

SANGUE ARTIFICIAL

Eliete Bouskela

*Laboratório de Pesquisas em Microcirculação,
Universidade do Estado do Rio de Janeiro,
Rio de Janeiro, RJ, Brasil*

Marcos Intaglietta

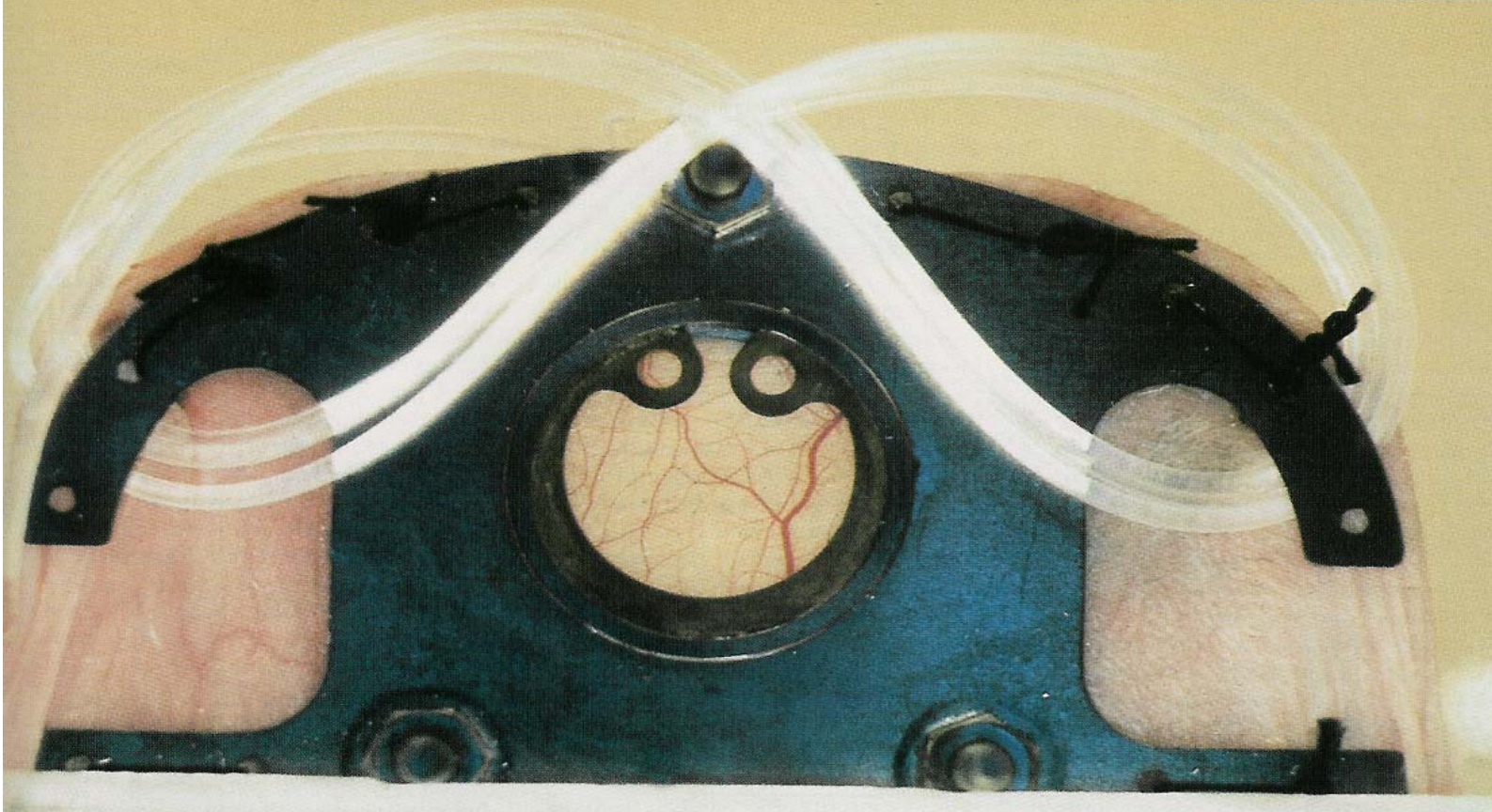
*Departamento de Bioengenharia, Universidade da
Califórnia, San Diego, CA, EUA.
Foto cedida pelos autores*

