

Министерство здравоохранения РФ
Государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
Первый московский государственный медицинский университет
имени И.М.Сеченова
Факультет послевузовского профессионального обучения врачей
Кафедра патологии человека

ВОРОБЬЁВ С.И.

**ПЕРФТОРУГЛЕРОДНЫЕ
КРОВЕЗАМЕНИТЕЛИ
С ГАЗОТРАНСПОРТНОЙ
ФУНКЦИЕЙ**

Учебное пособие



Москва 2012 г.

Министерство здравоохранения РФ
Государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
Первый московский государственный медицинский университет
имени И.М.Сеченова
Факультет послевузовского профессионального обучения врачей
Кафедра патологии человека

ВОРОБЬЕВ С.И.

**ПЕРФТОРУГЛЕРОДНЫЕ
КРОВЕЗАМЕНИТЕЛИ
С ГАЗОТРАНСПОРТНОЙ
ФУНКЦИЕЙ**

Учебное пособие

Москва 2012 г.

2

УДК 615.384

ББК 53.53

С-91

ВОРОБЬЁВ С.И. Перфторуглеродные кровезаменители с газотранспортной функцией. Москва, 2012 – 74 с.

Автор:

Воробьев С.И. – доктор биологических наук, лауреат Правительственной премии РФ, академик РАЕН, профессор кафедры патологии человека факультета ППО врачей ГОУ ВПО Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М.Сеченова, один из авторов и разработчиков первого отечественного перфторуглеродного кровезаменителя Перфторан.

Рецензенты:

Чучалин А.Г. - д.м.н., профессор, академик РАМН, директор НИИ пульмонологии ФМБА МЗ РФ.

Кутышенко В.П. - д.ф-м.н., профессор, заведующий лабораторией Института теоретической и экспериментальной биофизики РАН.

Учебное пособие «Перфторуглеродные кровезаменители с газотранспортной функцией» является пособием для клиницистов, изучающих применение отечественных перфторуглеродных синтетических кровезаменителей с газотранспортной функцией в медико-биологической области, также предназначено для специалистов, обучающихся в интернатуре, ординатуре, аспирантуре и на курсах усовершенствования и специализации.

СОДЕРЖАНИЕ

Введение	5
1. Перфторорганические соединения – газотранспортные компоненты синтетических кровезаменителей	6
2. Перфторуглеродные синтетические кровезаменители	14
3. Сравнительный анализ отечественных и зарубежных перфторуглеродных синтетических кровезаменителей	18
3.1. Перфторуглеродные кровезаменители I поколения	18
3.2. Перфторуглеродные кровезаменители II поколения	26
4. Физико-химические свойства перфторуглеродных синтетических кровезаменителей	44
4.1. Устойчивость перфторуглеродных кровезаменителей.....	44
4.2. Коллоидно-осмотическое давление перфторуглеродных кровезаменителей	56
5. Клинические рекомендации применения перфторуглеродных кровезаменителей.....	57
6. Заключение.....	62
7. Тестовые задания.....	64
8. Ситуационные задачи	67
9. Рекомендуемая литература	72

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- ПАВ – поверхностно-активные вещества
ПФОС – перфторорганические соединения
ПФМЦП – перфторметилциклогексилпиперидин
ПФОБ – перфтороктилбромид
ПФТБА – перфтортрибутиламин
ПФТПА – перфтортрипропиламин
ПФД – перфтордекалин
 pO_2 – напряжение кислорода
 pCO_2 – напряжение углекислого газа
АВР – артерио-венозная разница
ОЦК – объём циркулирующей крови
СМФ - системы мононуклеарных фагоцитов
КЩС – кислотнo-щелoчное состояние
ЦВД – центрально-венозное давление
АД – артериальное давление
ЛД₅₀ – летальная доза
Hct – гематокрит
Hb – гемоглобин
M – моль

Введение

Кровезаменители с функцией переноса кислорода на основе перфторуглеродных эмульсий – это препараты, переносящие любой газ, в том числе, кислород и углекислый газ. Перфторуглеродные кровезаменители типа Перфторан (разрешенный к клиническому применению) и ФТОРЭмульсия III (проходящий клинические испытания) состоят из смеси перфторорганических соединений.

Физико-химическое определение перфторуглеродным кровезамещающим эмульсиям – это прямые, газопереносящие, высоко- и свободно-дисперсные, гетерогенные, термодинамически неустойчивые лиофобные коллоидные системы, обладающие избыточной свободной поверхностной энергией и огромной площадью газообмена (сорбционно активной поверхностью раздела фаз), в которых дисперсная фаза нерастворимых ультрадисперсных химически инертных перфторуглеродных частиц покрыта адсорбционно-сольватным слоем поверхностно-активного вещества и сохраняет (дисперсная фаза) агрегативную и седиментационную устойчивость при низких температурах в дисперсионной структурированной среде.

Перфторуглеродные отечественные кровезаменители Перфторан и ФТОРЭмульсия III - это концентрированные эмульсии на основе бинарной смеси перфтордекалина и перфторметилциклогексилпиперидина, являющиеся сложной многофазной коллоидной системой, применяемой в медико-биологической области в качестве полифункциональных средств, в частности, как газо-транспортных заменителей донорской крови для возмещения кровопотери.

Высокая энергонасыщенность перфторуглеродных частиц их ультрадисперсность, создают уникальные свойства данным эмульсионным кровезамещающим системам и ставят их в особую переходную наноразмерную область (10^{-8} м), рядом с коллоидным (10^{-9} м) и атомно-молекулярным состоянием вещества. Это особое состояние перфторуглеродных кровезамещающих дисперсных систем проявляется в их высокой медико-биологической активности и физическим взаимодействием со многими веществами и газами.

