



UNIVERSITAT DE
BARCELONA

Dinámica perioperatoria de la concentración de hemoglobina y su relación con las pérdidas hemáticas y el volumen intravascular

Sebastián Jaramillo Selman

ADVERTIMENT. La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX (www.tdx.cat) i a través del Dipòsit Digital de la UB (diposit.ub.edu) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX ni al Dipòsit Digital de la UB. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX o al Dipòsit Digital de la UB (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

ADVERTENCIA. La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR (www.tdx.cat) y a través del Repositorio Digital de la UB (diposit.ub.edu) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR o al Repositorio Digital de la UB. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR o al Repositorio Digital de la UB (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

WARNING. On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX (www.tdx.cat) service and by the UB Digital Repository (diposit.ub.edu) has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized nor its spreading and availability from a site foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository is not authorized (framing). Those rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.

Memoria de tesis doctoral presentada por Sebastián Jaramillo Selman para optar al grado de doctor por la Universidad de Barcelona

Dinámica perioperatoria de la concentración de hemoglobina y su relación con las pérdidas hemáticas y el volumen intravascular

Directores de tesis: Ricard Navarro Ripoll, Institut d'Investigacions Biomèdiques Agustí Pi i Sunyer (IDIBAPS). Servicio de Anestesiología y Reanimación, Hospital Clínic de Barcelona.

Annabel Blasi Ibañez, Institut d'Investigacions Biomèdiques Agustí Pi i Sunyer (IDIBAPS). Servicio de Anestesiología y Reanimación, Hospital Clínic de Barcelona.

Tutor de tesis: Pedro Luis Gambús Cerrillo, Departamento de Cirugía y Especialidades Médico-Quirúrgicas, Universidad de Barcelona. Institut d'Investigacions Biomèdiques Agustí Pi i Sunyer (IDIBAPS). Servicio de Anestesiología y Reanimación, Hospital Clínic de Barcelona.

Programa de Doctorado Medicina e Investigación Traslacional

Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud. Universidad de Barcelona.

Barcelona, marzo 2024

A Amalia

Agradecimientos

Quiero expresar mi profunda gratitud a todas las personas que han contribuido de manera significativa a la realización de esta tesis doctoral.

En primer lugar, quiero agradecer a mi mujer Magdalena por su inquebrantable apoyo, paciencia y comprensión a lo largo de todo este proceso. Su apoyo ha sido fundamental para mantenerme motivado y enfocado en alcanzar mis metas académicas.

Agradezco sinceramente a mis padres por su constante respaldo durante todos estos años de estudio. Su sacrificio y dedicación han sido una inspiración para mí, y les estoy eternamente agradecido por darme las oportunidades para alcanzar mis objetivos.

Asimismo, quiero agradecer a mi tutor, Pedro, quien no solo ha desempeñado el papel de tutor académico, sino que también se ha convertido en un mentor excepcional. Reconozco en él un ejemplo digno a seguir, tanto en lo académico como en lo personal.

Quiero expresar mi reconocimiento a mis estimados directores de tesis, Annabel y Ricard, por su guía experta, sus valiosas sugerencias y su incansable compromiso con mi desarrollo académico. Su orientación ha sido fundamental para dar forma a esta investigación y para mi crecimiento como investigador.

Finalmente, quiero expresar mi gratitud a todas las personas que de una u otra manera han contribuido a este trabajo, así como a las instituciones que han facilitado los recursos necesarios para llevar a cabo esta investigación.

Índice

1.	Abreviaturas y acrónimos	9
2.	Índice de figuras	10
3.	Enumeración de los artículos de la tesis.....	11
4.	Resumen de la tesis	12
5.	Introducción	17
4.1.	Anemia y transfusión en el paciente quirúrgico	17
4.2.	<i>Patient Blood Management</i>	19
4.3.	Cuantificación de las pérdidas hemáticas	22
4.4.	Concentración de hemoglobina.....	23
4.5.	Dinámica perioperatoria de la concentración de hemoglobina	27
4.6.	Trayectoria de la Hb en el perioperatorio	28
4.7.	Modelos de relación entre cambios de Hb y pérdidas hemáticas	30
4.8.	Cuantificación basada en el volumen de pérdida.....	34
4.9.	Cuantificación basada en la masa de hemoglobina perdida como alternativa a la cuantificación basada en volumen perdido.....	35
4.10.	Cambios del volumen intravascular durante el periodo perioperatorio.....	37
4.11.	Propuesta de modelo para estudiar la dinámica perioperatoria de la Hb.....	40
5.	Hipótesis	44
6.	Objetivos	45
7.	Materiales, métodos y resultados.....	46

7.1.	Artículo 1: <i>Agreement of surgical blood loss estimation methods.</i>	46
7.2.	Artículo 2: <i>Perioperative blood loss: Estimation of blood volume loss or haemoglobin mass loss?</i>	56
7.3.	Artículo 3: <i>Mechanism-based modelling of perioperative variations in hemoglobin concentration in patients undergoing laparoscopic surgery.</i>	68
8.	Discusión.....	81
9.	Conclusiones	93
10.	Bibliografía.....	95

1. Abreviaturas y acrónimos

CCHH: Concentrados de hematíes.

Hb: Concentración de hemoglobina

Hct: Hematocrito.

A: Estimación de masa circulante de hemoglobina.

V_B: Estimación de volumen intravascular.

B_{loss}: Estimación de volumen sanguíneo perdido.

Hb_{pre}: Concentración de hemoglobina preoperatoria.

Hb_{post}: Concentración de hemoglobina postoperatoria.

A_{pre}: Estimación de masa circulante preoperatoria.

A_{loss}: Medición de pérdida de masa de hemoglobina.

Hb(t): Concentración de hemoglobina en el periodo perioperatorio.

V_B(t): Volumen intravascular en el periodo perioperatorio.

Infusion_{rate}: Tasa de infusión de fluidos.

B_{rate}: Tasa de volumen de pérdida de sangre.

V_P(t): Volumen periférico en el periodo perioperatorio.

Q: Constante de aclaramiento inter-compartmental.

V_{UR}: Volumen de orina.

2. Índice de figuras

<i>Figura 1:</i> Trayectoria de la Hb en el periodo perioperatorio.....	29
<i>Figura 2:</i> Relación entre cambios perioperatorios en la Hb y pérdidas de hemáticas.....	33
<i>Figura 3:</i> Representación esquemática de las estructuras de modelo propuestas.....	43

3. Enumeración de los artículos de la tesis

Tesis en formato de compendio de publicaciones. La tesis consta de 3 objetivos y 3 artículos:

- i. **Jaramillo S**, Montane-Muntane M, Capitan D, Aguilar F, Vilaseca A, Blasi A, Navarro-Ripoll R. Agreement of surgical blood loss estimation methods. *Transfusion*. 2019; 59(2): 508-515.

Factor de impacto: 3.1

SJR: Q1 (Hematología, 2019)

- ii. **Jaramillo S**, Montane-Muntane M, Gambus PL, Capitan D, Navarro-Ripoll R, Blasi A. Perioperative blood loss: estimation of blood volume loss or haemoglobin mass loss? *Blood Transfus*. 2020; 18(1): 20-29.

Factor de impacto: 3.4

SJR: Q1 (Medicina - Misceláneos, 2020)

- iii. **Jaramillo S**, Marco-Ariño N, Montane-Muntane M, Blasi A, Navarro-Ripoll R, de Peray-Bruel C, Vila-Cullell I, Gambús PL, Troconiz IF. Mechanism-Based Modeling of Perioperative Variations in Hemoglobin Concentration in Patients Undergoing Laparoscopic Surgery. *Anesth Analg*. 2024; 138(1): 141-151.

Factor de impacto: 5.7

SJR: Q1 (Anestesiología, 2023)

4. Resumen de la tesis

Título:

Dinámica perioperatoria de la concentración de hemoglobina y su relación con las pérdidas hemáticas y el volumen intravascular.

Introducción:

La concentración de hemoglobina (Hb) es un parámetro esencial en la medicina transfusional perioperatoria, con importantes aplicaciones en la práctica clínica y en la investigación.

La Hb es utilizada en la práctica clínica para el diagnóstico de la anemia y como criterio para guiar las transfusiones de concentrados de hematíes. La significancia de la Hb en la anemia y en las decisiones transfusionales está relacionada con la capacidad de la Hb para reflejar la masa circulante de hemoglobina, y ésta, a su vez, la capacidad de transporte de oxígeno. Debido a su dependencia del volumen intravascular y los efectos de la hemodilución, la Hb a menudo resulta en valores que no reflejan adecuadamente la masa circulante de hemoglobina. Por esta razón, los valores de la Hb deben ser interpretados en el contexto de las variables y procesos que la puedan afectar. Sin embargo, no está claro qué variables y procesos afectan a la Hb durante el periodo perioperatorio, ni con qué magnitud la afectan.

En la investigación relacionada con las estrategias destinadas a reducir el sangrado, la Hb es utilizada para estimar de forma retrospectiva las pérdidas hemáticas. Esto es debido a que los métodos actuales para medir directamente las pérdidas hemáticas no son fiables y presentan importantes limitaciones. En este contexto, se han desarrollado múltiples modelos matemáticos que relacionan

las variaciones perioperatorias de la Hb con la magnitud de las pérdidas hemáticas, los cuales han sido ampliamente empleados como métodos para estimar retrospectivamente las pérdidas hemáticas. Aunque se ha sugerido que los modelos podrían ser significativamente inexactos y diferentes entre sí, su fiabilidad no ha sido investigada ni comparada adecuadamente. En consecuencia, muchos de estos métodos de estimación siguen siendo utilizadas en los estudios clínicos como métodos válidos de cuantificación.

En esta tesis se abordaron dos aspectos relacionados con la dinámica perioperatoria de la Hb. Por un parte, se exploraron los modelos que relacionan las variaciones perioperatorias de la Hb con las pérdidas hemáticas, los cuales son empleados en estudios clínicos para estimar retrospectivamente dichas pérdidas. Por otro parte, se expuso el desafío de la interpretación de la Hb en la práctica clínica, lo cual implica comprender el origen de las variaciones de la Hb durante el período perioperatorio y su relación con el grado de hemodilución. El denominador común en ambos temas se encuentra en la naturaleza de los cambios perioperatorios de la Hb: el sistema fisiológico que lo rige, los factores involucrados, sus mecanismos subyacentes y sus relaciones cuantitativas, los cuales fueron el tema central de estudio de esta tesis.

Hipótesis:

En primer lugar, se postuló que los modelos que relacionan las variaciones perioperatorias de la Hb con las pérdidas hemáticas son inherentemente inexactos, ya que basan su estimación en el volumen de pérdida sanguínea. Y, relacionar el volumen de pérdida sanguínea con las variaciones de la Hb necesariamente implica asumir que la sangre sigue un proceso de dilución predecible.

Como alternativa, se postuló que la cuantificación de las pérdidas hemáticas en términos de masa de hemoglobina perdida se correlacionaría de forma más significativa con las variaciones de la Hb, ya que para relacionar ambas variables no es necesario asumir una dilución determinada.

En base a lo anterior, se postuló que las variaciones perioperatorias de la Hb pueden explicarse por un modelo matemático que considere el equilibrio en la masa circulante de hemoglobina y las variaciones en el volumen intravascular.

Objetivos:

Se propuso investigar la dinámica de la Hb durante el periodo perioperatorio, analizando las causas y mecanismos que la afectan, y estableciendo relaciones cuantitativas entre ellas.

Para ello, se propuso investigar la relación entre las variaciones perioperatorias de la Hb y las pérdidas hemáticas, estas últimas cuantificadas en términos de pérdida de volumen sanguíneo y en pérdida de masa de hemoglobina. Se propuso seguidamente modelar las variaciones perioperatorias en la Hb en base al balance en la masa de hemoglobina y las variaciones del volumen intravascular.

Métodos:

Se estudiaron prospectivamente pacientes sometidos a cirugía laparoscópica urológica y ginecológica y que cursaron el periodo postoperatorio sin complicaciones. Durante los estudios, se midieron la Hb (de forma seriada) y las pérdidas hemáticas (en términos de pérdida de volumen sanguíneo y pérdida de masa de hemoglobina), y se registraron los volúmenes de fluidos infundidos, volúmenes de orina, y otras variables perioperatorias.

Los modelos de relación entre las variaciones de la Hb y la pérdida de volumen sanguíneo, así como un modelo propuesto en base a la pérdida de masa de hemoglobina, fueron evaluados en cuanto a su concordancia estadística con sus respectivas mediciones directas de las pérdidas hemáticas.

Por su parte, el modelado de las variaciones perioperatorias de la Hb implicó un estudio prospectivo en dos cohortes, para el desarrollo y validación del modelo. El ajuste matemático se realizó en base al enfoque de modelos mixtos.

Resultados principales:

Los modelos que relacionan las variaciones de la Hb con la pérdida de volumen sanguíneo mostraron un escaso acuerdo con las mediciones directas. Además, se observaron sesgos significativos, que en la mayoría de los modelos condujeron a una sobreestimación de las pérdidas hemáticas.

El modelo propuesto que relacionaba las variaciones de la Hb con la pérdida de masa de hemoglobina cumplió el criterio de acuerdo estadístico predefinido. En comparación con los modelos de pérdida de volumen sanguíneo, el modelo de pérdida de masa de hemoglobina fue superior en todos los parámetros de acuerdo evaluados.

Finalmente, se desarrolló y validó un modelo matemático que explicaba las variaciones perioperatorias de la Hb. Este modelo integraba el equilibrio en la masa de hemoglobina y un modelo de dos compartimentos que estimaba la cinética de los fluidos y los cambios en el volumen intravascular. Durante el desarrollo del modelo, se infirió la presencia de un mecanismo de eliminación extra-urinaria, y que la eliminación total de fluidos se inhibía tras la cirugía de forma dependiente del tiempo e influenciada por la edad. Además, los análisis de covariables demostraron una asociación significativa entre el tipo de cirugía y

la proporción de fluidos eliminados por la orina. En el análisis de validación, el modelo demostró una capacidad predictiva considerablemente alta.

Conclusiones:

El modelo desarrollado proporciona una comprensión mecanicista y cuantitativa de la dinámica perioperatoria de la Hb.

5. Introducción

4.1. Anemia y transfusión en el paciente quirúrgico

La transfusión de hemoderivados en el paciente quirúrgico, en particular de concentrados de hematíes (CCHH), plantea un desafío tanto en el ámbito clínico como en el social. Por una parte, la evidencia ha demostrado que ambas, la anemia y la transfusión de CCHH, están asociadas a peores resultados en el paciente quirúrgico. Por otra parte, la elevada demanda actual de CCHH en entornos hospitalarios contrasta con la limitada disponibilidad del recurso, dada la falta de alternativas sintéticas viables, la limitada vida útil y la dependencia de donaciones voluntarias. Por tanto, es necesario el uso racional de los CCHH, asegurando que se administren de manera apropiada y evitando su utilización innecesaria.

Durante y después de la cirugía, los pacientes experimentan alteraciones fisiológicas sustanciales, incluyendo la hemorragia aguda y la activación de mecanismos proinflamatorios, que resultan en una mayor susceptibilidad a la anemia aguda y, eventualmente, a un descenso del aporte de oxígeno a los tejidos (1, 2). La anemia, definida como una deficiencia en la masa de eritrocitos o masa de hemoglobina, tiene una prevalencia que varía del 80% al 90% de los pacientes después de una cirugía mayor y se asocia con una morbilidad y mortalidad significativamente mayores (3, 4). Un análisis reciente de aproximadamente 140,000 cirugías mayores observó que la anemia postoperatoria se asociaba a una mortalidad a 90 días, eventos cardíacos e insuficiencia renal aguda 1.43 veces mayor (odds ratio), y a un riesgo de muerte a 12 años 1.18 veces mayor (hazard ratio) (3).

La transfusión de CCHH es una intervención médica utilizada para corregir o prevenir los efectos del déficit de hemoglobina sobre el aporte de oxígeno. El

entorno perioperatorio, que engloba el periodo alrededor de una cirugía, es el escenario hospitalario con la mayor demanda de CCHH, representando aproximadamente el 44.5% de todas las transfusiones de CCHH (5). Aunque no existen datos precisos sobre la cantidad de CCHH transfundidos durante todo el periodo perioperatorio, se estima que durante el periodo intraoperatorio se transfunden en promedio alrededor de 3.5 unidades de CCHH por cada 100 procedimientos quirúrgicos (6). No obstante, estas cifras varían significativamente entre distintos centros de salud, especialidades quirúrgicas y tipos específicos de intervenciones quirúrgicas (6).

El tratamiento de la anemia perioperatoria con transfusiones de CCHH es un desafío, ya que tiene importantes implicaciones clínicas y sociales (7). Por un lado, a pesar de sus beneficios comúnmente percibidos, la transfusión perioperatoria de CCHH no mejora los resultados en todos los pacientes anémicos, sino que a veces puede llevar a peores resultados clínicos, incluido un mayor riesgo de eventos cardíacos, sepsis, tromboembolismo, progresión del cáncer y mortalidad a corto y largo plazo (8-13). En un meta-análisis reciente que incluyó pacientes sometidos a cirugía mayor abdominal se observó que la transfusión de hemoderivados aumentaba la mortalidad a corto plazo en 2.72 veces (odds ratio), la mortalidad a largo plazo en 1.35 veces (odds ratio), la morbilidad en 2.18 veces (odds ratio) y las complicaciones infecciosas en 1.9 veces (odds ratio) (12). Estos resultados adversos estarían directamente correlacionados con el número de CCHH transfundidos (14). Estos riesgos se suman a las complicaciones inherentes a la transfusión de hemoderivados, que incluyen transmisión de infecciones, respuestas inmunológicas adversas y complicaciones hemodinámicas (15, 16).

Paralelamente, la transfusión de CCHH se reconoce actualmente como una de las intervenciones más sobreutilizadas en medicina (17). Las preocupaciones sobre el impacto clínico negativo de estas prácticas se ven acentuadas por el hecho de

que los CCHH son un recurso escaso, derivado de donaciones altruistas, de los cuales no se cuenta actualmente con alternativas sintéticas viables, y que están asociadas con costos sustanciales (18). En consecuencia, el uso racional de los CCHH y la reducción de transfusiones innecesarias se han convertido en prioridades importantes (19, 20).

4.2. *Patient Blood Management*

Ante la necesidad de disminuir los riesgos del paciente quirúrgico, se han investigado e implementado estrategias dirigidas a mejorar el manejo de los pacientes y fomentar el uso apropiado de los hemoderivados. Estas estrategias se engloban bajo los programas *Patient Blood Management*, a veces llamada Medicina transfusional perioperatoria.

Patient Blood Management (en castellano, "Gestión de la Sangre del Paciente"), que se define como "el uso adecuado de la sangre y sus componentes, con el objetivo de minimizar su uso", es un enfoque clínico integral, multidisciplinario (transversal a los campos de la anestesiología, hematología, especialidades quirúrgicas y cuidados críticos) y basado en la evidencia que se centra en la optimización de la atención a los pacientes quirúrgicos que podrían necesitar transfusiones de hemoderivados (21). Su objetivo principal es minimizar la exposición del paciente a los hemoderivados, y prevenir y minimizar los efectos de la anemia. Este enfoque se basa en tres pilares fundamentales:

- i. Optimización de la eritropoyesis: Este pilar se centra en mejorar la función eritropoyética antes de la cirugía, con el objetivo de disponer de una reserva hemática suficiente para suplir las demandas metabólicas en caso de pérdidas hemáticas sustanciales. Se enfoca en el diagnóstico temprano y tratamiento de la anemia preoperatoria. Las

intervenciones propuestas buscan abordar las causas subyacentes de la anemia y utilizar medidas farmacológicas para tratarlas y fomentar la eritropoyesis. La optimización de la eritropoyesis, y una adecuada reserva hemática, han demostrado ser fundamentales en la reducción de requerimientos transfusionales (21-23).

- ii. Minimización de las pérdidas hemáticas: El objetivo de este pilar es prevenir la anemia perioperatoria y, de esta manera, reducir la exposición del paciente a transfusiones. Las intervenciones propuestas incluyen, entre otras, la adopción de ciertas técnicas quirúrgicas, como la cirugía laparoscópica o robótica, y la administración de antifibrinolíticos, hemostáticos y otros agentes farmacológicos para minimizar el sangrado intra- y postoperatorio (21-23). La eficacia de estas intervenciones es evaluada en los ensayos clínicos por su capacidad para disminuir la tasa de transfusiones y, más frecuentemente, por su capacidad para disminuir las pérdidas hemáticas. La cuantificación de las pérdidas hemáticas será tratada en detalle en una sección distinta.

- iii. Promoción de la tolerancia a la anemia: El objetivo de este pilar es optimizar las variables fisiológicas asociadas al balance entre el aporte y la demanda de oxígeno, con el fin evitar la exposición a transfusiones. Entre las intervenciones propuestas para aumentar el aporte de oxígeno a los tejidos se incluyen la optimización del gasto cardiaco a través de la monitorización y mantenimiento de una volemia adecuada, y la optimización de la oxigenación a través del aporte de oxígeno externo. Entre las medidas propuestas para disminuir las demandas de oxígeno por los tejidos se incluyen el tratamiento de la fiebre, el tratamiento precoz de las infecciones, y evitar las situaciones clínicas

que supongan un esfuerzo metabólico para el organismo (taquicardia, hipotermia, esfuerzo respiratorio excesivo, etc.) (21-23).

Los programas *Patient Blood Management* también ponen énfasis en los criterios clínicos para transfundir CCHH. Estos criterios, también llamados umbrales transfusionales, no determinan las situaciones en la que se debe transfundir CCHH, sino que establecen cuando una transfusión de CCHH estaría debidamente justificada. Los umbrales transfusionales pretenden ser una guía para la toma de decisiones sobre la transfusión, la cual debe adecuarse al contexto individual del paciente (21-23). Entre ellos se encuentran:

- i. Clínica: Los síntomas de la anemia dependen de la gravedad de la anemia. Los síntomas de la anemia leve incluyen la fatiga o dificultad para concentrarse, mientras que los síntomas graves incluyen la insuficiencia cardíaca y angina. Las guías actuales recomiendan individualizar los riesgos y beneficios de la transfusión de CCHH en casos de síntomas leves, y recomiendan la transfusión temprana en los casos de síntomas moderados y severos (24-27). La transfusión de CCHH está indicada también como parte de la reanimación del paciente en shock hipovolémico por sangrado masivo.
- ii. Factores clínicos subyacentes: Se recomienda considerar el contexto clínico del paciente, que incluye los antecedentes patológicos y la situación clínica actual. Las guías actuales recomiendan considerar especialmente las patologías cardíacas crónicas y la enfermedad coronaria en la decisión de transfusión, promoviendo estrategias menos restrictivas para este grupo de pacientes (24-27).

- iii. Concentración de hemoglobina (Hb) o hematocrito (Hct): Constituyen el criterio tradicionalmente más utilizado para guiar las transfusiones de CCHH. Ambas variables serán tratadas en detalle en otro apartado.

4.3. Cuantificación de las pérdidas hemáticas

La cuantificación de las pérdidas hemáticas es un parámetro esencial en los cuidados del paciente quirúrgico (21, 28). Por una parte, constituye la métrica o *outcome* principal en la evaluación de las estrategias e intervenciones de *Patient Blood Management* destinadas a reducirlas. En comparación con otras métricas (ej. tasas de transfusión), las pérdidas hemáticas proporcionan evidencias más robustas ya que se encuentran menos influenciadas por factores de confusión (ej. umbral de transfusión) y, por lo tanto, permiten evaluaciones más fidedignas, comparables y extrapolables (29).

Por otra parte, se recomienda cuantificar las pérdidas hemáticas en la práctica clínica para utilizarlas como un parámetro más en las decisiones de transfusión (24). Dada su estrecha relación con la Hb postoperatoria, las pérdidas hemáticas han sido estudiadas como predictores de la Hb y de los requerimientos transfusionales del paciente quirúrgico (30-32). Los métodos más frecuentemente utilizados para cuantificar directamente las pérdidas hemáticas incluyen la estimación visual, la medición en los contenedores de aspiración y el peso de gasas.

Sin embargo, actualmente no existe un método de referencia para cuantificar las pérdidas hemáticas quirúrgicas (29, 33, 34). Los métodos habituales de medición directa no son del todo fiables debido a las limitaciones y dificultades para medir con precisión la pérdida total de sangre (33, 34). Las principales limitaciones incluyen la mezcla con otros fluidos presentes en el campo quirúrgico (ej. fluido de irrigación), su impregnación en gasas y esponjas utilizadas por el equipo

quirúrgico, y la infiltración en tejidos (ej. cirugía ortopédica). Pese a que se han propuesto diferentes métodos de medición directa, ninguno de ellos ha logrado el status de *gold standard*. Dada la inexactitud de las mediciones, las pérdidas hemáticas han presentado una limitada capacidad para estimar los requerimientos transfusionales perioperatorios y, por tanto, no han logrado un suficiente valor en la práctica clínica.

Debido a la necesidad de una cuantificación fiable a la hora de evaluar las estrategias destinadas a reducir las pérdidas hemáticas, se han empleado múltiples modelos (o fórmulas) que establecen una relación entre las variaciones perioperatorias en la Hb o Hct con las pérdidas hemáticas. Estos modelos se han utilizado con el propósito de estimar retrospectivamente las pérdidas hemáticas en base a los cambios en la Hb (33, 34). Estos métodos han sido utilizados para evaluar la eficacia de antifibrinolíticos intravenosos (35-39), hemostáticos tópicos (40-44), y técnicas quirúrgicas (45-48).

Aunque se ha sugerido que los modelos podrían ser significativamente inexactos y diferentes entre sí, su fiabilidad no ha sido investigada ni comparada adecuadamente. En consecuencia, muchos de estos métodos de estimación siguen siendo utilizadas en los estudios clínicos como métodos válidos de cuantificación. Se revisarán los detalles de estos modelos posteriormente.

4.4. Concentración de hemoglobina

La hemoglobina es una proteína de estructura compleja localizada en el interior de los eritrocitos. Al igual que los eritrocitos, la hemoglobina posee una vida de aproximadamente 120 días y, en condiciones normales, sólo se encuentra dentro del espacio intravascular. Su estructura está formada por dos subunidades alfa y dos subunidades beta, y cada subunidad contiene una estructura globular que rodea a un grupo hemo. Los grupos hemo contenidos en la hemoglobina poseen

una alta afinidad por el oxígeno, así como también por otros gases como el dióxido de carbono y monóxido de carbono.

La función principal de la hemoglobina es la captación de oxígeno desde los capilares alveolares y su transporte hacia los tejidos periféricos. Cada gramo de hemoglobina puede transportar 1.34 mL de oxígeno. Su contenido total en sangre constituye el principal determinante de la capacidad de transporte de oxígeno de la sangre (en inglés, *oxygen carrying capacity of blood*) y, por tanto, del aporte de oxígeno a los tejidos (DO_2 , en inglés, *oxygen delivery*) y del umbral anaeróbico (49, 50).

La Hb, medida en g/L, depende de la masa de hemoglobina circulante y el volumen intravascular (49, 50). La masa circulante de hemoglobina hace referencia al contenido total de hemoglobina (en gramos) que circula dentro del espacio intravascular. Los valores normales de la masa de hemoglobina son de aproximadamente 480 a 850 g (6.5 a 10.5 g/kg de peso). Por su parte, el volumen intravascular (o volumen sanguíneo total) hace referencia a todo el volumen (en litros) contenido en el espacio intravascular, incluidos plasma y elementos figurados. Su valor varía significativamente en función de la edad y las características antropométricas (altura, peso e índice de masa corporal) (51). Ambos componentes, masa de hemoglobina y volumen intravascular, se reflejan en la Hb de acuerdo a la siguiente relación:

Ec. 1
$$Hb = \frac{\text{Masa de hemoglobina}}{\text{Volumen intravascular}}$$

Según esta ecuación, la Hb es resultado de la dilución de la masa de hemoglobina en el volumen intravascular. Por tanto, los cambios en la masa de hemoglobina o volumen intravascular serán reflejados de forma proporcional en la Hb sólo si el cambio sucede en uno de los componentes mientras el otro permanece inalterado.

Por ejemplo, una disminución de la masa de hemoglobina secundaria a hemólisis se reflejará proporcionalmente en la Hb, ya que el volumen intravascular se mantendrá constante. Por el contrario, el reflejo en la Hb de los cambios inducidos simultáneamente en ambos componentes dependerá de la dilución resultante en la Ec. 1. Por ejemplo, una disminución simultánea en la masa de hemoglobina y volumen intravascular secundaria a una hemorragia aguda no inducirá cambios importantes en la Hb. La importancia clínica de la Hb, especialmente en el diagnóstico de anemia y en la toma de decisiones sobre la transfusión, radica en su capacidad para reflejar la masa de hemoglobina, ya que la capacidad de transporte de oxígeno depende básicamente de ésta (51).

El Hct (en %) es una variable que comúnmente es utilizada como análoga a la Hb. Sin embargo, el Hct refleja la proporción del volumen eritrocitario en relación al volumen intravascular y, a diferencia de la Hb, se ve influido por el volumen corpuscular.

La Hb es utilizada en la práctica clínica para el diagnóstico de la anemia y como criterio para guiar las transfusiones de CCHH. Aunque la anemia se define formalmente por un déficit de masa eritrocitaria o de masa de hemoglobina, el diagnóstico de anemia se realiza habitualmente con los valores de Hb o Hct, ya que la medición de la masa eritrocitaria o de masa de hemoglobina es compleja y usualmente no está disponible en la práctica. La OMS define valores de Hb inferiores a 120 y 130 g/L como diagnósticos de anemia (1).

En el contexto de la transfusión, la Hb se ha utilizado tradicionalmente como indicador sustitutivo de los beneficios clínicos de la transfusión de CCHH, estableciendo umbrales a partir de los cuales los beneficios de la transfusión de CCHH podrían superar sus riesgos y aquellos derivados la anemia (20, 27). Sin embargo, se recomienda no utilizar estos umbrales de forma estricta, sino más bien como guías para orientar cuando una transfusión de CCHH estaría justificada (25, 26). Así, las guías actuales establecen que la transfusión de CCHH

estaría justificada en Hb inferior a 70 g/L, podría estar justificada en Hb entre 70 y 100 g/L, y no estaría justificada en Hb superior a 100 g/L (24). Sin embargo, estos umbrales serían válidos sólo en condiciones de normovolemia (52-55). Además, estos criterios varían según las distintas sociedades científicas y hospitales, y deben ser individualizados al contexto clínico del paciente. De forma similar, se han sugerido objetivos de Hb a alcanzar tras la transfusión de CCHH.

La interpretación de la Hb en el entorno perioperatorio es un desafío (56-58). Durante y después de la cirugía, la Hb se ve afectada por diversas variables y procesos, como las pérdidas hemáticas, la infusión de fluidos y la distribución de fluidos entre los compartimentos corporales (56, 59, 60). Los efectos de éstos dan lugar a variaciones agudas en la Hb, las cuales no discriminan si el efecto se debe a cambios en la masa de hemoglobina o volumen intravascular (54). Dada la dificultad de medir la masa circulante de hemoglobina y el volumen intravascular en la práctica, es por tanto crucial interpretar la Hb teniendo en cuenta las variables y procesos que pueden afectarla.