MAIOR SEGURANÇA NO TRATAMENTO EM EMERGÊNCIAS

O sangue é uma necessidade básica em cirurgia e no tratamento do trauma. Sua disponibilidade é um fator crítico para salvar pacientes quando há perdas de sangue graves. Seu uso, em condições ideais de assistência médica, é estimado como sendo de 1 unidade (500ml) por 20 pessoas por ano. Entretanto, as estatísticas da Organização Mundial de Saúde (OMS) indicam que no mundo o uso de sangue é de 1 unidade/100 pessoas/ano. A diferença entre a quantidade necessária e a disponibilidade é ainda aumentada pelos riscos inerentes ao sangue per se que vão desde 3% (3 reações adversas em cada 100 unidades transfundidas), com reações menores, até 0,001%, com reação hemolítica fatal. Superimpostos a estes riscos há a transmissão de doenças infecciosas como a hepatite B (0.002%) e da hepatite não-A e não-B (0.03%) e, nos países desenvolvidos, o risco de contrair Aids é de 1/400.000. Deve ser enfatizado que estes são os riscos para a transfusão de 1 unidade de sangue e que muitas intervenções cirúrgicas e/ou situações traumáticas necessitam de transfusões múltiplas, com um aumento proporcional de reações adversas. O risco de contaminação por transfusão de sangue fez com que o serviço militar americano investisse no desenvolvimento de substitutos de sangue a partir de 1985, para uso em campos de batalha, que fossem livres de doenças contagiosas e de fácil armazenamento. Com o final da guerra fria, diminuiu um pouco este interesse, mas ainda assim existem hoje cerca de 12 potenciais substitutos de sangue, sendo alguns em testes clínicos. Estes produtos restauram a volemia e oxigenam os tecidos, as duas principais funções do sangue. Entretanto, a maior parte destes produtos tem efeitos colaterais inesperados, sendo o principal o de causar hipertensão. Este efeito colateral indesejado parece ser devido à filosofia de desenvolvimento destes produtos que enfatizou os estudos sistêmicos para a determinação da eficácia e biocompatibilidade sem a análise do transporte ao nível da microcirculação, o sistema microscópico de vasos onde ocorrem os processos de troca. Os estudos da troca de O₂ na microcirculação só foram possíveis a partir de 1990, através da medida ótica de sua distribuição e troca nos vasos sanguíneos dez vezes mais finos que o fio de cabelo. Ao mesmo tempo ficamos sabendo do papel fundamental do fluxo do sangue nas células da parede interna destes vasos (célula endotelial) para a produção de substâncias que controlam o fluxo de sangue e sua troca, através da autorregulação. Os resultados obtidos para o transporte e os experimentos farmacológicos na microcirculação estão sendo usados em modelos da circulação para o desenvolvimento do sangue artificial.

HISTÓRIA MODERNA DA TRANSFUÇÃO DE SANGUE E DOS SUBSTITUTOS DE SANGUE

A necessidade da transfusão de sangue para restaurar a volemia em perdas sanguíneas graves foi reconhecida desde a descoberta da circulação. O primeiro fluido usado com este objetivo foi NaCl 0.9%, em 1875. O uso de sangue humano se tornou possível em 1900, quando as substâncias responsáveis pelas reações de incompatibilidade e hemólise foram descobertas com a consequente tipagem do sangue. A descoberta que o citrato de sódio previne a coagulação do sangue foi a etapa final para a introdução do uso da transfusão de sangue relativamente segura. O sistema de bancos de sangue foi desenvolvido durante a 2ª. Guerra Mundial. A adição de K⁺ e Ca⁺⁺ melhorou significativamente a eficácia da solução de NaCl 0.9% na manutenção da viabilidade do tecido e a adição final do lactato, que evita a alcalose, constitui o que chamamos de Ringer-lactato, que é a solução mais usada para restaurar a volemia. Este fluido é injetado em volumes que são cerca de três vezes o volume de sangue perdido, e a diluição das proteínas plasmáticas diminui a pressão osmótica do plasma causando edema. A vantagem das soluções cristalóides é que grandes volumes podem ser injetados em períodos curtos e o volume em excesso é rapidamente retirado da circulação pela diurese. O plasma sanguíneo (fluido onde as hemácias estão suspensas) e o soro (plasma sem os fatores de coagulação e as plaquetas) são melhores que as soluções cristalóides para a manutenção da viabilidade tecidual devido à pressão osmótica, cujo principal responsável é a albumina, peso molecular 69kDa. Em



1947, demonstrou-se que o plasma bovino poderia ser usado em pacientes desde que as globulinas fossem removidas. As dextranas, polissacarídeos de alto peso molecular (40-70kDa), podem ser usadas como substitutas coloidais da albumina. Seu uso causou o desenvolvimento da hemodiluição como meio de se restabelecer o volume de sangue, sendo que, atualmente, o hidroxietilamido é também usado com esta finalidade. Os perfluorocarbonos foram introduzidos na década de 60 e são polímeros com flúor, similares ao Teflon, que se ligam de maneira reversível ao O₂. São insolúveis em água e se dispersam em meio aquoso como emulsão. Dissolvem O₂ em uma relação linear com a pO₂ e em condições fisiológicas carregam cerca de 2 a 3 vezes a quantidade de O₂ que é carregada em solução pela água. Para comparação, o sangue arterial de uma pessoa respirando ar tem 20 vezes a quantidade de O₂ presente no mesmo volume de água (ou plasma). Assim, para que estes produtos oxigenassem os tecidos adequadamente, os pacientes teriam que respirar O₂ hiperbárico. A hemoglobina, presente nas hemácias, é uma proteína que se liga de maneira reversível ao O₂ e que tem alta capacidade carreadora de O₂. Entretanto, a hemoglobina pura não pode ser usada como carreadora de O₂ na circulação

