

**EFFETS DE QUATRE DEXTRANS POLYANIONIQUES SUR LA  
COURBE DE DISSOCIATION  
ET SUR LA CAPACITE TRANSFUSIONNELLE  
DE L'OXYHÉMOGLOBINE (\*)**

**par P. MENU, P. LABRUDE, Q. T. NGUYEN, J. FLOQUET  
et C. VIGNERON**

*L'hémoglobine forme avec les sulfates de dextrans des complexes de poids moléculaires importants dont la courbe de dissociation est déplacée vers les p50 élevées. Quatre complexes ont été étudiés avec l'espoir qu'ils pourraient constituer une forme améliorée de solution d'hémoglobine présentant un temps de circulation plus prolongé et une meilleure cession d'oxygène.*

*Les macromolécules sont les dextrans 5000, 15000, 50000 persulfatés et un dextran 40000 à 10,8 % S préparé au laboratoire. Les complexes ont été définis par ultrafiltration et étudiés par enregistrement des courbes de dissociation.*

*Des exsanguinotransfusions totales ont été réalisées avec la solution d'hémoglobine non modifiée et ces quatre complexes chez des rats Wistar mâles. Aucun complexe hémoglobine- sulfate de dextran ne permet d'obtenir une survie comparable à celle observée avec l'hémoglobine seule.*

*Cependant, l'excrétion urinaire d'hémoglobine est fortement diminuée.*

**INTRODUCTION**

La solution d'hémoglobine, exempte de stromas, réunit plusieurs des critères requis d'un substitut du sang dont, en premier lieu, la capacité de transporter et libérer l'oxygène [1-2]. A côté d'avantages tels que l'absence de groupage, une faible viscosité et un faible risque anaphylactique, la vascularisation possible de tissus ischémiés, elle présente cependant plusieurs défauts dont les plus importants sont une p50 généralement faible (absence de 2-3 DPG) et une demi-vie courte.

Afin de pallier ce second inconvénient, de nombreux auteurs se sont dirigés vers un couplage covalent de l'hémoglobine à diverses macromolécules hémocompatibles. Pour réduire les dommages que subit l'hémoglobine quand on la fixe chimiquement sur une autre espèce macromoléculaire, on peut envisager de l'associer seulement au substrat par des forces de liaison secondaires telles que les interactions Van der Waals, les liaisons hydrogènes ou les ponts salins comme en réalisent le 2-3 DPG ou l'IHP par exemple. Assez récemment [3], Amiconi et coll. ont montré que l'héparine et le dextran 8000, substitués au maximum par des groupements sulfates (OSO<sub>3</sub> Na), se liaient fortement à l'hémoglobine. Dans ces ensembles, la forme T s'unit plus fortement au substrat que la forme R. La stabilisation de la forme réduite est responsable de l'importante diminution

**(\*) Manuscrit reçu le 6 juin 1984.**

de l'affinité pour l'oxygène que présente le complexe hémoglobine-macromolécule par rapport à la chromoprotéine libre.

En 1980, Chang et coll. [4] ont proposé l'emploi de dextrans carboxyméthylés comme substituts du plasma et constaté que leur rétention vasculaire est plus longue que celle des dextrans neutres.

On pouvait par conséquent envisager d'accroître le temps de circulation de l'hémoglobine en la complexant avec un substrat hydrophile, polyanionique à condition que le polyélectrolyte s'unisse de façon suffisamment forte à la chromoprotéine au *pH* physiologique compte tenu de son *pHi* égal à 7,0. Les sulfates de dextran étant susceptibles de répondre à cette condition, nous avons étudié quatre polymères différents par leur masse et leur sulfatation, sans dépasser « pour le support » une masse moléculaire moyenne de 50 000 daltons pour des raisons de toxicité. Les études physiques de complexation ont été réalisées par la technique d'ultrafiltration sur membrane microporeuse tandis que les propriétés physiologiques des complexes formés étaient déterminées par enregistrement des courbes de dissociation de l'hémoglobine.