Sin embargo, no está claro qué variables y procesos afectan a la Hb durante el periodo perioperatorio (56). Aunque es bien sabido que las pérdidas hemáticas y la infusión de fluidos causan cambios en la Hb, estudios previos han sugerido que otras variables (como el tipo de cirugía y las características demográficas del paciente) pueden estar implicadas en las variaciones de la Hb durante el periodo perioperatorio (56, 60, 61), y los procesos fisiológicos como la distribución de fluidos entre compartimentos no suelen tenerse en cuenta al interpretar los valores de Hb (55). Además, los efectos cuantitativos de estas variables y procesos sobre la Hb no se conocen bien. Sigue faltando una comprensión mecanicista del impacto de estas variables y procesos sobre la Hb, lo que impide relacionarlos cuantitativamente con las variaciones de la Hb y el grado de hemodilución.

4.5. Dinámica perioperatoria de la concentración de hemoglobina

En esta tesis, se abordaron dos aspectos relacionados con la dinámica perioperatoria de la Hb. Por un parte, se exploraron los modelos que relacionan las variaciones perioperatorias de la Hb con las pérdidas hemáticas, los cuales son empleados en estudios clínicos para estimar retrospectivamente dichas pérdidas. Por otro parte, se expuso el desafío de la interpretación de la Hb en la práctica clínica, lo cual implica comprender el origen de las variaciones de la Hb durante el período perioperatorio y su relación con el grado de hemodilución. El denominador común en ambos temas se encuentra en la naturaleza de los cambios perioperatorios de la Hb: el sistema fisiológico que lo rige, los factores involucrados, sus mecanismos subyacentes y sus relaciones cuantitativas.

El objetivo de esta tesis fue investigar la dinámica de la Hb durante el periodo perioperatorio, analizar sus causas y mecanismos, y establecer relaciones cuantitativas que puedan aplicarse en la práctica clínica. En primer lugar, se estudiaron los aspectos generales de la trayectoria de la Hb durante el periodo perioperatorio. A continuación, se analizaron los modelos que relacionan pérdidas hemáticas y cambios en la Hb. Luego, se abordó el problema que supone la hemodilución en la estimación de las pérdidas hemáticas, y se propuso un método alternativo basado en la pérdida de masa de hemoglobina. Posteriormente, se recopiló de la literatura las causas y mecanismos de los cambios intravasculares ocurridos durante el periodo perioperatorio. Finalmente, se propuso una estructura de modelo que permitiera estudiar cuantitativamente las causas de los cambios perioperatorios de la Hb y relacionarlas con el grado de hemodilución.

4.6. Trayectoria de la Hb en el perioperatorio

Después de una intervención quirúrgica o una hemorragia aguda, la Hb disminuye gradualmente en cuestión de horas o pocos días hasta llegar a su punto más bajo. Una vez que se alcanzan estos niveles más bajos, la Hb se estabiliza o aumenta ligeramente, y a los 3 a 5 días alcanza un valor que permanece relativamente constante en los días siguientes.

En un estudio realizado por George *et al*, se analizaron las trayectorias de la Hb de 199 pacientes sometidos a cirugía cardíaca, de los cuales un 36% recibieron una transfusión intraoperatoria. En este grupo de pacientes, se observó que la media de la caída postoperatoria de la Hb hasta su punto más bajo fue de 18 g/L, sin diferencias significativas en cuanto a los pacientes que recibieron transfusión y aquellos que no recibieron. El punto más bajo de Hb se alcanzó entre el día 3 y 4. También se observó que el 79% de los pacientes presentó un ligero aumento en la Hb después de haber alcanzado su punto más bajo (60).

En un estudio realizado por Grant *et al*, se estudiaron los cambios perioperatorios de la Hb de 3179 pacientes sometidos a distintos tipos de cirugía no cardíaca. En este estudio se observó una diferencia significativa en cuanto a la magnitud del descenso en la Hb entre los tipos de cirugías, siendo mayor en la cirugía Whipple y la cirugía de fusión espinal. En el análisis multivariante, el tipo de cirugía, las pérdidas hemáticas, y el balance positivo de fluidos fueron identificados como predictores independientes de la magnitud de la caída postoperatoria de la Hb. El punto más bajo de la Hb se alcanzó entre los 3 y 4 días. Al igual que en el estudio de George *et al*, se observó un ligero aumento de la Hb (6 g/L de media) después de haberse alcanzado el punto más bajo (56).

La gráfica de las trayectorias perioperatorias de la Hb obtenidas en un estudio de nuestro grupo de investigación se presenta en la Figura 1.

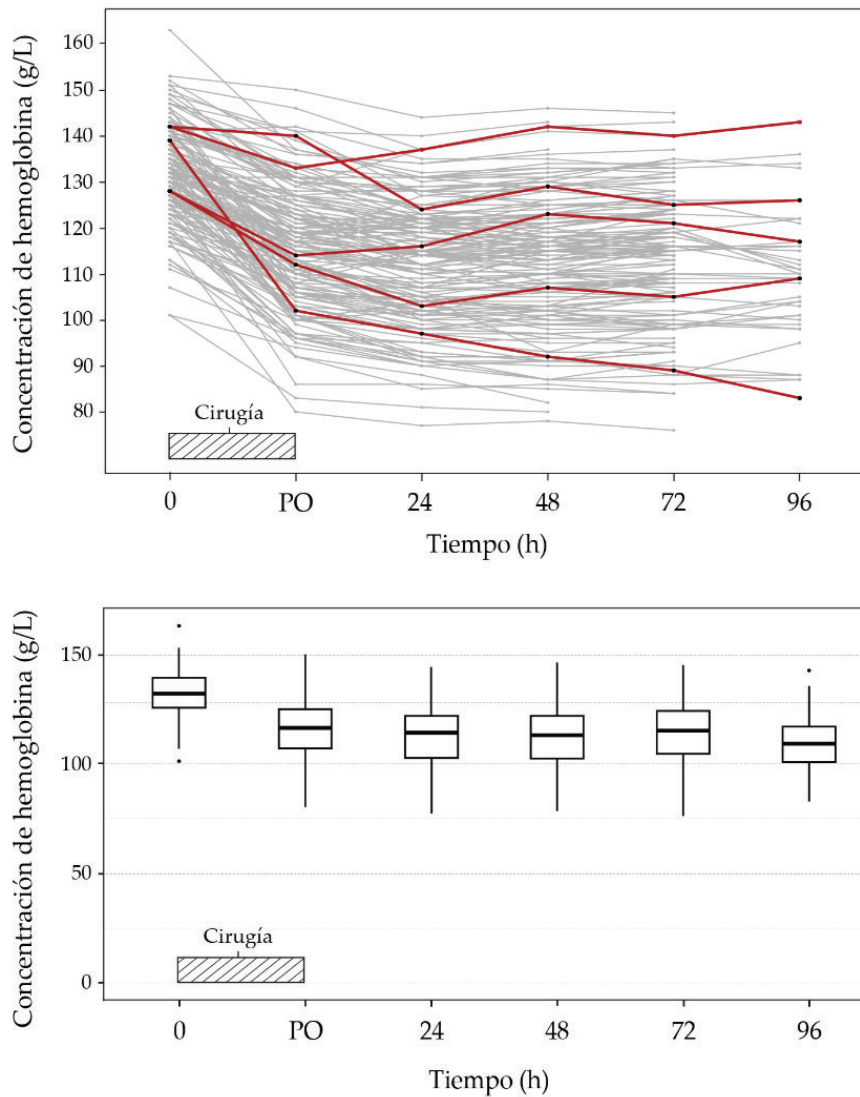


Figura 1: Trayectoria de la Hb en el periodo perioperatorio. El eje horizontal representa las horas tras la cirugía, en donde “PO” hace referencia al postoperatorio inmediato (inmediatamente tras el fin de la cirugía), y el eje vertical la Hb en g/L. El panel superior muestra los cursos temporales individuales para un grupo de 154 pacientes sometidos a cirugía laparoscópica, de los cuales 5 fueron aleatoriamente escogidos y resaltados en rojo para demostrar las diferencias interindividuales. El panel inferior muestra las medianas, rangos inter-cuartiles y rangos para cada tiempo perioperatorio. Figura original del grupo de investigación.

4.7. Modelos de relación entre cambios de Hb y pérdidas hemáticas

Los modelos que relacionan las variaciones en la Hb con las pérdidas hemáticas corresponden a las representaciones más básicas de la dinámica perioperatoria de la Hb. Estos modelos tienen como objetivo explicar la relación entre los cambios en la Hb durante el periodo perioperatorio y las pérdidas hemáticas, tomando en cuenta sólo estas dos variables y una estimación de volumen intravascular. Tradicionalmente, estos modelos se han empleado para estimar retrospectivamente las pérdidas hemáticas, especialmente en estudios en los que dichas pérdidas son un resultado a evaluar, pero que, debido a limitaciones prácticas, no pueden medirse directamente. No obstante, estos modelos han sido inicialmente formulados para emplearse en ambas direcciones: tanto para estimar retrospectivamente las pérdidas hemáticas en base a las diferencias perioperatorias en la Hb, como para estimar las variaciones en la Hb en base a las pérdidas hemáticas.

Los modelos que relacionan las variaciones en la Hb con las pérdidas hemáticas comparten fundamentos y estructuras similares. Todos ellos se basan en la premisa de que el volumen intravascular del paciente se encuentra en equilibrio durante todo el periodo perioperatorio, es decir, en condiciones euvolélicas. Siguiendo esta premisa, los modelos consideran que las pérdidas hemáticas se correlacionan con la diferencia perioperatoria de la Hb (o Hct) y el volumen intravascular basal del paciente. La diferencia principal entre estos modelos radica en cómo consideran la hemodilución causada por el sangrado; los modelos asumen que, durante el sangrado, mecanismos fisiológicos reponen el volumen intravascular perdido de manera más o menos inmediata. La hemodilución resultante de la pérdida sanguínea y posterior restitución de volumen, continuaría a medida que continua el sangrado. El resultado final de los procesos simultáneos de sangrado y hemodilución en la Hb sería explicado por una función matemática (lineal, proporcional, logarítmica, etc.):

Ec. 2
$$B_{loss} = V_B \cdot f(\Delta Hb \text{ or } \Delta Hct)$$

donde, V_B es la estimación del volumen intravascular a partir de fórmulas basadas en datos antropométricos. Como métodos de estimación retrospectiva de pérdidas hemáticas, los modelos requieren un valor del V_B y los valores de la Hb o Hct en dos puntos de tiempo (preoperatorio y postoperatorio) para realizar una estimación de las pérdidas.

Los modelos más utilizados son los siguientes:

- i. Modelo de Ward *et al* (62): Emplea el logaritmo natural de la diferencia perioperatoria del Hct multiplicado por V_B para estimar las pérdidas hemáticas. La fórmula de Moore *et al* es utilizada para estimar V_B (63).

Ec. 3
$$B_{loss} = V_B \cdot \ln\left(\frac{Hct_{pre}}{Hct_{post}}\right)$$

Este modelo asume que la relación entre el grado de hemodilución y la diferencia perioperatoria de Hct es de tipo exponencial.

- ii. Modelo de Bourke *et al* (64): Propuesto como una simplificación del modelo de Ward *et al*. El logaritmo natural utilizado en el modelo de Ward *et al* es reemplazado por el producto de 3 menos la media entre el Hct inicial y Hct final. Al igual que el modelo de Ward *et al*, este modelo utiliza la formula de Moore *et al* para estimar V_B .

$$\text{Ec. 4} \quad B_{\text{loss}} = V_B \cdot (Hct_{\text{pre}} - Hct_{\text{post}}) \cdot (3 - Hct_{\text{mean}})$$

- iii. Modelo de Gross (30): También propuesto como una simplificación del modelo de Ward *et al.* Este modelo establece que las pérdidas hemáticas equivalen a la diferencia perioperatoria de Hct dividido por Hct medio. La fórmula de Moore *et al* también utilizada para estimar V_B .

$$\text{Ec. 5} \quad B_{\text{loss}} = V_B \cdot \frac{(Hct_{\text{pre}} - Hct_{\text{post}})}{Hct_{\text{mean}}}$$

Este modelo asume que el grado de hemodilución es igual al doble de la diferencia perioperatoria de Hct.

- iv. Modelo de balance de hemoglobina: Ampliamente utilizado en la literatura bajo el nombre de "fórmula de equilibrio de la hemoglobina", "método de equilibrio de la hemoglobina" y "método de dilución de la hemoglobina" (36, 65). Este modelo emplea la diferencia perioperatoria en la Hb dividido por la Hb preoperatoria para calcular las pérdidas hemáticas. También puede incorporar la transfusión de CCHH en el cálculo. Utiliza la fórmula de Nadler *et al* para estimar V_B .

$$\text{Ec. 6} \quad B_{\text{loss}} = V_B \cdot \frac{(Hb_{\text{pre}} - Hb_{\text{post}})}{Hb_{\text{pre}}}$$

Este modelo no asume hemodilución entre los valores pre- y postoperatorios de Hb y, por tanto, que la pérdida de sangre es proporcional a la diferencia de Hb.

- v. Modelo de López-Picado *et al*: Estructuralmente es equivalente al modelo de Gross, excepto por que utiliza la fórmula ICSH (*International Council for Standardization in Haematology*) (66) para estimar V_B .

Las relaciones entre los cambios perioperatorios en la Hb y las pérdidas hemáticas para los principales modelos se muestran en la Figura 2.

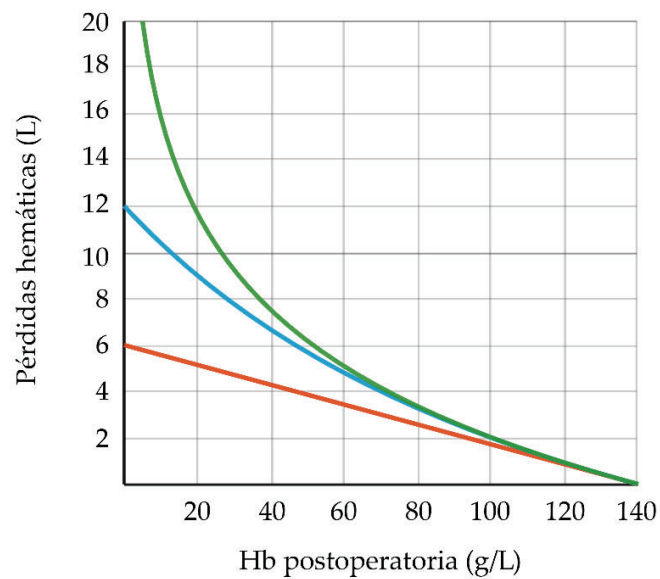


Figura 2: Relación entre cambios perioperatorios en la Hb (eje horizontal) y pérdidas de hemáticas (eje vertical). El gráfico asume una Hb preoperatoria de 140 g/L y un volumen intravascular de 6 L. Las líneas roja, azul y verde corresponden a los modelos de Ward *et al*, Gross y de balance de hemoglobina, respectivamente. Para los modelos de Ward *et al* y Gross se sustituyó Hct por Hb. El modelo de Ward *et al* asume que la hemodilución tras el sangrado es igual al exponencial de la diferencia de Hct (Hb en el gráfico), de manera que, a una menor Hb postoperatoria, las pérdidas aumentan exponencialmente. Para el modelo de Gross, la hemodilución es igual al doble de la diferencia perioperatoria del Hct (Hb en el gráfico), de manera que, ante una Hb

postoperatoria teórica de 0 g/L, las pérdidas hemáticas serán de 12 L (el doble del volumen intravascular). Por su parte, el modelo de balance de hemoglobina no asume hemodilución y, por lo tanto, asume que las pérdidas hemáticas son proporcionales a la diferencia perioperatoria de Hb. Figura original del grupo de investigación.

Según lo mencionado en el punto 4.3., la precisión de los modelos que relacionan las variaciones perioperatorias en la Hb y las pérdidas hemáticas no ha sido investigada ni comparada adecuadamente, por lo que se planteó realizar un estudio para investigarlo. En este estudio, se evaluó y comparó el acuerdo estadístico entre las estimaciones de las pérdidas hemáticas (por los distintos modelos) y las mediciones directas. Además de establecer qué modelo es más preciso para estimar retrospectivamente las pérdidas hemáticas, se consideró que estudiar estos modelos podría sugerir cómo se relacionan las pérdidas hemáticas con los cambios en la Hb.

4.8. Cuantificación basada en el volumen de pérdida

Los métodos actuales de cuantificación de pérdidas hemáticas, ya sea mediante medición directa o estimación a través de modelos, se basan en la cuantificación en términos de volumen de sangre perdida. Sin embargo, basar la cuantificación en el volumen perdido podría ser inexacto y sesgado. Durante la cirugía, diversas variables causan fluctuaciones en el volumen intravascular, que resultan en estados variables de hemodilución (67, 68). Durante este periodo, se han demostrado variaciones significativas e impredecibles (a nivel inter e intraindividual) en el volumen intravascular (más concretamente, en el volumen plasmático), que se han atribuido a la complejidad de los mecanismos fisiológicos de reposición de volumen (59, 69, 70). Además, la administración continua de fluidos intravenosos, los desplazamientos de fluidos, los anestésicos y las técnicas anestésicas también afectan al estado del volumen plasmático (67, 71).

Dado que la pérdida de sangre suele producirse en diferentes momentos de la intervención quirúrgica, la sangre perdida durante este periodo puede tener diferentes grados de dilución y, por lo tanto, diferentes contenidos de hemoglobina o eritrocitos. Además, las pérdidas hemáticas pueden originarse desde diferentes estructuras vasculares, las cuales muestran notables diferencias en cuanto a su grado de hemodilución (72). Por lo tanto, el volumen de pérdida hemática podría no reflejar de manera precisa la pérdida de componentes sanguíneos, ya sea hemoglobina o eritrocitos. Esto explicaría las observaciones previas sobre una correlación débil o insignificante la pérdida de volumen sanguíneo y las diferencias perioperatorias en Hct (69).

Dado que el volumen de las pérdidas hemáticas podría no reflejar la pérdida de contenido, especialmente en lo que respecta al contenido de hemoglobina, cuantificar estas pérdidas únicamente en términos de volumen podría ser insuficiente: el volumen sanguíneo perdido podría ser insuficiente para explicar cambios en la Hb o Hct, y viceversa, los cambios en la Hb o Hct podrían ser insuficientes para explicar las pérdidas de volumen sanguíneo. Esta hipótesis podría explicar la inexactitud de los modelos que estiman las pérdidas hemáticas en términos de volumen.

4.9. Cuantificación basada en la masa de hemoglobina perdida como alternativa a la cuantificación basada en volumen perdido

Se ha observado que la masa de eritrocitos circulante (y, por tanto, la masa de hemoglobina) también presenta variaciones a lo largo del periodo intraoperatorio. Estas variaciones podrían explicarse principalmente por las pérdidas hemáticas, pero también por procesos de redistribución entre los compartimentos sanguíneos circulantes y no circulantes (ej. bazo) (70). Sin embargo, se ha observado que estos procesos de redistribución sólo ocurren

durante el periodo intraoperatorio, y que la masa de eritrocitos circulante permanece relativamente estable durante el resto del periodo postoperatorio (70).

Por otra parte, se ha observado que el volumen intravascular se reestablece a los valores preoperatorios en el momento en que el paciente alcanza la Hb (o Hct) más baja (69, 70). Entonces, si volumen intravascular se reestablece a sus valores preoperatorios, la diferencia en la Hb entre el preoperatorio y postoperatorio sólo podría ser explicada por la pérdida de masa de hemoglobina (o masa eritrocitaria). Esto explicaría las observaciones previas sobre una correlación significativa entre la pérdida de masa de eritrocitos y las diferencias perioperatorias en Hct (70). Dado que la masa de hemoglobina circulante (al igual que la masa de eritrocitos) se puede estimar adecuadamente teniendo en cuenta el volumen intravascular (en condiciones normovolémicas) y la Hb (73), por consiguiente:

$$\text{Ec. 7} \quad A_{\text{loss}} = V_B \cdot (Hb_{\text{pre}} - Hb_{\text{post}})$$

donde, A_{loss} (g) es la pérdida de masa de hemoglobina, y Hb_{post} (g/L) es la Hb más baja durante el periodo perioperatorio. Así, los cambios perioperatorios en la Hb podrían estimar retrospectivamente las pérdidas hemáticas medidas en masa de hemoglobina perdida. La ecuación podría formularse reordenando las variables de la siguiente manera:

$$\text{Ec. 8} \quad Hb_{\text{post}} = \frac{(V_B \cdot Hb_{\text{pre}}) - A_{\text{loss}}}{V_B}$$

de manera que, en base a la Hb preoperatoria y la pérdida de masa de hemoglobina, sería posible estimar la Hb más baja del postoperatorio.

Se consideró que una cuantificación basada en la pérdida de masa de hemoglobina podría presentar ventajas considerables con respecto a la cuantificación clásica basada en la pérdida volumen hemático. Esta hipótesis se fundamentó principalmente en el hecho de que la cuantificación en términos de pérdida de masa de hemoglobina no estaría sujeta a los cambios dilucionales presentes durante el periodo perioperatorio y, por lo tanto, reflejaría con mayor exactitud los cambios en la Hb o Hct. De la manera inversa, los cambios perioperatorios en la Hb o Hct podrían reflejar mejor la pérdida de masa de hemoglobina que la pérdida de volumen sanguíneo.

En este sentido, una estimación basada en la pérdida de la masa de la hemoglobina podría ser un parámetro más fiable a la hora de evaluar las intervenciones destinadas a reducir las pérdidas hemáticas. Asimismo, la medición directa de la masa de hemoglobina perdida sería de mayor utilidad clínica, ya que podría estimar los cambios en la Hb, los cuales son determinantes en las decisiones de transfusión de CCHH.

Con el fin de demostrar la relación entre cambios perioperatorios en la Hb y pérdida de masa de hemoglobina, se planteó un estudio en el que la concordancia estadística entre la estimación de la pérdida de masa de hemoglobina (en base a la Ec. 7) y la medición directa era comparado con la concordancia entre las estimaciones y mediciones directas de la pérdida de volumen de sangre.

4.10. Cambios del volumen intravascular durante el periodo perioperatorio

Los cambios perioperatorios en el volumen intravascular han sido ampliamente estudiados. De forma general, se pueden distinguir 3 mecanismos que lo alteran: relleno intravascular (en inglés, *intravascular refilling*), la administración activa

y posterior redistribución de fluidos entre compartimentos, y desplazamiento patológico de fluidos (en inglés, *pathological fluid shift*).

El relleno del volumen intravascular hace referencia a la reposición fisiológica del volumen intravascular. Incluye el movimiento de fluidos desde tejidos periféricos a través del endotelio, llamado relleno transcápilar (en inglés *transcapillary refilling*), y el movimiento de proteínas desde vasos linfáticos (67, 69, 71). El relleno intravascular es una respuesta fisiológica a la hemorragia e hipovolemia, y su velocidad dependería básicamente del estado del volumen intravascular (74). En condiciones basales, el relleno intravascular ocurriría a velocidades bajas para compensar las pérdidas por diuresis (75). Durante la hemorragia, en cambio, las tasas de relleno intravascular serían muy altas inicialmente, luego decaerían progresivamente a tasas proporcionales al déficit en volumen intravascular, hasta alcanzar valores basales una vez que el volumen intravascular haya logrado el nivel previo a la hemorragia (59, 69, 74, 75).

El relleno intravascular se ha atribuido principalmente al gradiente de presiones entre volumen intravascular y los tejidos periféricos (fuerzas de Starling) y a la acción del sistema renina-angiotensina-aldosterona, y algunos estudios sugieren que la acción de la aldosterona por sí sola podría ser la más relevante. Se han observado diferencias asociados a la edad y al sexo (menor capacidad de respuesta en edades avanzadas y mujeres), las cuales podrían ser explicadas por la dependencia del sistema renina-angiotensina-aldosterona (68, 71). También se ha observado que este proceso es inhibido por la reposición activa secundaria a la administración de fluidos intravenosos (71).

El papel de la noradrenalina sobre el estado de volumen intravascular y el relleno intravascular no es concluyente. Las pruebas sugieren que los cambios en la Hb observados tras infusiones de noradrenalina podrían estar relacionados con una redistribución transitoria de los eritrocitos desde el compartimento sanguíneo periférico (vasos de pequeño calibre de órganos no vitales) al central

(vasos de mediano y gran calibre) (75, 76). Se han investigado otros sistemas fisiológicos, como el cortisol y la hormona antidiurética (ADH), para establecer su relación con el relleno intravascular, pero el grado de contribución sería menor que la acción del sistema renina-angiotensina-aldosterona (71).

Se ha observado que la restitución de proteínas contribuye significativamente al relleno intravascular (59). Las proteínas podrían sustituirse por vía linfática, catabolismo y síntesis *de novo*. Un estudio demostró que la relación entre la restitución intravascular de fluidos y proteínas se mantenía, en general, de forma proporcional y sincronizada (59).

Los efectos de la administración de fluidos sobre el volumen intravascular han sido extensamente estudiados, especialmente por los estudios que utilizan el método *volume kinetics*. Este método se basa en las variaciones de Hb y Hct para calcular los cambios en el volumen intravascular (específicamente en el volumen plasmático) que ocurren en plazos de minutos-horas tras la infusión de fluidos intravenosos (77). Los estudios que han usado este método han demostrado que los cambios en el volumen intravascular inducidos por la infusión de fluidos son explicados por un modelo de dos compartimentos, en el cual los fluidos infundidos en el compartimento central (plasmático) se redistribuyen posteriormente hacia un compartimento periférico de mayor volumen. Asimismo, han demostrado que esta redistribución varía significativamente entre los distintos tipos de fluidos; las infusiones de glucosa abandonan el compartimento central casi inmediatamente, permaneciendo sólo un 7% en el espacio intravascular a los 20-30 minutos tras la infusión. Por su parte, 20-40% del volumen de las infusiones salinas (cloruro sódico al 0,9%) permanecen en el compartimento central a los 20-30 minutos tras la infusión (77). No obstante, los efectos de la infusión de fluidos sobre volumen intravascular no han sido estudiados más allá de las 12 horas (78).

El último mecanismo, el desplazamiento patológico de fluidos, hace referencia a redistribución de fluidos desde el volumen intravascular hacia los tejidos periféricos (principalmente hacia el tejido intersticial en forma de edema) por un aumento de la permeabilidad del endotelio capilar, lo que puede provocar un déficit en el volumen intravascular (71, 79). Este tipo de desplazamiento se ha asociado en gran medida a la respuesta de estrés inducida por la cirugía, y más concretamente con el aumento de la permeabilidad capilar inducida por la respuesta inflamatoria y endocrina (80-82). Su magnitud sería proporcional a la magnitud de la respuesta de estrés (71). Otros autores también han demostrado un aumento de la permeabilidad, y a su vez un desplazamiento patológico de fluidos, causado por la sobrecarga en el volumen intravascular secundaria a un exceso de infusión de fluidos (83, 84). Este fenómeno se ha atribuido a una alteración o disfunción de la glicocálix endotelial, posiblemente relacionada con la secreción del péptido natriurético auricular (PNA) (83).

4.11. Propuesta de modelo para estudiar la dinámica perioperatoria de la Hb

Según lo planteado en la sección 4.9 y los mecanismos involucrados en las variaciones del volumen intravascular detallados en la sección 4.10, se construyó una estructura de modelo cuyo objetivo era estudiar y relacionar cuantitativamente los cambios perioperatorios en la Hb con las variables, procesos y mecanismos que influyen en ella. Esta estructura contenía los principios básicos de la dinámica de la Hb, y proponía la incorporación de procesos o mecanismos adicionales descritos en la sección 4.10, siempre y cuando los datos respaldaran su inclusión en el modelo.

Teniendo en cuenta los primeros días perioperatorios (desde el día de la cirugía), consideramos que la masa de hemoglobina circulante permanecería estable, con tasas de síntesis y degradación insignificantes (85), y sólo alterada por la pérdida

de masa de hemoglobina. Entonces, el equilibrio en la masa de hemoglobina fue formulado en base a la Ec. 8:

$$\text{Ec. 9} \quad Hb(t) = \frac{A_{pre} - A_{loss}}{V_B(t)}$$

en donde, $Hb(t)$ es la Hb durante el periodo perioperatorio, A_{pre} es la masa circulante de hemoglobina en el preoperatorio (estimada a partir de V_B y Hb preoperatoria), A_{loss} es la pérdida de masa de hemoglobina (medida directamente en el intraoperatorio), y $V_B(t)$ es el volumen intravascular durante el periodo perioperatorio.

Asumimos que las variaciones de Hb que se producen en ausencia de cambios en la masa de hemoglobina circulante serían resultado de las variaciones en el volumen intravascular. A su vez, asumimos que las variaciones del volumen intravascular eran consecuencia de un desequilibrio entre los procesos de entrada de fluidos hacia el volumen intravascular y salida de fluidos desde el mismo. Para caracterizar el impacto de estos procesos a lo largo del tiempo, propusimos y evaluamos dos estructuras de modelo distintas. El modelo unicompartimental planteaba el V_B como el único compartimento, el cual podía ser expandido o contraído por los procesos de entrada y salida de fluidos:

$$\text{Ec. 10} \quad \frac{dV_B}{dt} = Fluid_{rate} - B_{rate} - k_{10} \cdot V_B$$

donde, la infusión de fluidos se administraba en el compartimento intravascular siguiendo una tasa de orden cero ($Fluid_{rate}$), y se eliminaba mediante un proceso de primer orden regido por la constante k_{10} y el estado de V_B . El volumen de

sangre perdido durante la cirugía (B_{rate}) se expresa como una tasa constante de orden cero.

El modelo bicompartimental ampliaba el modelo anterior para incluir un compartimento periférico expandible comunicado con el compartimento central:

$$\text{Ec. 11} \quad \frac{dV_B}{dt} = Fluid_{rate} - B_{rate} - k_{10} \cdot V_B - \frac{Q}{V_B(0)} \cdot V_B + \frac{Q}{V_P(0)} \cdot V_P$$

$$\text{Ec. 12} \quad \frac{dV_B}{dt} = \frac{Q}{V_B(0)} \cdot V_B - \frac{Q}{V_P(0)} \cdot V_P$$

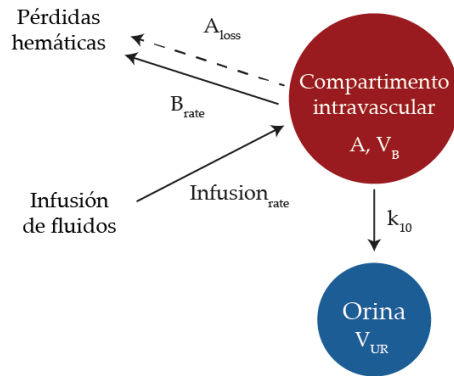
donde, V_P es el volumen del compartimento periférico. La redistribución de fluidos entre el compartimento intravascular y el periférico -y viceversa- se caracteriza por la constante de aclaramiento inter-compartimental (Q).

