



# Rimozione di bilirubina mediante un nuovo sistema sorbente: quantificazione e cinetica in vitro.

S Faenza<sup>1</sup>; D Ricci<sup>2</sup>; E Mancini<sup>2</sup>; C Gemelli<sup>3</sup>; A Cuoghi<sup>3</sup>; S Magnani<sup>4</sup>; M Atti<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Chirurgia, Terapia Intensiva e Trapianto; <sup>2</sup>Dipartimento di Nefrologia, Dialisi, Ipertensione, Policlinico S.Orsola-Malpighi, Bologna, Italia; <sup>3</sup>Science and Technology Park for Medicine, Mirandola, Italy; <sup>4</sup>Department of Diagnostic, Clinical and Public Health Medicine, University of Modena and Reggio Emilia, Modena, Italy; <sup>5</sup>Aferetica, Bologna, Italia.

## INTRODUZIONE

Un nuovo sorbente (Cytosorb, Cytosorbents USA), basato su una resina altamente biocompatibile e in grado di rimuovere molecole idrofobiche fino a 55 kDa, potrebbe rappresentare un valido supporto nelle disfunzioni d'organo attraverso la rimozione di citochine e altre molecole direttamente dal sangue. Al momento, i sistemi extracorporei per questo scopo sono basati principalmente su plasma-adsorbimento. L'obiettivo del presente studio in vitro è finalizzato alla verifica della cinetica di rimozione della bilirubina da parte di questo sorbente, inclusa la sua forma coniugata all'albumina.

## METODI

Sono stati condotti tre esperimenti in vitro. Gli esperimenti 1 e 2 sono stati realizzati utilizzando soluzioni equimolari di Albumina-Bilirubina, contenente di conseguenza solamente bilirubina fortemente legata all'albumina (elevata costante di associazione  $9.5 \times 10^7$  M<sup>-1</sup>), per verificare la rimozione di soluti legati a proteine. Un terzo esperimento, della durata di 24 ore, è stato condotto simulando le condizioni cliniche, sfruttando una soluzione con elevata concentrazione di bilirubina e bassa di albumina, col fine di studiare la cinetica di e il mass balance di rimozione.

Le soluzioni sono state fatte ricircolare a 100 ml/min in un circuito contenente Cytosorb. I campioni sono stati raccolti prima e dopo la cartuccia a differenti tempistiche, conservati al riparo dalla luce ed analizzati immediatamente dopo l'esperimento per evitare la degradazione della bilirubina. La concentrazione di bilirubina è stata analizzata mediante metodo spettrofotometrico ( $\lambda=455$  nm) mentre per l'albumina è stato adottato un kit commerciale.

## RISULTATI

Gli esperimenti hanno mostrato la capacità del sistema di rimozione di bilirubina, con minima perdita di albumina.

Gli esperimenti 1 e 2 hanno dimostrato la capacità di adsorbimento di soluti legati a proteine: in questa condizione la rimozione di bilirubina è possibile rompendo il forte legame con l'albumina. L'esperimento 3 ha evidenziato un adsorbimento di bilirubina di 2.499 mg in 24h, equivalente alla totale rimozione dal sangue di bilirubina in un paziente di 70 kg con una concentrazione iniziale di 49,98 mg/dl.

La maggior parte della riduzione è avvenuta nelle prime 10 ore, mostrando comunque una continua capacità di purificazione fino al termine dell'esperimento; d'altro lato c'è stata una minima perdita di albumina (<1,5%). Non si è osservato il rilascio della bilirubina adsorbita. La cinetica durante gli esperimenti è mostrata di seguito (Fig. 2).

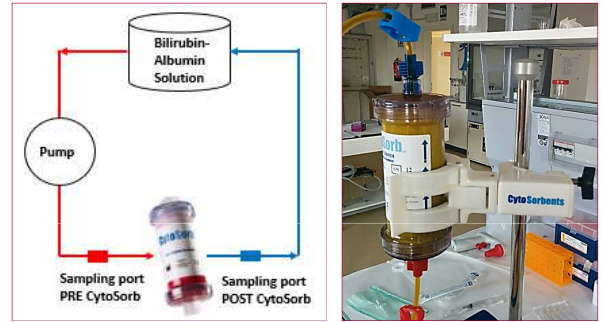


Fig.1: Circuito di emoperfusione in vitro con Cytosorb

	I°	II°	III°
Bilirubina, mmol/lt	0,4	0,8	0,8
Albumina, mmol/lt	0,4	0,8	0,4
Durata, h	8	8	24
Bilirubina Mass Balance, mg		1.020	2.499

Tabella 1: Dati e Mass Balance della Bilirubina degli esperimenti

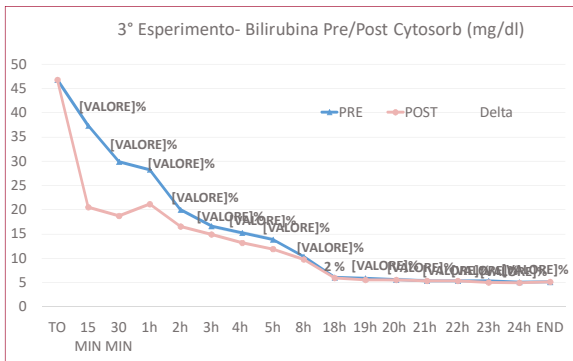
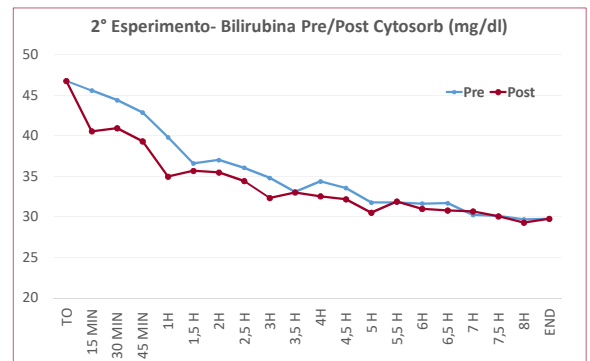
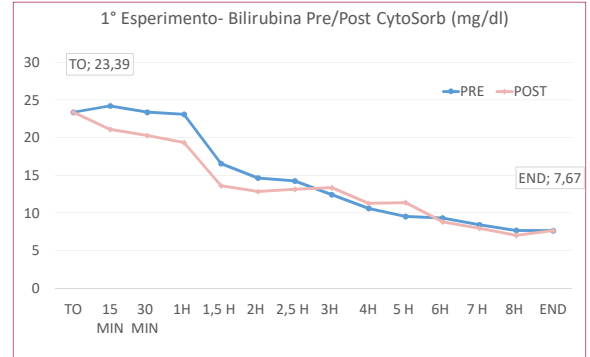


Fig.2: Cinetica di rimozione

## CONCLUSIONI

Questo studio mostra l'efficace rimozione di bilirubina, senza nessuna rimozione significativa di albumina, la capacità della resina di rompere il forte legame Albumina-Bilirubina e di adsorbire irreversibilmente la bilirubina.

Cytosorb può pertanto rappresentare un valido e semplice supporto nelle disfunzioni d'organo, inclusa la disfunzione epatica, senza necessità di lavorare su plasma. Studi in vivo sono in corso per confermare questi risultati.

## REFERENZE

[1]Weber et al. Biomacromolecules 2008, 9 1322-1328.