L'efficacité transfusionnelle potentielle des complexes a été étudiée chez le rat. Kaplan et Murthy [5] ayant montré en 1975 que les solutions d'hémoglobine ne pouvaient assurer une cession suffisante d'oxygène aux tissus que lorsque l'hématocrite était très abaissé en raison de la compétition de l'hémoglobine des hématies résiduelles, dont la courbe de dissociation est souvent plus favorable, nous nous sommes adressés à une technique d'exsanguinotransfusion subtotale comme l'ont déjà fait de nombreux auteurs [6-9]. Ce traitement, bien que drastique, permet donc de mettre en relief le pouvoir réel de l'hémoglobine.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

### **Solutions et dextrans pour transfusion.**

La solution d'hémoglobine est préparée à partir de sang prélevé depuis 3 semaines. Les hématies séparées et lavées dans NaCl 0,15 M sont hémolysées à l'eau déminéralisée. Les stromas sont séparés par décantation de la solution d'hémoglobine après centrifugation à 25 000 g pendant 30 minutes à deux reprises. La solution est dialysée contre l'eau déminéralisée puis contre une solution de Tyrode (9) à + 4°C pendant 15 heures, centrifugée une nouvelle fois et filtrée sur membrane Millipore de porosité 0,22  $\mu$ . La concentration et le *pH* sont ajustés selon les essais effectués (70 g/l et 7,4  $\pm$  0,1 pour les exsanguinotransfusions).

Les dextrans polyanioniques sont les produits commerciaux 5000 et 15000 (Sigma), 50000 (Egic) et un sulfate de dextran 40000 synthétisé au laboratoire (ces poids moléculaires sont ceux avant substitution).

La sulfatation du dextran par le complexe acide chlorosulfonique-pyridine à 70°C conduit à un polysaccharide dans lequel certains groupes OH ont été substitués au maximum ou non par des groupes sulfate à des positions aléatoires.

La préparation préalable du complexe sulfatant est rendue délicate par la réactivité et la toxicité des produits. La pyridine résiduelle doit être soigneusement éliminée. La persulfatation conduit à une teneur en soufre de 17 %, soit une moyenne de 2,3 groupements sulfate par unité glucosidique [10]. Une sulfatation partielle a conduit à un sulfate de dextran 40 à 10,8 % de soufre (soit 0,8-0,9 sulfate par maillon).

### **Ultrafiltration et étude des complexes hémoglobine-sulfate de dextran.**

La technique d'ultrafiltration, qui permet de démontrer l'existence d'associations hémoglobine-polymère, d'évaluer la quantité nécessaire pour complexer totalement l'hémoglobine et de définir la stoechiométrie de l'ensemble formé a été réalisée dans une cellule Amicon 401 S (Amicon) de 400 ml, sous agitation et sous pression de 14 kPa, avec une solution d'hémoglobine à 1 g/l de pH 7,4 et des membranes Diaflo XM 300 (Amicon) traitées à l'hypochlorite de sodium pour permettre le passage de l'hémoglobine. On procède à des ajouts successifs de faibles volumes de solution concentrée de polymère. L'hémoglobine est dosée (méthode à la cyanméthémoglobine [11]) dans la solution (Co) et dans l'ultrafiltrat (Cu) ; Cp étant la concentration en polymère dans la solution retenue (il a été vérifié que le polymère n'ultrafiltre pas), Cu/Co et Cp/ Co étant les rapports de concentration d'hémoglobine, on trace la courbe  $100 \text{ Cu/Co} = f(\text{Cp/Co})$  dont l'extrapolation de la partie linéaire pour Cu/Co = 0 donne la valeur de Cp/Co qui correspond théoriquement à la complexation de toute l'hémoglobine contenue dans la cellule et indique le rapport massique hémoglobine-polymère à utiliser (fig. 1).

Pour les dextrans sulfatés à 17 %, la valeur Cp/Co est 0,030 à 0,040. Les valeurs Cp/Co ont permis d'estimer les caractéristiques des complexes obtenus avec les quatre dextrans sulfates étudiés.

L'effet des macromolécules sur les propriétés fonctionnelles de l'hémoglobine à 70 g/l et pH 7,4 = 0,1 a été étudié par enregistrement de la courbe de dissociation à 37 °C et PCO<sub>2</sub> 5,32 kPa (Hem-O-Scan Aminco) pour des concentrations allant de 5 à 50 groupements sulfates par molécule d'hémoglobine. Pour chaque courbe, la p50 ou PO<sub>2</sub>50 (pression de demi-saturation de l'hémoglobine) est déterminée et le nombre de Hill (pente de la droite obtenue après transformation logarithmique et exprimant la coopérativité entre les sous-unités de l'hémoglobine) est calculé.