1. Перфторорганические соединения – газотранспортные компоненты синтетических кровезаменителей.

Перфторорганические соединения - бесцветные маслянистые жидкости с высокой плотностью, обладающие низким поверхностным натяжением и вязкостью, нерастворимые в воде и трудно растворимые в большинстве органических растворителей. Перфторуглероды были выбраны в качестве основы перфторуглеродных кровезамещающих эмульсий в связи с тем, что они обладают одновременно как значительной *растворяющей способ-*

ностью по отношению к газам, так и чрезвычайно высокой химической инертностью.

Если в таком соединении, как углеводород, заменить атом водорода на атом фтора, полученное соединение будет называться

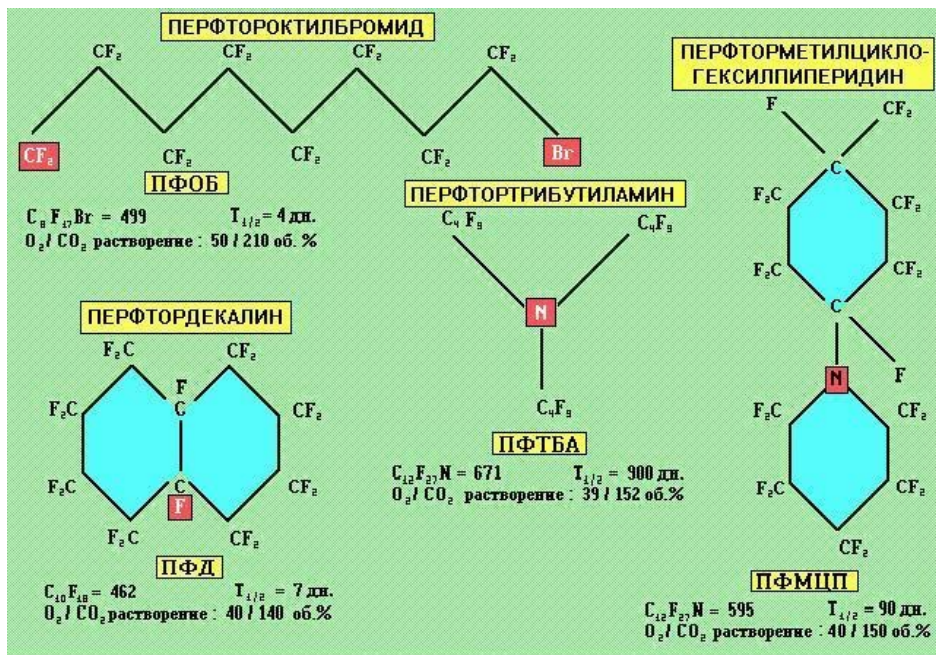


Рис.1.1. Химическая структура некоторых перфторорганических соединений, используемых при создании перфторуглеродных синтетических кровезаменителей:

- ПФОБ – перфтороктилбромид (период полувыведения – 4 дн.), эмульсии ПФОБ стабилизированные проксанолом не стабильны;
- ПФД – перфтордекалин (период полувыведения – 7 дн.), эмульсии ПФД стабилизированные проксанолом не стабильны;
- ПФТБА – перфтортрибутиламин (период полувыведения- 900 дн.), эмульсии ПФТБА на проксаноле очень стабильны;

-ПФМЦП – перфторметилциклогексилпиперидин (период полувыведения – 90 дн.), эмульсии ПФМЦП на проксаноле стабильны;
-смесь ПФД/ПФМЦП (в соотношении 2/1) – основа отечественных кровезаменителей Перфторан и Фторэмульсия III.

ся перфторуглеродом, т.е. полностью «пер» фторированным. При этом, как уже упоминалось, связь фтор - углерод чрезвычайно прочна, у перфторуглеродов углеродные цепи максимально окислены, поэтому ПФОС имеют чрезвычайно высокую стойкость к окислению, химическую инертность. Синтез перфторуглеродов в основном проходит электрохимической фторизацией в ангидридном водороде - фториде. Этот метод, где замещение С-Н связей на С-F связи происходит с освобождением значительного количества энергии. Атомная масса фтора в 19 раз превышает атомную массу водорода и поэтому молекулярная масса перфторуглеродов значительно больше, чем у углеводородов с тем же числом атомов углерода. Действительно плотность у перфторуглеродов равна 1,6 – 1,8, то есть почти в 2 раза выше, чем у воды. Основными токсичными примесями ПФОС являются недофторированные соединения и свободный фтор-ион. Так, при концентрации ионов фтора в культуральной среде клеток Raji в количестве 10^{-3} М до 40% подавляется рост клеток.

Растворимость газов в ПФОС выше, чем в воде, приблизительно в 20 раз (таблица 1.1.). При атмосферном pO_2 перфторуглероды, как растворяющие кислород агенты, значительно менее эффективны по сравнению с кровью. Однако с физиологической точки зрения важна не только способность жидкости растворять O_2 , но и способность переносить его к тканям. Во время перфузии

изолированных органов при нормальных условиях только 50-60% кислорода, имеющегося в крови, извлекается тканями. В то же время для эмульсии ПФОС эта величина намного выше и достигает 90%. Иными словами, органы в ряде случаев извлекают кислород более эффективно из ПФОС, чем из крови. В крови O_2 образует комплекс с железом в гемоглобине, в результате чего кривая поглощения имеет S-образную форму. В противоположность этому, объем кислорода, растворенного в эмульсиях, возрастает линейно в соответствии с законом Генри (рис. 1.3.). Растворимость газов в эмульсиях ПФОС связана в первую очередь с наличием пустот внутри жидких перфторуглеродов, т.е. с формой и упаковкой молекул ПФОС.

