cancer Study Group. *Scand J Gastroenterol* 2000;35:212-7.
23. Chung M, Steinmetz OK, Gordon PH. Perioperative blood transfusion and outcome after resection for colorectal carcinoma. *Br J Surg* 1993;80:427-32.
24. Hachida M, Hanayama N, Okamura T, Akasawa T, Maeda T, Bonkohara Y, et al. The role of leukocyte depletion in reducing injury to myocardium and lung during cardiopulmonary bypass. *ASAIO J* 1995;41:M291-4.
25. Gu YJ, de Vries AJ, Boonstra PW, van Oeveren W. Leukocyte depletion results in improved lung function and reduced inflammatory response after cardiac surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1996;112:494-500.
26. Pearl JM, Drinkwater DC Jr, Laks H, Stein DG, Capouya ER, Bhuta S. Leukocyte-depleted reperfusion of transplanted human hearts prevents ultrastructural evidence of reperfusion injury. *J Surg Res* 1992;52:298-308.
27. Fransen E, Maessen J, Dentener M, Senden N, Buurman W. Impact of blood transfusions on inflammatory mediator release in patients undergoing cardiac surgery. *Chest* 1999;116:1233-9.
28. Habib RH, Zacharias A, Engoren M. Determinants of prolonged mechanical ventilation after coronary artery bypass grafting. *Ann Thorac Surg* 1996;62:1164-71.
29. Vamvakas EC, Carven JH. Allogeneic blood transfusion and postoperative duration of mechanical ventilation: effects of red cell supernatant, platelet supernatant, plasma components and total transfused fluid. *Vox Sang* 2002;82:141-9.
30. Maetani S, Nishikawa T, Tobe T, Hirakawa A. Role of blood transfusion in organ system failure following major abdominal surgery. *Ann Surg* 1986;203:275-81.
31. Sauaia A, Moore FA, Moore EE, Haenel JB, Read RA, Lezotte DC. Early predictors of postinjury multiple organ failure. *Arch Surg* 1994;129:39-45.
32. Peerless JR, Alexander JJ, Pinchak AC, Piotrowski JJ, Malangoni MA. Oxygen delivery is an important predictor of outcome in patients with ruptured abdominal aortic aneurysms. *Ann Surg* 1998;227:726-32; discussion 732-4.
33. Vamvakas EC. Deleterious clinical effects of transfusion immunomodulation: proven beyond a reasonable doubt. *Transfusion* 2006;46:492-4; author reply 494-5.
34. Utter GH, Nathens AB, Lee TH, Reed WF, Owings JT, Nester TA, et al. Leukoreduction of blood transfusions does not diminish transfusion-associated microchimerism in trauma patients. *Transfusion* 2006;46:1863-9.
35. Kiliç YA, Yorganci K, Sayek I. Visualizing multiple organ failure: a method for analyzing temporal and dynamic relations between failing systems and interventions. *Crit Care* 2007;11:417.
36. Saliba S, Kilic YA, Uranues S. Chaotic nature of sepsis and multiple organ failure cannot be explained by linear statistical methods. *Crit Care* 2008;12:417.