La eliminación de líquido para ambos modelos se describió asumiendo que la eliminación urinaria era la única fuente de eliminación:

$$\text{Ec. 13} \quad \frac{dV_{UR}}{dt} = k_{10} \cdot V_B$$

donde V_{UR} es el volumen de orina. La Figura 3 representa ambas estructuras de modelo de forma esquemática.

Modelo unicompartimental



Modelo bicompartimental

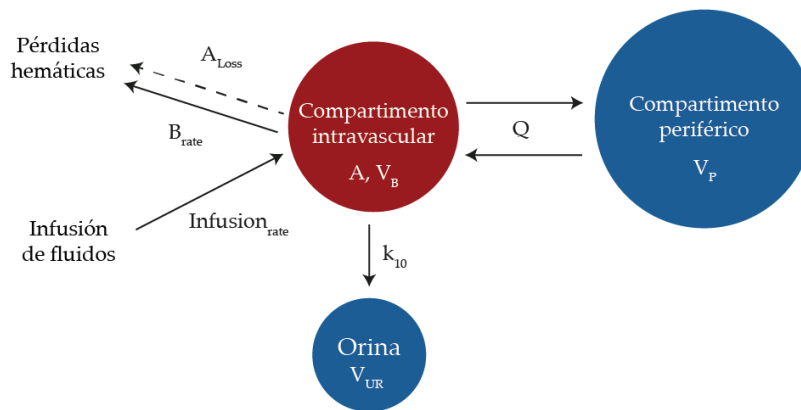


Figura 3: Representación esquemática de las estructuras de modelo propuestas. En ambas estructuras, la Hb está determinada por la masa de circulante de hemoglobina y del volumen del compartimento intravascular (V_B). Ambos componentes sanguíneos se alteran a lo largo del periodo perioperatorio, dando como resultado variaciones en la Hb. La masa circulante de hemoglobina (A) se ve afectada únicamente por la pérdida de masa de hemoglobina (A_{loss}). V_B , por su parte, se ve afectado positivamente por la infusión de fluidos (causando su expansión) y negativamente por la pérdida de volumen de sangre (causando su contracción). La contracción de V_B por la eliminación a través de la orina depende del estado de V_B , siendo de mayor velocidad cuando V_B se encuentra expandido con respecto a su estado basal, y de menor velocidad cuando se encuentra contraído. En el modelo bicompartimental (panel inferior), el compartimento intravascular se comunica con un compartimento periférico, el cual posee un volumen determinado (V_P). El fluido entre ambos compartimentos se distribuye a una velocidad determinada por la constante de aclaramiento inter-compartmental (Q) y los estados de V_B y V_P , los cuales además determinan la dirección del desplazamiento de fluidos. Figura original del grupo de investigación.

5. Hipótesis

- i. La pérdida de volumen sanguíneo, como medida de cuantificación de las pérdidas hemáticas, no se correlaciona significativamente con las diferencias perioperatorias en la concentración de hemoglobina o hematocrito.
- ii. La pérdida de masa de hemoglobina, como medida de cuantificación de las pérdidas hemáticas, se correlaciona significativamente con las diferencias perioperatorias en la concentración de hemoglobina.
- iii. Los cambios en la concentración de hemoglobina durante el periodo perioperatorio pueden ser explicados por un modelo matemático que considere el equilibrio en la masa circulante de hemoglobina y las variaciones en el volumen intravascular.

6. Objetivos

Objetivo general

Investigar la dinámica de la concentración de hemoglobina durante el periodo perioperatorio, analizando las causas y mecanismos que la afectan, y estableciendo relaciones cuantitativas entre ellas.

Objetivos específicos

- i. Investigar la relación entre las variaciones perioperatorias en la concentración de hemoglobina y las pérdidas hemáticas.
 - a. Analizar la relación entre las variaciones perioperatorias en la concentración de hemoglobina y la pérdida de volumen sanguíneo.
 - b. Analizar la relación entre las variaciones perioperatorias en la concentración de hemoglobina y la pérdida de masa de hemoglobina.
- ii. Modelar las variaciones perioperatorias en la concentración de hemoglobina en base a las pérdidas hemáticas y las variaciones del volumen intravascular.

7. Materiales, métodos y resultados

7.1. Artículo 1: *Agreement of surgical blood loss estimation methods.*

Antecedentes: En los estudios de estrategias destinadas a reducir la hemorragia perioperatoria, las pérdidas hemáticas suelen estimarse mediante diferentes fórmulas. Este estudio evaluó y comparó la concordancia estadística entre las principales fórmulas de estimación de pérdidas hemáticas utilizando una medición directa de las pérdidas hemáticas como método de referencia.

Métodos: Se estudiaron consecutivamente 80 pacientes sometidos a cirugía laparoscópica urológica. Se consideraron las condiciones óptimas para la medición directa de las pérdidas hemáticas. Las pérdidas hemáticas se estimaron por seis fórmulas y considerando cuatro puntos postoperatorios diferentes. El acuerdo estadístico de las fórmulas se evaluó mediante el coeficiente de correlación de concordancia (CCC) y análisis de Bland-Altman. También se realizó un análisis de la variabilidad del acuerdo en relación con las diferentes magnitudes de pérdidas hemáticas.

Resultados: Las pérdidas hemáticas medidas directamente oscilaron entre 200 y 2200 ml. Las fórmulas estudiadas mostraron una baja concordancia con la medición directa de las pérdidas hemáticas; los límites del acuerdo del 95% superaron ampliamente el criterio de ± 560 ml. Se observaron sesgos significativos, que en la mayoría de las fórmulas condujeron a una sobreestimación de las pérdidas hemáticas. Para todas las fórmulas, la concordancia se mantuvo constante independientemente de la cantidad de las pérdidas hemáticas, con límites entre -40% y +120% aproximadamente. De entre todas las estudiadas, la fórmula de López-Picado alcanzó el mejor nivel de concordancia a las 48 horas (CCC: 0,577), con un sesgo de +283 ml y unos límites de acuerdo del 95% entre -477 ml y +1043 ml.

Conclusión: Las fórmulas utilizadas actualmente para estimar las pérdidas hemáticas difieren sustancialmente de las mediciones directas; por lo tanto, pueden no ser métodos fiables para la cuantificación de las pérdidas hemáticas en el ámbito quirúrgico.

Agreement of surgical blood loss estimation methods

Sebastian Jaramillo,¹ Mar Montane-Muntane,¹ David Capitan,¹ Ferran Aguilar,² Antoni Vilaseca,³
Annabel Blasi,^{1,4} and Ricard Navarro-Ripoll¹

BACKGROUND: Surgical blood loss is usually estimated by different formulae in studies of strategies aimed at reducing perioperative bleeding. This study assessed and compared the agreement of the main blood loss estimation formulae using a direct measurement of blood loss as the reference method.

STUDY DESIGN AND METHODS: Eighty consecutive patients undergoing urologic laparoscopic surgery were studied. Only optimal conditions for the direct measurement of surgical blood loss were considered. Surgical blood loss was estimated by six formulae at four different postoperative time points. The agreement of the formulae was evaluated by the Concordance correlation coefficient (CCC) and Bland–Altman analyses. An analysis of the agreement’s variability regarding different magnitudes of blood loss was also performed.

RESULTS: Directly measured blood loss ranged from 200 to 2200 mL. The formulae studied showed poor agreement with the direct measurement of blood loss; 95% limits of agreement widely exceeded the criterion of ± 560 mL. Significant biases were found, which for most of the formulae led to an overestimation of blood loss. For all formulae, agreement remained constant regardless of the amount of blood loss, with limits between -40 and $+120\%$ approximately. Among the formulae, the best agreement was achieved by López-Picado’s formula at 48 hours (CCC: 0.577), with a bias of $+283$ mL and 95% limits of agreement between -477 and $+1043$ mL.

CONCLUSION: Formulae currently used to estimate surgical blood loss differ substantially from direct measurements; therefore, they may not be reliable methods of blood loss quantification in the surgical setting.

INTRODUCTION

Patient blood management programs include evidence-based strategies to optimize the care of patients who might need a blood transfusion.^{1,2} Assessment and reduction of surgical blood loss is a key parameter^{1,2} not only in clinical practice but also in research, where blood loss might be a more robust clinical outcome³ since other parameters (e.g., transfusion rate or hemoglobin drop) are influenced by several factors precluding proper comparison among different studies.³

However, there is currently no gold-standard method to quantify blood loss.^{3–5} Usual methods of direct measurement are not entirely reliable because of the limitations and difficulties of accurately measuring whole blood loss, especially in surgeries that involve hidden losses or difficult-to-measure losses.^{4,5} Arising from the need for reliable quantification, several formulae have been proposed to estimate surgical blood loss based on clinical parameters.^{5,6} Although it has been suggested that formulae may be significantly inexact and different from each other,^{5,6} their actual agreement has not been properly investigated and compared. As a result, many blood loss estimation formulae are still being used in several clinical trials as valid methods of quantification.^{7–20}

From the ¹Department of Anesthesiology, Hospital CLINIC de Barcelona, Barcelona, Spain; ²European Foundation for the Study of Chronic Liver Failure, Barcelona, Spain; ³Department of Urology, Hospital CLINIC de Barcelona, Barcelona, Spain; and the ⁴Institut d’Investigacions Biomèdiques Agustí Pi I Sunyer, Barcelona, Spain.

Address reprint requests to: Sebastian Jaramillo, MD, Department of Anesthesiology, Hospital CLINIC de Barcelona, Carrer de Villaroel 170, Barcelona 08036, Spain; e-mail: jaramillo@clinic.cat

Source(s) of Support

Supported by funding from Department of Anesthesiology, Hospital CLINIC de Barcelona, Barcelona, Spain.

Received for publication August 30, 2018; revision received October 16, 2018; and accepted October 16, 2018.

doi:10.1111/trf.15052

© 2018 AABB

TRANSFUSION 2019;59:508–515

Given that the results of research studies could be significantly influenced by the blood loss quantification method employed, this study aimed to evaluate and compare the agreement of different blood loss estimation formulae using a direct measurement of blood loss as the reference method.

MATERIAL AND METHODS

This prospective observational study was conducted at Hospital Clinic de Barcelona, Spain. The study was approved by the institutional ethics committee (Reg. HCB/0906) and registered in Clinicaltrials.gov (NCT03516552). Consecutive adult patients electively scheduled for laparoscopic urologic surgery were included, and signed written consent was obtained.

The exclusion criteria were as follows: 1) Suspected or confirmed coagulopathy (including current treatment with anticoagulants or antiplatelet agents); 2) Directly measured blood loss ≤ 200 mL; 3) Requirement for surgical gauzes during surgery, including conversion to open surgical techniques; 4) Transfusion of red blood cells (RBCs) during the perioperative period; 5) Significant postoperative bleeding (> 50 mL in surgical drains, gross hematuria, or any other type of significant blood loss); 6) Fluid infusions or vasoactive drugs after the first 24 postoperative hours.

General anesthesia was administered in all cases. A strict fluid protocol was implemented to maintain a euvolemic status. Intraoperative fluid therapy consisted of crystalloids ($1 \text{ mL kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$) for the replacement of insensible losses. Blood loss was replaced with crystalloids according to the measured blood loss volume (1 mL of crystalloids was administered for each mL of measured blood loss). Postoperative fluid therapy consisted of crystalloids ($20 \text{ mL kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$). Vasoactive agents were used, if necessary, to achieve a mean blood pressure > 65 mm Hg. An intraperitoneal surgical drain was placed in all patients and withdrawn 48 hours after surgery. A urinary catheter was placed in all patients. Visual assessment was performed to detect gross hematuria.

Medical records and anthropometric data were collected prospectively. Blood samples were analyzed at the central laboratory (Advia 2120i automated hematology analyzer; Siemens Healthcare, Erlangen, Germany) to assess hematocrit and hemoglobin levels before surgery, immediately after surgery and at 24, 48, and 72 hours after surgery. All samples were obtained from large veins using a standard protocol (during fasting, in a supine position, between 7 and 9 hours).

Direct measurement of surgical blood loss

Given that a gold-standard method for the direct measurement of blood loss has not been defined, the method used in this study was designed to optimize blood loss collection and to minimize unquantifiable losses. This method

consisted of the use of a meticulous measurement technique carried out within the best conditions for the measurement of blood loss. For this reason, only laparoscopic surgery was considered because it fulfilled the need for a closed loop where blood loss could be entirely measured. The choice of urologic surgery was based on local records that reported large volumes of intraoperative blood loss with low rates of postoperative bleeding.

Blood loss was obtained from suction canisters (Guardian 2 L suction canister, Cardinal Health, Dublin, OH, USA). Before surgery, heparinized saline solution (25000 IU of heparin in a saline solution) was added to the suction system. During surgery, a continuous flow of irrigation fluid (0.9% saline solution) was used to prevent any clotting and residual blood in the suction system. The total volume of the solutions used during surgery (heparin and saline solution) was carefully recorded. Surgeons were asked to carefully suction all surgical blood loss. Residual losses were suctioned through surgical drains into the canister after the end of the surgery. The total suctioned volume was precisely measured by a system capable of determining differences up to ± 10 mL. The final value of surgical blood loss was determined by subtracting the volume of irrigation fluid from the total volume contained in surgical canisters.

Blood loss estimation formulae

All blood loss formulae have similar structures and bases. An euvolemic state between the pre- and postoperative times is assumed. Based on this principle, blood loss is assumed to be correlated with the perioperative difference of hematocrit (or hemoglobin levels) and the patient's blood volume. The essential difference among the formulae is how they correct for blood hemodilution using different types of functions: linear, proportional, or logarithmic functions. Hence, blood loss estimation formulae require a value of the patient's blood volume (estimated by specific formulae) and perioperative values of either hematocrit or hemoglobin levels.

A selection of the main blood loss formulae was performed. The selection considered the most cited and the most recent formulae in the medical literature. Given the large number of existing formulae, the final selection was determined according to the authors' criteria. The chosen formulae were reduced to the first author's name to simplify citations:

- i. Ward's formula:²¹ Uses a natural logarithm function between pre- and postoperative hematocrit to derive an estimation on blood loss. Moore's formula²² is used in the equation for the estimation of blood volume.
- ii. Bourke's formula:²³ Proposed as a simplification of Ward's formula. The natural logarithm is replaced by a product of 3 minus the mean perioperative hematocrit. Moore's formula²² is also used for the estimation of blood volume.
- iii. Gross' formula:²⁴ also proposed as a simplification of Ward's formula. This formula uses the difference

between pre- and postoperative hematocrit, divided by the mean perioperative hematocrit to estimate blood loss. Moore's formula²² is also used in the equation.

- iv. Hemoglobin balance formula:¹¹ Widely used by different authors using the terms "hemoglobin balance formula,"¹¹ "hemoglobin balance method," and "hemoglobin dilution method."⁶ The formula uses the difference between pre- and postoperative hemoglobin levels divided by the preoperative hemoglobin level to calculate an estimation of blood loss. To estimate blood volume, Nadler's formula²⁵ is employed.
- v. OSTHEO formula:²⁶ Formula used in the Orthopedic Surgery Transfusion Hemoglobin European Overview (OSTHEO) study.²⁶ It uses a complex formula where compensated and uncompensated RBC volumes are calculated. To estimate blood volume, it uses its own formula, which is based on the body surface area.
- vi. López-Picado's formula⁵: Proposed as a modification of a previous formula proposed by Camarasa et al.²⁷ The ICSH (International Council of Hematology) formula²⁸ is used to estimate blood volume.

Complete details of blood loss formulae are available as supplementary material.

Postoperative blood loss quantification time points

Although some of the blood loss estimation formulae suggest a specific postoperative time for the measurement of hemoglobin or hematocrit (for example, immediately after surgery or 48 hours after surgery), in this study, estimations were made at several postoperative times to test each formula at different postoperative time points. The postoperative times studied were as follows: immediately after surgery and 24, 48, and 72 hours after surgery.

Statistical analysis

Categorical data were expressed as frequencies and percentages. Quantitative data were expressed as the means and standard deviations (SD) if normally distributed or as medians and interquartile ranges (IQR) if not. Variables were analyzed using the Shapiro-Wilk test to determine whether data were normally distributed. Absolute differences between directly measured and estimated blood loss were also tested for normal distribution using the Shapiro-Wilk test.

The agreement analysis was performed considering the direct measurement of surgical blood loss as the reference method. The six aforementioned formulae and the four postoperative times per formula were considered. The statistical methods used in this study to evaluate the blood loss formulae were the Concordance correlation coefficient index (CCC)²⁹ and the Bland-Altman analyses.³⁰ The CCC index assesses the agreement's strength of a method in comparison with the reference method, considering its precision and accuracy.²⁹ Values range from 0 to ± 1 , where 0 indicates no agreement and values near ± 1 indicate

perfect agreement. The Bland-Altman analysis also assesses the agreement in comparison with the reference method. In contrast to the CCC, the Bland-Altman analysis exposes the agreement in the unit of measurement used (for instance, milliliters of blood loss), which allows calculating bias and 95% limits of agreement in these units.

The evaluation of the agreement included two analyses: 1) Comparison of the agreement achieved per formula and 2) accomplishment of the acceptable agreement per formula.

Comparison analysis was performed between formulae (each formula tested at four different postoperative time points) to establish which formula achieved the best agreement. The CCC index was used as the main outcome. The CCC index was considered a descriptive and comparative parameter without considering any minimum acceptable value.

Accomplishment analysis was performed to determine which blood loss formulae (and at which postoperative time) met the criterion for an acceptable agreement. In this study, an acceptable agreement was defined by a maximum of 95% limits of agreement in the Bland-Altman analysis. These maximum limits of agreement established were considered by a difference that represented a $\pm 10\%$ of the blood volume of an average adult from a general population. Although $\pm 10\%$ of the total blood volume may seem excessive, such a wide range was chosen given the acknowledged inherent imprecisions of the formulas. According to a previous study on healthy non-anemic adults,³¹ 10% of the blood volume corresponded to an approximate value of 560 mL. Thus, the acceptable 95% limits of agreement were determined by a maximum range of ± 560 mL (+560 mL as the upper limit of agreement, and -560 mL as the lower limit of agreement).

Additionally, to achieve a more accurate examination of the agreement's consistency, variability regarding different magnitudes of blood loss was evaluated. This is relevant when focusing on extreme amounts of blood loss, in which agreement could be underestimated or overestimated in the classical Bland-Altman plot due to the small or large magnitude of the differences.³² The analysis was performed using the Bland-Altman plot on percentage differences. The variability of the agreement was assessed visually by the analysis of the estimates' dispersion at different magnitudes of blood loss. This analysis was performed only for descriptive purposes, and it was neither considered in the comparison of agreements nor in the assessment of an acceptable agreement.

All statistical analyses were performed using R software version 3.5.1 (R Development Core Team, Vienna, Austria).

Sample size calculation

The calculation of the sample size was performed considering maximum limits of agreement in the Bland-Altman analysis using the method proposed by Lu and colleagues.³³ The method considered the expected mean (and standard

TABLE 1. Patient characteristics (n = 80)

Age (yrs), mean (SD)	60 (8)
Gender (male/female)	64/16
Height (cm), mean (SD)	169 (8)
Weight (kg), mean (SD)	77 (14)
BMI (kg/m ²), median (IQR)	27 (24–29)
BSA (m ²), mean (SD)	1.85 (0.18)
ASA I, n (%)	16 (20%)
ASA II, n (%)	50 (62.5%)
ASA III, n (%)	14 (17.5%)
Surgical intervention	
Robotic prostatectomy	40
Laparoscopic partial nephrectomy	40

SD = standard deviation; BMI = body mass index; BMA = body surface area; IQR = interquartile range.

TABLE 2. Patients' perioperative hematologic parameters

Hematocrit (%)	
Preoperative, mean (SD)	43.9 (4.1)
Immediately after surgery, mean (SD)	40.5 (4.3)
24 hours after surgery, mean (SD)	35.9 (5.1)
48 hours after surgery, mean (SD)	35.4 (4.5)
72 hours after surgery, mean (SD)	36.7 (5.2)
Hemoglobin concentration (g/dl)	
Preoperative, mean (SD)	14.4 (1.5)
Immediately after surgery, mean (SD)	13.7 (1.4)
24 hours after surgery, mean (SD)	12.1 (1.5)
48 hours after surgery, mean (SD)	11.9 (1.6)
72 hours after surgery, mean (SD)	12.2 (1.7)

SD = standard deviation.

deviation) of differences between directly measured and estimated blood loss, obtained from a pilot study, and the maximum limits of agreement defined in the design of the study (± 560 mL). The analysis determined that 80 cases were necessary. Sample size was calculated with a statistical power of 90% and a level of significance of 0.05 (two tailed).

RESULTS

Eighty-five patients were enrolled, of whom five were excluded as they met exclusion criteria (two patients were transfused and three had significant postoperative bleeding). The remaining eighty patients are summarized in Table 1. Hematocrit and hemoglobin concentration assessments were performed five times per patient during the perioperative period, leading to a total of 400 measurements. Perioperative values are summarized in Table 2. Nadir hematocrit and hemoglobin levels were reached at the postoperative 48 hours in 77 subjects, while 2 patients reached the nadir levels at 24 hours and 1 patient at 72 hours.

Directly measured blood loss ranged from 200 to 2200 mL, with a median of 690 mL. Due to the non-normal distribution of the results, a histogram was constructed (Fig. 1), wherein the frequency and distribution for each amount of blood loss are exposed.

CCC analyses are summarized in Table 3. The CCC index improved substantially for every blood loss formula when the postoperative time was defined as 48 hours after surgery. Among the formulas, López-Picado's formula achieved the CCC index at every postoperative time point. Therefore, to avoid redundant data analysis, subsequent Bland-Altman analyses were performed considering all blood loss estimation formulae with the postoperative time set at 48 hours after surgery.

Bland-Altman analyses at 48 hours for each formula are summarized in Table 4. None of the formulae studied met the limits of agreement of ± 560 mL defined in the design of the study. All blood loss estimation formulas displayed a considerable tendency to overestimate blood loss

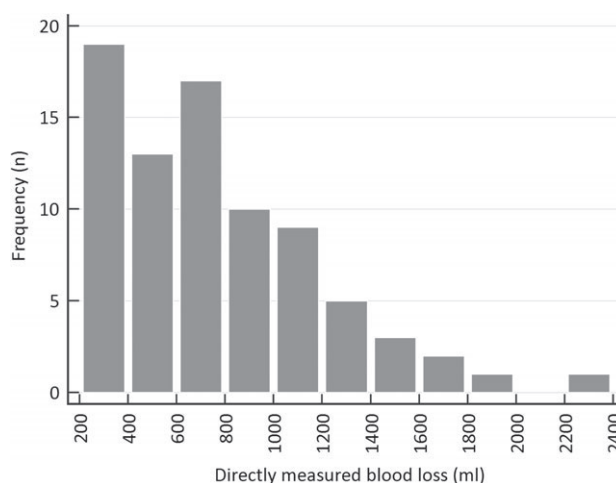


Fig. 1. Histogram of measured blood loss (mL). A total of 52 patients (65%) had bleeding ≥ 500 mL, 20 patients (25%) had bleeding ≥ 1000 mL, and 9 patients (8.7%) had bleeding ≥ 1500 mL.

due to the presence of a significant bias, except for the Hb balance formula, which underestimated blood loss.

An additional Bland-Altman analysis was performed considering estimations by López-Picado's formula at different postoperative time points. This analysis was included because López-Picado's formula achieved the best CCC index among all other formulae at every postoperative time point (Table 3). The results are displayed in Table 5 in the supplemental material section. None of the postoperative time points led to an acceptable agreement, as was defined in the design of the study. Nonetheless, bias and limits of agreement significantly improved when postoperative time was set at 48 hours.

The agreement's variability analysis was performed considering the postoperative time at 48 hours, given that the agreement improved substantially for every blood loss formula at that postoperative time. Bland-Altman plots on percentage differences at 48 hours after surgery (Fig. 2) showed that dispersion of the estimates remained relatively

TABLE 3. Agreement between estimated and directly measured blood loss at different postoperative times (CCC index with 95% CI)

Blood loss formula	Immediately after surgery	24 hours after surgery	48 hours after surgery	72 hours after surgery
Ward's formula	0.179 [0.025; 0.245]	0.318 [0.148; 0.470]	0.471 [0.345; 0.580]	0.308 [0.128; 0.398]
Bourke's formula	0.154 [0.008; 0.228]	0.298 [0.108; 0.422]	0.455 [0.329; 0.565]	0.284 [0.115; 0.379]
Gross' formula	0.194 [0.078; 0.258]	0.322 [0.150; 0.488]	0.476 [0.349; 0.585]	0.310 [0.140; 0.462]
Hb balance formula	0.198 [0.084; 0.270]	0.328 [0.149; 0.475]	0.437 [0.331; 0.533]	0.322 [0.151; 0.487]
OSTHEO Formula	0.187 [0.031; 0.253]	0.320 [0.146; 0.474]	0.462 [0.334; 0.574]	0.302 [0.114; 0.490]
López-Picado's formula	0.219 [0.104; 0.289]	0.363 [0.162; 0.551]	0.577 [0.438; 0.688]	0.348 [0.188; 0.515]

CCC = concordance correlation coefficient; 95% CI = 95% confidence interval.

TABLE 4. Agreement between estimated and directly measured blood loss at 48 hours after surgery (Bland–Altman analysis)

Blood loss formula	Bias [95% CI]	Lower limit of agreement [95% CI]	Upper limit of agreement [95% CI]
Ward's formula	+459 mL [357; 560]	−435 mL [−609; −260]	+1353 mL [1179; 1527]
Bourke's formula	+474 mL [372; 576]	−423 mL [−598; −248]	+1371 mL [1196; 1546]
Gross' formula	+451 mL [351; 550]	−428 mL [−599; −257]	+1330 mL [1159; 1501]
Hb balance formula	−318 mL [−384; −253]	−898 mL [−1010; −784]	+259 mL [147; 372]
OSTHEO formula	+438 mL [328; 548]	−534 mL [−724; −345]	+1411 mL [1221; 1600]
López-Picado's formula	+283 mL [206; 360]	−477 mL [−625; −329]	+1043 mL [895; 1191]

Shapiro–Wilk test of absolute differences between directly measured and estimated blood loss: Ward's: $p = 0.368$, Bourke's: $p = 0.419$, Gross's: $p = 0.407$, Hb balance: $p = 0.654$, OSTHEO: $p = 0.326$, López-Picado's: $p = 0.681$. 95% CI = 95% confidence interval.

uniform for every amount of blood loss. Therefore, it was concluded that the agreement was not significantly influenced by the magnitude of the blood loss. Except for the Hb balance formula (2-D), all formulae overestimated blood loss by approximately +32 to 48% (bias). Wide limits of agreement were observed (between −40 and + 120%, approximately). The Hb balance formula (2-D) also showed wide limits of agreement (−114 to +13%), but with a pronounced tendency to underestimate blood loss (bias of −50%).

DISCUSSION

This study evaluated and compared the agreement of the main formulae used to estimate surgical blood loss using a direct measurement of blood loss as the reference method. Overall, the formulae studied showed poor agreement with the directly measured blood loss. Wide limits of agreement and significant bias were found, which for most of the formulae led to a substantial overestimation of blood loss. Agreement between estimated and directly measured blood loss remained constant regardless of the magnitude of blood loss.

Quantification of blood loss is one of the most robust metrics in the evaluation of strategies aimed at reducing blood loss,³ but direct measurements are not always feasible,^{4,5} especially in surgeries that involve hidden losses or immeasurable losses.^{4,5} Blood loss estimation formulae try to solve

the need for reliable quantification.^{3,4} Given that there is no gold-standard method of blood loss quantification, blood loss estimation formulae have been considered valid approximations for the evaluation of the efficacy of pharmacological interventions,^{7–11} topical hemostatic agents,^{12–16} and surgical techniques.^{17–20} In fact, estimations obtained by these formulae have been widely used to obtain important clinical conclusions, even when formulae and direct measurement of blood loss showed no agreement.^{9–11} However, in the present study, formulae did not meet the agreement to be used as valid tools for research applications.

Only a few studies have examined the agreement of blood loss estimation formulae, and most were studies in which the formulae were developed or proposed. Most of these studies were performed on small sample sizes,^{21,23,24} in surgeries with scarce blood loss,^{21–23} in scenarios that differ from the surgical setting,⁶ or where the direct measurement of blood loss was not reliable because they were tested in surgeries where hidden losses could be involved.^{5,26} Apart from the aforementioned limitations, estimations by blood loss formulae were observed to be significantly different from the direct measurements of blood loss.^{5,6}

The underlying factors that may explain the inaccuracy of blood loss estimation formulae are not known. The estimation of a patient's blood volume may be the main source of error, considering that even the most accurate formula has relevant inherent imprecisions that may reach $\pm 50\%$.²⁸ Another important factor is that many blood loss estimation formulae were designed under the basis of euvoemia

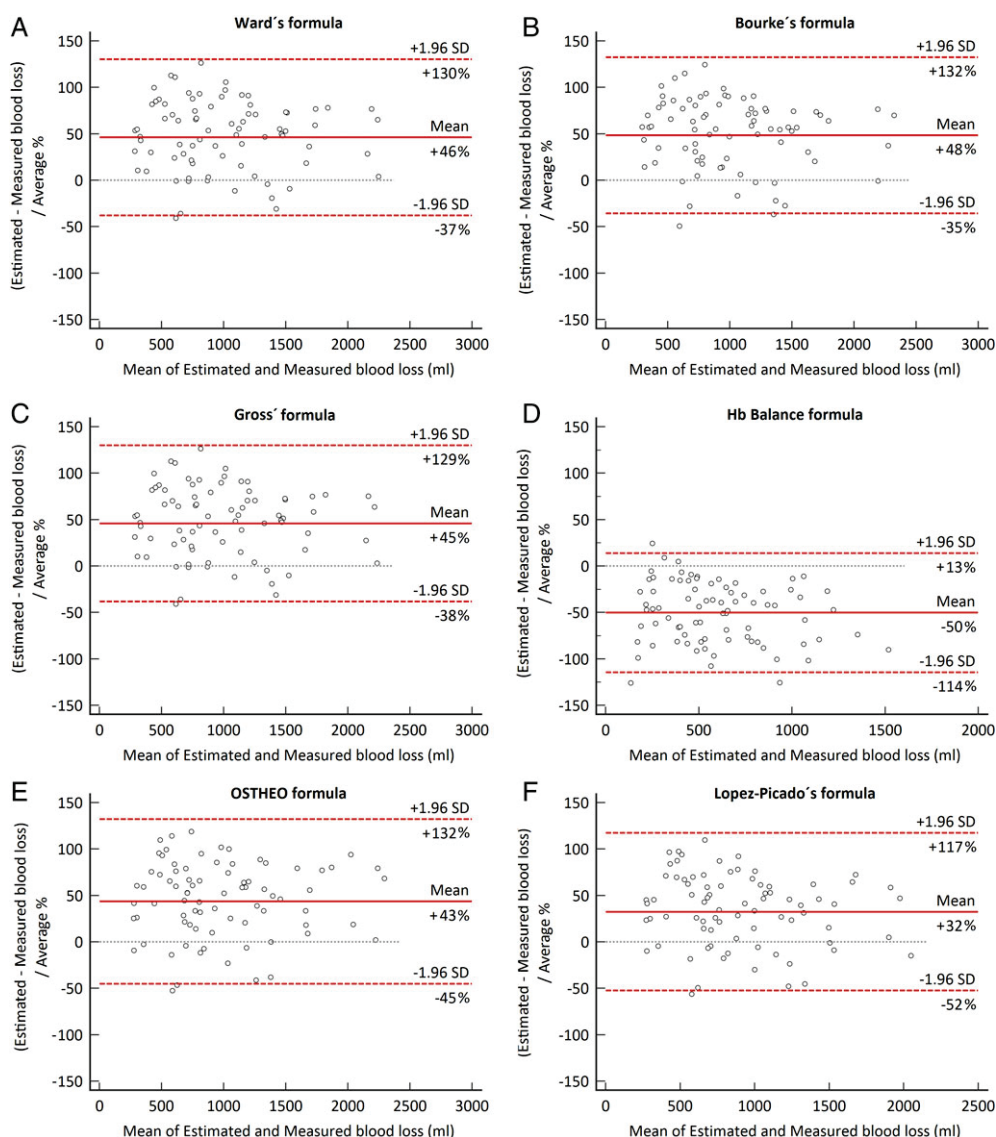


Fig. 2. Bland–Altman plots on percentage differences (%) at 48 hours after surgery. Bias is represented by the solid red line, 95% limits of agreement by dashed red lines and line of equality (where agreement would be perfect) by the dashed gray line. Agreement of the estimates was not significantly influenced by the magnitude of the blood loss, remaining nearly constant for every amount of blood loss. All formulae showed a substantial tendency to overestimate blood loss, while the Hb balance formula (2-D) underestimated blood loss. [Color figure can be viewed at wileyonlinelibrary.com]

during the course of surgery^{21,23,24} or between the pre- and postoperative times.^{5,6,26} However, this may be difficult to obtain in a clinical scenario, as there are many circumstances in the perioperative period that may modify the volumic status. An alternative method to avoid the effect of hemodilution during the perioperative period should be investigated, for example, using RBC volume instead.

