

Instituto de Hematología e Inmunología

## SUSTITUTOS DE LA SANGRE

Dra. María Elena Alfonso Valdés

### RESUMEN

---

Los sustitutos de la sangre, muchos de ellos aún en desarrollo, pueden constituir en un futuro no muy lejano un importante medio terapéutico, capaz de sustituir el empleo de componentes de la sangre alogénica, lo que evadiría los riesgos que el empleo de estos entraña. Entre ellos se encuentran sustitutos de los eritrocitos, de las plaquetas y del plasma, obtenidos a partir de sangre humana, de animales transgénicos o por tecnología recombinante. En el presente trabajo se hace una breve descripción de cada uno de ellos y el estadio de desarrollo y aplicación clínica en que se encuentran. No se abordan en esta revisión los factores de crecimiento, también útiles al estimular el crecimiento y diferenciación de células hematopoyéticas.

*DeCS:* SUSTITUTOS SANGUINEOS/análisis; SUSTITUTOS DEL PLASMA/análisis.

---

La transfusión de sangre moderna es una medida terapéutica relativamente segura practicada universalmente. Sin embargo, en las últimas décadas existe un interés creciente en el desarrollo de sustitutos de la sangre que permitan evitar el uso de esta por los diferentes inconvenientes que ello supone, tales como:

- Los efectos adversos a la transfusión de sangre y sus componentes.
- La necesidad de su conservación a temperaturas controladas (4 °C, 22 °C, -20 °C) según el componente.
- La escasa vida media útil a pesar del empleo de nuevos nutrientes y aditivos.

- La necesidad de realizar tipificación del grupo sanguíneo, pesquisaje de Acs, pruebas de compatibilidad, etc.
- Objeciones culturales y religiosas en su empleo, como se observa en el caso de los testigos de Jehová.

El sustituto ideal será aquel capaz de brindar los mismos beneficios del componente natural, no transmitir agentes infecciosos, no producir efectos secundarios de envergadura, no provocar aloinmunización, no requerir pruebas de compatibilidad, ser estable a temperatura ambiente y permitir un almacenamiento fácil y prolongado.

## SUSTITUTOS DE SANGRE

Para su mejor comprensión los dividiremos en: sustitutos de los eritrocitos, sustitutos de las plaquetas y sustitutos del plasma.

### SUSTITUTOS DE LOS ERITROCITOS

Los 2 sustitutos de eritrocitos con los que se trabaja actualmente son:

1. Las soluciones de hemoglobina.
2. Las emulsiones e compuestos altamente fluorinados conocidos como perfluorocarbonos.

### SOLUCIONES DE HEMOGLOBINA

La hemoglobina (Hb) es una elección obvia como sustituta de la transfusión de eritrocitos al ser el pigmento respiratorio de los mismos. La primera infusión intravascular de Hb se realizó en 1916 por *Stellards y Minor*;<sup>1</sup> desde entonces se han hecho múltiples intentos para su empleo terapéutico.

Un aspecto importante en la preparación de las soluciones de Hb es su fuente de obtención. De forma ideal debe emplearse Hb humana y una fuente de esta pueden ser los eritrocitos caducos de los bancos de sangre; sin embargo, en los últimos años, con la optimización del almacenamiento, los medios de manipulación y conservación, se ha reducido el número de unidades caducas en los bancos de sangre y existe consecuentemente una disminución de esta fuente de obtención. Una fuente alternativa de obtención lo constituye el empleo de Hb de origen animal, fundamentalmente bovino.<sup>1</sup>

Cuando se transfunde un extracto de Hb, el estroma eritrocitario infundido actúa como un antígeno que puede combinarse

con los anticuerpos de receptor y causar coagulación intravascular diseminada (CID) y fallo renal. Cuando se remueve el estroma, la solución de Hb se convierte en un producto relativamente no tóxico.<sup>2</sup>

La vida media de la Hb libre de estroma es corta. La Hb libre permanece en la circulación solo de 2 a 4 horas. Fuera del eritrocito, la molécula tetramérica de Hb se disocia en dímeros y monómeros que se aclaran rápidamente en el riñón. La Hb también se une con proteínas del plasma como la haptoglobina y se aclara por células del sistema retículo endotelial.<sup>2</sup>