Ces résultats ont permis de tracer des courbes représentant la variation de la p50 en fonction du nombre de sulfates à l'aide d'un calculateur 9810 A équipé d'une table traçante 9862 H Hewlett-Packard et du programme de calcul «model 10 Polynomial regression, Stat Pac II 4».

Des essais ont été effectués en parallèle avec la solution d'hémoglobine sans dextran ou comportant la même dose de dextran neutre.

Les mélanges administrés aux rats contiennent 30 mg de polymère pour 700 mg d'hémoglobine dans le cas des dextrans persulfatés, soit Cp/Co = 0,042, et 30 mg pour 300 mg avec le dextran 40-10,8 % S, soit Cp/Co = 0,10. Ces valeurs assurent la complexation de l'hémoglobine.

### **Echange transfusionnel.**

Les rats Wistar mâles de 200 ± 20 g (Cesal, 55 Vigneulles/Montmedy), non héparinés, sont anesthésiés au Nembutal (R) (voie intra-péritonéale, 0,15 ml 100 g) et placés en décubitus dorsal sur une table chauffante. La vessie est dégagée et cathétérisée pour le recueil des urines (volume, hémoglobinurie).

La veine jugulaire externe gauche et la carotide droite sont canulées en direction cardiaque. La solution d'échange transfusionnel est injectée en continu par voie jugulaire (pompe péristaltique P3 Pharmacia, 1 ml/mn) ; le sang carotidien total puis hémodilué est soustrait par le même moyen. Sur le trajet artériel hépariné, un système placé en

dérivation permet de mesurer ponctuellement la pression artérielle (Pressure transducer Narco) et de pratiquer des prélèvements artériels (examens : méthémoglobine par la méthode d'Evelyn et Malloy, saturation en oxyhémoglobine au moyen d'un Hemoxymètre OSM 2 Radiometer, osmolarité au moyen d'un osmomètre Roebbing-Bioblock Scientific, pH, p50). Un thermomètre rectal contrôle la température et une trachéotomie systématique facilite la ventilation et évite l'encombrement respiratoire. L'électrocardiogramme, le rythme respiratoire et le temps sont enregistrés (Physiograph, DMP 4B, Narco).

L'hématocrite est mesuré en début d'exsanguinotransfusion puis après 15 et 30 minutes de cet échange. Si le poids de l'animal est respecté, la valeur à 30 minutes est comprise entre 0,00 et 0,01. C'est à partir de ce moment qu'est compté la « survie » de l'animal.

En fin de manipulation, une ponction cardiaque et des prélèvements d'organes (encéphale, poumon, rein, foie) sont effectués. La dissection abdominale permet aussi d'apprécier visuellement si le perfusé est sorti du lit vasculaire et a envahi la cavité péritonéale.

Les examens des coupes ont été pratiqués, donnant un aperçu des perturbations qu'ont pu provoquer les solutions perfusées.