The main limitation of this study was the lack of a gold-standard method to directly measure blood loss. To minimize this limitation, we intended to use the most precise method with optimal conditions for the direct measurement of blood loss. Despite the careful measures taken, we

recognize that a reference method is not available, and therefore, the results may vary according to the chosen measuring method. Additionally, an effort was made to obtain a clinical setting where the direct measurement of surgical blood loss was as reliable as possible.

Interestingly, hidden blood loss has always been quantified as the difference between direct measurements and estimations from any blood loss formula.^{34–38} In fact, using this approach, hidden losses have been calculated to be as high as 60% of the total blood loss.³⁸ However, the actual amount of hidden loss has never been evaluated by reliable methods. In light of the formulae's tendency to overestimate blood loss, a

proper study of hidden surgical blood losses would be helpful to understand the magnitude of the problem.

In conclusion, blood loss formulae differ significantly from direct measurements of blood loss; hence, blood loss formulae may not be reliable methods of quantification. New approaches are needed to quantify perioperative surgical blood loss.

ACKNOWLEDGMENTS

None.

DISCLAIMERS

No.

CONFLICTS OF INTEREST


The authors have disclosed no conflicts of interest.

CLINICAL TRIAL NUMBER

NCT03516552.

REFERENCES

1. Goodnough LT, Shander A. Patient blood management. *Anesthesiology* 2012;116:1367-76.
2. Clevenger B, Mallett SV, Klein AA, et al. Patient blood management to reduce surgical risk. *Br J Surg* 2015;102:1325-37.
3. Goodnough LT, Panigrahi AK. Estimating blood loss. *Anesth Analg* 2017;125:13-4.
4. Guinn NR, Broome BW, White W, et al. Comparison of visually estimated blood loss with direct hemoglobin measurement in multilevel spine surgery. *Transfusion* 2013;53:2790-4.
5. López-Picado A, Albinarrate A, Barrachina B. Determination of perioperative blood loss: accuracy or approximation? *Anesth Analg* 2017;125:280-6.
6. Meunier A, Petersson A, Good L, et al. Validation of a hemoglobin dilution method for estimation of blood loss. *Vox Sang* 2008;95:120-4.
7. Abdel MP, Chalmers BP, Taunton MJ, et al. Intravenous versus topical tranexamic acid in total knee arthroplasty: both effective in a randomized clinical trial of 640 patients. *J Bone Joint Surg Am* 2018;100:1023-9.
8. Zufferey PJ, Lanoiselée J, Chapelle C, et al. Intravenous tranexamic acid bolus plus infusion is not more effective than a single bolus in primary hip arthroplasty: a randomized controlled trial. *Anesthesiology* 2017;127:413-22.
9. Barrachina B, López-Picado A, Remon M. Tranexamic acid compared with placebo for reducing total blood loss in hip replacement surgery: a randomized clinical trial. *Anesth Analg* 2016;122:986-5.
10. Rajesparan K, Biant LC, Ahmad M, et al. The effect of an intravenous bolus of tranexamic acid on blood loss in total hip replacement. *J Bone Joint Surg Br* 2009;91:776-83.
11. Good L, Peterson E, Lisander B. Tranexamic acid decreases external blood loss but not hidden blood loss in total knee replacement. *Br J Anaesth* 2003;90:596-9.
12. North WT, Mehran N, Davis JJ, et al. Topical vs intravenous tranexamic acid in primary total hip arthroplasty: a double-blind, randomized controlled trial. *J Arthroplasty* 2016;31:1022-6.
13. Konig G, Hamlin BR, Waters JH. Topical tranexamic acid reduces blood loss and transfusion rates in total hip and total knee arthroplasty. *J Arthroplasty* 2013;28:1473-6.
14. Alshryda S, Mason J, Vaghela M, et al. Topical (intra-articular) tranexamic acid reduces blood loss and transfusion rates following total knee replacement: a randomized controlled trial (TRANX-K). *J Bone Joint Surg Am* 2013;95:1961-8.
15. Wong J, Abrishami A, El Beheiry H, et al. Topical application of tranexamic acid reduces postoperative blood loss in total knee arthroplasty: a randomized, controlled trial. *J Bone Joint Surg Am* 2010;92:2503-13.
16. Molloy DO, Archbold HA, Ogonda L, et al. Comparison of topical fibrin spray and tranexamic acid on blood loss after total knee replacement: a prospective, randomised controlled trial. *J Bone Joint Surg Br* 2007;89:306-9.
17. Kalairajah Y, Simpson D, Cossey AJ, et al. Blood loss after total knee replacement: effects of computer-assisted surgery. *J Bone Joint Surg Br* 2005;87:1480-2.
18. Schnurr C, Csécsei G, Eysel P, et al. The effect of computer navigation on blood loss and transfusion rate in TKA. *Orthopedics* 2010;33:474.
19. Tai TW, Chang CW, Lai KA, et al. Effects of tourniquet use on blood loss and soft-tissue damage in total knee arthroplasty: a randomized controlled trial. *J Bone Joint Surg Am* 2012;94:2209-15.
20. Li B, Wen Y, Wu H, et al. The effect of tourniquet use on hidden blood loss in total knee arthroplasty. *Int Orthop* 2009;33:1263-8.
21. Ward CF, Meathe EA, Benumof JL, et al. Computer normogram for blood loss replacement. *Anesthesiology* 1980;53:S126.
22. Moore FD. *Metabolic care of the surgical patients*, Vol. 146. Philadelphia, PA: WB Saunders; 1959.
23. Bourke DL, Smith TC. Estimating allowable hemodilution. *Anesthesiology* 1974;41:609-12.
24. Gross JB. Estimating allowable blood loss: corrected for dilution. *Anesthesiology* 1983;58:277-80.
25. Nadler SB, Hidalgo JH, Bloch T. Prediction of blood volume in normal human adults. *Surgery* 1962;51:224-32.
26. Rosencher N, Kerckamp HE, Macheras G, et al. Orthopedic surgery transfusion hemoglobin European overview (OSTHEO) study: blood management in elective knee and hip arthroplasty in Europe. *Transfusion* 2003;43:459-69.
27. Camarasa MA, Ollé G, Serra-Prat M, et al. Efficacy of aminocaproic, tranexamic acids in the control of bleeding during total knee replacement: a randomized clinical trial. *Br J Anaesth* 2006;96:576-82.
28. Pearson TC, Guthrie DL, Simpson J, et al. Interpretation of measured red cell mass and plasma volume in adults: expert

- panel on radionuclides of the International Council for Standardization in Haematology. *Br J Haematol* 1995;89:748-56.
29. Lin LI. A concordance correlation coefficient to evaluate reproducibility. *Biometrics* 1989;45:255-68.
 30. Bland JM, Altman DG. Measuring agreement in method comparison studies. *Stat Methods Med Res* 1999;8:135-60.
 31. Otto JM, Plumb JOM, Clissold E, et al. Hemoglobin concentration, total hemoglobin mass and plasma volume in patients: implications for anemia. *Haematologica* 2017;102:1477-85.
 32. Giavarina D. Understanding Bland Altman analysis. *Biochem Med* 2015;25:141-51.
 33. Lu MJ, Zhong WH, Liu YX, et al. Sample size for assessing agreement between two methods of measurement by Bland-Altman method. *Int J Biostat* 2016;12. doi: 10.1515/ijb-2015-0039.
 34. Smorgick Y, Baker KC, Bachison CC, et al. Hidden blood loss during posterior spine fusion surgery. *Spine J* 2013;13:877-81.
 35. Smith GH, Tsang J, Molyneux SG, et al. The hidden blood loss after hip fracture. *Injury* 2011;42:133-5.
 36. Foss NB, Kehlet H. Hidden blood loss after surgery for hip fracture. *J Bone Joint Surg Br* 2006;88:1053-9.
 37. Sehat KR, Evans RL, Newman JH. Hidden blood loss following hip and knee arthroplasty. Correct management of blood loss should take hidden loss into account. *J Bone Joint Surg Br* 2004;86:561-5.
 38. Liu X, Zhang X, Chen Y, et al. Hidden blood loss after total hip arthroplasty. *J Arthroplasty* 2011;26:1100-5. 

SUPPORTING INFORMATION

Additional Supporting Information may be found in the online version of this article.

Appendix S1: SUPPLEMENTAL MATERIAL.

7.2. Artículo 2: *Perioperative blood loss: Estimation of blood volume loss or haemoglobin mass loss?*

Antecedentes: Las pérdidas hemáticas perioperatorias son un parámetro esencial en la investigación relacionada con *Patient Blood Management*. Sin embargo, actualmente no existe un método de referencia para cuantificarlas: las mediciones directas se consideran métodos poco fiables, y las fórmulas para estimarla han demostrado ser significativamente inexactas. Ante la necesidad de disponer de mejores herramientas de investigación, este estudio evaluó una estimación de la pérdida de masa de hemoglobina como método alternativo para estimar las pérdidas hemáticas, y la comparó con las estimaciones basadas en la pérdida de volumen sanguíneo.

Métodos: Se estudiaron consecutivamente 100 pacientes sometidos a cirugía laparoscópica urológica. Tanto la pérdida de masa de hemoglobina como la pérdida de volumen sanguíneo se midieron directamente durante la cirugía, en condiciones muy controladas para una medición directa fiable. Se estudiaron tres fórmulas: 1) una fórmula de pérdida de masa de hemoglobina, que estimaba las pérdidas hemáticas en términos de pérdida de masa de hemoglobina, 2) la fórmula propuesta por López-Picado y, 3) una fórmula empírica que estimaba las pérdidas hemáticas en términos de pérdida de volumen sanguíneo. La fórmula empírica de volumen se desarrolló durante el estudio con el objetivo de proporcionar la mejor estimación posible de la pérdida de volumen sanguíneo en la población estudiada. La evaluación y comparación de las fórmulas se realizó valorando su concordancia estadística con sus respectivas mediciones directas de pérdidas hemáticas.

Resultados: La fórmula de pérdida de masa de hemoglobina cumplió el criterio de concordancia estadística predefinido de ± 71 g, con unos límites del 95% que oscilaban entre 0,6 y 44,1 g y una sobreestimación moderada de 22,4. En comparación con ambas fórmulas de pérdida de volumen sanguíneo, la fórmula

de pérdida de masa de hemoglobina fue superior en todos los parámetros de acuerdo evaluados.

Conclusión: En este estudio, la estimación de la pérdida de masa de hemoglobina resultó ser un método más preciso para estimar la pérdida de sangre perioperatoria. Este método de estimación podría ser una herramienta de investigación más sólida, aunque son necesarios más estudios para establecer su fiabilidad.

Perioperative blood loss: estimation of blood volume loss or haemoglobin mass loss?

Sebastian Jaramillo^{1,2}, Mar Montane-Muntane¹, Pedro L. Gambus^{1,2,3}, David Capitan¹, Ricard Navarro-Ripoll¹, Annabel Blasi^{1,3}



¹Department of Anaesthesiology,
"CLINIC de Barcelona" Hospital,
Barcelona;

²Systems Pharmacology Effect Control
and Modeling (SPEC-M) Research
Group, "CLINIC de Barcelona"
Hospital, Barcelona;

³Institut d'Investigacions Biomèdiques
August Pi i Sunyer (IDIBAPS),
Barcelona, Spain

Background - Perioperative blood loss is an essential parameter in research into Patient Blood Management. However, currently there is no "gold standard" method to quantify it. Direct measurements of blood loss are considered unreliable methods, and the formulae to estimate it have proven to be significantly inaccurate. Given the need for better research tools, this study evaluated an estimation of haemoglobin mass loss as an alternative approach to estimate perioperative blood loss, and compared it to estimations based on blood volume loss.

Material and methods - We studied one hundred consecutive patients undergoing urological laparoscopic surgery. Both haemoglobin mass loss and blood volume loss were directly measured during surgery, under highly controlled conditions for a reliable direct measurement of blood loss. Three formulae were studied: 1) a haemoglobin mass loss formula, which estimated blood loss in terms of haemoglobin mass loss, 2) the López-Picado's formula and 3) an empirical volume formula that estimated blood loss in terms of blood volume loss. The empirical volume formula was developed within the study with the aim of providing the best possible estimation of blood volume loss in the studied population. The formulae were evaluated and compared by assessing their agreements with their respective direct measurements of blood loss.

Results - The haemoglobin mass loss formula met the predefined agreement criterion of ± 71 g, with 95% limits of agreement ranging from 0.6 to 44.1 g and a moderate overestimation of 22.4. In comparison to both blood volume loss formulae, the haemoglobin mass loss formula was superior in every agreement parameter evaluated.

Discussion - In this study, the estimation of haemoglobin mass loss was found to be a more accurate method to estimate perioperative blood loss. This estimation method could be a robust research tool, although more studies are needed to establish its reliability.

Keywords: *blood loss, surgical, transfusion-alternative strategies, transfusion medicine.*

INTRODUCTION

Perioperative blood loss is an essential parameter in research into Patient Blood Management, especially in the evaluation of strategies aimed at reducing perioperative

bleeding such as pharmacological interventions, anaesthetic management and surgical techniques¹⁻⁴. Additionally, in comparison with other clinical outcomes (e.g., transfusion rates), blood loss could provide more robust evidence, as it might be less influenced by confounding factors and could, therefore, be more easily compared among trials^{3,4}. However, blood loss quantification remains unreliable and inaccurate. It is well known that direct measurements do not ensure trustworthy values, particularly in surgical interventions that involve the use of gauzes or hidden losses (e.g., orthopaedic surgery)³⁻⁷. Given the need for reliable quantification, it has been suggested that estimation formulae based on anthropometric and haematological parameters could be more useful approaches, as they overcome the limitations of direct measurements^{5,6}. Nevertheless, current estimation formulae have proven to be significantly inaccurate^{7,8}. Despite the lack of a "gold standard" method^{4,7}, blood loss is still being used in many clinical studies as a valid outcome^{4,5}.

We hypothesised that the estimation of haemoglobin mass loss could be more accurate than the traditional estimation based on volume units. Considering that, during surgery, several variables constantly modify the volume of circulating blood⁹⁻¹², causing it to shift among a wide range of haemodilution states¹³, hence the blood lost during this period could have variable degrees of dilution¹⁴. Additionally, blood loss may occur at different time points during surgery and, therefore, during different haemodilution states. Consequently, the actual blood volume loss might not be correctly reflected in the haematological parameters used by formulae, and thus, it might not be accurately estimated. Conversely, an estimation of haemoglobin mass loss would be based exclusively on the lost blood content, avoiding potential errors related to the degree of blood loss dilution.

This study was designed as a first proof of concept for the previously proposed hypothesis. For this purpose, a formula based on haemoglobin mass was constructed, and then evaluated and compared to estimation formulae based on blood volume loss, in a highly controlled scenario. The formulae were evaluated and compared by assessing their agreements with their respective direct

measurements of blood loss, and by means of a comprehensive analysis of the statistical agreements.

MATERIAL AND METHODS

This prospective study was conducted at *Hospital CLINIC de Barcelona*, Spain. The study was approved by the institutional ethics committee (Ref: 2016/0906) and was registered on the ClinicalTrials.gov database (Ref: NCT03249038) prior to patient enrolment. This manuscript adheres to the Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) statement. After obtaining signed consent, consecutive patients electively scheduled for laparoscopic urological surgery were recruited.

Study design

This study was carried out using the same protocol and methods that were described in a previous study⁷, but extended with a direct measurement of haemoglobin mass in the lost blood. As in the aforementioned study, only laparoscopic surgeries were studied to minimise unmeasurable losses and to improve the feasibility of measuring the whole blood loss. Since this study was designed as a first "proof of concept" in order to assess the accuracy of the formulae to estimate perioperative blood loss, we decided to avoid any possible confounding factor and thus performed the study in highly controlled conditions. Cases of postoperative bleeding and or those in which gauzes were used during surgery were excluded with the intention of improving the reliability of the measured blood loss values. Along the same lines, cases of red blood cell (RBC) transfusions during the perioperative period were also excluded. Urological procedures were chosen since significant blood loss was expected.

Therefore, the exclusion criteria were as follows: 1) suspected or confirmed coagulopathy, 2) requirement for surgical gauzes during surgery, including conversion to open surgical techniques, 3) transfusion of RBCs during the perioperative period, and 4) significant postoperative bleeding (>50 mL in surgical drains, gross haematuria or any other type of blood loss).

Perioperative care and measurements

General anaesthesia was performed in all cases. The intraoperative fluid protocol consisted of both

maintenance therapy (1 mL/kg/h of crystalloid) and replacement of blood loss (1 mL of crystalloid for each mL of directly measured blood loss). If necessary, vasoactive agents were titrated to obtain a mean blood pressure >65 mmHg. An intraperitoneal surgical drain and a urinary catheter were placed in all patients and withdrawn 48 hours after surgery. Postoperative fluid therapy consisted of crystalloids (20 mL/kg/day). Fluid balance was registered by an electronic recorder (Puput™; IPA, Barcelona, Spain), which calculated total fluid balance, taking into account fluid administration, blood volume loss and urinary output.

Demographics and clinically relevant data were recorded prior to the surgery. Blood samples were analysed at the central laboratory using an Advia® 2120i automated haematology analyser (Siemens® Healthcare, Erlangen, Germany) to assess haematocrit and haemoglobin concentrations before surgery and at 24, 48 and 72 hours after surgery. All samples were obtained from large arm veins using a standard protocol (during fasting while in a supine position and between 07:00 and 09:00 hours).

Since different methods and units of quantification were used, we defined:

- measured blood volume loss (V_{MBL}): direct measurement of blood loss in volume units (mL);
- measured haemoglobin mass loss (mHb_{MBL}): direct measurement of haemoglobin mass in the lost blood in mass units (g).

Both direct measurements of V_{MBL} and mHb_{MBL} were used as the reference values in the evaluation of their respective estimation formulae.

- Estimated blood volume loss: estimation of blood loss in volume units, calculated either by López-Picado's formula or by the empirical volume formula (V_{EBL});
- estimated haemoglobin mass loss (mHb_{EBL}): estimation of haemoglobin mass loss, calculated by the haemoglobin mass loss formula described later.

Measurement of blood volume loss

According to the protocol used previously⁷, direct measurements of blood volume loss were performed as follows. The whole suction system was heparinised before surgery (25,000 IU of heparin in saline solution) and a continuous flow of saline solution prevented

any clotting of blood loss. The required volumes of heparin and saline solutions were carefully recorded. Intraperitoneal residual losses were suctioned through surgical drains into a canister at the end of the surgical procedure. The total volume contained in the canister was measured after the end of the surgical procedure by a system capable of determining differences up to ± 10 mL. V_{MBL} was determined by subtracting the added fluids (heparin and saline solutions) from the total volume contained in the surgical canister.

Measurement of haemoglobin mass loss

Haemoglobin mass loss was assessed in the lost blood using the spectrophotometric method. After agitation to ensure mixing, two samples were drawn from the suction canisters at the end of the surgical procedure. The haemoglobin concentration in the samples were measured by a spectrophotometric haemoglobin analyser (HemoCue™ 201+; HemoCue, Ängelholm, Sweden). The haemoglobin concentration values of the two samples were averaged to obtain a final value. In cases where significantly different values were obtained (defined by a difference >0.4 g/dL between the samples), a third sample was drawn, and the average of the three samples was considered for further calculations. Hb_{MBL} was determined by multiplying the haemoglobin concentration of the canister-derived samples (analysed by the HemoCue® system) by the total volume contained in the canisters. The HemoCue® system was chosen to assess the haemoglobin concentration of the content of the suction canisters because it is a validated method for this purpose¹⁵. It has a significant accuracy (95% limits of agreement between -0.39 and 0.36 g/dL)¹⁵ and it corrects for turbidity of the samples. This feature was considered to be of utmost importance, since most laboratory haemoglobin analysers do not correct for turbidity, and surgical blood loss is often contaminated with other fluids (e.g., lipids). The measurement of haemoglobin mass in the lost blood (as described above) has been considered by other authors as a reliable method in research¹⁶⁻¹⁸.

Haemoglobin mass loss estimation formula

As in other blood loss formulae, the haemoglobin mass loss formula was conceived on the basis that blood loss can be estimated using three parameters: patient's estimated

blood volume, pre- and postoperative haemoglobin concentrations, and also considering a euvolaemic state between the pre- and postoperative time points at which the patient's haemoglobin concentration is measured.

In currently used blood loss estimation formulae, blood loss (in volume units) is calculated by multiplying the perioperative difference of haemoglobin (or haematocrit) by the patient's estimated blood volume. The main difference between these formulae is that the perioperative difference of haemoglobin (or haematocrit) is adjusted by different mathematical functions, which intend to correct for the expected dilutional effect caused by blood loss⁷. Nevertheless, the assumption of a predictable dilutional effect is unlikely to be correct in the perioperative setting since during this period, significant unpredictable inter- and intraindividual variations of blood volume (more specifically, plasma volume) have been demonstrated⁹⁻¹³, which have been attributed to the complexity of the physiological volume replacement mechanisms^{9,19-21}. Additionally, ongoing fluid administration, pathological fluid shifts and anaesthesia itself also affect the plasma volume status^{9,10}. Since plasma volume varies through the intra- and perioperative periods, blood volume shifts between a wide range of haemodilution states¹³. As blood loss usually occurs at different time points during surgery, the blood lost during this period may have different degrees of dilution, and therefore, different haemoglobin contents¹⁴. Consequently, blood volume loss would not be correctly reflected in the haematological parameters used in the blood loss estimation formulae.

Regarding haemoglobin mass (or RBC mass), it has been observed that the circulating RBC mass also varies during the intraoperative period. Such variations could be explained by the blood loss itself, but also by acute redistributions between the circulating and non-circulating blood compartments¹⁹. However, it has also been observed that the redistribution effect may only occur during the intraoperative period, and that the circulating RBC mass remains relatively stable during the rest of the postoperative period¹⁹. Therefore, using haemoglobin mass as the unit to estimate blood loss may be more robust than the volume approach. This notion has also been suggested by previous investigations that found a substantial relationship between the lost RBC mass and perioperative haematocrit differences¹⁹, whereas weak or no significant

relationship has been found between the differences in blood volume loss and perioperative haematocrit²⁰.

However, despite the unpredictable behaviour of perioperative volume status, previous studies have observed that blood volume is normal after preoperative fasting²² and that blood volume may be restored to preoperative values by the time the patient reaches the nadir (lowest) haematocrit or haemoglobin concentration^{19,20}. In addition to these lines of evidence, circulating haemoglobin mass (as for RBC mass) has been observed to be adequately estimated considering the patient's blood volume (only in euvolaemic conditions) and haemoglobin concentration²³. Therefore, loss of haemoglobin mass might be estimated by multiplying the perioperative difference in the patient's haemoglobin concentrations and the patient's blood volume. The resulting formula (haemoglobin mass loss formula) is summarised as:

$$mHb_{EBL} = 100 \times (Hb_{preop} - Hb_{nadir}) \times BV$$

where mHb_{EBL} (g) is the estimated haemoglobin mass loss, Hb_{preop} (g/dL) is the patient's preoperative haemoglobin concentration, Hb_{nadir} (g/dL) is the patient's lowest postoperative haemoglobin concentration, and BV (mL) is the patient's estimated blood volume, calculated using the ICSH formula²⁴. (See the *Online Supplementary Content* for details).

Blood volume loss formulae

To correctly evaluate the accuracy of the haemoglobin mass loss formula, two formulae for estimating blood volume loss were tested.

1. *The López-Picado's formula*⁵. This formula was chosen since it had previously been shown to achieve better agreement with directly measured blood loss than other blood volume loss formulae⁷. The details of this formula are specified in the *Online Supplementary Content*.
2. *Empirical volume formula*. An empirical formula was developed with the intention of providing the best possible estimation of blood volume loss in the study population. Since it was both developed and tested using the study's population data, it was not treated as an actual formula to be considered in other populations. Therefore, it was used only as

a tool to compare the performance of the haemoglobin mass loss formula. The formula was used to calculate the V_{EBL} . The methods to develop the formula are described in the *Online Supplementary Content*.

Statistical analysis

Categorical data were expressed as frequencies and percentages. Variables were analysed using the Shapiro-Wilk test to determine whether data were normally distributed. Quantitative data were expressed as means and standard deviations (SD) if they were normally distributed or medians and interquartile ranges (IQR) if they were not. The evaluation of the estimation formulae was performed by contrasting its achieved agreements with their respective measurement of blood loss. The mHb_{EBL} was evaluated considering its agreement with the mHb_{MBL} , while the estimates of the López-Picado's formula and the V_{EBL} were evaluated considering their agreement with the V_{MBL} .

The statistical analyses performed in this study assessed different parameters and aspects of the agreement between each estimation formula and the respective blood loss measurement. We assessed: 1) absolute agreement as evaluated in the Bland-Altman analysis; 2) the agreement's strength, accuracy and precision, as evaluated by the concordance correlation coefficient (CCC) analysis; and 3) the agreement's consistency over different amounts of blood loss.

1. Bland-Altman analyses were used to determine the absolute agreement per formula (in their respective units of measurement)²⁵. A unit conversion between haemoglobin mass loss and blood volume loss was set to compare the agreement achieved by the formulae, albeit only in a rough approximation. In this study, 71 g of haemoglobin mass loss and 560 mL of blood volume loss were considered to be equivalent since they respectively correspond to approximately 10% of the total haemoglobin mass and 10% of the total blood volume of an average non-anaemic adult²⁶. These values were also used to define the agreement's criterion for an acceptable absolute agreement. Bland-Altman plots and histograms of differences (between estimated and measured values) were constructed to visualise and interpret data.
2. The concordance correlation coefficient (CCC) was chosen as the main statistical method to compare the agreement achieved between each formula

and the respective measurement of blood loss²⁷. In contrast to the Bland-Altman analysis, the CCC provides an evaluation of the agreement that is independent of the measurement unit²⁸, thus allowing a proper comparison of the overall performance of the formulae. Agreement is evaluated in terms of precision (ρ), accuracy (C_p) and the agreement's strength (ρ_c : concordance correlation coefficient, or CCC index)²⁷. In this study, the CCC parameters were used only to compare the agreement of the formulae. No minimum acceptable values were considered because there was no universal interpretation of the values.

3. The agreement's consistency for each formula was assessed to determine their agreement among different amounts of blood loss. The consistency of the agreement was evaluated in Bland-Altman plots on percentage differences by visually analysing the dispersion width of the estimates at different amounts of blood loss²⁹. Considerable consistency was defined when the dispersion width in the Bland-Altman plot became narrower at greater magnitudes of blood loss.

Statistical analyses and plot construction were performed using R software 3.5.2 (R Development Core Team, Vienna, Austria) and CurveExpert Pro 2.6.5 (Hyams Development, Memphis, TN, USA).

Sample size determination

Based on data from a preliminary analysis of the differences between the measured and estimated haemoglobin mass loss, it was felt that a sample of 100 cases was required. This calculation was performed according to the method proposed by Lu *et al.*³⁰ to determine the necessary sample size to observe maximum 95% limits of agreement (LOA) for ± 71 g in the Bland-Altman analysis. Sample size was calculated with a statistical power of 90% and a level of significance of 0.05 (two-tailed).

Sample size was calculated without considering the CCC analysis since no minimum acceptable value was predefined.

RESULTS

One hundred and twelve patients were enrolled. Of these, twelve were excluded, as they met exclusion criteria (4 patients were transfused, 6 had postoperative bleeding, and 2 were converted to an open surgery

technique or required the use of gauzes). The data obtained in the remaining 100 patients are summarised in **Table I**. Only 3 patients required a third measurement of haemoglobin mass loss as it was defined in the study design. Patients' nadir haemoglobin concentrations were reached 48 hours after surgery in 95 subjects, while 3 and 2 patients reached the nadir 24 hours and 72 hours after surgery, respectively.

The mHb_{MBL} ranged from 0.6 to 272.8 g (median: 44.5 g; IQR: 19.3-89.2). The V_{MBL} ranged from 50 to 2,050 mL (median: 640 mL; IQR: 260-870). Due to the non-normal distribution of the mHb_{MBL} and the V_{MBL} data, histograms were constructed for each variable (**Figure 1A** and **B**).

Table I - Patient characteristics (n=100)

Age (yrs), mean (range)	61 (39-82)
Sex ratio, male/female, n	77/33
Height (cm), mean (SD)	168 (8)
Weight (kg), mean (SD)	76 (14.0)
BMI (kg/m ²), median (IQR)	27.3 (24.1-29.3)
ASA physical status classification, n	
1	16
2	67
3	17
Estimated intravascular blood volume (mL) (ICSH formula), mean (SD)	5,448 (719)
Total fluid balance (mL) (mean [SD; range])	452 (622; -1,058-2,285)
Surgical intervention, n	
Robotic prostatectomy	43
Laparoscopic partial nephrectomy	35
Laparoscopic radical nephrectomy	15
Laparoscopic nephroureterectomy	7
SPatients' perioperative haemoglobin concentrations	
Preoperative haemoglobin concentration (g/dL), mean (SD)	14.4 (1.6)
Postoperative (nadir) haemoglobin concentration (g/dL), mean (SD)	11.8 (1.5)

ASA: American Society of Anesthesiologist physical status classification; BMI: body mass index; ICSH: International Council for Standardization in Haematology; IQR: interquartile range; SD: standard deviation.