porque se dissocia em dímeros que são tóxicos para os rins. Por outro lado, a hemoglobina é o único material biocompatível atualmente disponível que transporta O₂ nas quantidades necessárias para o metabolismo tecidual, e por isso modificações químicas da hemoglobina são usadas na formulação de expansores plasmáticos com capacidade carreadora de O₂ ou substitutos de sangue.

HEMODILUIÇÃO E SUBSTITUTOS DE SANGUE NÃO-CARREADORES DE O₂

Em geral, é possível sobreviver a perdas de hemácias da ordem de 70%, mas nossa habilidade para compensar perdas comparativamente menores da volemia é limitada. Uma diminuição de 30% da volemia pode levar ao choque irreversível se não for corrigida rapidamente. Como consequência, a manutenção da normovolemia é o objetivo da maioria das formas de reposição ou substituição de sangue, o que leva à diluição dos seus componentes originais. A hemodiluição causa efeitos sistêmicos e microcirculatórios e é um ponto de referência para a compreensão do comportamento de substitutos de sangue. Para reposição de volume com soluções não-carreadoras de O₂, os parâmetros mais importantes a serem considerados são viscosidade, ca-

Figura 1: A microcirculação, composta pelos menores vasos do sistema circulatório, onde ocorre a troca de O₂ entre o sangue e o tecido. Este sistema de tubos conecta artérias e veias e assegura que cada célula do organismo esteja situada dentro do campo de difusão para o O₂ proveniente da hemácia.

pacidade carreadora de O₂ e pressão osmótica da mistura de sangue + volume injetado. O objetivo final de qualquer mudança das propriedades do sangue é a oxigenação adequada do tecido, um fenômeno que ocorre a nível da microcirculação. Assim, a hemodiluição deve ser analisada não somente em termos de seus efeitos sistêmicos, mas também como estes, acoplados à composição alterada do sangue, influenciam a troca de O₂ na microcirculação. Uma característica importante do sangue é a sua viscosidade que é determinada pela concentração de hemácias ou pelo hematócrito. O sangue normal tem uma viscosidade aproximada de 4cp, enquanto que a viscosidade do plasma é de cerca de 1cp. A viscosidade do sangue é proporcional ao quadrado do hematócrito, e portanto pequenas mudanças na concentração de hemácias têm efeitos importantes na viscosidade do sangue. A diminuição da viscosidade por hemodiluição permite que o coração bombeie sangue em maiores volumes

sem aumentar seu gasto energético, uma vez que as necessidades metabólicas do coração, quando a pressão arterial é mantida, são iguais ao produto do débito cardíaco x viscosidade do sangue. Fisiologicamente, a diminuição da viscosidade do sangue aumenta a pressão venosa central e o retorno venoso, o que aumenta o débito cardíaco, com conseqüente aumento na velocidade do fluxo de sangue e da força de cisalhamento (shear rate) na parede vascular. A diminuição do hematócrito diminui a capacidade intrínseca de carrear O₂ do sangue, mas este efeito pode ser compensado pelo aumento da velocidade do sangue (devido à diminuição da viscosidade), que aumenta a taxa com que as hemácias chegam à microcirculação. Como conseqüência, a capacidade carreadora de O₂ sistêmica e ao nível capilar permanece próxima do normal até hematócritos de 25%. Isto explica por que o organismo tolera perdas de sangue que diminuem o número de hemácias a aproximadamente metade do seu valor original.

HEMODILUIÇÃO COM SUBSTITUTOS DE SANGUE BASE- ADOS EM HEMOGLOBINA

O limiar para transfusão aceito hoje é a concentração de hemoglobina menor que 7%, quando o organismo começa a ter risco de se tornar isquêmico. Assim, na maioria dos casos, a restauração da capacidade carreadora de O₂ é feita por hemodiluição. A formulação do fluido que restaura a oxigenação tecidual requer a compreensão dos princípios físicos envolvidos. A principal barreira para a saída de O₂ do vaso sanguíneo é a resistência à difusão tecidual que é uniforme e semelhante à que existe na água. Esta afirmativa é válida para a maioria dos tecidos moles incluindo a parede vascular. Quando este processo é analisado matematicamente é evidente que a viscosidade é o parâmetro mais importante a ser considerado em relação à molécula carreadora de O₂ na circulação. Vários substitutos de sangue contendo hemoglobina estão em testes clínicos. Eles podem ser classificados quanto à origem da hemoglobina (humana, animal ou bacteriana) e são capazes de oxigenar e manter as funções teciduais. Os problemas quanto à toxicidade e eficácia ainda não estão totalmente resolvidos e o efeito hipertensivo é o problema mais comum, grave princi-