Таблица 1.1. Сравнительная характеристика растворимости газов в крови, жидких ПФОС и в их кровезамещающих эмульсиях (об.% при 1 атм.) [12, 18, 23, 24]

Жидкости	Растворим. O ₂ при 25°C	Растворим. O ₂ при 37°C	Растворим. CO ₂ при 37°C
Плазма	–	2,4	54
Кровь	–	20,0	50
ПФБТГ	48,8	48,5	160
ПФД	40,3	45,0	140
ПФТБА	38,9	40,3	142
Флюозол-43 25%	9,3	8,7	72
Флюозол-ДА 20%	–	7,5	70
Флюозол-ДА 35%	–	11,0	95
Флюозол-ДК 20%	8,1	7,9	62



Рис.1.2. Мышь, погружённая в жидкий оксигенированный перфтордекалин, с помощью привязной гири, продолжает дышать кислородом, растворённым в перфторсоединении (растворимость O_2 в ПФД - 40,3 об.%).

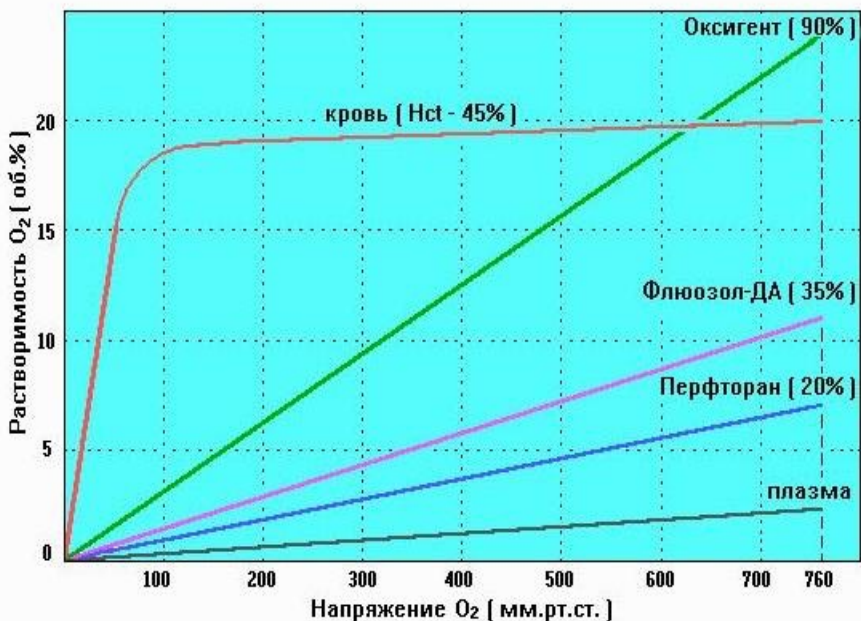


Рис.1.3. Растворимость кислорода в различных кровезамещающих жидкостях (при $p_{O_2} = 760$ мм рт.ст, $t^0 = 20$ C⁰):

- кровь при Hct -45% растворяет 20 об.% O₂;
- перфторуглеродная кровезамещающая 90% эмульсия – препарат Оксигент (США) растворяет ~ 24 об.% O₂;
- перфторуглеродная кровезамещающая 35% эмульсия – препарат Флюэзол ДА (Япония) растворяет ~ 11 об.% O₂;
- перфторуглеродная кровезамещающая 20% эмульсия - препарат Перфторан (Россия) растворяет ~ 7 об.% O₂;
- плазма крови растворяет 2,3 об.% O₂.

Газы внедряются без химического взаимодействия в пустоты, имеющиеся в молекуле перфторуглерода.

Сами ПФОС, как правило, химически чрезвычайно инертны. Исследования последних лет показывают, что химически инертные перфторсоединения могут оказывать непосредственное влияние на биологические системы, и это не может быть объяснено, лишь способностью перфторуглеродов транспортировать газы. Влияние перфторуглеродов, показанное ранее в экспериментах на уровне бислойных липидных мембран, эритроцитов, микросом [3, 4, 5], свидетельствует об этом.

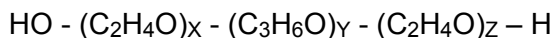
Известно, что ПФОС обладают сродством к фосфолипидам - важнейшим компонентам клеточных мембран. Это предполагает возможность гидрофобного взаимодействия ПФОС с мембраной, с последующими конформационными изменениями в ней. Среди обнаруженных эффектов особое место занимает взаимодействие эмульсии ПФОС с микросомальными мембранами печени, при котором в результате связывания перфторуглеродов с цитохромом P-450, происходит разобщение процесса гидроксирования в цитохром P-450–зависимой монооксигеназной системе [14].

В настоящее время у нас в стране и за рубежом широко ведется поиск новых ПФОС и их композиций. Кровезамещающие перфторуглеродные эмульсии являются сложными гетерогенными многопараметровыми системами, свойства которых зависят во многом от её компонентов: собственно ПФОС, эмульгаторов, среднего размера частиц, примесей и т.д.

Поверхностно-активные вещества – эмульгаторы перфторорганических соединений.