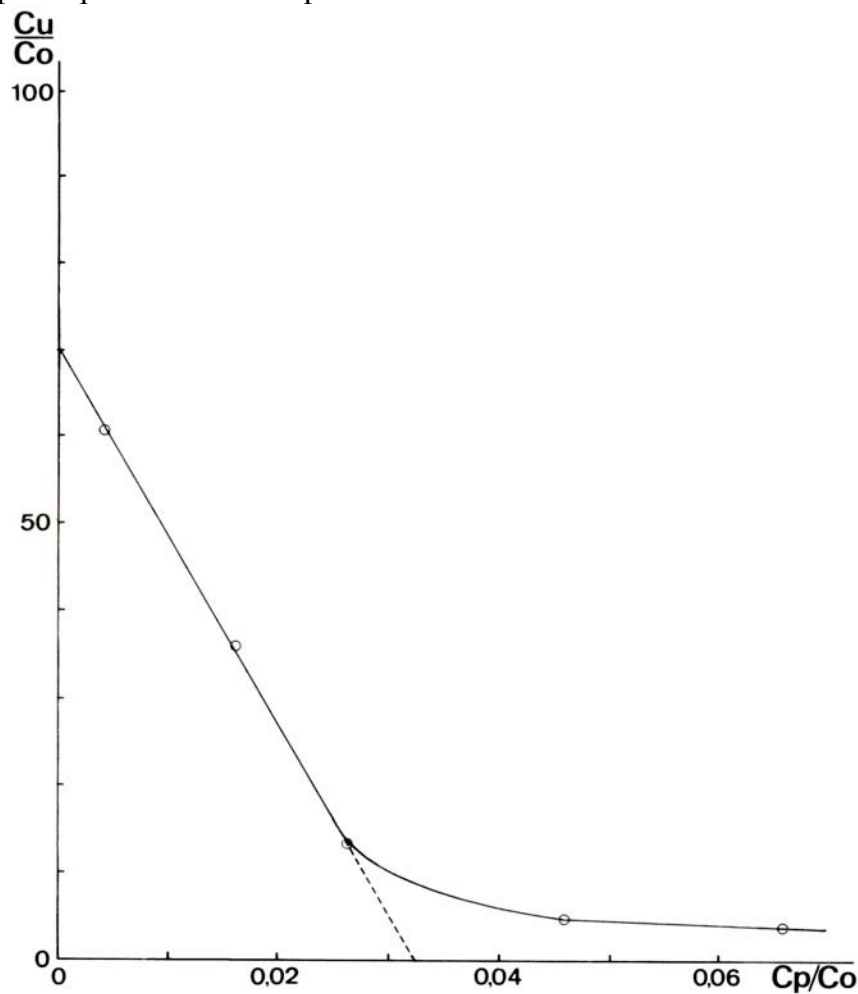


FIG. 1. — Courbe d'ultrafiltration du complexe hémoglobine-sulfate de dextran 50 000/17 % S à pH 7,4. L'hémoglobine est totalement complexée pour  $\frac{C_p}{C_o} = 0,032$ , soit 32 mg pour 1 000 mg d'hémoglobine.

Des exsanguinotransfusions «témoins» ont été réalisées avec la solution physiologique de Tyrode contenant ou non du dextran neutre ou sulfate. Elles permettent de connaître l'influence de chaque constituant sur la survie des animaux.

## RÉSULTATS

### Caractéristiques des complexes hémoglobine-sulfate de dextran.

L'allure toujours semblable des courbes d'ultrafiltration montre que la réaction n'est jamais complète (le pH physiologique n'est pas optimal) ni irréversible et que la rétention de l'hémoglobine n'est pas totale.

La « cassure » est d'autant plus proche des valeurs nulles de Cu/Co et de Cp/Co que le dextran est de plus grande masse et plus chargé et inversement. On constate (fig. 1) que, lorsqu'on ultrafiltre une solution d'hémoglobine contenant des quantités croissantes de polymère à travers une membrane qui laisse diffuser la protéine libre, la rétention de cette molécule augmente régulièrement par suite de la formation d'un complexe volumineux avec le polymère polyanionique, jusqu'à ce que ce dernier atteigne une certaine concentration. A ce seuil, la quantité de polymère correspond vraisemblablement à la saturation de l'hémoglobine et elle est d'autant plus faible que le polymère est plus actif vis-à-vis de la chromoprotéine. Nous avons vérifié que le colmatage et la polarisation de la membrane n'influaient que peu sur les résultats.

La stoechiométrie estimée des réactions de complexation de l'hémoglobine par les 4 sulfates de dextrans étudiés est rapportée dans le tableau 1. Les calculs sont effectués à partir des diagrammes d'ultrafiltration et, compte tenu du poids moléculaire de l'hémoglobine (64 500 daltons), de celui du maillon glucose (162 daltons) et de celui du groupement sulfonate sodique (119 daltons).

TABLEAU I

### Composition estimée des complexes hémoglobine-sulfate de dextran étudiés.

Sulfate de dextran	50-17 %	40-10.8 %	15-17 %	5-17 %
Poids moléculaire moyen du dextran .....	50 000	40 000	15 000	5 000
Nombre de maillons glucose .....	309	247	97	31
Nombre de groupe OSO <sub>3</sub> Na par maillon glucose .....	2,3	0,85	2,3	2,3
Poids moléculaire moyen estimé du polyanion .....	134 000	65 000	40 000	13 000
Cp/Co .....	0,031	0,048	0,031	0,032
Poids moléculaire moyen estimé du complexe .....	4 300 000	1 300 000	1 300 000	400 000
Nombre de molécules d'hémoglobine par complexe .....	65	20	20	6
Nombre de groupe OSO <sub>3</sub> Na par sulfate de dextran .....	710	210	214	71
Nombre de groupe anionique par hémoglobine .....	11	10	11	12

Les p50 et nombres de Hill obtenus en présence des dextrans neutres ne sont pas statistiquement différents de ceux obtenus avec l'hémoglobine seule (test *t*). Les valeurs moyennes sont : p50 = 21,7 torr, *n* de Hill = 2,98 ; (*n* = 8).