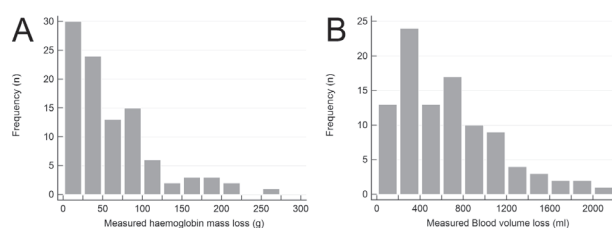


Figure 1 - Histograms of measured haemoglobin mass loss (Hb_{MBL}) (A) and measured blood volume loss (V_{MBL}) (B).

The amount of each parameter (x-axis) is shown in ranges. Significant blood volume loss was observed: bleeding was = 500 mL in 54% of patients, 1,000 mL in 18% of patients, and 1,500 mL in 7% of patients.

Absolute agreement

The Bland-Altman analysis of the haemoglobin mass loss formula resulted in a bias of 22.7 g (95% confidence interval [CI]: 20.6-24.7), an upper limit of agreement of 42.8 g (95% CI: 39.3-46.3) and a lower limit of agreement of 2.5 g (95% CI: -0.9-6.0), remaining between the ± 71 g predefined limits of agreement. Although the formula over-estimated blood loss, this was considered to be moderate, as it represented approximately 3.2% of the total haemoglobin mass of an average healthy adult²⁶. Using the same unit conversion, the haemoglobin mass loss formula approximately estimated 20 to 338 mL of blood volume loss of an average healthy adult²⁶. In contrast, blood volume loss formulae exceeded the ± 560 mL limits of agreement defined and showed inferior agreements with the measured blood volume loss, as seen in the histograms of differences. Bland-Altman plots and histograms of differences (between estimated and measured values) per formula are displayed in **Figure 2**.

A subanalysis not included in the initial design was performed regarding the effect of total fluid balance on the agreement of the haemoglobin mass formula. Total fluid balance was calculated per patient as the cumulative balance immediately before surgery until the time in which the lowest (nadir) haemoglobin concentration was reached. Total fluid balance was divided by the population's mean into two groups: small or negative balances (<452 mL) and large balances (≥ 452 mL). No substantial difference was found between the small or negative balances group (LOA: 3.7-41.6) and the large balances group (LOA: -0.8-44.2).

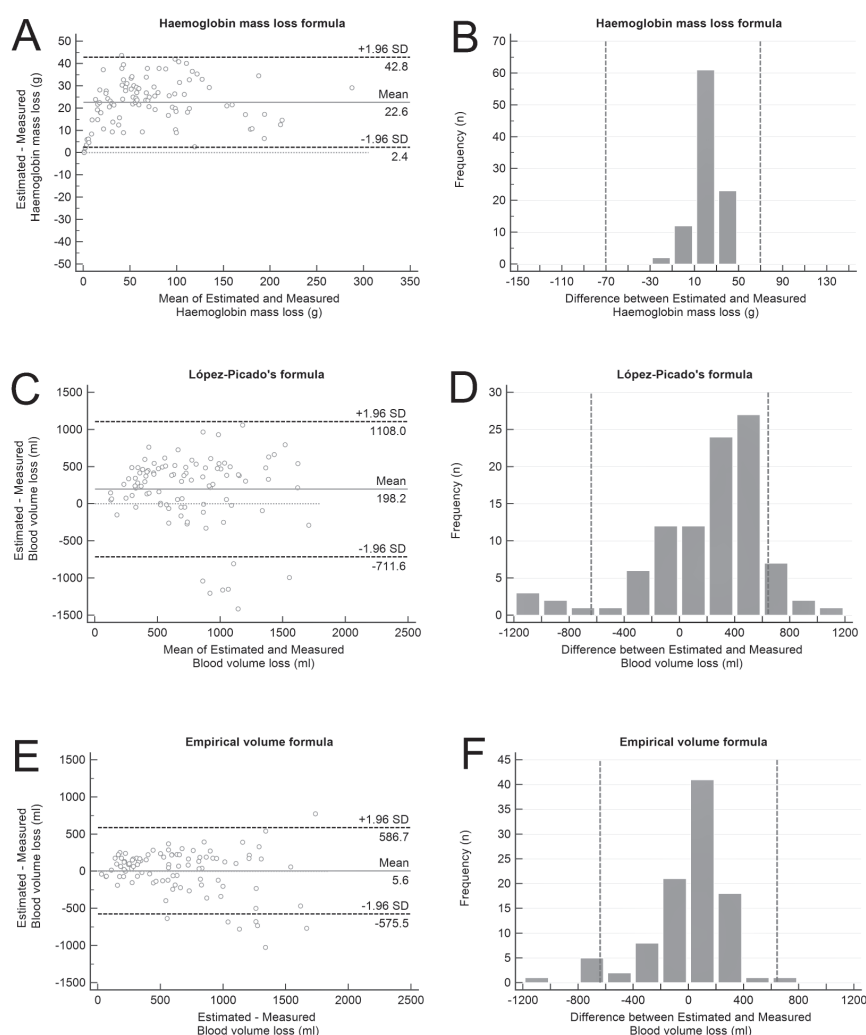


Figure 2 - Bland-Altman plots (left) and histograms of differences between estimated and measured blood loss values (right).

In the Bland-Altman plot, bias is represented by a solid grey line, 95% limits of agreement are indicated by dashed black lines, and the line of equality is indicated by a dashed grey line. In the histograms of differences between estimated and measured values, the unit conversion (± 71 g in 2-B, ± 560 mL in (D) and (F)) is marked by dashed grey lines, and unit scales were set approximately at $2 \times$ the unit conversion (± 150 g and $\pm 1,200$ mL) to facilitate visual comparison among formulae's estimations. Although significant bias was observed, the haemoglobin mass loss formula met the agreement criterion of ± 71 g (A). The López-Picado's formula (C) and the empirical volume formula (E) exceeded the ± 560 limits of agreement. Using the unit conversion in the histograms of differences, the haemoglobin mass loss formula (B) obtained more accurate estimations than the blood volume loss formulae (D and F). SD: standard deviation.

Agreement's strength

The results of the CCC analysis are summarised in **Table II**. In comparison to the López-Picado's formula and the empirical volume formula, the haemoglobin mass loss formula achieved better precision, accuracy and agreement strength in estimating blood loss.

Agreement's consistency

The Bland-Altman plots showing percentage differences for each formula are shown in **Figure 3**. The haemoglobin mass loss formula showed that the

differences (in percentage) became progressively narrower as blood loss increased (**Figure 3A**). Therefore, the haemoglobin mass loss formula showed considerable consistency. The López-Picado's formula and the empirical volume formula showed a dispersion width that remained unchanged as blood loss increased (**Figure 3B** and **C**, respectively). Thus, it was considered that there was no substantial consistency in the agreement of these blood volume loss formulae and that the accuracy of the estimation deteriorated at

Table II - Comparison of the precision, accuracy and agreement strength achieved by the blood loss formulae*

	Precision (ρ)	Accuracy (C_b)	CCC index (ρ_c)
Haemoglobin mass loss formula	0.981 (0.972-0.987)	0.926 (0.902-0.950)	0.909 (0.877-0.933)
López-Picado's formula	0.501 (0.335-0.637)	0.888 (0.774-0.921)	0.445 (0.289-0.577)
Empirical volume formula	0.815 (0.736-0.872)	0.921 (0.895-0.947)	0.751 (0.668-0.826)

*Concordance correlation coefficient parameters are expressed with 95% confidence interval.

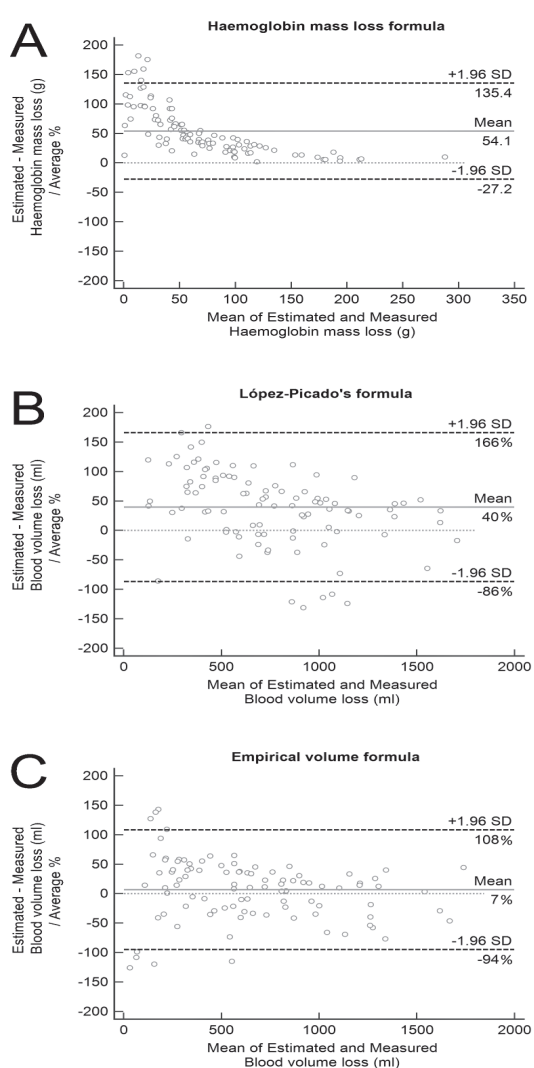


Figure 3 - Bland-Altman plots of percentage differences per formula, for the analysis of the agreements' consistency. Bias is represented by a solid grey line, 95% limits of agreement are indicated by dashed black lines, and the line of equality is indicated by a dashed grey line. The haemoglobin mass loss formula (A) showed a considerable consistency since estimates became progressively narrower as blood loss increased. In contrast, the López-Picado formula (B) and the empirical volume formula (C) showed no consistency, as dispersion width remained unchanged as blood loss increased. SD: standard deviation.

greater magnitudes of blood loss, as seen in the Bland-Altman plots in absolute units (**Figure 2C and E**).

DISCUSSION

In this study, we evaluated an estimation of the haemoglobin mass loss as an alternative approach to estimate perioperative blood loss for research purposes. A formula was constructed to estimate the haemoglobin mass loss, and then tested and compared to estimation formulae based on blood volume loss, assessing their agreements with their respective measurements of blood loss. The proposed formula yielded estimations that were accurate enough according to the limits of agreement defined in the design of the study, although a moderate overestimation was observed. Using a unit conversion, the haemoglobin mass loss formula approximately estimated 20-338 mL of blood volume loss of an average healthy adult. In comparison to the blood volume loss formulae, the haemoglobin mass loss formula improved the estimation of blood loss, as shown by the different agreement' parameters analysed.

Quantification of perioperative blood loss is a key parameter in clinical studies related to Patient Blood Management. Although transfusion rate and other clinical outcomes may have a greater clinical impact, blood loss, when accurately quantified or estimated, can be a more robust parameter, as it is less influenced by confounding factors (e.g., transfusion threshold^{3,4}, haemoglobin mass contained in the RBC units³¹, etc.).

Previous reports have observed significant inaccuracies in the current formulae used to estimate blood loss in volume units^{7,8}. In this study, even when we considered the best possible estimation of blood volume loss, the haemoglobin

mass loss formula achieved better agreement with direct measurements of blood loss. A reasonable explanation for the observed inaccuracies of the blood volume loss formulae is that volume loss might not always be correctly reflected in the haematological parameters, since blood loss could have variable degrees of dilution (and haemoglobin mass)¹⁴. For the same reason, haemoglobin mass loss could not be converted into volume units, but only be considered in mass units. However, we recognise that, even in highly controlled scenarios, such as the one we intended to accomplish, an accurate measurement of blood volume loss is difficult to achieve. As a result, blood volume loss formulae might never be properly validated in the clinical setting.

We chose to measure haemoglobin mass loss directly from blood loss, as we considered it to be the most reliable measurement. Although RBC labelling or measurements of circulating haemoglobin mass would have been helpful for exploratory analyses, we were interested in the haemoglobin mass loss itself. As acute mobilisations of RBCs between the circulating and non-circulating compartments (e.g., spleen) can occur during bleeding and the intraoperative period¹⁹, measuring circulating haemoglobin mass in the pre- and postoperative periods could ignore the mass lost during those mobilisations and redistributions, and therefore, it may not correctly reveal the actual haemoglobin mass loss.

Despite the agreement achieved by the haemoglobin mass loss formula, a significant bias was observed, resulting in a moderate overestimation of haemoglobin mass loss. Given that it remained nearly constant among different magnitudes of blood loss, possible sources of bias might have been incomplete measurements of blood loss, blood coagulating before reaching the suction system, or blood loss resulting from blood extractions (used for laboratory analysis), although an intrinsic inaccuracy of the formula cannot be ruled out.

This study has several limitations. Its main limitation is that patients' total blood volume was estimated but not measured. Although inaccuracies may have occurred, we used this approach as it is a more practical tool for research purposes. Measuring the

exact blood volume involves costly proceedings and does not significantly contribute to the estimation of haemoglobin mass loss, since an error of 500 mL would change the estimated haemoglobin mass loss by approximately 8-10%⁸.

Euvolaemia was assumed but not measured between pre- and postoperative time points. Although there is evidence to support the euvolaemic condition when patient's haemoglobin concentration reaches the nadir level¹⁹⁻²⁰ and fluid balance was not shown to change the accuracy of the estimations, no direct measurements of the volaemic conditions were performed. Bioimpedance measurement devices would be helpful tools for this purpose; while they do not seem to accurately measure the absolute blood volume, they have proven to be accurate to measure individual tendencies and relative changes (such as the return to the preoperative volaemic conditions)³². The proposed formula also has the disadvantage of requiring the patient's lowest haemoglobin concentration, which necessarily implies measuring haemoglobin concentration at least each day and then make the estimations retrospectively. But again, the proposed formula was designed for research purposes only. On the other hand, studies have observed that haemoglobin concentration stabilises after 2-4 days, and no significant variations occur in the 6-8 days following stabilisation³³. The use of bioimpedance devices would solve this problem if more precise estimations were needed.

Finally, to test the haemoglobin mass loss formula, we chose an ideal clinical scenario for its evaluation, excluding patients who required transfusion or presented postoperative bleeding. This is important, as several studies that evaluate strategies aimed at reducing perioperative bleeding are performed in scenarios in which blood transfusions and postoperative bleeding are common. But, as discussed above, this study was designed as a first proof of concept. Theoretically, postoperative bleeding would not change the accuracy of the estimations since haemoglobin concentrations would keep falling until the lowest haemoglobin concentration was reached and stabilised. Further studies including these and other types of variables (e.g., type of surgery) would

be necessary before it could be applied. The addition of the transfused haemoglobin mass (contained in RBC units) into the equation could be considered in future studies.

CONCLUSIONS

The estimation of haemoglobin mass loss showed a significantly better estimation of perioperative blood loss than blood volume loss formulae. Further validation studies are needed to establish its reliability before its application, especially studies involving postoperative bleeding and blood transfusions.

FUNDING

Supported by funding from the Anaesthesiology Department, Hospital Clínic de Barcelona, Spain.

AUTHORSHIP CONTRIBUTIONS

SJ contributed to the design of the study, statistical analyses, and manuscript preparation. MM-M contributed to patient recruitment, execution of the patients' measurements, and manuscript preparation. PLG contributed to the statistical analyses and manuscript preparation. DC contributed to patient recruitment, execution of the patients' measurements, and manuscript preparation. RN-R contributed to the design of the study and manuscript preparation. AB contributed to the design of the study and manuscript preparation.

The Authors declare no conflict of interest.

REFERENCES

1. Franchini M, Marano G, Veropalumbo E, et al. Patient Blood Management: a revolutionary approach to transfusion medicine. *Blood Transfus* 2019; **17**: 191-5.
2. Clevenger B, Mallett SV, Klein AA, et al. Patient Blood Management to reduce surgical risk. *Br J Surg* 2015; **102**: 1325-37.
3. Flordal PA. Measurement of blood loss in clinical studies. *Eur J Anaesthesiol* 1997; **14**: 35-7.
4. Goodnough LT, Panigrahi AK. Estimating blood loss. *Anesth Analg* 2017; **125**: 13-4.
5. López-Picado A, Albarrate A, Barrachina B. Determination of perioperative blood loss: accuracy or approximation? *Anesth Analg* 2017; **125**: 280-6.
6. Rothermel LD, Lipman JM. Estimation of blood loss is inaccurate and unreliable. *Surgery* 2016; **160**: 946-53.
7. Jaramillo S, Montane-Muntane M, Capitan D, et al. Agreement of surgical blood loss estimation methods. *Transfusion* 2019; **59**: 508-15.
8. Meunier A, Petersson A, Good L, Berlin G. Validation of a haemoglobin dilution method for estimation of blood loss. *Vox Sang* 2008; **95**: 120-4.
9. Iijima T. Complexity of blood volume control system and its implications in perioperative fluid management. *J Anesth* 2009; **23**: 534-42.
10. Strunden MS, Heckel K, Goetz AE, Reuter DA. Perioperative fluid and volume management: physiological basis, tools and strategies. *Ann Intensive Care* 2011; **1**: 2.
11. Sano Y, Sakamoto A, Oi Y, Ogawa R. Anaesthesia and circulating blood volume. *Eur J Anaesthesiol* 2005; **22**: 258-62.
12. Tschakowsky K, Neddermeyer U, Pscheidl E, von der Emde J. Changes in circulating blood volume after cardiac surgery measured by a novel method using hydroxyethyl starch. *Crit Care Med* 2000; **28**: 336-41.
13. Damén T, Reinsfelt B, Redfors B, Nygren A. Pressure-dependent changes in haematocrit and plasma volume during anaesthesia, a randomised clinical trial. *Acta Anaesthesiol Scand* 2016; **60**: 560-8.
14. Jaramillo S, Navarro-Ripoll R, Montane-Muntane M, et al. Surgical blood loss: should we keep estimating volume? *Eur J Anaesthesiol* 2018; **35** (Suppl 56): 12AP04-3.
15. Gupta A, Wrench IJ, Feast MJ, Alderson JD. Use of the HemoCue near patient testing device to measure the concentration of haemoglobin in suction fluid at elective caesarean section. *Anaesthesia* 2008; **63**: 531-4.
16. Guinn NR, Broomer BW, White W, et al. Comparison of visually estimated blood loss with direct haemoglobin measurement in multilevel spine surgery. *Transfusion* 2013; **53**: 2790-4.
17. Holmes AA, Konig G, Ting V, et al. Clinical evaluation of a novel system for monitoring surgical haemoglobin loss. *Anesth Analg* 2014; **119**: 588-94.
18. Konig G, Waters JH, Hsieh E, et al. In vitro evaluation of a novel image processing device to estimate surgical blood loss in suction canisters. *Anesth Analg* 2018; **126**: 621-8.
19. Carey JS. Physiological haemodilution: interrelationships between hemodynamics and blood volume after acute blood loss. *Ann Surg* 1973; **178**: 87-94.
20. Drucker WR, Chadwick CDJ, Gann DS. Transcapillary refill in haemorrhage and shock. *Arch Surg* 1981; **116**: 1344-53.
21. Adamson J, Hillman RS. Blood volume and plasma protein replacement following acute blood loss in normal man. *JAMA* 1968; **205**: 63-9.
22. Jacob M, Chappell D, Conzen P, et al. Blood volume is normal after pre-operative overnight fasting. *Acta Anaesthesiol Scand* 2008; **52**: 522-9.
23. Jones JG, Holland BM, Hudson IR, Wardrop CA. Total circulating red cells versus haematocrit as the primary descriptor of oxygen transport by the blood. *Br J Haematol* 1990; **76**: 288-94.
24. Pearson TC, Guthrie DL, Simpson J, et al. Interpretation of measured red cell mass and plasma volume in adults: expert panel on radionuclides of the International Council for Standardization in Haematology. *Br J Haematol* 1995; **89**: 748-56.
25. Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet* 1986; **1**: 307-10.
26. Otto JM, Plumb JOM, Clissold E, et al. Haemoglobin concentration, total haemoglobin mass and plasma volume in patients: implications for anaemia. *Haematologica* 2017; **102**: 1477-85.
27. Lin LI. A concordance correlation coefficient to evaluate reproducibility. *Biometrics* 1989; **45**: 255-68.
28. Watson PF, Petrie A. Method agreement analysis: a review of correct methodology. *Theriogenology* 2010; **73**: 1167-79.
29. Giavarina D. Understanding Bland Altman analysis. *Biochem Med* 2015; **25**: 141-51.
30. Lu MJ, Zhong WH, Liu YX, et al. Sample Size for Assessing Agreement between Two Methods of Measurement by Bland-Altman Method. *Int J Biostat* 2016; **12**: 1.
31. Agnihotri N, Pal L, Thakur M, Kumar P. The need to label red blood cell units with their haemoglobin content: a single centre study on haemoglobin variations due to donor-related factors. *Blood Transfus* 2014; **12**: 520-6.
32. Montgomery LD, Gerth WA, Montgomery RW, et al. Monitoring intracellular, interstitial, and intravascular volume changes during fluid management procedures. *Med Biol Eng Comput* 2013; **51**: 1167-75.
33. George TJ, Beaty CA, Kilic A, et al. Hemoglobin drift after cardiac surgery. *Ann Thorac Surg* 2012; **94**: 703-9.

7.3. Artículo 3: *Mechanism-based modelling of perioperative variations in hemoglobin concentration in patients undergoing laparoscopic surgery.*

Antecedentes: La concentración de hemoglobina (Hb) en el entorno perioperatorio debe interpretarse en el contexto de las variables y procesos que pueden afectarla, con el fin de distinguir los efectos de dilución causados por los cambios en el volumen intravascular. Sin embargo, no está claro qué variables y procesos afectan a la Hb. En este trabajo modelamos las variaciones perioperatorias de la Hb para identificar las variables y los procesos que rigen la Hb y describir sus efectos.

Métodos: Primero construimos un marco mecanicista basado en las principales variables y procesos relacionados con las variaciones perioperatorias de Hb. A continuación, estudiamos prospectivamente a pacientes sometidos a cirugía laparoscópica, divididos en dos cohortes consecutivas, para el desarrollo y la validación del modelo. El protocolo de estudio consistió en mediciones seriadas de Hb junto con registros de pérdida de masa de hemoglobina, pérdida de volumen sanguíneo, infusión de fluidos, volumen de orina y mediciones de biomarcadores inflamatorios, hasta 96 horas después de la operación. El ajuste matemático se realizó mediante el enfoque de efectos mixtos no lineales. Además, se realizaron simulaciones para explorar los efectos de las pérdidas hemáticas y protocolos de fluidoterapia sobre la [Hb].

Resultados: Se estudiaron 154 pacientes, 118 incluidos en el grupo de desarrollo y 36 en el grupo de validación. Caracterizamos la evolución perioperatoria de la Hb mediante un modelo de equilibrio de masas que tenía en cuenta las pérdidas de hemoglobina durante la intervención y un modelo de dos compartimentos que estimaba la cinética de los fluidos y los cambios en el volumen intravascular. Durante el desarrollo del modelo, descubrimos que la eliminación urinaria de fluidos representaba sólo el 24% de la eliminación total de fluidos, y que la eliminación total de fluidos se inhibía tras la cirugía de forma dependiente del

tiempo e influida por la edad. Además, los análisis de covariables demostraron una asociación significativa entre el tipo de cirugía y la proporción de fluidos eliminados por la orina. En cambio, el tipo de solución infundida, la pérdida de volumen sanguíneo ni los biomarcadores inflamatorios se correlacionaron con los parámetros del modelo. En el análisis de validación, el modelo demostró una considerable capacidad predictiva, con un 95% de la Hb predicha entre -4,4 y +5,5 g/L. Las simulaciones demostraron que la pérdida de masa de hemoglobina determinaba la mayor parte de los cambios postoperatorios en la Hb, mientras que los cambios de volumen intravascular debidos a la infusión, redistribución y eliminación de fluidos inducían variaciones menores, pero clínicamente relevantes. Los pacientes simulados que recibieron los protocolos estándar de fluidoterapia mostraron un efecto de hemodilución que provocó una disminución en la Hb de entre 7 y 15 g/L al final de la cirugía, y que fue responsable del valor más bajo de Hb durante el periodo perioperatorio.

Conclusiones: Nuestro modelo proporciona una comprensión mecanicista y cuantitativa de las causas subyacentes a las variaciones perioperatorias de la Hb.

Mechanism-Based Modeling of Perioperative Variations in Hemoglobin Concentration in Patients Undergoing Laparoscopic Surgery

Sebastian Jaramillo, MD,* Nicolás Marco-Ariño, PhD,†‡ Mar Montane-Muntane, MD,§ Annabel Blasi, PhD,§|| Ricard Navarro-Ripoll, PhD,§|| Clàudia de Peray-Bruel, MD,§ Isabel Vila-Cullell, CRNA,§ Pedro L. Gambús, PhD,*|| and Iñaki F. Troconiz, PhD†‡

BACKGROUND: Hemoglobin concentration ([Hb]) in the perioperative setting should be interpreted in the context of the variables and processes that may affect it to differentiate the dilution effects caused by changes in intravascular volume. However, it is unclear what variables and processes affect [Hb]. Here, we modeled the perioperative variations in [Hb] to identify the variables and processes that govern [Hb] and to describe their effects.

METHODS: We first constructed a mechanistic framework based on the main variables and processes related to the perioperative [Hb] variations. We then prospectively studied patients undergoing laparoscopic surgery, divided into 2 consecutive cohorts for the development and validation of the model. The study protocol consisted of serial measurements of [Hb] along with recordings of hemoglobin mass loss, blood volume loss, fluid infusion, urine volume, and inflammatory biomarkers measurements, up to 96 hours postoperatively. Mathematical fitting was performed using nonlinear mixed-effects. Additionally, we performed simulations to explore the effects of blood loss and fluid therapy protocols on [Hb].

RESULTS: We studied 154 patients: 118 enrolled in the development group and 36 in the validation group. We characterized the perioperative course of [Hb] using a mass balance model that accounted for hemoglobin losses during surgery, and a 2-compartment model that estimated fluid kinetics and intravascular volume changes. During model development, we found that urinary fluid elimination represented only 24% of the total fluid elimination, and that total fluid elimination was inhibited after surgery in a time-dependent manner and influenced by age. Also, covariate evaluation showed a significant association between the type of surgery and proportion of fluid eliminated via urine. In contrast, neither the type of infused solution, blood volume loss nor inflammatory biomarkers were found to correlate with model parameters. In the validation analysis, the model demonstrated a considerable predictive capacity, with 95% of the predicted [Hb] within -4.4 and $+5.5$ g/L. Simulations demonstrated that hemoglobin mass loss determined most of the postoperative changes in [Hb], while intravascular volume changes due to fluid infusion, distribution, and elimination induced smaller but clinically relevant variations. Simulated patients receiving standard fluid therapy protocols exhibited a hemodilution effect that resulted in a [Hb] decrease between 7 and 15 g/L at the end of surgery, and which was responsible for the lowest [Hb] value during the perioperative period.

CONCLUSIONS: Our model provides a mechanistic and quantitative understanding of the causes underlying the perioperative [Hb] variations. (Anesth Analg 2024;138:141–51)

KEY POINTS

- **Question:** What are the causes of the variations in hemoglobin concentration during the perioperative period?
- **Findings:** Variations in hemoglobin concentration were explained by a mass balance model that accounted for hemoglobin losses during surgery, and a 2-compartment model that characterized fluid input (from fluid infusion), loss (from blood volume loss), distribution (between intravascular and peripheral compartments), and elimination (urinary and extraurinary).
- **Meaning:** The developed model provides a mechanistic and quantitative understanding of the causes underlying the perioperative variations in hemoglobin concentration.

From the *Systems Pharmacology Effect Control & Modelling (SPEC-M) Research Group, Anesthesiology Department, Hospital Clinic de Barcelona, Barcelona, Spain; †Pharmacometrics & Systems Pharmacology, Department of Pharmaceutical Technology and Chemistry, University of Navarra, Pamplona, Spain; ‡Instituto de Investigación Sanitaria de Navarra (IdiSNA), Pamplona, Spain; §Anesthesiology Department, Hospital Clinic de Barcelona, Barcelona, Spain; and ||Institut d'Investigacions Biomèdiques Agustí Pi i Sunyer (IDIBAPS), Barcelona, Spain.

Accepted for publication June 21, 2023.

Copyright © 2023 International Anesthesia Research Society

DOI: 10.1213/ANE.0000000000006634

Funding: Support for this study was provided by departmental and institutional funding.

The authors declare no conflicts of interest.

Supplemental digital content is available for this article. Direct URL citations appear in the printed text and are provided in the HTML and PDF versions of this article on the journal's website (www.anesthesia-analgesia.org).

S. Jaramillo and N. Marco-Ariño contributed equally to this work.

Reprints will not be available from the authors.

Address correspondence to Sebastian Jaramillo, MD, Systems Pharmacology Effect Control & Modelling (SPEC-M) Research Group, Anesthesiology Department, Hospital Clinic de Barcelona, Barcelona, Spain.

GLOSSARY

[Hb](0) = preoperative hemoglobin concentration; **[Hb]** = hemoglobin concentration; **A(0)** = preoperative circulating hemoglobin mass; **A_{Loss}** = hemoglobin mass loss; **B_{Loss}** = rate of blood volume loss; **CI** = confidence interval; **CL** = fluid clearance; **Fluid_{Rate}** = fluid infusion rate; **HT** = hysterectomy; **HTA** = hysterectomy with adnexectomy; **IIV** = interindividual variability; **Imax** = maximum inhibition of fluid elimination; **NU** = nephroureterectomy; **Q** = intercompartmental clearance; **RN** = radical nephrectomy; **RSE** = relative standard error; **T₅₀** = time to produce 50% inhibition of fluid elimination; **UF** = urinary fraction; **V_B(0)** = preoperative intravascular volume; **V_B** = intravascular volume; **V_P(0)** = preoperative peripheral volume compartment; **V_P** = peripheral volume compartment; **V_{UR}** = urine volume

Hemoglobin concentration ([Hb]) is a widely used measure to assess the presence of anemia and to evaluate the decision to transfuse red blood cells. Low [Hb] values are diagnostic of anemia and indicate whether red blood cell transfusion would be warranted, depending on the thresholds defined by the characteristics of the patient and the clinical context.^{1,2} Nevertheless, [Hb] thresholds to define anemia and guide transfusion decisions may be appropriately applied in normovolemic conditions only.³⁻⁶ As the measurement of [Hb] determines the relationship between the circulating hemoglobin mass and intravascular volume, [Hb] reflects changes in both blood components indistinctly, and is, therefore, prone to the dilutive effects of intravascular depletion and overload.^{6,7}

During and after surgery, [Hb] is affected by several variables and processes, including blood loss, fluid infusion, and fluid distribution between body compartments.⁸⁻¹¹ The effects of these result in acute variations in [Hb], which do not discriminate whether the effect is due to changes in circulating hemoglobin mass or intravascular volume.⁶ Given the difficulty of assessing circulating hemoglobin mass and intravascular volume in practice, it is, therefore, crucial to interpret [Hb] in consideration of the variables and processes that may affect it.