Перфторуглероды нерастворимы в воде, и для медико-биологических целей могут применяться только в виде эмульсий. Наиболее распространёнными эмульгаторами являются поверхностно-активные вещества (ПАВ), которые способны растворяться в одной из фаз эмульсии. Понятию «поверхностно-активное вещество» дается следующее определение: вещество, способное из раствора (истинного или коллоидного) в жидкой среде адсорбироваться на поверхности раздела фаз (жидкость - газ, жидкость - жидкость, жидкость - твёрдое тело) с соответствующим понижением свободной энергии (поверхностного натяжения) на этой поверхности. Для типичных ПАВ характерно определённое дифильное строение их молекул. Вещество, поверхностно-активное на одной границе раздела, на другой может быть инактивным (неспособным к адсорбции). Свойства эмульсий зависят во многом, от поверхностного слоя, который образуют эмульгаторы. Среди стабилизаторов эмульсий особое место занимают неионогенные блок-сополимеры окиси этилена и пропилена - плюроник F-68 (отечественные аналоги называются: проксанол-168 и проксанол-268, с различной молекулярной массой). Неионогенные ПАВ (НПАВ) содержат гидрофильные функциональные группы – OH, (C₂H₄O-) H. НПАВ растворимы как в кислой, так и в щелочной среде, не диссоциирующими в воде. Растворимость НПАВ уменьшается с повышением температуры, вследствие разрушения водородных связей. Растворы НПАВ характеризуются точкой помутнения и точкой высаливания.

Проксанолы получают путём оксиэтилирования полипропиленгликолей различного молекулярного веса. Блок-сополимеры окиси этилена и пропилена являются синтетическими соединениями, с общей формулой:



x, z – гидрофильные группы (полиоксиэтиленовые ПОЭ),

y – гидрофобная группа (полиоксипропиленовая ПОПР).

2. Перфторуглеродные синтетические кровезаменители.

Кровезамещающие эмульсии перфторорганических соединений – это дисперсия масляной фазы (перфторуглеродов) распределенная в другой жидкости (воде) – дисперсионной среде. Такая дисперсная система по агрегатному состоянию имеет обозначение Ж/Ж, в нашем случае ПФУ/В (перфторуглерод/вода). В зависимости от состава дисперсной фазы и дисперсной среды эмульсии могут быть прямые и обратные. В перфторуглеродной эмульсии дисперсионной средой является полярная жидкость – вода. Эмульсии ПФОС – это прямые эмульсии, они относятся к свободнодисперсным системам.

Применение эмульсий ПФОС во многом определяется их газотранспортной функцией. Происходит именно физическое, а не химическое, как в молекуле гемоглобина, растворение газа в перфторсоединениях. Основой газотранспорта в эмульсии Перфторан являются перфторсоединения – перфтордекалин и перфторметилциклогексилпиперидин в соотношении 2/1.

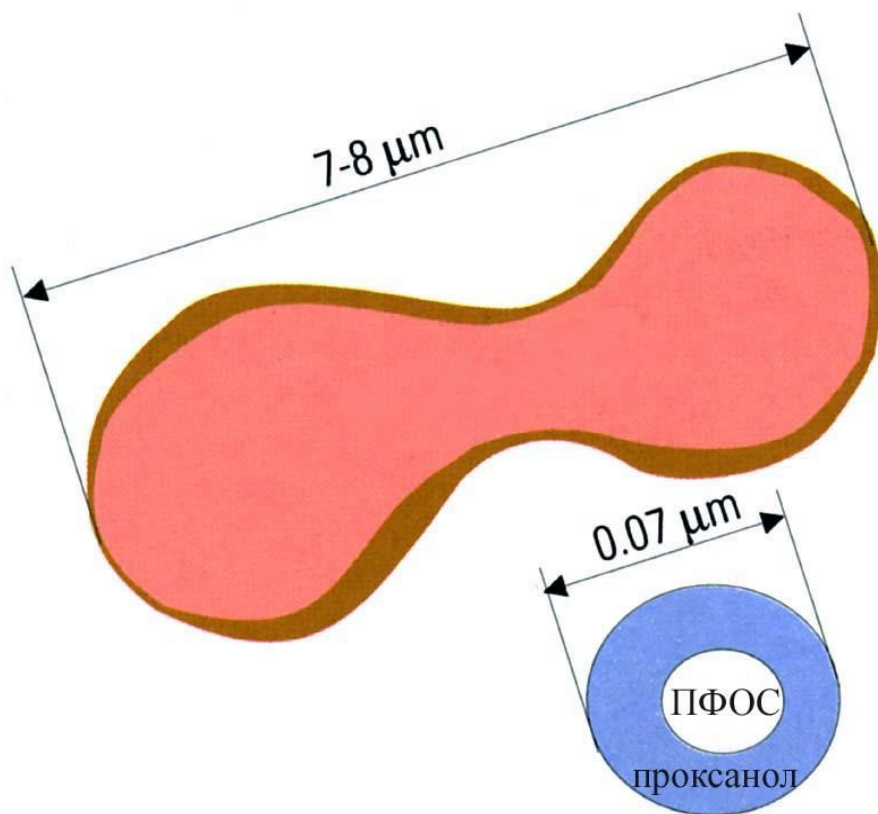


Рис.2.1. Соотношение по размеру эритроцита клетки крови и субмикронной (наноразмерной) частицы - «синтетического эритроцита» перфторуглеродной кровезамещающей эмульсии. В эмульсионной частице, в 100 раз меньшей эритроцита, находится собственно перфторсоединение – ПФОС, покрытое эмульгатором - поверхностно-активным веществом - проксанолом-268. Эмульгатор образует адсорбционно-сольватный слой, препятствующий слипанию и укрупнению частиц. Толщина слоя эмульгатора составляет ~ 20-40 ангстрем, который не препятствует газообмену. Диаметр частицы ПФОС - «синтетического эритроцита» ~ 70 нм.

