

I SOSTITUTI ARTIFICIALI DEL SANGUE

DEFINIZIONI E SCOPI

I sostituti artificiali del sangue (SAS; oppure BS, dall'inglese Blood Substitutes) sono soluzioni che hanno le seguenti caratteristiche:

- a) rimangono a lungo (> 24h) nel letto circolatorio e contribuiscono ad espandere il volume del liquido circolante;
- b) trasportano ossigeno.

Lo scopo principale per il quale sono stati sviluppati è il trattamento dell'anemia postemorragica acuta; non sono indicati per il trattamento di anemie croniche, emofilia, leucemie, etc.

Hanno però trovato alcune indicazioni cliniche accessorie: preparazione alla radioterapia dei tumori, perfusione di organi ischemici in corso di infarto, perfusione di organi isolati in attesa di trapianto.

Appartengono a tre classi principali:

- 1) perfluorocarboni;
- 2) emoglobine modificate
- 3) emoglobine incapsulate in vescicole fosfolipidiche.

PERCHE' SOSTITUIRE IL SANGUE?

In linea di massima il sangue (o la sospensione di globuli rossi umani) rimane il miglior liquido da trasfondere al paziente che ha sofferto una grave emorragia; però:

- a) può trasportare malattie infettive (AIDS, epatite, etc.) e non può essere sterilizzato;
- b) richiede la tipizzazione immunologica rispetto ai gruppi AB0 e Rh;
- c) non può essere conservato a lungo, spec. se in condizioni non ottimali;
- d) non è sempre disponibile in quantità adeguata.

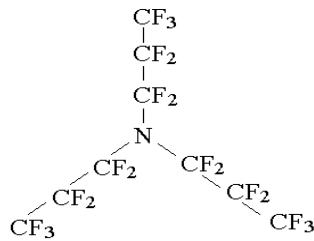
In pratica i sostituti del sangue, a parte le loro indicazioni accessorie, dovrebbero costituire una scorta di emergenza di soluzioni sterili, a lunga conservazione e ampiamente disponibili, da utilizzare per la medicina delle catastrofi naturali (o causate dall'uomo) nelle quali si devono trattare molti individui politraumatizzati in condizioni non ideali e rimandare il trattamento ideale (la trasfusione di globuli rossi) ad un secondo momento.

I PERFLUOROCARBONI

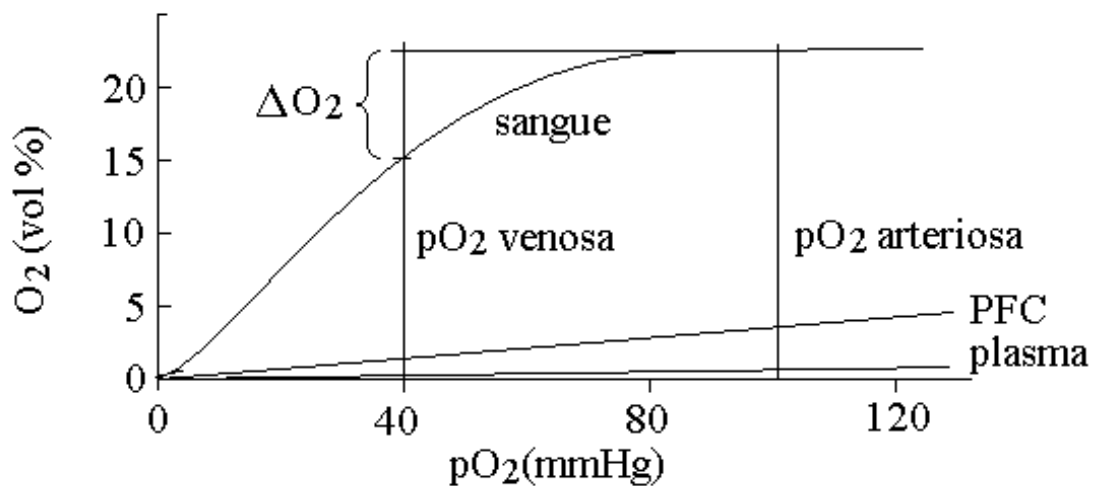
I perfluorocarboni sono idrocarburi fluorurati, totalmente estranei all'organismo, che possono essere infusi per via endovenosa nella forma di emulsioni con soluzione fisiologica (con o senza destrano come osmolita ad alto peso molecolare). Trasportano l'ossigeno nella forma di gas fisicamente disciolto e pertanto non sono saturabili. *In genere richiedono la somministrazione di aria arricchita di ossigeno e questo, alla lunga, risulta dannoso per l'epitelio polmonare.*

Poiché alcuni perfluorocarboni sono in uso da oltre quindici anni è disponibile una casistica relativamente estesa.