However, it is unclear what variables and processes affect [Hb] during the perioperative period.⁸ Although it is well-known that blood loss and fluid infusion cause changes in [Hb], previous studies have suggested that other variables (such as type of surgery and patient demographic characteristics) may be involved in the variations in [Hb] during the perioperative period,^{8,9,12} and physiological processes, such as fluid distribution, are not usually considered when interpreting [Hb] values.⁵ Furthermore, the effects of these variables and processes on [Hb] are not well understood. There remains a lack of mechanistic understanding of the impact of these variables and processes on [Hb], which prevents relating them quantitatively to the variations in [Hb] and the degree of blood dilution.

We hypothesized that perioperative variations in [Hb] can be modeled mathematically to identify

the variables and processes that govern [Hb] and to describe their effects. We considered that such information could be helpful in understanding and interpreting [Hb] values in the clinical setting.

We aimed to develop and validate a mechanism-based model that characterized perioperative [Hb] variations in patients who underwent laparoscopic surgery. Additionally, we performed simulations to explore the effects of blood loss and fluid therapy protocols on [Hb].

METHODS

Study Protocol

We conducted this prospective observational study at Hospital Clinic de Barcelona (Spain). The study was approved by the institutional review board (HCB/2016/0906/2). The study consisted of serial [Hb] measurements along with recordings of blood loss, fluid infusion, urine volume (V_{UR}), and laboratory measurements in adult patients electively scheduled for urologic and gynecologic laparoscopic surgery, recruited in 2 consecutive cohorts, the first one for model development (development group) and the second one for model validation (validation group).

A 2-year recruitment period was defined for the development group and 6 months for the validation group, without previous calculation of the sample size. All patients who underwent the aforementioned surgeries during the recruitment periods were included in the study after providing written informed consent. After inclusion, patients who met any of the following criteria were subsequently excluded from the follow-up and the analyses: (1) intraoperative blood volume loss <500 mL; (2) blood transfusion during the perioperative period; (3) significant postoperative bleeding (>100 mL/24 h in surgical drains, gross hematuria, or any other type of significant blood loss); (4) major postoperative complications during hospitalization, including postoperative hemodynamic instability (defined as a requirement of vasoactive drugs infusions after surgery), infectious complications (presence of fever or sepsis), respiratory complications (respiratory failure or ventilation support), and surgical reintervention.

We prospectively collected medical, demographic, and perioperative data. Standard preoperative care included 8 hours of fasting for solid food and 2 hours for clear liquids, and no fluid infusion before surgery.

General anesthesia was administered in all cases. Intraoperative fluid therapy consisted of a crystalloid solution (Plasmalyte 148, Baxter Healthcare) in rates according to the anesthesiologist's criteria. During surgery, we recorded infused volumes of fluid, V_{UR} , and procedural time. At the end of the surgery, we measured intraoperative blood loss using previously described methods based on the assessment of blood volume loss and hemoglobin mass loss (A_{Loss}), with measurement precisions of ± 50 mL and ± 4 g, respectively.^{13,14}

Postoperative fluid therapy consisted of dextrose solution (10% dextrose, 0.8–1 mL/kg/h) and crystalloid solution (Plasmalyte 148) in rates determined by the anesthesiologist's criteria. We registered postoperative fluid infusion and urine as cumulative volumes every 24 hours and on a 50-mL scale. Intraperitoneal surgical drains were placed in all patients before the end of the surgery and withdrawn after 48 to 72 hours, which allowed us to detect any significant postoperative bleeding.

We performed laboratory measurements before surgery, immediately after surgery, and every 24 hours until (1) the patient regained complete tolerance to oral fluid intake, (2) the urinary catheter was removed, or (3) until 96 hours after surgery. Blood measurements included the following: [Hb] (g/L), complete and differential white blood cell count (cells/mm³), and C-reactive protein concentration (mg/dL). Blood samples were analyzed using the Advia 2120i automated hematology analyzer (Siemens Healthcare, Erlangen, Germany), which has a reported precision (standard deviation) of ± 1.4 g/L for [Hb] measurement. We obtained all blood samples from large veins of the arms using a standard protocol (in a supine position, between 7:00 AM and 9:00 AM).

Model Framework: Hemoglobin Mass Balance Model

Hemoglobin is a protein located, under normal conditions, only within the intravascular compartment. As other authors have stated, its concentration in the blood results from the circulating amount of hemoglobin suspended in the intravascular compartment and, therefore, can be expressed as the ratio of its circulating mass to the volume containing it.^{7,15} Taking into account the first 4 perioperative days, circulating hemoglobin mass can be considered to remain steady with negligible synthesis and degradation rates,¹⁶ but only altered by A_{Loss} (from surgical blood loss).

Therefore, perioperative [Hb] variations can be modeled by considering the changes in both circulating hemoglobin mass and intravascular volume.¹⁵ Equation 1 described the [Hb] at time t ([Hb](t)):

$$[Hb](t) = \frac{A(0) - A_{Loss}}{V_B(t)} \quad (1)$$

where $A(0)$ and A_{Loss} are the preoperative circulating hemoglobin mass and hemoglobin mass loss in grams, respectively, and $V_B(t)$ is the perioperative intravascular volume in liters. We estimated the preoperative intravascular volume ($V_B(0)$) using the International Council for Standardization in Haematology formula.¹⁷ This formula uses the height, weight, age, and sex of the patient to estimate intravascular volume, and its estimates have demonstrated good agreement with direct measurements of $V_B(0)$.¹⁸ We calculated $A(0)$ by multiplying [Hb](0) and $V_B(0)$. We measured A_{Loss} directly from blood loss as described in the Study Protocol section. The remaining unknown variable, $V_B(t)$, was described using a model for fluid kinetics.

Model Framework: Fluid Kinetics Model

[Hb] variations that occur in the absence of changes in circulating hemoglobin mass can be considered as a result of V_B variations. In turn, variations in V_B can be considered as a consequence of an imbalance between fluid input and output processes.¹⁹ To characterize the impact of these processes over time, we proposed and evaluated 2 different structural models. The 1-compartment model assumed a single expandable volume (Equation 2):

$$\frac{dV_B}{dt} = Fluid_{Rate} - B_{Rate} - k_{10} \cdot V_B \quad (2)$$

where fluid infusion is administered into the intravascular compartment following a 0-order rate ($Fluid_{Rate}$) and eliminated via a first-order process governed by the constant k_{10} . We calculated $Fluid_{Rate}$ for each type of infusion fluid (dextrose and crystalloid) by dividing the administered volumes by the time between [Hb] measurements. The volume of blood lost during surgery (B_{Rate}) is expressed as a constant 0-order rate, which we calculated by dividing the measured volume of blood lost by the length of the surgery. We set B_{Rate} to 0 before and after the surgical procedure. At baseline, V_B equals $V_B(0)$.

The 2-compartment model extended this model to include a peripheral expandable compartment (Equations 3 and 4):

$$\frac{dV_B}{dt} = Fluid_{Rate} - B_{Rate} - k_{10} \cdot V_B - \frac{Q}{V_B(0)} \cdot V_B + \frac{Q}{V_P(0)} \cdot V_P \quad (3)$$

$$\frac{dV_P}{dt} = \frac{Q}{V_B(0)} \cdot V_B - \frac{Q}{V_P(0)} \cdot V_P \quad (4)$$

where V_P is the volume of the peripheral compartment. Fluid distribution between the intravascular and peripheral compartment—and vice versa—is characterized by intercompartmental clearance (Q). At baseline, V_B equals $V_B(0)$, while $V_P(0)$ was estimated by the model.

Urinary elimination of fluid for both models was initially described by Equation 5, assuming that urinary elimination was the unique source of fluid output from the intravascular compartment after surgery:

$$\frac{dV_{UR}}{dt} = k_{10} \cdot V_B \quad (5)$$

where V_{UR} is the volume of urine between each [Hb] measurement.

Data Modeling

Mathematical fitting was performed using nonlinear mixed-effects models. We modeled simultaneously [Hb] and V_{UR} data with NONMEM (version 7.4; Icon Development Solutions) using the first-order conditional estimation method with INTERACTION. Both variables were natural-logarithm transformed, and the residual error was modeled additively in the logarithmic scale. Interindividual variability (IIV) was modeled exponentially. A detailed description of the methodology used in modeling and covariate selection is presented in Supplemental Digital Content 1, Supplemental Methods 1, <http://links.lww.com/AA/E459>.

Model-Based Simulations

We performed model-based simulations to explore the effects of blood loss and fluid therapy protocols on [Hb]. First, we simulated the absolute change in [Hb] over time as a function of A_{Loss} and 2 standardized protocols of fluid therapy. We performed this simulation by calculating the population predictions (ie, predictions without IIV) of a typical patient with a [Hb](0) of 120 g/L, exposed to different degrees of A_{Loss} (ranging from 25 to 250 g) and receiving either a restrictive or liberal fluid therapy protocol²⁰ (details of protocols in Supplemental Digital Content 2, Methods 2, <http://links.lww.com/AA/E460>). Second, we simulated the risk of falling below a [Hb] threshold of 70 g/L (at any time within the first 4 perioperative days) as a function of [Hb](0), A_{Loss} , and fluid therapy. We simulated 1000 typical patients with different combinations of [Hb](0) (ranging from 140 to 90 g/L), A_{Loss} (ranging from 25 to 250 g), and the 2 aforementioned fluid therapy protocols, obtained the individual predictions (ie, predictions with IIV), and then calculated the percentage of patients surpassing the

[Hb] threshold. To differentiate the changes in [Hb] caused by A_{Loss} from those caused by alterations in the intravascular volume (ie, due to hemodilution or hemoconcentration effects caused by intravascular overload and depletion, respectively), we included the calculation of isovolemic condition, in which [Hb] is only affected by A_{Loss} and V_B remains unchanged from its preoperative status. This calculation was performed using Equation 1, keeping the variable $V_B(t)$ constant.

RESULTS

A total of 154 patients were considered eligible for the study. Of those, 118 patients were enrolled in the development group (January 2020–December 2021), while 36 patients were enrolled in the second period of recruitment for the validation group (May 2021–October 2021). Table 1 summarizes patient characteristics. [Hb] values of both groups (792 observations) were measured up to a maximum of 96 hours after surgery. [Hb] measurements, infused volumes, and V_{UR} for each perioperative time point are displayed in Figure 1.

Model Development: 2-Compartment Model and Reparameterization of Fluid Elimination

The 2-compartment model described [Hb] significantly better than the 1-compartment model ($P < .01$); thus, subsequent modeling was based on the 2-compartment model. Visual exploration of the goodness-of-fit plots revealed that, whereas [Hb] was accurately described, V_{UR} was overpredicted, suggesting the presence of an extraordinary elimination process. To account for this process, we added a new parameter (urinary fraction [UF]), which quantified the fraction of total fluid elimination (k_{10}) that corresponded to urinary elimination (Equation 6):

$$\frac{dV_{UR}}{dt} = k_{10} \cdot UF \cdot V_B \quad (6)$$

The addition of the UF parameter resulted in estimation issues for V_P . To improve parameter identifiability, we used the estimate and relative standard error obtained for V_P before the inclusion of UF in the model as Bayesian priors using the NWPRI subroutine available in NONMEM.

Model Development: Modeling Inhibition of Total Fluid Elimination

During data exploration, we observed that urine output was reduced in the postoperative period (mean, 0.67 mL/kg/h) in comparison to the intraoperative period (mean, 1.14 mL/kg/h). We considered 2 hypotheses: (1) V_{UR} is affected by surgery, and (2) total fluid elimination (k_{10}) is affected by surgery. The latter

Table 1. Patients' Characteristics

Characteristic	Development group (n = 118)	Validation group (n = 36)
Sex (M/F) (n)	62/56	17/19
Age (y), median (range)	57 (28–88)	52 (34–76)
Height (cm), median (range)	167 (151–195)	166 (155–184)
Weight (kg), median (range)	77 (56–107)	74 (57–98)
Body mass index (kg/m ²), median (range)	27.7 (17.3–39.6)	27.0 (18.6–39.5)
Blood volume loss (L), median (range)	0.88 (0.53–2.78)	0.90 (0.53–2.89)
A _{Loss} (g), median (range)	110 (53–322)	107 (55–311)
Estimated V _B (0) (L), median (range)	5.5 (4.0–5.8)	5.6 (4.0–6.3)
Surgical procedure		
Robotic prostatectomy (n)	39	10
Partial nephrectomy (n)	26	10
Radical nephrectomy (n)	7	2
Nephroureterectomy (n)	6	1
Hysterectomy with adnexectomy (n)	7	2
Hysterectomy (n)	19	6
Myomectomy (n)	7	2
Endometriosis (n)	7	3

Abbreviations: A_{Loss}, hemoglobin mass loss; V_B(0), preoperative intravascular volume.

hypothesis resulted in a significant improvement in model fit ($P < .01$). Then, we implemented an inhibitory model to characterize the changes of total fluid elimination after surgery (Equation 7):

$$k_{10} = \frac{CL}{V_B(0)} \cdot \left(1 - Imax \cdot \frac{Time^\gamma}{Time^\gamma + T_{50}^\gamma} \right) \quad (7)$$

where CL is the fluid clearance, *Imax* is the maximum inhibition of fluid elimination, *Time* is the perioperative time in hours (considering the beginning of the surgery as time 0), and *T*₅₀ is the time to produce 50% inhibition of fluid elimination. We set the parameter gamma (γ) to a value of 9 to represent the fast inhibition that could not be estimated otherwise. The resulting model is displayed both as a graphical representation and as a set of equations in Figure 2. Model estimates are presented in Supplemental Digital Content 3, Table 1, <http://links.lww.com/AA/E461>.

Additionally, we did not find differences in the elimination nor distribution between dextrose and crystalloids solutions ($P > .05$).

Covariate Selection

We next evaluated the inclusion of the following covariates in the model: blood volume loss, age, type of surgery and monocyte count on CL and UF, and blood volume loss on Q. Two of these covariates, age on CL and type of surgery on UF, were selected for the final model. For the latter, we grouped the types of surgeries with similar estimates of UF into 4 categories without resulting in worsening of the objective function ($P > .05$): (1) robotic prostatectomy, partial

nephrectomy, and myomectomy (reference category); (2) radical nephrectomy and nephroureterectomy; (3) hysterectomy and hysterectomy with adnexectomy; and (4) endometriosis.

Model Validation

Individual predictions of [Hb] were calculated for each patient and perioperative time point using the developed model. Supplemental Digital Content 4, Figure 1, <http://links.lww.com/AA/E462> shows the model validation results, where adequate predictive capacity is observed. For measurements after surgery, 95% of the predicted errors were within -4.4 and $+5.5$ g/L and 100% within ± 9.2 g/L. Particularly, the predicted errors for [Hb] measurements <100 g/L were in the same range of magnitude (-3.7 and $+5.4$ g/L for quantiles 2.5 and 97.5, respectively), reinforcing the consistency of the model.

Final Model Evaluation

We then combined and analyzed simultaneously the datasets from both cohorts to provide final estimates for the model (Table 2). All parameters were estimated with precision (relative standard error $<30\%$) and consistent with the results obtained in the estimation dataset (see Supplemental Digital Content 3, Table 1, <http://links.lww.com/AA/E461>). Data supported the inclusion of IIV on k_{10} , Q, and UF, ranging from 21% to 73% coefficient of variation. Of note, the estimate of UF was 0.24, meaning that urinary elimination accounted for 24% of total fluid elimination, the estimate of *Imax* was 0.42, meaning that total fluid elimination was reduced by a maximum of 42%, and the estimate of *T*₅₀ was 9.1, meaning that 50% of the inhibitory effect on total fluid elimination was reached at 9.1 hours (ie, when fluid elimination was 21% lower). Model evaluation showed adequate model performance and an absence of misspecifications (Supplemental Digital Content 5, Figure 2, <http://links.lww.com/AA/E463>). The effects of covariates on model parameters are displayed in a forest plot in Supplemental Digital Content 6, Figure 3, <http://links.lww.com/AA/E464> and can be summarized as follows: type of surgery (2) was associated with a 36% reduction in UF; type of surgery (3) was associated with a 31% increase in UF; type of surgery (4) was associated with an 85% increase in UF; and a median change of -17% and 23% for CL was observed for the low and high extreme values of age (<35 and >81 years, respectively).

Model-Based Simulations

These simulations assumed a 56-year-old patient weighing 77 kg undergoing a 3-hour surgical procedure of the reference category. We extrapolated the volume of blood lost during surgery (necessary to estimate B_{Rate}) for each A_{Loss} using a linear regression

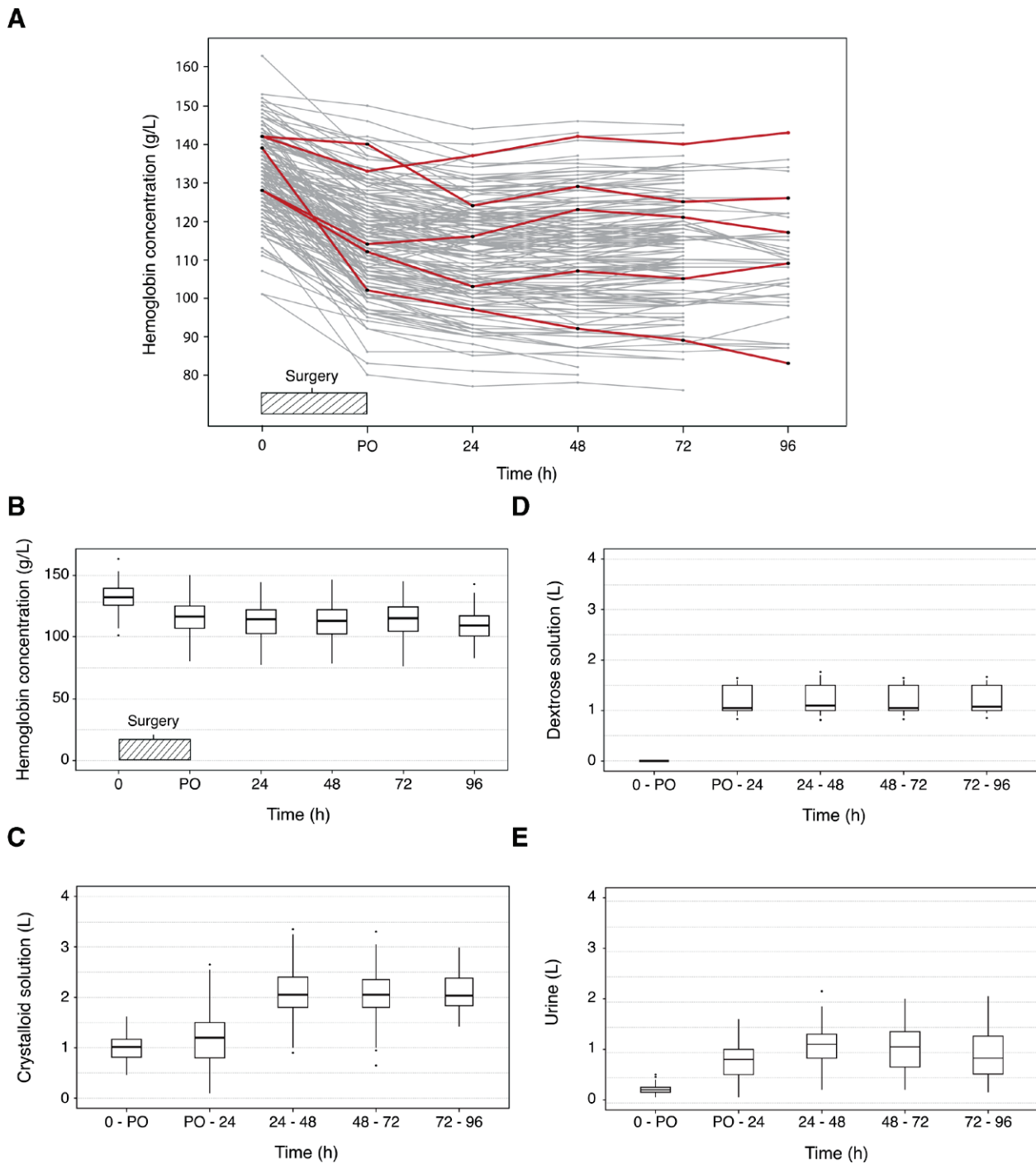


Figure 1. Overview of the data collected. A, Perioperative trajectories of [Hb] for each patient, in which trajectories of 5 randomly selected patients were highlighted in red. B, Boxplot of [Hb] data for each perioperative time point. C–E, Boxplots of infusion solutions (crystalloid and dextrose) and urine volume for each time interval. Due to the different lengths of the surgical procedures, the first postoperative time points are gathered into a single time point (PO) comprising 2 to 6 h. [Hb] indicates hemoglobin concentration; PO, postoperative.

model, as shown in Supplemental Digital Content 7, Figure 4, <http://links.lww.com/AA/E465>. The results of the simulations are presented in Figures 3 and 4.

Visual examination of the first simulation (Figure 3) revealed that A_{Loss} determined most of the variation in [Hb] from its preoperative value.

However, substantial differences were observed in the predicted [Hb] curves between simulated patients under isovolemic conditions and those who received the fluid therapy protocols. Simulated patients who received any of the fluid therapies exhibited a hemodilution effect that reached its maximum at the end of surgery, resulting in the lowest [Hb] value during

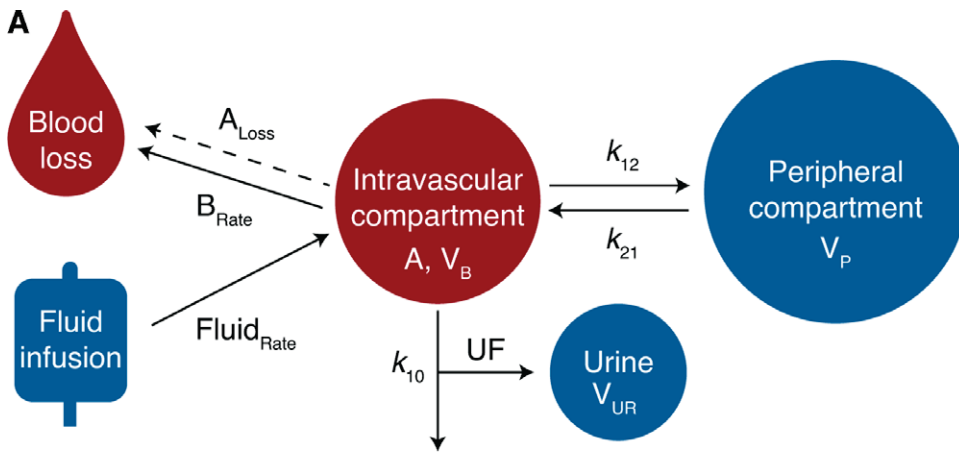


Figure 2. Schematic (A) and mathematical (B) representation of the model. The core structure of the model is based on the balance between circulating hemoglobin mass (A) and intravascular volume (V_B) as the determinants of hemoglobin concentration ([Hb]). Circulating hemoglobin mass is, in turn, determined by its preoperative value ($A(0)$) and the mass of hemoglobin lost during surgery (A_{Loss}). Intravascular volume is considered as an expandable compartment governed by 4 different processes: a 0-order depletion process resulting from blood volume loss (B_{Rate}), a 0-order input process caused by fluid infusion ($Fluid_{Rate}$), a bidirectional fluid distribution mechanism with an expandable peripheral compartment (V_P) determined by the intercompartmental clearance (Q), and a first-order elimination process determined by the parameter k_{10} . This elimination process is, in turn, controlled by the ratio between the clearance parameter (CL) and intravascular volume (V_B), and inhibited by the perioperative time (Time) and the parameters $Imax$, γ (gamma), and T_{50} . Urine volume (V_{UR}) is governed by the urinary fraction (UF) parameter, which describes the proportion of fluid eliminated via urine.

B

$$[Hb](t) = \frac{A(0) - A_{Loss}}{V_B(t)}$$

$$\frac{dV_B}{dt} = Fluid_{Rate} - B_{Rate} - k_{10} \cdot V_B - k_{12} \cdot V_B + k_{21} \cdot V_P$$

$$\frac{dV_P}{dt} = k_{12} \cdot V_B - k_{21} \cdot V_P$$

$$\frac{dV_{UR}}{dt} = k_{10} \cdot UF \cdot V_B$$

$$k_{10} = \frac{CL}{V_B(0)} \cdot \left(1 - Imax \cdot \frac{Time^\gamma}{Time^\gamma + T_{50}^\gamma} \right)$$

Initial conditions:

$$A = A(0) = [Hb](0) \cdot V_B(0)$$

$$V_B = V_B(0)$$

$$V_P = V_P(0)$$

$$V_{UR} = 0$$

Derived parameters:

$$k_{12} = Q / V_B(0)$$

$$k_{21} = Q / V_P(0)$$

the perioperative period. This hemodilution effect caused a decrease of 7 g/L for the restrictive protocol and 15 g/L for the liberal protocol (calculated from the differences between both protocols and the isovolemic condition). In addition, simulated patients receiving the restrictive protocol demonstrated a progressive intravascular depletion (hemoconcentration effect) resulting in a 6 to 11 g/L increase in [Hb] at the 96 hours, whereas those receiving the liberal protocol demonstrated a hemodilution effect (4–6 g/L decrease) that remained stable after the 12 hours. The aforementioned dilutional effects were very similar between patients exposed to different amounts of A_{Loss} , especially for those receiving the liberal protocol. Consequently, we inferred that, in the presence of either the restrictive or liberal fluid therapy protocol, blood volume loss had a limited impact on the perioperative changes in intravascular volume, and thus, the dilutional effects on [Hb] were mostly driven by fluid infusion, distribution, and elimination.

The second simulation (Figure 4) showed that, under *isovolemic conditions*, the lowest [Hb] value

surpassed the 70 g/L threshold when [Hb](0) was ≤ 110 g/L in combination with an $A_{Loss} \geq 250$ g. However, this threshold was surpassed with higher [Hb](0) and lower A_{Loss} for the simulated patients who received either the restrictive or liberal protocol of fluid therapy (given its hemodilution effect at the end of surgery, as observed in Figure 3). Specifically, >90% of patients who received the restrictive protocol and about 65% of those who received the liberal protocol reached the threshold with a 10 g/L higher [Hb](0) or 10 g lower A_{Loss} compared to the isovolemic condition, while 35% of patients who received the liberal protocol reached the threshold at a 20 g/L lower [Hb](0) or 20 g lower A_{Loss} . Of note, around 10% of simulated patients with [Hb](0) of 90 g/L and who received the liberal protocol surpassed the threshold in the absence of blood loss.

DISCUSSION

We developed and validated a mechanism-based model that characterized perioperative [Hb] variations in patients who underwent laparoscopic

Table 2. Final Model Estimates

Parameter	Estimate	RSE (%)	95% CI from bootstrap analysis	Shrinkage (%)
CL (L/h)	0.253	2.8	0.240–0.267	-
IIV CL (%)	20.6	6.6	17.2–23.9	7
UF (unitless)	0.240	3.8	0.220–0.260	-
IIV UF (%)	47.2	7.0	36.9–55.3	10
Q (L/h)	4.47	7.7	3.77–5.19	-
IIV Q (%)	72.8	14.0	40.5–103	35
$V_p(0)$ (L)	48.1 ^a	0.3 ^a	48.1–48.1	-
$Imax$ (unitless)	0.420	3.3	0.388–0.451	-
T_{50} (h)	9.10	11.2	5.42–9.60	-
Gamma (unitless)	9 ^b	-	-	-
Age on CL	0.00872	16.5	0.00606–0.0111	-
RN, NU on UF	-0.365	19.1	-0.454 to -0.252	-
HT, HTA on UF	0.307	29.6	0.150–0.477	-
Endometriosis on UF	0.846	21.9	0.579–1.13	-
[Hb] residual error (ln g/L)	0.0208	3.2	0.0189–0.0230	12
Urine residual error (ln L)	0.286	3.1	0.239–0.339	-

Abbreviations: [Hb], hemoglobin concentration; CI, confidence interval; CL, fluid clearance; HT, hysterectomy; HTA, hysterectomy with adnexectomy; IIV, interindividual variation; $Imax$, maximum inhibition of fluid clearance; NU, nephroureterectomy; Q, intercompartmental clearance; RN, radical nephrectomy; RSE, relative standard error; T_{50} , time to produce 50% inhibition of fluid elimination; UF, urinary fraction; $V_p(0)$, preoperative peripheral volume.

^aPriors.

^bNot estimated. IIV is expressed as coefficient of variation (%) calculated as $\sqrt{\omega^2 - 1} \times 100$, where ω^2 corresponds to the variance of the random effects. RSE was calculated as the ratio between the standard error and the point estimate of the corresponding parameter.

surgeries. The structure of our model included a mass balance model that accounted for hemoglobin losses during surgery, and a 2-compartment model (intravascular and peripheral) that characterized fluid kinetics and intravascular volume changes. During model development, our results suggested the presence of 2 processes not initially contemplated: an extraordinary fluid elimination and a time-dependent inhibition of total fluid elimination. These 2 processes were subsequently modeled and integrated into the final model. The final model demonstrated substantial predictive capacity in an independent cohort of patients, reinforcing its consistency.

Previous studies have focused on identifying predictors of postoperative [Hb] drop. Different predictors have been identified, including type of surgery, amount of blood loss, fluid infusion volumes, fluid balance, body mass index, weight, and age.^{8,9,12} According to our model, patient demographic characteristics are determinants of $V_B(0)$ and, therefore, of circulating hemoglobin mass. This implies that those patients with lower intravascular volume estimates may be more susceptible to blood loss or fluid infusion, which would explain why characteristics associated with lower intravascular volume (eg, female sex) have been found to be predictors of a greater postoperative drop in [Hb]⁸ and a higher rate of red blood cell transfusions.^{21,22}

To model the effect of blood loss, we considered the variables A_{Loss} and blood volume loss separately. We consider this approach to be more appropriate from a physiological point of view, since the hemoglobin mass in the lost blood could vary due to the hyperacute dilutional effects that take place during the intraoperative period (ie, during bleeding).¹⁴ In line

with this, in Supplemental Digital Content 7, Figure 4, <http://links.lww.com/AA/E465>, we observed that only 74% of the variation in blood volume loss was explained by A_{Loss} and that this correlation became more diffuse as A_{Loss} increased.