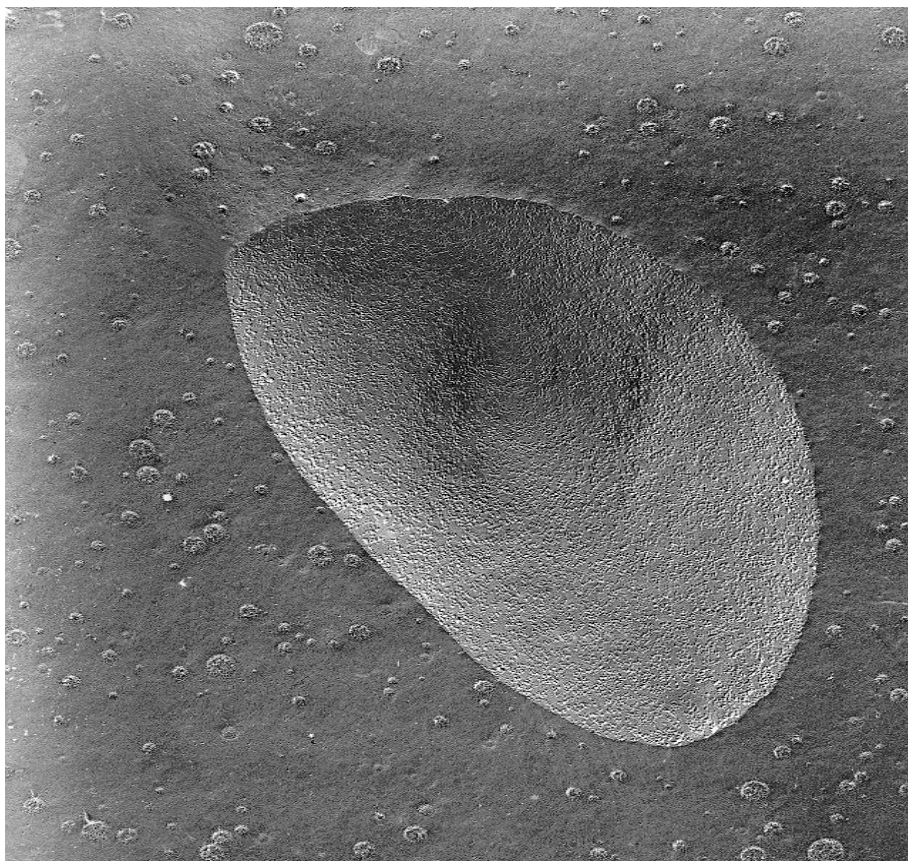


Рис.2.2. Электроннограмма фрагмента эритроцита клетки крови (~ 7 мкм) в окружении субмикронных частиц (~ 0,03-0,150 мкм) кровезамещающей эмульсии ПФОС, полученная после контрастирования в насыщенном растворе уранилацетата и исследованная в электронном микроскопе. Количество частиц ПФОС - «синтетических эритроцитов» в 1 литре 20% эмульсии перфторсоединений составляет $\sim 1,53 \times 10^{16}$, общая площадь частиц в 1 л эмульсии $\sim 12000 \text{ м}^2$, масса частицы $\sim 1,3 \times 10^{-16} \text{ г}$, объём частицы $\sim 6,54 \times 10^{-23} \text{ м}^3$, площадь частицы $\sim 7,8 \times 10^{-15} \text{ м}^2$.

Таблица 2.1. Перфторуглеродный кровезаменитель Перфторан

<i>состав:</i>	
перфтордекалин	13,0 г
перфторметилциклогексилпиперидин	6,5 г
проксанол-268	4,0 г
натрия хлорид	0,6 г
калия хлорид	0,039 г
магния хлорид	0,019 г
натрия гидрокарбонат	0,065 г
натрия гидрофосфат	0,02 г
глюкоза	0,2 г
вода для инъекции	до 100 мл
<i>физико-химические свойства:</i>	
средний размер частиц	~ 30-150 нм
количество частиц в 1 л	$1,53 \times 10^{16}$
содержание ионов фтора	$< 10^{-5}$ М
осмолярность	280-310 мОсм/л
вязкость	2,5 сП
рН	7,2-7,8
растворимость O ₂ (при pO ₂ -760 мм рт.ст., t- 20°C)	6,0-7,0 об. %
растворимость CO ₂ (при pCO ₂ -760 мм рт.ст., t- 20°C)	60 об. %
ЛД ₅₀	130 мл/кг

--	--

С точки зрения выбора ПФОС, решающим моментом является способность перфторуглеродов сохраняться в диспергированном состоянии и быстро выводиться из организма. Так ПФД - истинный циклический перфторуглерод, наличие циклической структуры в молекуле ПФД способствует ускоренному выведению из организма (в течение 1 месяца). Однако ПФД не дает стабильные эмульсии с помощью проксанола, поэтому был добавлен новый перфторуглерод ПФМЦП - второго поколения. ПФМЦП имеет две циклические структуры, гетероатом азота и группу CF_3 , именно присутствие гетероатома азота и группы CF_3 позволяет получать на ПФМЦП достаточно стабильные эмульсии. Использование композиции ПФМЦП с ПФД (в соотношении 2/1) позволяет уменьшить количество ПФМЦП в Перфторане в 3 раза без существенного ущерба в стабильности и сроках выведения. Так, при 50-60% кровезамещении эмульсией Перфторан перфторуглероды полностью покидают организм через 18-24 месяца.

3. Сравнительный анализ отечественных и зарубежных перфторуглеродных синтетических кровезаменителей.