palmente em trauma (o aumento da pressão arterial aumenta o sangramento e simultaneamente diminui a oxigenação tecidual). A toxicidade renal se deve à tendência que a molécula de hemoglobina tem de se fragmentar em subunidades (que pode ser resolvido usando a diáspirina como um agente que liga estas subunidades). Os produtos resultantes são a aa-hemoglobina do exército americano e a HemeAssist da Baxter Healthcare Inc. e ambos causam hipertensão. Um terceiro produto é o Hemolink, produzido pela Hemosol Ltda., que é a hemoglobina humana com ligação cruzada (para manutenção das subunidades) e polimerizada. Este produto está na fase II de testes clínicos no Canadá. Também se pode evitar a dissociação da hemoglobina por ligação cruzada entre os dímeros com glutaraldeído, o que foi feito pelo Lab. Northfield e o produto se chama PolyHeme, em testes clínicos com resultados ainda não divulgados. A hemoglobina bovina é usada por dois laboratórios: Biopure Inc. (Hemopure, hemoglobina polimerizada com glutaraldeído, aprovado para uso veterinário e também com efeito hipertensivo) e Enzon Inc. (peg-Hb, hemoglobina conjugada com polietilenoglicol, com viscosidade semelhante à do sangue). A hidratação da molécula de peg-Hg aumenta o seu diâmetro em 30 vezes, sua viscosidade e ao mesmo tempo a torna "invisível" ao sistema imunológico. Este produto tem uma vida média na circulação de cerca de 48h e não causa hipertensão. O laboratório Somatogen é responsável pela produção de um substituto de sangue com hemoglobina produzida por bactérias usando engenharia genética. Há problemas para produção em larga escala e para purificação. Os genes responsáveis pela produção da hemoglobina humana também foram usados em mamíferos transgênicos. É importante enfatizar que nenhum destes produtos foi desenvolvido com o objetivo de assegurar que a cinética de troca entre o sangue e o tecido, que ocorre na microcirculação, fosse preservada, o que só parece acontecer com o uso da peg-Hb.

O USO DE SANGUE ARTIFICIAL

A aplicação mais direta para o sangue artificial são as emergências devidas ao trauma. A média de perda de sangue nesses casos é cerca de 2,5 litros e a vítima necessita de reposição de (1) volume e (2) capacidade

carreadora de O₂. Os expansores plasmáticos são usados no tratamento inicial de perdas de sangue graves e depois é feita a transfusão de sangue após a chegada do paciente ao hospital, onde se realizam os testes de compatibilidade (apenas a parte inicial destes testes demora 15min). Assim, um carreador de O₂ universal que não necessite de testes de compatibilidade é de grande importância em emergências e reduz o seu custo. A perda aguda de sangue em trauma determina uma diminuição da oxigenação tecidual que não é remediada até que o paciente seja atendido no hospital e receba a transfusão de sangue, o que normalmente demora 1h. Neste período de tempo, chamado de "hora de ouro", o sangramento deve ser controlado e um aumento da pressão arterial pode ser perigoso porque aumentaria o sangramento. Atualmente, tenta-se restaurar a volemia, mas não necessariamente a pressão nestas situações. Como conseqüência, a maioria dos produtos desenvolvidos como substitutos de sangue não é ideal em emergência devido ao seu efeito hipertensivo. A maior parte dos produtos propostos como "sangue artificial" obtém a hemoglobina do sangue descartado (após 30 dias de armazenamento) e o uso de hemoglobina bovina pode ser uma opção se esta fonte for aceitável clinicamente.

RESUMO

O sangue artificial é necessário em cirurgia e trauma em condições onde não há disponibilidade de sangue natural. Este produto aumentará a segurança no tratamento de emergências. O progresso tem sido lento porque até recentemente não era possível estudar o transporte de O₂ ao nível da microcirculação, importante para o desenvolvimento de um produto adequado.

REFERÊNCIAS:

- Dodd, R.Y. "The risk of transfusion transmitted infection". N. Eng. J. Med. 327: 419-420, 1992.
- Intaglietta, M. "Whitaker Lecture 1996: Microcirculation, Biomedical Engineering and artificial blood". Ann. Biomed. Eng. 25: 593-603, 1997.
- Tuma, R.R., White J. V. and K. Messmer, eds. The Role of Hemodilution in Optimal Patient Care. Zuckeschwerdt Verlag GmbH, Munich, 1989.