Similar models for fluid kinetics can be found in volume kinetics analyses.¹⁹ However, there are differences between the 2 approaches that may limit the comparison of results. First, [Hb] was the primary variable to be modeled, while in volume kinetics analysis, [Hb] is used as a tracer (part of the method) to estimate plasma volume changes. Second, we studied [Hb] variations that occurred within hours-days, whereas volume kinetics analyses study plasma variations occurring within minutes after infusion. This approach allowed us to characterize medium-term processes relevant to the interpretation of [Hb] in the perioperative setting, but prevented us from characterizing processes such as the initial expansion of intravascular volume caused by fluid infusion, which, in turn, explains our faster Q. Third, we considered blood to be a homogeneous compartment, ignoring the fact that the fluid fraction within red blood cells cannot be distributed directly to the peripheral compartment or urine. We built the model under a mechanistic framework to be representative of the physiological components of the system, but limiting the number of parameters to maintain the parsimony of the model. In this regard, the integration of hematocrit into the model (as used in volume kinetics analyses) would have helped to estimate fluid kinetics in a more mechanistic manner, but the relationship between the components of the system would have remained the same. Because of this difference, our

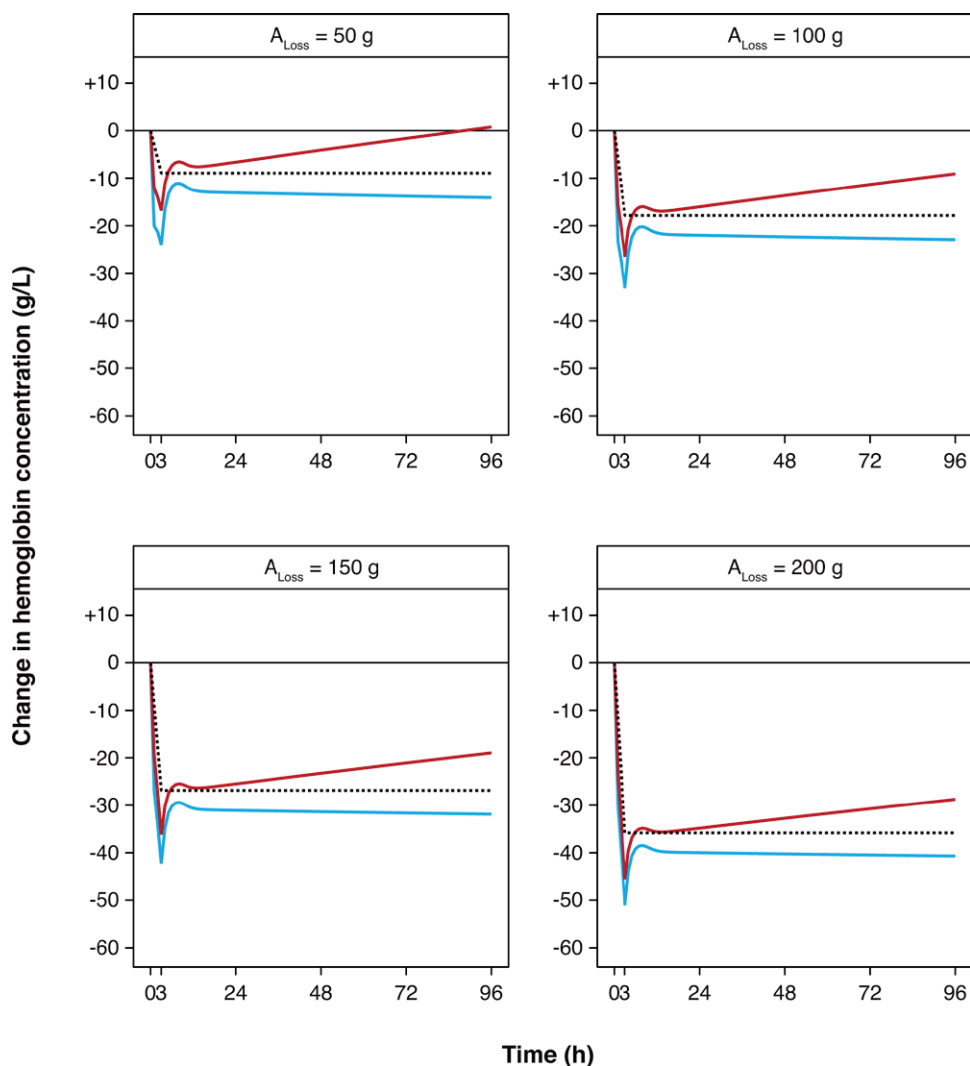


Figure 3. Simulation of the absolute change in hemoglobin concentration ([Hb]) over time. Each panel indicates a different amount of hemoglobin mass loss (A_{Loss}) on the top. The horizontal axis indicates the perioperative time point, while the vertical axis represents the absolute change in [Hb] from its preoperative value. The predicted changes in [Hb] due to A_{Loss} alone (under isovolemic conditions) are represented by the dashed lines, whereas the predicted changes in the presence of restrictive and liberal fluid therapies are represented by the red and blue lines, respectively. 50, 100, 150, and 200 g of A_{Loss} correspond roughly to 0.55, 0.86, 1.2, and 1.5 L of blood volume loss, respectively.

estimate of peripheral volume is larger than the 6.9 L reported for 0.9% saline and 5.4 L for 5% dextrose,^{23,24} but nearest to total body water. Peripheral volume does not necessarily represent an actual physiological volume and could be the result of an assortment of processes, such as cell uptake.

Interestingly, urine was not the main route of fluid elimination in our study. Alternative mechanisms for fluid elimination may include insensible losses and relocation to areas of the body that do not equilibrate with plasma (eg, tissue edema).²⁵ The latter may be triggered by the endocrine and inflammatory response caused by surgical trauma (also referred to as pathological fluid shift).²⁶ In our study, covariate evaluation revealed that the type of surgical procedure only affected the proportion of fluid eliminated by urine, whereas total fluid elimination was indistinguishable between surgeries. This suggests that certain types of surgeries (those associated with lower UF) had proportionally higher extraordinary elimination. Given that the

surgical procedures that were associated with lower UF may be considered more “aggressive” (given the magnitude of surgical trauma), we hypothesized that they may have been associated with pathologic fluid shift. However, the sparse data of inflammatory biomarkers (C-reactive protein, neutrophils, and monocytes) prevented us to establish a robust correlation between these variables and the model parameters.

Reduced diuresis is common after major surgery.^{19,27} In our study, we inferred that not only diuresis but also total fluid elimination were reduced postoperatively. A reduction of fluid elimination has been shown to correlate with the degree of hypovolemia in both healthy volunteers and animal models.^{28,29} Although part of this decrease could be attributed to hypovolemia and the stress response to surgical trauma (eg, vasopressin release), our study supports previous findings indicating that in cases of significant blood loss, impairment of fluid elimination persists even if fluid balance is restored to its preoperative status.²⁹

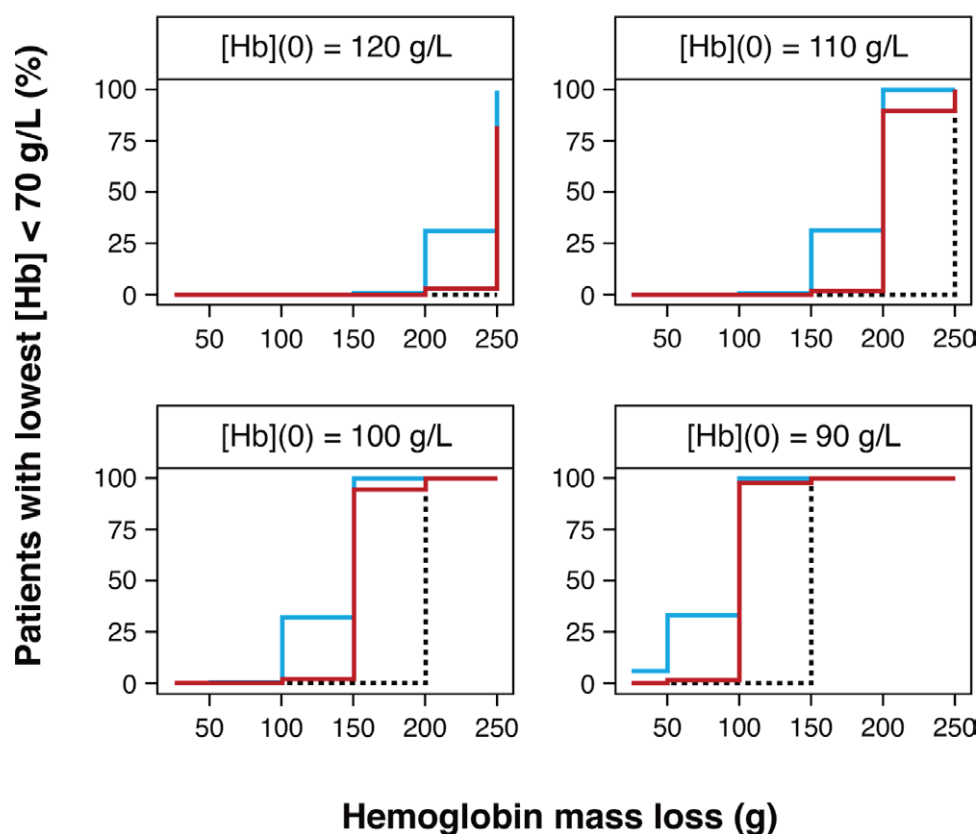


Figure 4. Simulation of the risk of reaching hemoglobin concentration ($[Hb]$) < 70 g/L at any time within the first 96 h. Each panel indicates a different preoperative $[Hb]$ ($[Hb](0)$) on the top. The horizontal axis represents the hemoglobin mass loss (A_{Loss}), while the vertical axis indicates the percentage of patients surpassing the $[Hb]$ threshold. As in Figure 3, the dashed lines represent the isovolemic condition, while the red and blue lines represent the simulated patients receiving restrictive and liberal fluid therapies, respectively. 50, 100, 150, 200, and 250 g of A_{Loss} correspond roughly to 0.55, 0.86, 1.2, 1.5, and 1.8 L of blood volume loss, respectively.

Unfortunately, the lack of urine measurements after 96 hours prevented us from characterizing the recovery of fluid elimination. Interestingly, blood volume loss did not correlate with fluid elimination parameters, although it is possible that blood loss may have been large enough to inhibit fluid elimination in all patients; in an animal study, a 15% loss of total blood already caused more than half of urinary output impairment,²⁹ while in our study, patients lost 10% to 55% of total blood (assuming a standard blood volume of 5 L).

Simulations demonstrated that, while most of the variations in $[Hb]$ after surgery were determined by A_{Loss} , intravascular volume changes caused smaller variations that, if not properly interpreted, could have resulted in inaccurate transfusion decisions. When interpreting $[Hb]$, clinicians should take into account multiple factors rather than relying solely on isolated measurements, and most importantly, should understand the system governing $[Hb]$ to properly interpret this parameter.

Our study has limitations. First, we conducted our study in patients undergoing urologic and gynecologic laparoscopic surgeries alone. We considered that these types of surgeries and this population met the conditions to analyze $[Hb]$, including a wide range of demographic characteristics and preoperative $[Hb]$, a higher rate of major blood loss (according to

our institutional records), and a reasonably reliable method of measuring blood loss.^{13,14} In light of the differences that we found between the types of surgeries (specifically, regarding the UF parameter), it is likely that other types of surgeries may present different parameters than the ones we estimated. Laparotomy, as well as other open surgeries, may involve different Q, more accentuated pathological fluid displacements, and in general, more complex fluid kinetics. Nevertheless, although our model is, therefore, not extrapolatable to other types of surgeries, we considered that it provides a perspective that might help to understand and interpret $[Hb]$ in other scenarios. Second, fluid infusion was not guided by a protocol and was based on clinician criteria. Although our study was not designed to replicate the magnitude of perturbations in the fluid dynamics of the experimental setups, the low variability in dextrose infusion rates prevented us from finding differences in the kinetics of the 2 solutions. The effects of colloids on $[Hb]$ would be interesting to explore in further studies.

In conclusion, our model provides mechanistic and quantitative insights about the variables and processes governing $[Hb]$ in patients undergoing laparoscopic surgery. This information could be helpful in understanding and interpreting $[Hb]$ values in the clinical setting. ■■

ACKNOWLEDGMENTS

The corresponding author thanks Professor Robert G. Hahn (PhD, Karolinska Institutet at Danderyds Hospital, Stockholm, Sweden) for his valuable contribution to the review of the manuscript.

DISCLOSURES

Name: Sebastian Jaramillo, MD.
Contribution: This author helped with the study design, data collection, data modeling, and manuscript preparation.
Name: Nicolás Marco-Ariño, PhD.
Contribution: This author helped with the study design, data modeling, and manuscript preparation.
Name: Mar Montane-Muntane, MD.
Contribution: This author helped with the study design and manuscript preparation.
Name: Annabel Blasi, PhD.
Contribution: This author helped with the study design and manuscript preparation.
Name: Ricard Navarro-Ripoll, PhD.
Contribution: This author helped with the study design and manuscript preparation.
Name: Claudia de Peray-Bruel, MD.
Contribution: This author helped with data collection and manuscript preparation.
Name: Isabel Vila-Cullell, CRNA.
Contribution: This author helped with data collection and manuscript preparation.
Name: Pedro L. Gambús, PhD.
Contribution: This author helped with the study design, data modeling, and manuscript preparation.
Name: Iñaki F. Troconiz, PhD.
Contribution: This author helped with the study design, data modeling, and manuscript preparation.
This manuscript was handled by: Tong J. Gan, MD.

REFERENCES

1. World Health Organization. Haemoglobin concentrations for the diagnosis of anaemia and assessment of severity. Published 2011. Accessed February 4, 2023. Available at: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/85839/WHO_NMH_NHD_MNM_11.1_eng.pdf?ua=1.
2. Carson JL, Guyatt G, Heddle NM, et al. Clinical practice guidelines from the AABB: red blood cell transfusion thresholds and storage. *JAMA*. 2016;316:2025–2035.
3. Shander A, Lobel GP, Javidroozi M. Anesthesia for patients with anemia. *Anesthesiol Clin*. 2016;34:711–730.
4. Soni N. Intraoperative transfusion, triggers and precision—an oxymoron. *Transfus Med*. 2008;18:209–210.
5. Warkentin TE. Systematic underestimation of anemia severity in postoperative patients. *Transfusion*. 2006;46:317–318.
6. Valeri CR, Dennis RC, Ragno G, Macgregor H, Menzoian JO, Khuri SF. Limitations of the hematocrit level to assess the need for red blood cell transfusion in hypovolemic anemic patients. *Transfusion*. 2006;46:365–371.
7. Otto JM, Plumb JOM, Clissold E, et al. Hemoglobin concentration, total hemoglobin mass and plasma volume in patients: implications for anemia. *Haematologica*. 2017;102:1477–1485.
8. Grant MC, Whitman GJ, Savage WJ, Ness PM, Frank SM. Clinical predictors of postoperative hemoglobin drift. *Transfusion*. 2014;54:1460–1468.
9. George TJ, Beaty CA, Kilic A, et al. Hemoglobin drift after cardiac surgery. *Ann Thorac Surg*. 2012;94:703–709.

10. Adamson J, Hillman RS. Blood volume and plasma protein replacement following acute blood loss in normal man. *JAMA*. 1968;205:609–612.
11. Pruitt BA Jr, Moncrief JA, Mason AD Jr. Efficacy of buffered saline as the sole replacement fluid following acute measured hemorrhage in man. *J Trauma*. 1967;7:767–782.
12. Chaudhry YP, MacMahon A, Rao SS, et al. Predictors and outcomes of postoperative hemoglobin of <8 g/dL in total joint arthroplasty. *J Bone Joint Surg Am*. 2022;104:166–171.
13. Jaramillo S, Montane-Muntane M, Capitan D, et al. Agreement of surgical blood loss estimation methods. *Transfusion*. 2019;59:508–515.
14. Jaramillo S, Montane-Muntane M, Gambus PL, Capitan D, Navarro-Ripoll R, Blasi A. Perioperative blood loss: estimation of blood volume loss or haemoglobin mass loss? *Blood Transfus*. 2020;18:20–29.
15. Hahn RG. Body volumes and fluid kinetics. In: Hahn RG, ed. *Clinical Fluid Therapy in the Perioperative Setting*. Cambridge University Press, 2016:74–75.
16. Biesma DH, Van de Wiel A, Beguin Y, Kraaijenhagen RJ, Marx JJ. Post-operative erythropoiesis is limited by the inflammatory effect of surgery on iron metabolism. *Eur J Clin Invest*. 1995;25:383–389.
17. Pearson TC, Guthrie DL, Simpson J, et al. Interpretation of measured red cell mass and plasma volume in adults: expert panel on radionuclides of the International Council for Standardization in Haematology. *Br J Haematol*. 1995;89:748–756.
18. Jacob M, Chappell D, Conzen P, Finsterer U, Rehm M. Blood volume is normal after pre-operative overnight fasting. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2008;52:522–529.
19. Hahn RG. Volume kinetics for infusion fluids. *Anesthesiology*. 2010;113:470–481.
20. Myles PS, Bellomo R, Corcoran T, et al; Australian and New Zealand College of Anaesthetists Clinical Trials Network and the Australian and New Zealand Intensive Care Society Clinical Trials Group. Restrictive versus liberal fluid therapy for major abdominal surgery. *N Engl J Med*. 2018;378:2263–2274.
21. Gombotz H, Rehak PH, Shander A, Hofmann A. The second Austrian benchmark study for blood use in elective surgery: results and practice change. *Transfusion*. 2014;54:2646–2657.
22. Rosencher N, Kerckamp HE, Macheras G, et al; OSTHEO Investigation. Orthopedic Surgery Transfusion Hemoglobin European Overview (OSTHEO) study: blood management in elective knee and hip arthroplasty in Europe. *Transfusion*. 2003;43:459–469.
23. Yi JM, Bang JY, Choi B, et al. Population-based volume kinetics of crystalloids and colloids in healthy volunteers. *Sci Rep*. 2019;9:18638.
24. Drobin D, Hahn RG. Kinetics of isotonic and hypertonic plasma volume expanders. *Anesthesiology*. 2002;96:1371–1380.
25. Hahn RG, Nemme J. Volume kinetic analysis of fluid retention after induction of general anesthesia. *BMC Anesthesiol*. 2020;20:95.
26. Doherty M, Buggy DJ. Intraoperative fluids: how much is too much? *Br J Anaesth*. 2012;109:69–79.
27. Sear JW. Kidney dysfunction in the postoperative period. *Br J Anaesth*. 2005;95:20–32.
28. Drobin D, Hahn RG. Volume kinetics of Ringer’s solution in hypovolemic volunteers. *Anesthesiology*. 1999;90:81–91.
29. Norberg A, Brauer KI, Prough DS, et al. Volume turnover kinetics of fluid shifts after hemorrhage, fluid infusion, and the combination of hemorrhage and fluid infusion in sheep. *Anesthesiology*. 2005;102:985–994.

8. Discusión

En el marco de los estudios abordados en esta tesis, se investigaron las variaciones perioperatorias de la Hb con relación a sus causas y mecanismos subyacentes, además de explorar las relaciones cuantitativas entre estos elementos. Tras analizar minuciosamente la relación entre la Hb y las pérdidas hemáticas, así como examinar los factores que inciden en el volumen intravascular, se llegó a la conclusión de que las variaciones en la Hb durante el período perioperatorio podían ser explicadas a través de un modelo matemático que consideraba el equilibrio en la masa de hemoglobina y los cambios en el volumen intravascular asociados con el sangrado, la infusión, la redistribución y la eliminación de fluidos. El modelo final demostró una capacidad predictiva significativamente alta en las pruebas de validación, lo que reafirmó su consistencia. Por último, el modelo se utilizó para explorar distintos escenarios clínicos, y señalar las situaciones en las que la Hb es susceptible a ser malinterpretada.

En primer lugar, exploramos la relación entre las variaciones perioperatorias de la Hb y las pérdidas hemáticas, teniendo en cuenta dos enfoques de cuantificación de las pérdidas hemáticas: la pérdida de volumen sanguíneo y la pérdida de masa de hemoglobina.

El análisis de la relación entre las variaciones de la Hb y la pérdida de volumen sanguíneo se realizó poniendo a prueba los modelos detallados en la sección 4.7. Estos modelos se emplearon para obtener estimaciones del volumen sanguíneo perdido, las cuales se compararon con las mediciones directas en términos de concordancia (o acuerdo estadístico). Las estimaciones derivadas de los modelos resultaron ser significativamente imprecisas y, en general, sobreestimaron las pérdidas hemáticas (86).

Sólo unos pocos estudios han examinado la concordancia de los métodos de estimación de pérdidas hemáticas, y la mayoría fueron estudios en los que se desarrollaron o propusieron los modelos. La mayoría de estos estudios se realizaron con muestras de pequeño tamaño (30, 62, 64), en cirugías con escasa pérdida de sangre (30, 62, 64), en escenarios que difieren del entorno quirúrgico (65), o en los que la medición directa del volumen sanguíneo perdido no era fiable, ya que se obtuvieron de cirugías susceptibles de pérdidas hemáticas ocultas (34).

No se ha determinado con certeza por qué los modelos utilizados para estimar las pérdidas hemáticas son inexactos. La estimación del volumen sanguíneo del paciente podría ser la principal fuente de error, ya que incluso la fórmula que se ha demostrado como la más precisa aún presenta imprecisiones que pueden llegar a ser del $\pm 50\%$ (66). Otro factor importante es que muchos modelos presuponen una condición de euvolemia durante el curso del periodo perioperatorio (30, 62, 64). Sin embargo, esto puede ser difícil de asumir en el escenario quirúrgico habitual, en donde muchos factores modifican el volumen intravascular de forma simultánea. Por la misma razón, puede ser difícil asumir un proceso de hemodilución predecible.

La principal limitación de este estudio fue la falta de un método *gold standard* para medir directamente las pérdidas hemáticas. Para minimizar esta limitación, nos propusimos utilizar el método más preciso y realizarlo en las condiciones óptimas. Además, se hizo un esfuerzo para obtener un entorno clínico en el que la medición directa de las pérdidas hemáticas fuera lo más fiable posible. A pesar de las cuidadosas medidas adoptadas, reconocemos que no se dispone de un método de referencia y, por lo tanto, los resultados pueden variar en función del método de medición elegido.

Curiosamente, las pérdidas hemáticas ocultas, aquellas causadas por la infiltración en los tejidos, han sido tradicionalmente cuantificadas en función de

las diferencias entre las mediciones directas y las estimaciones proporcionadas por los modelos (87-91). De hecho, mediante este enfoque, se ha calculado que las pérdidas ocultas podrían representar hasta el 60% del total de pérdidas hemáticas (90). Sin embargo, la cantidad de pérdidas hemáticas ocultas aún no ha sido evaluada mediante métodos fiables. En vista de la propensión de los modelos a sobreestimar las pérdidas hemáticas, planteamos que un estudio adecuado de las pérdidas ocultas sería de gran utilidad para comprender la real magnitud del problema.

A continuación, exploramos la relación entre las variaciones perioperatorias de la Hb y la pérdida de masa de hemoglobina. Con el propósito de evaluar adecuadamente si la pérdida de masa de hemoglobina se correlacionaba de manera más sólida con las variaciones en la Hb que la pérdida de volumen sanguíneo, propusimos comparar ambos enfoques simultáneamente. Para ello, construimos un modelo teórico básico que relacionaba las variaciones en la Hb con las pérdidas de masa de hemoglobina, el cual utilizamos para obtener estimaciones de la pérdida de masa de hemoglobina. Al mismo tiempo, empleamos el modelo que demostró ser más preciso en el estudio previo (modelo de López-Picado) para obtener estimaciones del volumen de sangre perdido. Por último, desarrollamos un modelo empírico que relacionaba las variaciones en la Hb con las pérdidas de volumen de sangre, el cual también se utilizó para obtener estimaciones de la pérdida de volumen sanguíneo. Comparamos todas estas estimaciones con sus respectivas mediciones a través de análisis de concordancia estadística. El modelo basado en la pérdida de masa de hemoglobina estimó las pérdidas hemáticas de forma significativamente más precisa que los modelos basados en la pérdida de volumen de sangre (92).

Los resultados de este estudio fueron consistentes con los resultados obtenidos en el estudio anterior, en el cual los modelos basados en la pérdida de volumen sanguíneo proporcionaron estimaciones significativamente imprecisas. En este

estudio, incluso cuando se consideró la mejor estimación posible de la pérdida de volumen sanguíneo (en base al modelo empírico), el modelo de pérdida de masa de hemoglobina logró una mejor concordancia con las mediciones directas. De manera similar al estudio anterior, atribuimos las imprecisiones observadas en los modelos de pérdida de volumen sanguíneo a las suposiciones que consideran un grado de hemodilución predecible a lo largo del periodo perioperatorio. Esta suposición también podría explicar por qué el modelo de pérdida de masa de hemoglobina proporciona estimaciones que concuerdan más con las mediciones directas. Siguiendo el mismo razonamiento, consideramos que la pérdida de sangre podría experimentar diversos grados de dilución (y de masa de hemoglobina), lo que implica que la pérdida de masa de hemoglobina no puede ser expresada en unidades de volumen, sino que debe ser considerada únicamente en unidades de masa. No obstante, reconocemos que incluso en escenarios muy controlados, como el que pretendíamos lograr en este estudio, es difícil medir con precisión la pérdida de volumen sanguíneo. En consecuencia, es posible que los modelos de pérdida de volumen sanguíneo nunca se validen adecuadamente en el ámbito clínico.

Optamos por medir la pérdida de masa de hemoglobina directamente desde la pérdida de sangre, considerándola como la medición más fiable. A pesar de que el etiquetado de eritrocitos con radioisótopos o las mediciones de la masa de hemoglobina circulante podrían haber sido útiles para estudiar la relación entre las variaciones de la Hb y las pérdidas hemáticas, nos centramos en la pérdida de masa de hemoglobina en sí. Dado que pueden ocurrir movimientos agudos de desplazamiento de los eritrocitos entre los compartimentos circulantes y no circulantes (como el bazo) durante la hemorragia y el período intraoperatorio, la medición de la masa de eritrocitos o hemoglobina circulante en los períodos pre- y postoperatorio podría pasar por alto la masa perdida durante esas

movilizaciones y redistribuciones, y, por lo tanto, no reflejarían con precisión la pérdida real de contenido.

A pesar de la concordancia lograda por el modelo de pérdida de masa de hemoglobina, se observó un sesgo significativo que resultó en una moderada sobreestimación de la pérdida de masa de hemoglobina. Dado que este sesgo se mantuvo prácticamente constante en diferentes magnitudes de pérdida de sangre, las posibles fuentes de sesgo podrían haber incluido mediciones incompletas de las pérdidas hemáticas, coagulación de la sangre antes de ser aspirada, o pérdida de sangre debida a extracciones de sangre (realizadas para análisis de laboratorio). Sin embargo, no se puede descartar la posibilidad de una inexactitud inherente en el modelo. Inicialmente se planteó que esta sobreestimación podría haber sido resultado de la suposición de euvolemia entre los puntos de tiempo preoperatorio y postoperatorio; dada la tendencia a la sobreestimación que también se observó en los modelos de pérdida de volumen sanguíneo en el estudio previo (86), y considerando que en ambos estudios el balance de fluidos fue positivo, se consideró factible que el volumen intravascular en el postoperatorio haya experimentado una expansión en comparación con su estado preoperatorio. No obstante, un análisis *post hoc* determinó que el sesgo se mantuvo inalterado a pesar del balance de fluidos.

Este estudio presentaba varias limitaciones. La principal fue que el volumen intravascular se estimó, pero no se midió. La medición del volumen intravascular implica procedimientos invasivos y costosos. Consideramos que su medición no contribuiría significativamente a la estimación de la pérdida de masa de hemoglobina, ya que un error de 500 mL cambiaría aproximadamente en un 8-10% la pérdida de masa de hemoglobina estimada (65). Sin embargo, la medición del volumen intravascular hubiera ayudado a confirmar la condición de euvolemia asumida entre los puntos pre- y postoperatorios.

Por último, para probar el modelo de pérdida de masa de hemoglobina, elegimos un escenario clínico ideal para su evaluación, excluyendo a los pacientes que requirieron transfusión o presentaron hemorragia postoperatoria. Esto es relevante, ya que los estudios que evalúan estrategias dirigidas a reducir la hemorragia perioperatoria se realizan en contextos clínicos en los que las transfusiones y la hemorragia postoperatoria son frecuentes. Sin embargo, este estudio se diseñó como prueba de concepto, especialmente para analizar la relación entre las variaciones perioperatorias de la Hb y las pérdidas hemáticas.

A partir de los hallazgos obtenidos en ambos artículos, se concluyó que las variaciones perioperatorias de Hb se explicaban de manera más adecuada por la pérdida de masa de hemoglobina que por la pérdida de volumen sanguíneo. En base a esto, construimos una estructura de modelo que nos permitió analizar las causas de las variaciones en la Hb, especialmente en consideración de los cambios en el volumen intravascular. Esta estructura de modelo fue desarrollada en base a ecuaciones diferenciales, lo que permitió estudiar los cambios de manera continua. Esta estructura luego fue ajustada en base a los datos, a partir de los cuales también se obtuvieron las estimaciones numéricas de los parámetros.

La estructura del modelo incluía un modelo de balance de masas que daba cuenta de las pérdidas de hemoglobina durante la cirugía, y un modelo de dos compartimentos (intravascular y periférico) que caracterizaba la cinética de los fluidos y los cambios de volumen intravascular. Durante el desarrollo del modelo, los resultados sugirieron la presencia de dos procesos no contemplados inicialmente: una eliminación extra-urinaria de fluidos, y una inhibición de la eliminación total de fluidos, la cual era dependiente del tiempo. Estos dos procesos se modelizaron y fueron integrados en el modelo final. El modelo final demostró una capacidad predictiva sustancial en una cohorte independiente de pacientes, lo que reforzó su consistencia (93).

Investigaciones previas se han enfocado en la identificación de factores predictivos relacionados con la caída postoperatoria en la Hb. Varios predictores han sido identificados, incluyendo el tipo de cirugía, el volumen de pérdidas hemáticas, la cantidad de fluidos infundidos, el balance de fluidos, el índice de masa corporal, el peso y la edad (56, 60, 61). Según nuestro modelo, las características antropométricas de los pacientes son determinantes del volumen intravascular preoperatorio y, por tanto, también de la masa de hemoglobina circulante preoperatoria. Esto implicaría que aquellos pacientes con estimaciones de volumen intravascular más bajas podrían ser más susceptibles a los efectos de la pérdida hemática o la infusión de fluidos, lo que a su vez explicaría por qué se ha observado que las características asociadas a un volumen intravascular más bajo (por ejemplo, el sexo femenino) son predictores de una mayor caída postoperatoria en la Hb (56) y de una mayor tasa de transfusiones de CCHH (94, 95).

Estudios que utilizan los métodos de *volume kinetics* emplean modelos similares para la analizar la cinética de fluidos (96). Sin embargo, existen diferencias entre los dos enfoques que pueden limitar la comparación de resultados. En primer lugar, la Hb fue la variable principal que se modeló, mientras que en los análisis *volume kinetics* la Hb se utiliza como trazador (parte del método) junto con Hct para estimar los cambios del volumen plasmático. En segundo lugar, estudiamos las variaciones de Hb que se producían en el plazo de horas-días, mientras que los análisis *volume kinetics* estudian las variaciones plasmáticas que se producen minutos-horas después de la infusión. Este enfoque nos permitió caracterizar procesos a medio plazo relevantes para la interpretación de la Hb en el entorno perioperatorio, pero nos impidió caracterizar procesos como la expansión inicial del volumen intravascular causada por la infusión de fluidos, que a su vez explica nuestro aclaramiento inter-compartmental más rápido. En tercer lugar, consideramos la sangre como un compartimento homogéneo, ignorando el hecho

de que la fracción líquida dentro de los eritrocitos no puede distribuirse directamente al compartimento periférico o a la orina. Construimos el modelo bajo un marco mecanicista para que fuera representativo de los componentes fisiológicos del sistema, pero limitando el número de parámetros para mantener la parsimonia del modelo. En este sentido, la integración del Hct en la Ec. 9 (similar a como se utiliza en los análisis *volume kinetics*) habría ayudado a estimar la cinética de fluidos de una manera más mecanicista, pero la relación entre los componentes del sistema habría seguido siendo la misma. Debido a esta diferencia, nuestra estimación del volumen periférico es mayor que los 6,9 L estimados para la solución salina al 0,9% y los 5,4 L para la dextrosa al 5% (97, 98), pero se aproximaron más al agua corporal total. El volumen periférico no representa necesariamente un volumen fisiológico real y podría ser el resultado de una variedad de procesos, como la absorción celular.