3.1. Перфторуглеродные кровезаменители I поколения.

В этом разделе рассматриваются перфторуглеродные кровезамещающие препараты, относящиеся условно к первой генераций кровезамещающих эмульсий, применяемые в медико-

биологической области. В таблице 3.1.1. помещено большинство известных кровезамещающих перфторуглеродных эмульсий, Таблица 3.1.1. Перфторуглеродные кровезаменители (I поколение), применяемые в медико-биологической области

Название препарата	Страна и автор	Перфторуглероды	ПАВ
Первое поколение перфторуглеродных кровезамещающих эмульсий			
ПФОС	Clark L. Gollan F., 1966	П Ф - б у т и л - тетрагидрофуран	нет
Эмульсия FX –80	Sloviter H. et al., 1967	П Ф - б у т и л - тетрагидрофуран	Плюрони к F-68
Эмульсия FC –47	Geer R. et al., 1968	ПФ- трибутиламин	Плюрони к F-68
Эмульсия FC –75	Sloviter H. et al., 1969	C ₁₈ F ₁₆ O	Плюрони к F-68
Флюозол-DC	Naito K. et al., 1975, Япония	ПФ- декалин	Плюрони к F-68
Флюозол- FC-43	Naito K. et al., 1975, Япония	ПФ- трибутиламин	Плюрони к F-68

Флюозол-ДА 20% клинически испытывался , не разрешён	Naito K. et al., 1977, Япония	ПФ-декалин ПФ-трипропиламин	Плюрони к F-68, Фосфоли- пиды
Флюозол- ДА 35%	Naito K. et al., 1977, Япония	ПФ-декалин ПФ-трипропиламин	Плюрони к F-68 Фосфоли- пиды
Оксиферол	Weisbarth et al., 1981	ПФ-трибутиламин	Плюрони к F-68
Перфукол клинически испытывался , не разрешён	Афонин Н.И. соав., 1983, СССР	ПФ-декалин ПФОЖ	Проксано л - 268 Лецитин
Фторосан - Перфторан клинически испытан, разрешён	Белоярцев Ф.Ф. соав. 1983; Воробьев С.И. соав., 1996, Россия	ПФ-декалин ПФ-метилцикло- гексилпиперидин	Проксано л - 286
Эмульсия II клинические испытания	Chen H. et. al., 1988-1997, Китай	ПФ-декалин ПФ- трипропиламин	Плюрони к F-68

где *) - ПФ – «перфтор»

их название, страна создания, автора состава, химическое название используемых перфторсоединений.

В японских кровезамещающих эмульсиях: Флюозол-ДА 20%, Флюозол-ДА 35%, Флюозол-ДК основным компонентом перфторуглеродной эмульсии является перфтордекалин (ПФД) - истинный циклический перфторуглерод, быстро выводющийся из организма. Но эмульсии, приготовленные на основе ПФД и стабилизированные плуроником F-68, нестабильны, поэтому японским исследователям пришлось искать новые варианты стабилизации эмульсий. Более стабильный по сравнению с ПФД перфтортрипропиламин (ПФТПА), добавленный к ПФД в соотношении 2:1 (ПФД/ПФТПА), привел к созданию эмульсии Флюозол-ДА 20% и Флюозол-ДА 35%. В качестве эмульгатора использовались плуроник F-68 (блок-сополимер окиси этилена и пропилена) и фосфолипиды яичного желтка.

Другая японская кровезамещающая эмульсия - Флюозол-43, применяемая для перфузии органов, состоит из перфтортрибутиламина (ПФТБА) - перфторированного третичного амина с тремя алифатическим цепочками. Эмульсии из ПФТБА стабильны, но полностью не выводятся из организма, поэтому их применение ограничено узким спектром - для перфузии органов. Как уже было указано выше, ПФТБА в эмульсии Флюозол-43 обладает высокой степенью накопления в органах, через 8 недель в печени и в селезенке остается около 40% введенного количества ПФТБА, поэтому эту эмульсию нельзя считать пригодной для использования в качестве кровезаменителя. Но стабильность этой

эмульсии высока, и в связи с этим, наилучшее применение она находит для перфузии изолированных органов и конечностей.

При изучении острой токсичности кровезамещающей эмульсии Флюозол-43 у крыс было определено, что сравнительно крупные частицы эмульсии 1-2 мкм, вызывали 50% летальность при дозе 50 мл/кг веса тела. Уменьшение среднего диаметра частиц до 0,1 мкм приводило к полному выживанию животных при дозе 100 мл/кг веса тела [20]. Кроме того, указывает этот же автор, если эмульсия содержала 25% относительно крупных частиц (более 0,4 мкм), то доза при изучении острой токсичности составляла 11,5 г/кг, следовательно, наиболее благоприятные эмульсии должны иметь мелкие частицы.

Другая противоположность Флюозолу-43 - кровезамещающая эмульсия Флюозол-ДК (основа ПФД), которая не накапливается и быстро удаляется из органов в течение месяца. Однако частицы эмульсии Флюозол-ДК обладают низкой устойчивостью и не хранятся при комнатной температуре. Чтобы увеличить стабильность эмульсии ПФД, используют дополнительно в качестве стабилизатора введение фосфолипидов яичного желтка. Это значительно увеличивает стабильность, но укрупняет средний размер частиц.