La Hb liberada de los eritrocitos pierde su habilidad para unir 2,3 DPG, el cual es esencial para una baja afinidad por el oxígeno, expresada por la  $P_{50}$  (presión parcial de oxígeno cuando la sangre está saturada al 50 %). Esto resulta en una inaceptable alta unión al oxígeno ( $P_{50} = 15$  mm de Hg), con una desviación a la izquierda de la curva de disociación del oxígeno. Una solución a este problema es la piridoxilación de la Hb con piridoxal-5 fosfato (análogo del 2,3-DPG), el cual reduce la afinidad por el oxígeno a los valores de la sangre normal)  $P_{50} = 26$  mm de Hg). Desafortunadamente, la Hb piridoxilada tiende a disociarse en fragmentos pequeños y se excreta por los riñones en pocas horas.<sup>1,2</sup>

Existen diferentes métodos para estabilizar la molécula de Hb en solución y alargar su vida media en la circulación, entre ellos: el uso de enlaces cruzados intramoleculares que estabilizan el tetrámero para prevenir la disociación; acoplarla covalentemente a polímeros como el polietilenglicol que produce un tetrámero conjugado; el empleo de enlaces cruzados intermoleculares (con glutaraldehído o rafinosa) los que producen un polímero de Hb de alto peso molecular y la obtención de una Hb piridoxilada y encapsulada dentro de una membrana lipídica (también

llamada eritrocitos sintéticos). Con el empleo de estos métodos se logra alargar la vida media intravascular de la solución de 15 a 30 horas.<sup>1,3</sup>

Las soluciones de Hb producen varios efectos tóxicos indeseados, tales como:<sup>1,3-7</sup>

- Nefrotoxicidad debida a la contaminación con detritus celulares, hierro y grupo hem libre.
- Efectos cardiovasculares. La molécula de Hb no modificada puede producir vasoconstricción, con el consiguiente aumento de la tensión arterial y disminución del gasto cardíaco. Este efecto se debe a que los tetrámeros de Hb extravasados se unen al óxido nítrico derivado del endotelio vascular e impiden su efecto vasodilatador.
- Otros efectos tóxicos potenciales son la generación de radicales tóxicos y el aumento del riesgo de infección, debido a la liberación de radicales de oxígeno y al hierro libre, respectivamente.

En los últimos 4 a 6 años se han desarrollado ensayos clínicos con algunas hemoglobinas modificadas comerciales (HemAssist™, Baxter, USA) y Hb humanas polimerizadas (PolyHem™, Northfield, USA; Hemolink, Hemosol). Estas preparaciones se han empleado en ensayos clínicos fase III en pacientes con pérdidas de sangre profusas por trauma o de origen quirúrgico. La primera de ellas fue abandonada debido a un aparente exceso de muertes en el grupo de estudio.<sup>3,8,9-11</sup>

*Hemoglobina encapsulada.*<sup>12,13</sup> Se produce rodeando la molécula de Hb con liposomas que comprenden tanto fosfolípidos no inmunogénicos como fosfolípidos y grasas neutras. Estos liposomas son vesículas esféricas cerradas con un medio intenso acuoso y una capa externa lipídica. Cuando además de la Hb se incluye 2,3 DPG en el medio interno, la afinidad por el

oxígeno disminuye a niveles similares a los observados en la Hb en el interior de los eritrocitos. A las pocas horas de su administración endovenosa, el 50 % de los liposomas se aclaran de la circulación por el sistema retículo endotelial del hígado y el bazo. La activación del complemento permanece como un problema en el uso de este tipo de Hb. El producto *Neo red cells* de la Terumo que incluye liposomas con Hb humana, DPG y catalasa, se encuentra actualmente en estudio preclínico.