En présence des sulfates de dextrans, la p50 augmente avec l'accroissement du rapport sulfate/hémoglobine tandis que les nombres de Hill décroissent jusqu'à 2, ce qui est conforme à la théorie.

Pour les rapports étudiés, l'ordre décroissant des p50 des complexes est toujours le même, d'abord celui obtenu avec le dextran 15, puis celui du dextran 5, enfin celui du dextran 50. Pour le dextran 40 à 10,8 % de soufre, la p50 est proche de celle obtenue avec le dextran 50 (fig. 2).

Les différences observées pour la p50 et le nombre de Hill sont statistiquement significatives ( $p < 0,001$ ) entre la solution d'hémoglobine et les 4 complexes hémoglobine-sulfates de dextrans.

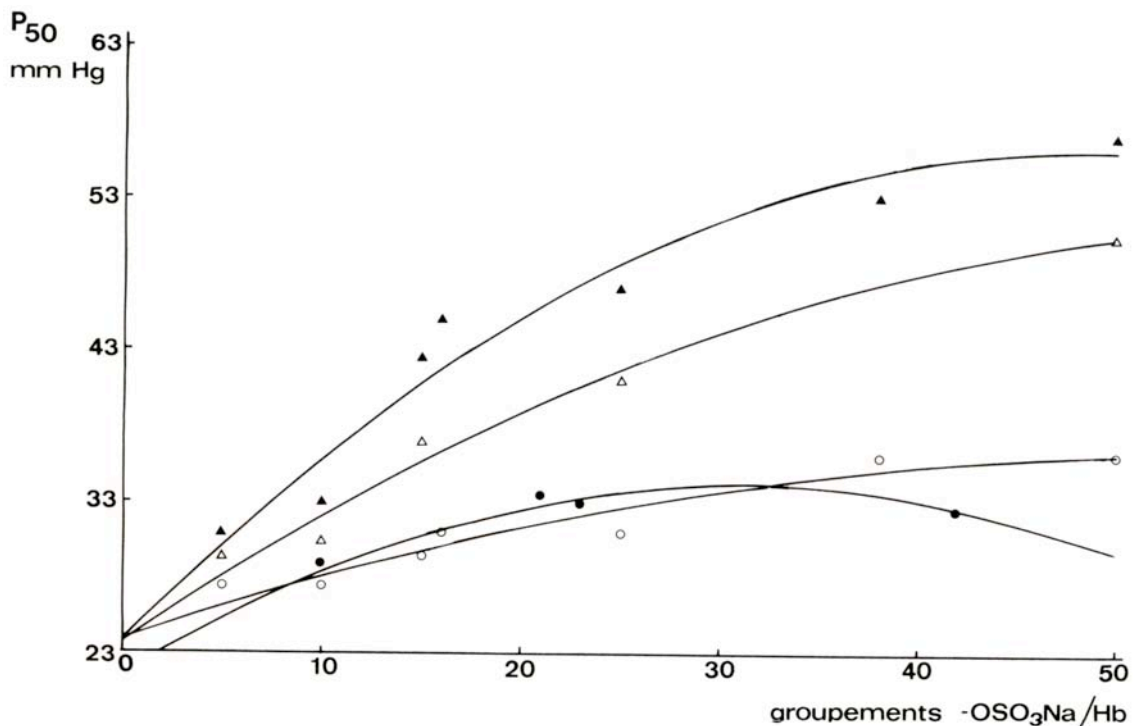


Fig. 2. — Augmentation de la p50 de l'hémoglobine en fonction du nombre de groupement sulfate par molécule d'hémoglobine. Courbes de régression du second degré avec le dextran 15 (▲,  $r^2 = 0,97$ ), dextran 5 (Δ  $r^2 = 0,98$ ), dextran 50 (O,  $r^2 = 0,94$ ) et dextran 40 (•,  $r^2 = 0,93$ ).

### Echange transfusionnel

Les caractéristiques des solutions et la survie des animaux sont rassemblées dans le tableau II.

Avec les solutions qui ne contiennent que de l'oxygène dissous (Tyrode/dextrans), la mort des animaux survient avant la fin de l'exsanguinotransfusion.