В России создание перфторуглеродных кровезамещающих эмульсий развивалось аналогичным путем, но вместо добавки ПФТПА к ПФД использовался вновь синтезируемый ПФОС, не имеющий аналогов за рубежом, перфторметилциклогексилпиперидин (ПФМЦП) - перфторуглерод II поколения в соотношении 2/1 (ПФД/ПФМЦП) - эмульсия Перфторан, эмульсии типа ФТОРАНов

(Фторэмульсия III). При синтезе ПФМЦП учитывались структурные особенности ПФТБА и ПФД. Наличие циклических структур в молекуле перфторуглерода благоприятствует ускорению выведения из организма.

Присутствие гетероатома азота и алифатических цепочек в перфторуглероде способствует получению стабильных эмульсий. Именно с этой точки зрения молекула ПФМЦП удовлетворяет и тем, и другим требованиям: в данном перфторуглероде имеются две циклические структуры, гетероатом азота и группа CF_3 . Поэтому ПФМЦП дает достаточно стабильные эмульсии и относительно быстро выводится.

Другая отечественная кровезамещающая эмульсия - Фторэм создавалась в качестве кардиоплегического состава и состояла из смеси ПФД/ПФТБА в соотношении 7:3.

Следующие отечественные кровезамещающие эмульсии – Перфузоль-20 и Перфузоль-10, состояли из одного ПФМЦП и предназначались для перфузии изолированных органов. Фторэм, как и Перфузоль, достаточно стабильные эмульсии и могут храниться месяцами при $+4^{\circ}C$. Эмульсия Перфторан менее стабильна, чем Перфузоль и Фторэм, но, тем не менее, в отличие от Флюозол-ДА 20%, хранится не только в замороженном виде (3 года), но и при $+4^{\circ}C$ две недели.

Другим немаловажным фактором преимущества Перфторан перед японскими препаратами является более предпочтительный средний размер частиц эмульсии и распределение их по диаметру (таблица 3.1.3.). Эмульсии - это сложные дисперсные системы со многими параметрами, свойства которых зависят не только от

составляющих компонентов, но также от среднего размера частиц эмульсии и их распределения по диаметру. Размер частиц эмульсии - один из самых важных факторов не только потому, что от него зависит стабильность эмульсии, площадь поверхности газообмена, вязкость, но и потому, что размер частиц, может определять токсичность эмульсий, время их нахождения в кровотоке, степень поглощения их фагоцитами, а также длительность задержки в органах.

Имеется корреляция между размером частиц и токсичностью эмульсий [20]: обнаружено, что острая токсичность быстро возрастает с увеличением размера частиц более 0,4 мкм (таблица 3.1.2). Хотя диаметр эритроцита составляет 7 мкм, а частица эмульсии в среднем 0,1 мкм, что составляет примерно 1/70 величины эритроцита, тем не менее, увеличение ср. размера частиц выше данной величины приводит к увеличению токсичности эмульсии. Анализ полученных данных свидетельствует о том, что отечественная кровезамещающая эмульсия Перфторан является более монодисперсной, чем аналогичные зарубежные препараты.

Таблица 3.1.2. Корреляция острой токсичности и максимального диаметра частиц японской кровезамещающей эмульсии Флюозол-43 [20]

Образцы эмульсий	Количество частиц диаметром более 0,4 мкм (%)	Доза острой токсичности (г/кг)
1	25	11,5
2	10	12,3

3	3	27,0
4	0	28,1
5	0	30,3

Так, содержание частиц с диаметром до 0,1 мкм в Перфторане составляет 86,5%, тогда как во Флюозол-ДА 20%, Флюозол-ДК и Флюозол-43, соответственно 39,2%, 53% и 65%.

В Перфторане отсутствует фракция частиц с диаметром более 0,3 мкм, тогда как у японских препаратов эта фракция составляет 1,9%, 8% и 2,5% соответственно. Следующие представители кровезамещающих эмульсий I поколения - препараты Перфукол и Эмульсия №II (Китай). Китайская эмульсия не представляет большого интереса, так как почти полностью копируют японский препарат Флюозол-ДА 20%, с небольшими изменениями в концентрациях.

Таблица 3.1.3. Средний размер и распределение частиц кровезамещающей эмульсии Перфторан и японских кровезамещающих препаратов по размеру [5, 24]

Диаметр частиц (мкм)	Перфторан	Флюозол-ДА 20%	Флюозол-ДК	Флюозол-43
менее 0,1	86,5%	39,2%	53%	65%
от 0,1 до 0,2	12,6%	53,0%	26%	26%
от 0,2 до 0,3	0,9%	5,9%	13%	6,5%

более 0,3	нет	1,9%	8%	2,5%
средней размер (мкм)	0,07	0,118	0,096	0,086

Китайские исследователи создали перфторуглеродную кровезамещающую эмульсию «Эмульсия – «FCBS» - fluorocarbon blood substitute, состоящая, также как и японский препарат из перфтордекалина (14%) и перфтортрипропиламина (4%), эмульгируемые плюронином F-68. «Эмульсия – «FCBS» начала испытываться в клинике [19].

Отечественная кровезамещающая эмульсия Перфукол, представляет собой 25 - 30 об.% эмульсию, в основе которой имеются перфтордекалин и ПФОЖ (смесь с перфтортрипропиламина 40-45%, перфтор-*n*-пропил-2,3 диметилпирролидин 30-35%, перфтор-*n*-пропил-2 метилпиперидин 20-25%), эмульгируемые смесью проксанола (5-6%) и фосфолипидов яичного желтка (0,7-0,75%) с добавлением сорбита (3,0-3,9%). Средний размер частиц эмульсии составляет 0,1-0,15 мкм, относительная вязкость составляет 9,0 сП.

К недостаткам перфторуглеродных кровезамещающих эмульсий I поколения относятся:

- низкая кислородная ёмкость;
- недостаточная стабильность.
- крупнодисперсность частиц эмульсии с «рыхлым» не стабильным поверхностно-активным слоем проксанола на поверхности перфторуглеродной фазы.