*Hemoglobina humana recombinante.*<sup>1,8</sup> En los últimos años se han logrado significativos avances en la producción de hemoglobina humana recombinante empleando bacterias, levaduras o plantas modificadas genéticamente. La capacidad de unión al oxígeno de este tipo de Hb es similar al de la Hb humana normal y tiene las ventajas de no necesitar sangre humana o animal como fuente para su obtención, la no transmisión de agentes infecciosos y el suministro ilimitado.<sup>1</sup>

Más recientemente se está trabajando en la tecnología recombinante para la obtención de una Hb mutante con una afinidad alterada para el óxido nítrico, que evite los efectos transitorios pero indeseados de vasoconstricción e hipertensión.<sup>1</sup>

*Hemoglobina obtenida de animales transgénicos.*<sup>1,14,15</sup> Recientemente se está empleando la tecnología de ingeniería genética para la producción de animales transgénicos (ratas, cerdos) que puedan sintetizar Hb humana, lo que se logra a través de la introducción de genes de Hb humana en los huevos inmediatamente después de la fertilización. En estudios en cerdos transgénicos se ha observado que la Hb producida es estable y su producción se transmite a la próxima generación. A partir de la sangre del cerdo puede separarse la Hb humana de la animal de forma fácil por técnicas de cromatografía.

## EMULSIONES DE PERFLUOROCARBONOS

Los perfluorocarbonos son compuestos orgánicos en los que los átomos de hidrógeno se reemplazan con fluorine. Estos compuestos pueden disolver grandes volúmenes de gases respiratorios (por ejemplo entre el 40 y 70 % de oxígeno por unidad de volumen a 37 °C, cifras mayores que la sangre) con una relación lineal entre la tensión de oxígeno y la presión parcial, de acuerdo con la ley de Henry, lo que contrasta con la curva sigmoide de la sangre total y la Hb.<sup>1,2</sup>

Debido a su pequeña medida pueden emplearse para el transporte de oxígeno a regiones vasculares distales con oclusiones parciales, como en el infarto agudo del miocardio, la trombosis o las crisis de la anemia drepanocítica; también pueden emplearse para el transporte de oxígeno al interior de un tumor para aumentar el tratamiento subsecuente con radiaciones ionizantes.<sup>1,2</sup>

*Propiedades de los líquidos perfluorocarbonados.*<sup>1</sup>

- Líquidos claros.
- Inodoros.
- Química y biológicamente inertes.
- Alta solubilidad en gas.
- Alta densidad.
- Baja viscosidad.
- Baja tensión superficial.
- Radiopacos.
- Fácilmente esterilizables.

Debido a que son inmiscibles en sangre y agua, deben emulsificarse para su uso intravascular. Después de la infusión intravascular las gotas de la emulsión se remueven de la circulación y se retienen temporalmente por las células fagocíticas del sistema retículo endotelial y finalmente se excretan en la exhalación corporal. Los

fluorocarbonos con peso molecular en el rango de 460 a 520 tienen tiempos de retención tisular aceptables.

Las desventajas de los fluorocarbonos son:<sup>1,2</sup>

1. La necesidad de someter al paciente a un medio con alta concentración de oxígeno, lo que puede provocar toxicidad.
2. El bloqueo potencial del sistema retículo endotelial (este sistema es el que realiza su aclaramiento) y producir una subsecuente disminución del aclaramiento de agentes patógenos.

Las primeras emulsiones de perfluorocarbonos para uso clínico se desarrollaron a finales de la década de los 70 (Ej. Fluosol<sup>®</sup> producido por la Corporación de la Cruz Verde en Japón). En la década de los 80 se realizaron numerosos ensayos clínicos con este compuesto. Inicialmente estaba propuesto para el tratamiento de la anemia, pero no fue aprobado para estos fines debido a su pobre eficacia y su relativamente corta persistencia intravascular. Otra desventaja de la emulsión fue su inestabilidad a temperatura ambiente, por lo que se requería su inestabilidad a temperatura ambiente, por lo que se requería su conservación en congelación. En 1990 se aprobó su uso por la FDA en dosis restringidas en pacientes con alto riesgo para la oxigenación del lecho vascular coronario distal durante la angioplastia de balón. La emulsión mostró además capacidad para la perfusión de órganos para trasplante.<sup>1,16,17</sup>