La solution d'hémoglobine permet d'atteindre l'hématocrite nul et une survie proche de 2 heures tandis que l'association hémoglobine-dextran 40 n'apporte aucun avantage par rapport à l'hémoglobine seule (non significatif) et qu'aucun complexe solution

d'hémoglobine-sulfate de dextran étudié ne permet d'obtenir un résultat comparable à l'injection d'hémoglobine seule.

La comparaison des moyennes (test *t*) montre une différence très significative ( $p < 0,001$ ) entre la solution d'hémoglobine et les complexes hémoglobine-sulfate de dextran 50, 40 et 15, mais peu significative avec le dextran 5 ( $p < 0,05$ ). Les survies obtenues avec les différents complexes hémoglobine-sulfates de dextrans ne diffèrent pas significativement entre elles.

L'étude des prélèvements urinaires fait apparaître une très forte hémoglobinurie avec la solution d'hémoglobine (tableau II). Ce paramètre est très fortement diminué si l'hémoglobine se trouve associée à des dextrans sulfatés ou non.

TABLEAU II

**Propriétés physiologiques des solutions d'hémoglobine et temps de survie des rats après exsanguinotransfusion (valeurs moyennes).**

Solution étudiée	n	pH	p50	Nombre de Hill	Survie de animaux (mn)			Hémoglobinurie *
					n	m	$\sigma$	
Hb .....	14	7,37	23,1	2,94	7	125	26	28
Hb + dextran 40 .....	2	7,35	22,2	2,98	9	112	68	0,12
Hb + sulfate de dextran .....								
50-17 % .....	5	7,41	30,6	2,27	5	12	10	0,27
15-17 % .....	7	7,39	47,7	2,06	5	31	23	0,06
5-17 % .....	5	7,41	41,9	2,27	5	78	40	0,70
40-10,8 % .....	6	7,32	33,8	2,24	5	30	16	—
Tyrode ou Tyrode dextran ou Tyrode sulfate de dextran .....	—	—	—	—	11	Mort avant hématurie nul		—

\* L'hémoglobinurie est définie comme  $\frac{\mu\text{mol Hb/l} \times \text{volume urinaire}}{\text{temps de survie} \times 1\,000}$

Les trois paramètres : électrocardiogramme, respiration et pression artérielle présentent des variations similaires tout au long de l'expérience.

Dans tous les cas, on constate que :

- le rythme de l'E.C.G. est soutenu en début de survie ; il diminue progressivement en fin d'expérience. L'amplitude augmente alors et les tracés témoignent d'une insuffisance ventriculaire droite, d'une asphyxie et souvent d'une souffrance musculaire ;
- le rythme soutenu de la respiration en fin d'échange se caractérise à la mort des animaux par des inspirations forcées de fréquences très faibles, entrecoupées de respirations abdominales de très faible amplitude mais de fréquences assez importantes ;
- le rythme de la pression artérielle fléchit progressivement pour s'identifier à une ligne à peine ondulée.

Aucune de ces constatations n'est caractéristique d'un type de solution. Les coupes de cerveau et de foie ne révèlent aucune anomalie importante ; celles des poumons témoignent d'une ventilation assez régulière pour la solution d'hémoglobine à 70 g/l et

la présence d'infiltrats lymphocytaires ou polynucléaires ; pour la solution d'hémoglobine associée au dextran 40, une bonne ventilation et la présence d'œdèmes parenchymateux ; pour celle associée aux sulfates de dextrans, une ventilation plus ou moins régulière et la présence d'œdèmes périvasculaires et intralobulaires. L'examen des coupes de rein fait ressortir une congestion ou une dilatation des vaisseaux et la présence de cylindres acidophile — qui pourrait être de l'hémoglobine dénaturée — concentrés dans les chambres glomérulaires, dans certains tubes contournés ainsi que dans certains vaisseaux ou dans la lumière rénale. Compte tenu de la courte durée des essais, ce sont donc les poumons et les reins qui subissent les dommages les plus importants.

## DISCUSSION - CONCLUSION

L'idée directrice du travail était de tenter d'améliorer, en une seule opération, deux défauts de la solution d'hémoglobine : l'accroissement de la taille et celui de la p50 de l'oxyhémoglobine pouvaient augmenter sa demi-vie vasculaire et sa capacité de libération d'oxygène aux tissus. Malgré leurs inconvénients (propriétés anticoagulantes dues à la présence des groupements sulfoniques, effets sur les protéines et les éléments figurés du sang), les propriétés de complexation [3] des sulfates de dextrans nous semblaient justifier une étude *in vivo*. On sait depuis Walton [12] qu'il convient d'éviter les dextrans de poids moléculaires élevés, qu'une masse moléculaire de 7 500 n'est ni plus toxique, ni plus anticoagulante que l'héparine et que cette toxicité, qui requiert des doses massives, s'exerce sur des éléments circulants. Compte tenu de ces observations, il nous semblait que les quantités de sulfate de dextran effectivement présentes dans le lit vasculaire des animaux exsanguinotransfusés, et donc sans protéines ni éléments figurés et non héparinés, pouvaient être considérées comme infratoxiques.