Questi composti sono eliminati in forma immodificata per via respiratoria, a causa della loro bassa tensione di vapor saturo, ed impartiscono all'alito un odore *sui generis*.



Perfluoro-tripropil amina (un esempio di PFC)



ALCUNI DATI DI RIFERIMENTO

Non è facile rendersi conto dell'enorme quantità di ossigeno trasportato dal sangue e della difficoltà implicita nel sostituirlo con soluzioni artificiali. La tabella che segue riporta alcuni parametri fisiologici di riferimento.

sostanza	concentrazione o pressione parziale
emoglobina (Hb)	14 g/dL (8,8 mM per eme o 2,2 mM per tetramero)
O ₂ arterioso	8,7 mM di cui 8,6 legato ad Hb (con saturazione SaO ₂ =98%)
pO ₂ arteriosa	95 mmHg
O ₂ venoso	6,7 mM, di cui 6,6 legato ad Hb (con saturazione SaO ₂ =75%)
pO ₂ venosa	40 mmHg
ΔO ₂ a-v	2,0 mM (ad una portata circolatoria di 5 L/min. si ha 10 mMoli O ₂ /min)

LE EMOGLOBINE MODIFICATE

Con un peso molecolare simile a quello dell'albumina, l'emoglobina potrebbe sembrare un plasma expander capace di trasportare ossigeno; purtroppo non è possibile utilizzare soluzioni di emoglobina per infusione endovenosa perché:

- 1) è rapidamente filtrata dal rene in quanto il tetramero con PM=64.000 dissocia in dimeri con PM=32.000 (l'emivita nel circolo è di circa 30 min.)
- 2) i contaminanti dell'emoglobina (essenzialmente frammenti delle membrane dei globuli rossi) filtrati dal rene causano necrosi tubulare acuta
- 3) l'infusione induce varie risposte tossiche (febbre, rashes)

- 4) l'affinità per l'ossigeno è troppo alta (nel globulo rosso è presente il 2,3 difosfo glicerato, una sostanza che si combina con l'emoglobina e ne diminuisce l'affinità per l'ossigeno)
- 5) la proteina induce una risposta ipertensiva dovuta a vasocostrizione periferica del microcircolo. La risposta ipertensiva potrebbe a prima vista sembrare benefica in un paziente che presenta shock ipovolemico, ma non è così, perché diminuisce il flusso capillare e quindi determina ipossia diffusa e danni ai tessuti. La risposta pressoria efficace è data dalla vasocostrizione del letto venoso di capacità, non da quella delle arteriole.

Il problema (1) può essere risolto mediante cross-linking dei due dimeri ab oppure mediante coniugazione con agenti che aumentano il volume della molecola (PEG, destrano). I problemi (2) e (3), una volta risolto (1) sono legati a contaminazione dai fosfolipidi di membrana dei globuli rossi e da ndotossine batteriche e si risolvono con tecniche di purificazione adeguate.

IPERTENSIONE DA EMOGLOBINA

L'ipertensione indotta dall'emoglobina è probabilmente dovuta all'interferenza con due meccanismi distinti di controllo della vasocostrizione delle arteriole precapillari:

- l'emoglobina si combina con lo NO e lo degrada nella reazione: $\text{HbO}_2 + \text{NO} \rightarrow \text{Hb}^+ + \text{NO}_3^-$; questo effetto sarebbe forse dovuto soprattutto ad emoglobina extravasata che si rova nel liquido interstiziale perivascolare
- l'emoglobina in soluzione rilascia ossigeno più rapidamente degli eritrociti (a causa della più alta velocità di diffusione della macromolecola rispetto alla cellula) e l'elevata pO₂ all'estremità arteriolare del capillare induce una risposta regolatoria di vasocostrizione.

Non è praticamente possibile impedire all'emoglobina di reagire con lo NO, però è possibile impedirle di extravasare (come si è visto prima); Hb che non può extravasare o mutanti sito-specifici che reagiscono più lentamente con lo NO danno minore vasocostrizione.

MODIFICAZIONI DELL'EMOGLOBINA

Allo scopo di evitare o ridurre gli effetti indesiderati elencati sopra, l'emoglobina da utilizzare per scopi trasfusionali viene modificata chimicamente (a partire da emoglobina umana preparata da sangue scaduto oppure da emoglobina bovina), oppure viene modificata enteicamente mediante mutagenesi sito-specifica e biosintetizzata in batteri, come si fa da tempo per l'insulina e altri ormoni.

Purtroppo:

- le modificazioni chimiche alterano le proprietà funzionali, spesso in modo indesiderato (ad esempio riducono la cooperatività, come nella figura qui sotto riportata)
- non è chiaro quali siano i requisiti ottimali di una soluzione di emoglobina da usarsi per scopi trasfusionali, quindi le modificazioni chimiche o genetiche sono effettuate "alla cieca".