Los avances más recientes en la producción de estos compuestos son: la producción de emulsiones más concentradas, las que en principio pueden transportar más oxígeno y el logro de la estabilidad de estos compuestos a temperatura ambiente. En algunos casos se ha indicado el uso de surfactantes fluorofílicos como

estabilizadores de la emulsión. Entre las emulsiones de concentrados de fluorocarbonos de segunda generación se encuentra el Oxigent™ producido por *Alliance Pharmaceutical Corporation*, San Diego. El Oxigent™ es una emulsión al 60 % de perflubron (molécula altamente lipofílica con una alta solubilidad de oxígeno). Es estable por un año a temperatura ambiente y esterilizable por vapor, rápidamente eliminada por el organismo y con una vida media de 4 días. Puede ser útil clínicamente como sustituto temporal de los eritrocitos.<sup>1</sup>

Otros usos de los fluorocarbonos fuera del campo de la medicina transfusional incluyen: el de agente de contraste en diagnósticos no invasivos debido a su radiopacidad, para la apertura de alvéolos colapsados por infiltrados en el tracto respiratorio en niños prematuros, como instrumentos en oftalmología para la manipulación retinal hidrocínética durante la cirugía oftalmológica postraumática.<sup>1,17,18</sup>

## SUSTITUTOS DE LAS PLAQUETAS

Un variado número de sustitutos de plaquetas está en desarrollo, entre ellos:

- Plaquetas congeladas-descongeladas y fijadas. Desarrolladas por el grupo de Bode, se ha observado que acortan el tiempo de sangramiento en el modelo de trombocitopenia en conejos de Blajchman<sup>19,20</sup> y su adherencia al subendotelio, pero no al endotelio.<sup>21</sup> Estos estudios han dado buenos resultados con el empleo de plaquetas frescas.
- Plaquetas liofilizadas.
- Membrana plaquetaria infundible. Compuesta por micropartículas plaquetarias procesadas con un bajo contenido en antígenos HLA, se puede obtener a partir de plaquetas vencidas. Al parecer,

para su acción requiere e la presencia de algunas plaquetas residuales en el paciente y que el producto actúa promoviendo la agregación de estas al sitio de daño. También acortan el tiempo de sangramiento en el modelo de Blajchman.

- Microesferas de albúmina.
- Eritrocitos recubiertos con fibrinógenos o péptidos derivados de fibrinógeno.
- Microesferas unidas a fibrinógeno.
- Liposomas con receptores plaquetarios.

En todos estos productos se requiere probar la ausencia de efectos potenciales de incremento de trombosis o formación de anticuerpos.

Algunos de estos productos actualmente en estudio en ensayos entre fase I y preclínicos son:<sup>12</sup>

- Plaquetas congeladas en DMSO (*Wayne State US Army and Navy*, fase I).
- Thrombosol: congeladas en DMSO (*Lifecell Corporation*, experiencia limitada).
- NeoRx: congeladas en glicoproteína anticongelante (*A/F Protein*, preclínico).
- Quadrocites: liofilizada (*Quadrant, Pall*, fase I).
- Cyplex:: membrana de plaquetaria infundible (*Cypress*, fase II).
- Thrombospheres: microesferas de albúmina + fibrinógeno (*Hemosphere*, preclínico).
- Synthocyte: microesferas de albúmina + fibrinógeno (*Andaris/Quadrant*, fase I/II).
- Thromboerythrocytes: liposoma + glicoproteína Ib/IX insertada (*Green Cross*, preclínica).

## SUSTITUTOS DE LOS PRODUCTOS DEL PLASMA

Los productos de fraccionamiento del plasma se agrupan convencionalmente

como: factores de la coagulación, inmunoglobulinas y albúminas.