Les essais *in vitro* mettent en évidence la formation et la présence des complexes entre l'hémoglobine et les dextrans polyanioniques. Il n'est pas étonnant que l'activité complexante des polymères soit en relation avec leur masse moléculaire et l'importance de leur substitution. Il apparaît en revanche qu'à sulfatation égale, l'effet sur la courbe de dissociation n'est pas directement en rapport avec la masse moléculaire. Les résultats établissent cependant qu'une augmentation plus importante de p50 est réalisée avec des dextrans de petite masse. L'alourdissement du polymère n'est donc pas utile, en dehors même de la question de la toxicité.

Les exsanguinotransfusions des rats apportent des renseignements de plusieurs ordres sur les solutions injectées. Des résultats obtenus avec les solutions salines qui sont des témoins confirment ceux obtenus par de Venuto et coll. [7] avec la sérum-albumine, Moss et coll. [6] avec le dextran 75 et Humphries et coll. [9] avec les solutions salines. La solution d'hémoglobine se révèle beaucoup plus efficace à hémocrite nul et la survie peut être rapportée à l'apport d'oxygène qu'elle permet.

Il faut relever ici l'importance de l'hématocrite final des animaux. En effet, de Venuto et coll. [7] observent une survie de 5 heures chez le rat à hémocrite 3-4 alors que nos animaux ne survivent que 2 heures à hémocrite inférieur ou égal à 1. Ceci correspond d'ailleurs aux observations de Moss et coll. [6] chez le babouin et de Fedorov et coll. [8] chez le chat.

Notre hypothèse que la complexation de l'hémoglobine pourrait améliorer sa capacité transfusionnelle et la survie des animaux se trouve infirmée. Les moyennes des survies



obtenues indiquent que le dextran le plus « léger » est aussi le moins mauvais, mais la grande dispersion des valeurs rend la comparaison statistique non significative ou dépourvue de sens.

Il faut remarquer que l'amélioration de la survie moyenne en fonction du poids moléculaire varie dans le même sens pour nos dextrans sulfatés et pour les dextrans neutres de Humphries et coll. [9]. Quoi qu'il en soit, les solutions de complexes d'hémoglobine étudiés n'assurent que des survies inférieures à celle de l'hémoglobine seule.

A l'opposé, toutes les macromolécules utilisées permettent une meilleure rétention rénale de la solution perfusée. L'hémoglobine complexée doit présenter un « encombrement » tel qu'elle ne filtre plus par le glomérule. L'hémoglobulinurie n'est observée qu'au cours de l'échange et en début de survie. Elle pourrait correspondre à de l'hémoglobine libérée *in vivo* par décomplexation.

La cause de la mort des animaux n'est pas évidente ; une perturbation de la fonction respiratoire est à mettre en cause. Compte tenu des résultats peu prometteurs obtenus et du peu d'informations apportées par les examens anatomopathologiques — les perturbations organiques n'ayant pas eu le temps de s'exprimer en raison des survies très brèves —, nous n'avons pas cherché à comprendre la létalité de manière plus approfondie. Les complexes peuvent être instables *in vivo* et libérer des produits toxiques ; la toxicité pourrait être due au sulfate de dextran lui-même.

Un autre facteur tient sans doute au poids moléculaire élevé des complexes selon nos estimations, même pour le dextran le plus « léger ».

En raison de l'intérêt des résultats observés *in vitro*, des essais pourraient être envisagés avec des dextrans de masse moyenne encore plus faible et très faiblement substitués ou avec d'autres macromolécules hémocompatibles peu « chargées » négativement, mais qui, d'après nous, ne pourraient être des carboxyméthyl dextrans dont les interactions avec l'hémoglobine nous sont apparues insuffisamment fortes (résultats non publiés).