Curiosamente, la orina no fue la principal vía de eliminación de fluidos en nuestro estudio. Entre los mecanismos alternativos para la eliminación de líquidos se incluyen las pérdidas insensibles y la reubicación en zonas del cuerpo que no se equilibran con el plasma (ej., edema tisular) (99). Este último mecanismo puede ser desencadenado por la respuesta endocrina e inflamatoria causada por el traumatismo quirúrgico (también denominado desplazamiento patológico de fluidos). En nuestro estudio, la evaluación de covariables reveló que el tipo de intervención quirúrgica sólo afectaba a la proporción de fluidos eliminado por la orina, mientras que la eliminación total de fluidos era indistinguible entre cirugías. Esto sugirió que determinados tipos de cirugía, en concreto las asociadas con un menor parámetro UF (*Urinary Fraction*), tuvieron una eliminación extra-urinaria proporcionalmente mayor. Dado que las intervenciones quirúrgicas asociadas a un menor UF pueden considerarse más "agresivas" (dada la magnitud del traumatismo quirúrgico), nuestra hipótesis fue que éstas podrían haber estado asociadas a un desplazamiento patológico de

fluidos. Sin embargo, los escasos datos de biomarcadores inflamatorios (proteína C reactiva, neutrófilos y monocitos) nos impidieron establecer una correlación sólida entre estas variables y los parámetros del modelo.

La reducción de la diuresis es frecuente después de una intervención quirúrgica mayor (100). En nuestro estudio, dedujimos que no sólo la diuresis, sino que la eliminación total de fluidos se redujo en el postoperatorio. Se ha demostrado que una reducción de la eliminación de fluidos se correlaciona con el grado de hipovolemia, tanto en voluntarios sanos como en modelos animales (101, 102). Aunque parte de esta disminución podría atribuirse a la hipovolemia y a la respuesta al estrés provocado por el trauma quirúrgico, nuestro estudio respalda hallazgos previos que indican que, en casos de pérdidas hemáticas significativas, persiste el deterioro de la eliminación de líquidos incluso si el equilibrio de fluidos se ha restablecido a su estado preoperatorio (101). Lamentablemente, la falta de mediciones de orina después de 96 horas nos impidió caracterizar la recuperación de la eliminación de fluidos. Curiosamente, la pérdida de volumen sanguíneo no se correlacionó con los parámetros de eliminación de fluidos, aunque es posible que las pérdidas hemáticas hayan sido lo suficientemente grandes como para inhibir la eliminación de fluidos en todos los pacientes; en un estudio con animales, una pérdida del 15% de la sangre total ya causaba más de la mitad del deterioro de la diuresis (101), mientras que en nuestro estudio, los pacientes perdieron entre el 10% y el 55% de la sangre total (suponiendo un volumen sanguíneo estándar de 5 L).

Las simulaciones demostraron que, aunque la mayor parte de las variaciones de Hb tras la cirugía fueron determinadas por la variable A_{loss} (pérdida de masa de hemoglobina), los cambios del volumen intravascular provocaban variaciones menores que, si no eran interpretadas correctamente, podrían haber conducido a decisiones imprecisas en cuanto a la transfusión de CCHH. Consideramos que, al interpretar la Hb, los clínicos deben tener en cuenta múltiples factores en lugar

de basarse únicamente en mediciones aisladas y, más importante, deben comprender el sistema que rige la Hb para interpretar correctamente este parámetro.

Este estudio tuvo limitaciones. En primer lugar, realizamos este estudio sólo en pacientes sometidos a cirugías laparoscópicas urológicas y ginecológicas. Consideramos que este tipo de cirugías y esta población reunían las condiciones para analizar la Hb, ya que incluía una amplia gama de características demográficas y de valores preoperatorios de Hb, una mayor tasa de pérdidas hemáticas importantes (según nuestros registros institucionales), y nos permitía emplear un método razonablemente fiable para medir las pérdidas hemáticas. A la luz de las diferencias que encontramos entre los tipos de cirugías (concretamente, en lo que respecta al parámetro UF), es probable que otros tipos de cirugías puedan presentar parámetros diferentes de los que nosotros estimamos. La laparotomía, así como otras cirugías abiertas, podrían conllevar un aclaramiento inter-compartimental diferente, desplazamientos de fluidos patológicos más acentuados y, en general, una cinética de fluidos más compleja. No obstante, aunque nuestro modelo no es por tanto extrapolable a otros tipos de cirugías, consideramos que aporta una perspectiva que podría ayudar a comprender e interpretar la Hb en otros escenarios. En segundo lugar, la infusión de fluidos no estuvo guiada por un protocolo. Aunque nuestro estudio no se diseñó para replicar la magnitud de las perturbaciones en la dinámica de fluidos de los montajes experimentales, la baja variabilidad en las tasas de infusión de dextrosa nos impidió encontrar diferencias en la cinética de las dos soluciones.

La evaluación de los modelos de pérdida de volumen sanguíneo y el modelo de pérdida de masa de hemoglobina reveló un sesgo de sobreestimación. En el caso del modelo de pérdida de masa de hemoglobina, este sesgo no estaba relacionado con el balance de fluidos, por lo que fue atribuido a una cuantificación incompleta de las pérdidas sanguíneas. A través del modelado de la Hb y del volumen

intravascular, se infirió que esta sobreestimación se explicaba mejor por los cambios en el volumen intravascular en el período postoperatorio que por un problema en la cuantificación de las pérdidas sanguíneas. Estos análisis y las simulaciones posteriores demostraron que, a pesar de mantener un balance de fluidos neutro, el volumen intravascular se expandía debido a la inhibición de la eliminación de líquidos.

En conclusión, los estudios abordados en esta tesis permitieron analizar la dinámica de la Hb en el periodo perioperatorio, así como las interacciones de la Hb con las pérdidas hemáticas y el volumen intravascular. Los análisis demostraron que las variaciones perioperatorias de la Hb eran explicadas de manera más sólida por la pérdida de la masa de hemoglobina que por la pérdida de volumen sanguíneo. Asimismo, se demostró que los cambios perioperatorios de la Hb debidos a cambios en el volumen intravascular eran mejor explicados por un modelo de dos compartimentos (intravascular y periférico) que tomaba en cuenta los efectos de la infusión de fluidos, la pérdida de fluido por sangrado, la distribución del fluido entre ambos compartimentos, y la eliminación por vía urinaria y extra-urinaria. El modelo que resultó de la integración de estos procesos y mecanismos permitió la simulación de distintas situaciones clínicas, las cuales sirvieron para demostrar el impacto de las pérdidas hemáticas y la infusión de fluidos sobre la Hb, y resaltar la importancia de considerar el contexto clínico y fisio(pato)lógico en la interpretación de los valores de la Hb en la práctica.

Existen áreas de investigación que podrían abordarse en futuros estudios. El estudio de los cambios del volumen intravascular debidos a la distribución patológica de fluidos podría mejorar la robustez y capacidad predictiva del modelo. Asimismo, el estudio en cirugías diferentes a que se incluyeron en los estudios, tales como cirugía abierta o cirugía cardiaca, podría ayudar a entender los mecanismos y procesos que gobiernan la Hb. Por último, sería interesante

aplicar el modelo desarrollado como una herramienta de apoyo clínico que ayude a interpretar y anticipar los cambios en la Hb, y estudiar si esta herramienta podría tener un impacto en las decisiones de transfusión y en los resultados del paciente.

9. Conclusiones

- i. La pérdida de volumen sanguíneo, como medida de cuantificación de las pérdidas hemáticas durante la cirugía, no se correlaciona significativamente con las variaciones perioperatorias de la concentración de hemoglobina, aun cuando se consideran diferentes modelos de relación.
- ii. La pérdida de masa de hemoglobina, como medida de cuantificación de las pérdidas hemáticas durante la cirugía, se correlaciona significativamente con las variaciones perioperatorias de la concentración de hemoglobina.
- iii. Las variaciones perioperatorias de la concentración de hemoglobina inducidas por los cambios en el volumen intravascular son explicadas de manera más sólida por un modelo que integra los efectos de la infusión de fluidos, la pérdida de fluidos por el sangrado, la distribución de fluidos entre el compartimento intravascular y un compartimento periférico, y la eliminación de fluidos.
- iv. El volumen intravascular en el periodo perioperatorio, estudiado a partir de los cambios en la concentración de hemoglobina, presenta una eliminación extra-urinaria, la cual podría representar la mayor parte de la eliminación de fluido durante este periodo.
- v. La eliminación total de fluidos, que incluye tanto la eliminación urinaria como la extra-urinaria, es inhibida en el periodo

postoperatorio. Esta inhibición podría ser influenciada por el tiempo transcurrido desde el fin de la cirugía y la edad del paciente.

- vi. El tipo de cirugía podría estar relacionada con la proporción de eliminación con respecto a la eliminación total de fluidos.
- vii. La pérdida de masa de hemoglobina determina la mayor parte de los cambios postoperatorios en la concentración de hemoglobina, mientras que los cambios en el volumen intravascular debidos a la infusión, distribución y eliminación de fluidos inducen variaciones menores, pero clínicamente relevantes.
- viii. Independientemente de las pérdidas hemáticas, los protocolos de fluidoterapia restrictiva y liberal podrían provocar un efecto de hemodilución al final de la cirugía, que podrían resultar en el valor más bajo de la concentración de hemoglobina durante el periodo perioperatorio. Este efecto sería más pronunciado en los casos de fluidoterapia liberal.

10. Bibliografía

1. Munoz M, Acheson AG, Bisbe E, Butcher A, Gomez-Ramirez S, Khalafallah AA, et al. An international consensus statement on the management of postoperative anaemia after major surgical procedures. *Anaesthesia*. 2018;73(11):1418-31.
2. Gomez-Ramirez S, Jerico C, Munoz M. Perioperative anemia: Prevalence, consequences and pathophysiology. *Transfus Apher Sci*. 2019;58(4):369-74.
3. Kougias P, Sharath S, Mi Z, Biswas K, Mills JL. Effect of Postoperative Permissive Anemia and Cardiovascular Risk Status on Outcomes After Major General and Vascular Surgery Operative Interventions. *Ann Surg*. 2019;270(4):602-11.
4. Turan A, Rivas E, Devereaux PJ, Bravo M, Mao G, Cohen B, et al. Association between postoperative haemoglobin concentrations and composite of non-fatal myocardial infarction and all-cause mortality in noncardiac surgical patients: post hoc analysis of the POISE-2 trial. *Br J Anaesth*. 2021;126(1):87-93.
5. Wanderer JP, Rathmell JP. Perioperative transfusion: a complicated story. *Anesthesiology*. 2015;122(1):A23.
6. Norgaard A, De Lichtenberg TH, Nielsen J, Johansson PI. Monitoring compliance with transfusion guidelines in hospital departments by electronic data capture. *Blood Transfus*. 2014;12(4):509-19.
7. Shander A, Javidroozi M, Ozawa S, Hare GM. What is really dangerous: anaemia or transfusion? *Br J Anaesth*. 2011;107 Suppl 1:i41-59.

8. Cata JP, Wang H, Gottumukkala V, Reuben J, Sessler DI. Inflammatory response, immunosuppression, and cancer recurrence after perioperative blood transfusions. *Br J Anaesth.* 2013;110(5):690-701.
9. Glance LG, Dick AW, Mukamel DB, Fleming FJ, Zollo RA, Wissler R, et al. Association between intraoperative blood transfusion and mortality and morbidity in patients undergoing noncardiac surgery. *Anesthesiology.* 2011;114(2):283-92.
10. Goel R, Patel EU, Cushing MM, Frank SM, Ness PM, Takemoto CM, et al. Association of Perioperative Red Blood Cell Transfusions With Venous Thromboembolism in a North American Registry. *JAMA Surg.* 2018;153(9):826-33.
11. Hollis RH, Singletary BA, McMurtrie JT, Graham LA, Richman JS, Holcomb CN, et al. Blood Transfusion and 30-Day Mortality in Patients With Coronary Artery Disease and Anemia Following Noncardiac Surgery. *JAMA Surg.* 2016;151(2):139-45.
12. Morris FJD, Fung YL, Craswell A, Chew MS. Outcomes following perioperative red blood cell transfusion in patients undergoing elective major abdominal surgery: a systematic review and meta-analysis. *Br J Anaesth.* 2023.
13. Murphy GJ, Reeves BC, Rogers CA, Rizvi SI, Culliford L, Angelini GD. Increased mortality, postoperative morbidity, and cost after red blood cell transfusion in patients having cardiac surgery. *Circulation.* 2007;116(22):2544-52.
14. Johnson DJ, Scott AV, Barodka VM, Park S, Wasey JO, Ness PM, et al. Morbidity and Mortality after High-dose Transfusion. *Anesthesiology.* 2016;124(2):387-95.

15. Clifford L, Jia Q, Subramanian A, Yadav H, Wilson GA, Murphy SP, et al. Characterizing the epidemiology of postoperative transfusion-related acute lung injury. *Anesthesiology*. 2015;122(1):12-20.
16. Clifford L, Jia Q, Yadav H, Subramanian A, Wilson GA, Murphy SP, et al. Characterizing the epidemiology of perioperative transfusion-associated circulatory overload. *Anesthesiology*. 2015;122(1):21-8.
17. The Joint Commission and the American Medical Association. Convened Physician Consortium for Performance Improvement. Proceedings from the National Summit on Overuse 2012.
18. Shander A, Hofmann A, Ozawa S, Theusinger OM, Gombotz H, Spahn DR. Activity-based costs of blood transfusions in surgical patients at four hospitals. *Transfusion*. 2010;50(4):753-65.
19. Anthes E. Evidence-based medicine: Save blood, save lives. *Nature*. 2015;520(7545):24-6.
20. Goodnough LT, Levy JH, Murphy MF. Concepts of blood transfusion in adults. *Lancet*. 2013;381(9880):1845-54.
21. Goodnough LT, Shander A. Patient blood management. *Anesthesiology*. 2012;116(6):1367-76.
22. Shander A, Hardy JF, Ozawa S, Farmer SL, Hofmann A, Frank SM, et al. A Global Definition of Patient Blood Management. *Anesth Analg*. 2022;135(3):476-88.
23. Shander A, Van Aken H, Colomina MJ, Gombotz H, Hofmann A, Krauspe R, et al. Patient blood management in Europe. *Br J Anaesth*. 2012;109(1):55-68.
24. American Society of Anesthesiologists Task Force on Perioperative Blood M. Practice guidelines for perioperative blood management: an updated report

by the American Society of Anesthesiologists Task Force on Perioperative Blood Management*. *Anesthesiology*. 2015;122(2):241-75.

25. Carson JL, Guyatt G, Heddle NM, Grossman BJ, Cohn CS, Fung MK, et al. Clinical Practice Guidelines From the AABB: Red Blood Cell Transfusion Thresholds and Storage. *JAMA*. 2016;316(19):2025-35.

26. Carson JL, Stanworth SJ, Guyatt G, Valentine S, Dennis J, Bakhtary S, et al. Red Blood Cell Transfusion: 2023 AABB International Guidelines. *JAMA*. 2023.

27. Liumbruno G, Bennardello F, Lattanzio A, Piccoli P, Rossetti G. Recommendations for the transfusion of red blood cells. *Blood Transfus*. 2009;7(1):49-64.

28. Clevenger B, Mallett SV, Klein AA, Richards T. Patient blood management to reduce surgical risk. *Br J Surg*. 2015;102(11):1325-37; discussion 4.

29. Goodnough LT, Panigrahi AK. Estimating Blood Loss. *Anesth Analg*. 2017;125(1):13-4.

30. Gross JB. Estimating allowable blood loss: corrected for dilution. *Anesthesiology*. 1983;58(3):277-80.

31. Hahn RG. Estimating allowable blood loss with correction for variations in blood volume. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica*. 1989;33(6):508-12.

32. Thurer RL, Castro JM, Javidroozi M, Burton K, Bernal NP. Accurate Measurement of Intraoperative Blood Loss Improves Prediction of Postoperative Hemoglobin Levels. *Journal of Anesthesia & Clinical Research*. 2017;08(07).

33. Guinn NR, Broomer BW, White W, Richardson W, Hill SE. Comparison of visually estimated blood loss with direct hemoglobin measurement in multilevel spine surgery. *Transfusion*. 2013;53(11):2790-4.

34. Lopez-Picado A, Albinarrate A, Barrachina B. Determination of Perioperative Blood Loss: Accuracy or Approximation? *Anesth Analg.* 2017;125(1):280-6.
35. Barrachina B, Lopez-Picado A, Remon M, Fondarella A, Iriarte I, Bastida R, et al. Tranexamic Acid Compared with Placebo for Reducing Total Blood Loss in Hip Replacement Surgery: A Randomized Clinical Trial. *Anesth Analg.* 2016;122(4):986-95.
36. Good L, Peterson E, Lisander B. Tranexamic acid decreases external blood loss but not hidden blood loss in total knee replacement. *Br J Anaesth.* 2003;90(5):596-9.
37. Rajesparan K, Biant LC, Ahmad M, Field RE. The effect of an intravenous bolus of tranexamic acid on blood loss in total hip replacement. *J Bone Joint Surg Br.* 2009;91(6):776-83.
38. Tzatzairis TK, Drosos GI, Kotsios SE, Ververidis AN, Vogiatzaki TD, Kazakos KI. Intravenous vs Topical Tranexamic Acid in Total Knee Arthroplasty Without Tourniquet Application: A Randomized Controlled Study. *J Arthroplasty.* 2016;31(11):2465-70.
39. Zufferey PJ, Lanoiselee J, Chapelle C, Borisov DB, Bien JY, Lambert P, et al. Intravenous Tranexamic Acid Bolus plus Infusion Is Not More Effective than a Single Bolus in Primary Hip Arthroplasty: A Randomized Controlled Trial. *Anesthesiology.* 2017;127(3):413-22.
40. Alshryda S, Mason J, Vaghela M, Sarda P, Nargol A, Maheswaran S, et al. Topical (intra-articular) tranexamic acid reduces blood loss and transfusion rates following total knee replacement: a randomized controlled trial (TRANX-K). *J Bone Joint Surg Am.* 2013;95(21):1961-8.

41. König G, Hamlin BR, Waters JH. Topical tranexamic acid reduces blood loss and transfusion rates in total hip and total knee arthroplasty. *J Arthroplasty*. 2013;28(9):1473-6.
42. Molloy DO, Archbold HA, Ogonda L, McConway J, Wilson RK, Beverland DE. Comparison of topical fibrin spray and tranexamic acid on blood loss after total knee replacement: a prospective, randomised controlled trial. *J Bone Joint Surg Br*. 2007;89(3):306-9.
43. North WT, Mehran N, Davis JJ, Silvertown CD, Weir RM, Laker MW. Topical vs Intravenous Tranexamic Acid in Primary Total Hip Arthroplasty: A Double-Blind, Randomized Controlled Trial. *J Arthroplasty*. 2016;31(5):1022-6.
44. Wong J, Abrishami A, El Beheiry H, Mahomed NN, Roderick Davey J, Gandhi R, et al. Topical application of tranexamic acid reduces postoperative blood loss in total knee arthroplasty: a randomized, controlled trial. *J Bone Joint Surg Am*. 2010;92(15):2503-13.
45. Kalairajah Y, Simpson D, Cossey AJ, Verrall GM, Spriggins AJ. Blood loss after total knee replacement: effects of computer-assisted surgery. *J Bone Joint Surg Br*. 2005;87(11):1480-2.
46. Li B, Wen Y, Wu H, Qian Q, Lin X, Zhao H. The effect of tourniquet use on hidden blood loss in total knee arthroplasty. *Int Orthop*. 2009;33(5):1263-8.
47. Schnurr C, Csecsei G, Eysel P, König DP. The effect of computer navigation on blood loss and transfusion rate in TKA. *Orthopedics*. 2010;33(7):474.
48. Tai TW, Chang CW, Lai KA, Lin CJ, Yang CY. Effects of tourniquet use on blood loss and soft-tissue damage in total knee arthroplasty: a randomized controlled trial. *J Bone Joint Surg Am*. 2012;94(24):2209-15.

49. Otto JM, Montgomery HE, Richards T. Haemoglobin concentration and mass as determinants of exercise performance and of surgical outcome. *Extrem Physiol Med.* 2013;2(1):33.
50. Otto JM, Plumb JOM, Wakeham D, Clissold E, Loughney L, Schmidt W, et al. Total haemoglobin mass, but not haemoglobin concentration, is associated with preoperative cardiopulmonary exercise testing-derived oxygen-consumption variables. *Br J Anaesth.* 2017;118(5):747-54.
51. Otto JM, Plumb JOM, Clissold E, Kumar SB, Wakeham DJ, Schmidt W, et al. Hemoglobin concentration, total hemoglobin mass and plasma volume in patients: implications for anemia. *Haematologica.* 2017;102(9):1477-85.
52. Shander A, Lobel GP, Javidroozi M. Anesthesia for Patients with Anemia. *Anesthesiol Clin.* 2016;34(4):711-30.
53. Soni N. Intraoperative transfusion, triggers and precision--an oxymoron. *Transfus Med.* 2008;18(4):209-10.
54. Valeri CR, Dennis RC, Ragno G, Macgregor H, Menzoian JO, Khuri SF. Limitations of the hematocrit level to assess the need for red blood cell transfusion in hypovolemic anemic patients. *Transfusion.* 2006;46(3):365-71.
55. Warkentin TE. Systematic underestimation of anemia severity in postoperative patients. *Transfusion.* 2006;46(3):317-8.
56. Grant MC, Whitman GJ, Savage WJ, Ness PM, Frank SM. Clinical predictors of postoperative hemoglobin drift. *Transfusion.* 2014;54(6):1460-8.
57. Hannon T. "Do you catch my drift?". *Transfusion.* 2014;54(6):1448-9.
58. Shander A, Roy RC. Postoperative Anemia: A Sign of Treatment Failure. *Anesth Analg.* 2016;122(6):1755-9.

59. Adamson J. Blood Volume and Plasma Protein Replacement Following Acute Blood Loss in Normal Man. *JAMA: The Journal of the American Medical Association*. 1968;205(9).
60. George TJ, Beaty CA, Kilic A, Haggerty KA, Frank SM, Savage WJ, Whitman GJ. Hemoglobin drift after cardiac surgery. *Ann Thorac Surg*. 2012;94(3):703-9.
61. Chaudhry YP, MacMahon A, Rao SS, Mekkawy KL, Toci GR, Oni JK, et al. Predictors and Outcomes of Postoperative Hemoglobin of <8 g/dL in Total Joint Arthroplasty. *J Bone Joint Surg Am*. 2022;104(2):166-71.
62. Ward CF, Meathe EA, Benumof JL, Trousdale F. A Computer Nomogram for Blood Loss Replacement. *Anesthesiology*. 1980;53(3 Suppl):S126-S.
63. Moore FD. Metabolic care of the surgical patient. *British Journal of Surgery*. 1960;47(204):455-.
64. Bourke DL, Smith TC. Estimating allowable hemodilution. *Anesthesiology*. 1974;41(6):609-12.
65. Meunier A, Petersson A, Good L, Berlin G. Validation of a haemoglobin dilution method for estimation of blood loss. *Vox Sang*. 2008;95(2):120-4.
66. Pearson TC, Guthrie DL, Simpson J, Chinn S, Barosi G, Ferrant A, et al. Interpretation of measured red cell mass and plasma volume in adults: Expert Panel on Radionuclides of the International Council for Standardization in Haematology. *Br J Haematol*. 1995;89(4):748-56.
67. Iijima T. Complexity of blood volume control system and its implications in perioperative fluid management. *J Anesth*. 2009;23(4):534-42.
68. Damen T, Reinsfelt B, Redfors B, Nygren A. Pressure-dependent changes in haematocrit and plasma volume during anaesthesia, a randomised clinical trial. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2016;60(5):560-8.

69. Drucker WR, Chadwick CD, Gann DS. Transcapillary refill in hemorrhage and shock. *Arch Surg.* 1981;116(10):1344-53.
70. Carey JS. Physiological hemodilution: interrelationships between hemodynamics and blood volume after acute blood loss. *Ann Surg.* 1973;178(1):87-94.
71. Strunden MS, Heckel K, Goetz AE, Reuter DA. Perioperative fluid and volume management: physiological basis, tools and strategies. *Ann Intensive Care.* 2011;1(1):2.
72. Daae LN, Halvorsen S, Mathisen PM, Mironska K. A comparison between haematological parameters in 'capillary' and venous blood from healthy adults. *Scand J Clin Lab Invest.* 1988;48(7):723-6.
73. Jones JG, Holland BM, Hudson IR, Wardrop CA. Total circulating red cells versus haematocrit as the primary descriptor of oxygen transport by the blood. *Br J Haematol.* 1990;76(2):288-94.
74. Pirkle JC, Jr., Gann DS. Restitution of blood volume after hemorrhage: mathematical description. *Am J Physiol.* 1975;228(3):821-7.
75. Lister J, McNeill IF, Marshall VC, Plzak LF, Jr., Dagher FJ, Moore FD. Transcapillary Refilling after Hemorrhage in Normal Man: Basal Rates and Volumes; Effect of Norepinephrine. *Ann Surg.* 1963;158(4):698-712.
76. Shibuya J, Bageant WE, Gonzalez P, Small FH, Albert SN. Comparison of Effect of Norepinephrine and Angiotensin on Blood Volume and Viscosity. *Anesthesiology.* 1964;25(1):109-.
77. Hahn RG. Volume kinetics for infusion fluids. *Anesthesiology.* 2010;113(2):470-81.
78. Hahn RG. Understanding volume kinetics. *Acta Anaesthesiol Scand.* 2020;64(5):570-8.

79. Holte K, Sharrock NE, Kehlet H. Pathophysiology and clinical implications of perioperative fluid excess. *Br J Anaesth*. 2002;89(4):622-32.
80. Chappell D, Jacob M, Hofmann-Kiefer K, Bruegger D, Rehm M, Conzen P, et al. Hydrocortisone preserves the vascular barrier by protecting the endothelial glycocalyx. *Anesthesiology*. 2007;107(5):776-84.
81. Sapolsky RM, Romero LM, Munck AU. How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. *Endocr Rev*. 2000;21(1):55-89.
82. Bessey PQ, Watters JM, Aoki TT, Wilmore DW. Combined hormonal infusion simulates the metabolic response to injury. *Ann Surg*. 1984;200(3):264-81.
83. Chappell D, Bruegger D, Potzel J, Jacob M, Brettner F, Vogeser M, et al. Hypervolemia increases release of atrial natriuretic peptide and shedding of the endothelial glycocalyx. *Crit Care*. 2014;18(5):538.
84. Kamp-Jensen M, Olesen KL, Bach V, Schutten HJ, Engquist A. Changes in serum electrolyte and atrial natriuretic peptide concentrations, acid-base and haemodynamic status after rapid infusion of isotonic saline and Ringer lactate solution in healthy volunteers. *Br J Anaesth*. 1990;64(5):606-10.
85. Biesma DH, Van de Wiel A, Beguin Y, Kraaijenhagen RJ, Marx JJ. Post-operative erythropoiesis is limited by the inflammatory effect of surgery on iron metabolism. *Eur J Clin Invest*. 1995;25(6):383-9.
86. Jaramillo S, Montane-Muntane M, Capitan D, Aguilar F, Vilaseca A, Blasi A, Navarro-Ripoll R. Agreement of surgical blood loss estimation methods. *Transfusion*. 2019;59(2):508-15.
87. Robinson CM, Dobson RJ. Anterior instability of the shoulder after trauma. *J Bone Joint Surg Br*. 2004;86(4):469-79.

88. Smith GH, Tsang J, Molyneux SG, White TO. The hidden blood loss after hip fracture. *Injury*. 2011;42(2):133-5.
89. Smorgick Y, Baker KC, Bachison CC, Herkowitz HN, Montgomery DM, Fischgrund JS. Hidden blood loss during posterior spine fusion surgery. *Spine J*. 2013;13(8):877-81.
90. Liu X, Zhang X, Chen Y, Wang Q, Jiang Y, Zeng B. Hidden blood loss after total hip arthroplasty. *J Arthroplasty*. 2011;26(7):1100-5 e1.
91. Foss NB, Kehlet H. Hidden blood loss after surgery for hip fracture. *J Bone Joint Surg Br*. 2006;88(8):1053-9.
92. Jaramillo S, Montane-Muntane M, Gambus PL, Capitan D, Navarro-Ripoll R, Blasi A. Perioperative blood loss: estimation of blood volume loss or haemoglobin mass loss? *Blood Transfus*. 2020;18(1):20-9.
93. Jaramillo S, Marco-Arino N, Montane-Muntane M, Blasi A, Navarro-Ripoll R, de Peray-Bruel C, et al. Mechanism-Based Modeling of Perioperative Variations in Hemoglobin Concentration in Patients Undergoing Laparoscopic Surgery. *Anesth Analg*. 2023.
94. Gombotz H, Rehak PH, Shander A, Hofmann A. The second Austrian benchmark study for blood use in elective surgery: results and practice change. *Transfusion*. 2014;54(10 Pt 2):2646-57.
95. Rosencher N, Kerckamp HE, Macheras G, Munuera LM, Menichella G, Barton DM, et al. Orthopedic Surgery Transfusion Hemoglobin European Overview (OSTHEO) study: blood management in elective knee and hip arthroplasty in Europe. *Transfusion*. 2003;43(4):459-69.
96. Yi JM, Bang JY, Choi B, Cho C, Lee YH, Lee EK, et al. Population-based volume kinetics of crystalloids and colloids in healthy volunteers. *Sci Rep*. 2019;9(1):18638.

97. Hahn RG, Nemme J. Volume kinetic analysis of fluid retention after induction of general anesthesia. *BMC Anesthesiol.* 2020;20(1):95.
98. Drobin D, Hahn RG. Kinetics of isotonic and hypertonic plasma volume expanders. *Anesthesiology.* 2002;96(6):1371-80.
99. Doherty M, Buggy DJ. Intraoperative fluids: how much is too much? *Br J Anaesth.* 2012;109(1):69-79.
100. Sear JW. Kidney dysfunction in the postoperative period. *Br J Anaesth.* 2005;95(1):20-32.
101. Norberg A, Brauer KI, Prough DS, Gabrielsson J, Hahn RG, Uchida T, et al. Volume turnover kinetics of fluid shifts after hemorrhage, fluid infusion, and the combination of hemorrhage and fluid infusion in sheep. *Anesthesiology.* 2005;102(5):985-94.
102. Drobin D, Hahn RG. Volume kinetics of Ringer's solution in hypovolemic volunteers. *Anesthesiology.* 1999;90(1):81-91.