Muchos factores de la coagulación están disponibles en la actualidad como productos recombinantes con licencia (factores VIII, IX, VIIa) o en ensayos clínicos (proteína C, antitripsina, inhibidor de C1 y antitrombina. La limitación en el empleo de estos radica en su costo aún alto.<sup>2,22,23</sup>

Del mismo modo se está trabajando en la obtención de diversos componentes plasmáticos en animales transgénicos, algunos de ellos se encuentran ya en ensayos preclínicos, entre ellos: antitripsina, factor IX, fibrinógeno, albúmina, antitrombina, anticuerpos monoclonales, factor estimulador de colonias granulocíticas, proteína C, alfa glucosidasa, inhibidor de la C1 esterasa. Las principales especies animales empleadas son: carneros, cabra, vacas, conejos y cerdos.<sup>8</sup>

Con el empleo de la tecnología recombinante es también posible mejorar la naturaleza de las proteínas obtenidas y reducir su susceptibilidad a la degradación, aumentar su vida media, reducir su inmunogenicidad o aumentar su productividad; algunos de estos productos ya existen, como por ejemplo el factor VIII carente del dominio B<sup>24</sup> y el activador del plasminógeno tisular con vida media prolongada.<sup>25</sup>

Los anticuerpos monoclonales ofrecen otra alternativa a los productos derivados del plasma para variadas indicaciones.<sup>2,26</sup> Existen varios productos con licencia, empleados

fundamentalmente en los campos del cáncer, el rechazo al trasplante y la trombosis. Entre estos también se pueden citar Acs monoclonales contra gérmenes infecciosos como el virus de la hepatitis B (*World patent* 94/11495, 1994), el CMV (*World patent* WO 94/16730, 1994), la varicella zóster (US patent 5,506,132,1994).

## COMENTARIOS

La eficacia de los sustitutos del plasma es indiscutible en la actualidad. Los sustitutos de eritrocitos y plaquetas por su parte se someten a ensayos clínicos que probarán su real eficacia. El tiempo de sobrevida en la circulación de los sustitutos de eritrocitos actualmente en uso es muy corto para poder sustituirlos en el tratamiento de las anemias crónicas. Estos preparados tienen un papel más promisorio en la solución de problemas a corto plazo, como la resucitación de urgencia, con la consiguiente transfusión de eritrocitos en las siguientes 24 horas.

Por otro lado, el transporte de oxígeno no es la única función de los eritrocitos, ya que ellos desempeñan un papel también importante en el transporte de dióxido de carbono y como medio tampón. Sin embargo, el valor de estos preparados es inobjetable, por lo que no existen dudas de que el desarrollo de estos constituye una prioridad del desarrollo de la medicina transfusional en los próximos años.

## SUMMARY

---

Blood substitutes, many of them still under development, may be in a near future an important therapeutic tool capable of substituting the use of allogeneic blood components, which will avoid the risk of using them. Among these blood substitutes, there are red cell, platelet and plasma substitutes obtained from human blood, blood of transgenic animals or by recombinant technology. A brief description of

each of them and of the stage of development and clinical application in which they are made. The growth factors, which are also useful on stimulating the growth and differentiation of hematopoietic cells are not approached in this review.

*Subject headings:* BLOOD SUBSTITUTES/analysis; PLASMA SUBSTITUTES/analysis.