*Laboratoire de chimie hématologique,*  
Centre régional de transfusion sanguine et d'hématologie,  
avenue de Bourgoigne, 54500 Vandœuvre-les-Nancy  
et *Laboratoire d'hématologie et physiologie,*  
Faculté des sciences pharmaceutiques et biologiques,  
B.P. 403, 54001 Nancy Cedex.

*Laboratoire de chimie physique macromoléculaire,*  
Ecole nationale supérieure des industries chimiques,  
1, rue Grandville, 54000 Nancy.

*Laboratoire d'anatomie pathologique,*  
Centre hospitalier universitaire de Nancy-Brabois,  
route de Neufchâteau, 54500 Vandœuvre-les-Nancy.

## BIBLIOGRAPHIE

1. De VENUTO (F.), FRIEDMAN (H. I.), NEVILLE (J. R.) and PECK (C. C.). — Appraisal of hemoglobin solution as a blood substitute. *Surg. Gynecol. Obstet.*, 1979, **149**, 417-436.
2. BALDWIN (J. E.) and GILL (B.). — Approaches to the preparation of oxygen carriers for use as blood substitute. *Med. Lab. Sci.*, 1982, **39**, 41-51.

3. AMICONI (G.), ZOLLA (L.), VECCHINI (P.), BRUNORI (M.) and ANTONINI (E.). – The effect of macromolecular polyanions on the functional properties of human hemoglobin. *Eur. J. Biochem.* 1977, **76**, 339-343.
4. CHANG (R.L.S.), CRAWFORD (M. P.) and WEST (M. D.). – An assessment on the potential use of anionic dextrans as a plasma substitute. *J. Biomed. Eng.* 1980, **2**, 41-44.
5. KAPLAN (H. R.) and MURTHY (V. S.). – Hemoglobin solution: a potential oxygen transporting plasma volume expander. *Fed. Proc.*, 1975, **34**, 1461-1465.
6. MOSS (G. S.), DE WOSKIN (R.), MICHUDA (M.), ROSEN (A. L.) and PALANI (C. K.). – Oxygen transport with a stroma-free hemoglobin solution in primates. *J. Med. Primatol.*, 1975, **4**, 354.
7. DE VENUTO (F.), MOORES (W. Y.), ZEGNA (A. L.) and ZUCK (T. F.). – Total and partial blood exchange in the rat with hemoglobin prepared by crystallization. *Transfusion*, 1977, **17**, 555-562.
8. FEDOROV (N. A.), YAROCHKIN (V. S.) and KOZINER (V. B.). – Gas exchange and hemodynamics during complete substitution with the purified hemoglobin solution. *Bull. Exp. Biol. Med.*, 1977, **83**, 402-405.
9. HUMPHRIES (R.G.), KILLINGBACK (P.G.), MANN (J.), SEMPIK (J.) and WILSON (J.). – Exchange transfusion with dextran-haemoglobin, haemoglobin and dextran solutions in anaesthetized cats. *Brit. J. Pharmacol.*, 1981, **74**, 266 P.
10. Pharmacia Dextran fraction, dextran sulphate, DEAE Dextran Uppsala, Suède, December 1975, 32 P.
11. CROSBY (W.H.), MUNN (J. L.) and FURTH (F. W.). – Standardizing a method for clinical hemoglobinometry. *US Armed Forces. Med. J.*, 1954, **5**, 693-703.
12. WALTON (K. W.). – Investigation of the toxicity of a series of dextran sulphates of varying molecular weight. *Brit. J. Pharmacol.*, 1954, **9**, 1-14.

## SUMMARY

### **The Effect of some polyanionic Dextrans on the Oxygen transporting Properties of human hemoglobin *in vitro* and on Exchange transfused Rats.**

Formation of high-molecular-weight complexes with dextran sulphates shifts the oxygen dissociation curves of hemoglobin towards higher p50 values. In the hope that such complexes might circulate longer and release more oxygen to the tissues than pure hemoglobin solutions, we studied three commercial fully sulphonated dextran sulphates obtained with dextrans S, 15 and 50 and one laboratory-made (10,8% S) obtained with dextran 40. The complexes were characterized by ultrafiltration and oxygen dissociation curves with various hemoglobin/sulphate ratios. Total exchange blood transfusions in male Wistar rats were carried out with solutions of pure hemoglobin and of the four complexes. None of them gave a survival time as good as that with hemoglobin alone, but they did greatly decrease the rate of urinary hemoglobin excretion.

**Key-words:** blood substitutes, oxygen carriers, hemoglobin dextran complexes, exchange transfusions.