---

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Contreras M. Editora. ABC of transfusion. 3<sup>rd</sup> ed. BMJ Books. Bristol K, 1998.
2. Mollison PL, Engelfriet CP, Contreras M, Editores. Blood transfusion in clinical Medicine. 10<sup>th</sup> ed. London: Blackwell Science LTD. 1997.
3. Ogden JE, MacDonald SL. Haemoglobin-based red cell substitutes:current status. Vox Sang 1995;69:302-8.
4. Vlahakes GJ, Lee R, Jacobs EE JRI. Hemodynamic effects and oxygen transport properties of a new blood substitute in a model of massive blood replacement. J Thoracic Cardiovasc Surg 1990;100:379-88.
5. Hess JR, Mc Donald VW, Brinkley WW. Systemic and pulmonary hypertension after resuscitation with cell-free hemoglobin. J Appl Physiol 1993;74:1769-78.
6. Savitzky JP, Doczi J, Black J. A clinical safety trial of stroma free hemoglobin. Clin Pharmacol Therapy 1978;23:73-80.
7. Langermans JAM, Bleeker WK. Haemoglobin-based blood substitutes and infection. Lancet 1995;345:863-4.
8. Prowse CV. Alternatives to standard blood transfusion: availability and promise. Transfus Med 1999;9:287-99.
9. Feola M, Simini J, Angelilloo R. Clinical trial of a hemoglobin based blood substitute in patients with sickle cell anemia. Surg Gynec Obstet 1992;174:379-86.
10. Blood weekly (1996) Issue of December 8<sup>th</sup>, p5-6CW. Henderson, USA.
11. Fratantoni JC. Points to consider on efficacy evaluation of hemoglobin and perfluorocarbon-based oxygen carriers. Transfusion 1994;34:712-3.
12. Boral LI, Henry JB. Transfusion medicine. In: Clinical diagnosis and management by laboratory methods. 9<sup>th</sup> ed. Philadelphia: WB Sanders, 1996:793-844.
13. Allen RW, Kahn RA, Baldassare JJ. Advances in the production of blood cell substitutes with alternate technologies. En: Wallas CH, Mc Carthy LJ, eds. New frontiers in Blood Banking. Arlington, Virginia, AABB, 1986:21-46.
14. Ryan TM, Townes TM, Reilly MP. Human sickle cell hemoglobin in transgenic mice. Science 1990;247:566-8.
15. Swanson ME, Martin MJ, O Donnell JK. Production of functional human hemoglobin in transgenic swine. Biotechnol 1992;10:557.
16. Mitsuno T, Ohyanagi H, Naito R. Clinical studies of a perfluorochemical whole blood substitute (Fluosol-DA). Ann Surg 1982;195:60-9.
17. Lustig R, Mcintosh-Lowe N, Roe C. Phase VII study of Fluosol-DA and 100 % oxygen as an adjuvant to radiation in the treatment of advanced squamous tumors of the head and neck. Int J Radiat Oncol Biol Physics 1988;16:1587-93.
18. Biro GP. Perfluorocarbon-based red blood cell substitutes. Transfus Med Rev 1943;7:84-95.
19. Blajchman AP, Lee DH. The thrombocytopenic rabbit bleeding model to evaluate the in vivo hemostatic properties of platelet and platelet substitutes. Transfus Med Rev 1997;11:95-105.
20. Lee DH, Blajchman MA. Novel platelets products and substitutes. Transfus Med Rev 1998;12:175-87.
21. Bode AP, Read MS, Reddick RL. Activation and adherence of lyophilised human platelets on canine vessel strips in Baumgartner perfusion chamber. J Lab Clin Med 1999;133:200-11.
22. Jones CE. Prospects for a recombinant albumin. J Am Blood Res Assoc 1996;4:108-11.
23. Peerlink K. Haemophilia A: inhibitors in haemorrhagic disorders and transfusion medicine. European School of Medicine. Machin SJ, Mannuc Conet L, Bilgirate, Italy, 1994:57-60.

24. Lind P, Larsson K, Spira J, Sydow-Backman MN, Almstedt A, Gray E, Sandberg H. Novel forms of B-domain-deleted recombinant factor VIII molecules. Construction and biochemical characterization. *Eur J Biochem* 1995;15:232(1):19-27.
25. Delgado C, Francis GE, Fisher D. The uses and properties of PEG-linked proteins. *Critical reviews in therapeutic drug carrier systems*. 1993;9:249-304.
26. Yap PL, Williams PE. Novel intravenous immunoglobulins and their applications. En: *Blood transfusion the impact of new technologies*. Marcela Contreras, ed. Ballieres Clinical Haematology 1990;3:423-49.

Recibido: 25 de noviembre del 2000. Aprobado: 6 de febrero del 2001.

Dra. *María Elena Alfonso Valdés*. Apartado 8070, CP 10800, Ciudad de La Habana, Cuba. Teléf.: (537)578268. Fax: (537)3348979. e-mail: mealfonso@hemato.sld.cu