В этом случае, будут указаны все основные недостатки, относящиеся к эмульсиям первой волны генерации.

3.2. Перфторуглеродные кровезаменители II поколения.

Основными критериями, определяющими второе поколение перфторуглеродных кровезамещающих эмульсий для медико-биологического применения являются:

- способность жестко стерилизоваться;
- стабильность дисперсной фазы;
- стабильность поверхностно-активного слоя эмульгатора;
- ультрадисперсность (частица не более 100 нм);
- узкое распределение дисперсии частиц;
- средний диаметр частиц в пределах 30-80 нм (>85%);
- максимальный диаметр частиц не более 0,22 мкм (<0,1%)
- минимальный диаметр частиц не менее 0,03 мкм;
- быстрое применение после хранения.

Таблица 3.2.1. Перфторуглеродные кровезаменители (II поколение), применяемые в медико-биологической практике

Название препарата	Страна и автор	Перфторуглероды	ПАВ
Второе поколение перфторуглеродных кровезамещающих эмульсий			
Эмульсия FMIQ	GreenCross Co.1983, Япония	П Ф - метилдекагидро-изо-хинолин	Фосфолипиды

Adcox клинические испытания	Adamantec h Corp., 1988, США	ПФ-адамантан	Лецитин
Oxygent AF0104 клинические испытания	Alliance Corp., 1991, США	ПФ-октилбромид ПФ-децилбромид	Фосфолипиды
Oxygent AF0143	Alliance Corp., 1991, США	ПФ-октилбромид ПФ-децилбромид	Фосфолипиды
Oxygent AF0144	Alliance Corp., 1991, США	ПФ-октилбромид ПФ-децилбромид	Фосфолипиды
Imagent	Alliance Corp., 1991, США	ПФ-октилбромид ПФ-децилбромид	Фосфолипиды
Ligui Vento	Alliance Corp., 1991, США	Перфторуглероды	Фосфолипиды
Oxygent AF014x	Alliance Corp., 1995, США	ПФ-октилбромид ПФ-децилбромид	Фосфолипиды
Нemogen	США	ПФ-декалин	Лецитин
Э м у л ь с и я ПФОС	Япония	ПФ-метилоктагидр- окуинолидизин	Плюроник F-68, Фосфолип.

Эмульсия ПФОС	Франция	ПФ-гексилетен ПФ-бутилетен	Плюроник F-68, F-эмульгатор
Эмульсия ПФОС	Англия	ПФ-декалин П Ф - гидрофторантен	Плюроник F-68, Соевое масло
Эмульсия ПФОС 40%	Saunders Corp.	Перфторуглероды	ПАВ
ФТОРАН-РК (ВИММ-РК)	Воробьёв С.И. соавт., 1993, Россия	ПФ-октилбромид ПФ-метилцикло- гексилпиперидин	Проксанол-268
Оxyfluor клинические испытания	Нема Gen PFC., 1995, США	ПФ-дихлороктан	Фосфолип. Соевое масло
Ф Т О Р - эмульсия III клинические испытания	Воробьёв С.И. соавт., 1 9 9 9 , Россия	ПФ-декалин ПФ-метилцикло- гексилпиперидин	Проксанол-268
ФТОРАНЫ 1%, 5%, 10%, 30% ФТОРАН- Липид	Воробьёв С.И. соавт., 1997-2006, Россия	ПФ-декалин ПФ-октилбромид ПФ-трибутиламин ПФ-метилцикло- гексилпиперидин	Проксанол-268

где *) - ПФ – «перфтор»

Не многие кровезамещающие эмульсии даже второго поколения отвечают этим требованиям. Но, тем не менее, в последние годы

активизировалось создание новых перфторуглеродных кровезамещающих эмульсий, отвечающим этим критериям.

Кровезамещающие эмульсия второго поколения Охугент создана американской фирмой «Alliance». Эмульсия Оксигент и её разновидности: AF0104, AF0143, AF0144 состоят из перфтороктилбромида (ПФОБ) и перфтордецилбромида (ПФДБ) в разных концентрациях и соотношениях.

Так, 90% эмульсия Оксигент AF0143 состоит - ПФОБ/ПФДБ в соотношении – 87/3. Другая 60% эмульсия Оксигент AF0144 состоит - ПФОБ/ПФДБ в соотношении – 58/2.

Основная (коммерческая) 90% кровезамещающая эмульсия Оксигент AF0104 вначале была создана только из одного перфтороктилбромида. ПФОБ - это линейное перфторсоединение с присоединенным бромом, что позволяет создавать рентгеноконтрастные эмульсии, применяемые не только в качестве газопереносящих сред, но и как диагностические препараты. Но в дальнейшем к ПФОБ был добавлен ПФДБ. Период полувыведения основного ПФОС в Оксигенте - перфтороктилбромида очень небольшой и составляет около 4 дней. Эмульсии Оксигент достаточно концентрированные 60 - 90% ПФОС, что позволяет растворять в ней от 17 до 27 об.% кислорода; вязкие 31 - 55 сП; стерилизуемые автоклавированием при 121°C и стабилизируемые фосфолипидами яичного желтка. Эмульсия Охугент оказалась уникальным контрастирующим агентом для рентгенографии, компьютерной, ультразвуковой и ЯМР-томографии. Период полувыведения из русла 48% эмульсии для доз 1,89 и 9,3 г/кг составляет 14 и 43 часа, соответственно [24].

Представляет интерес перфторуглеродная 56 об.% кровезамещающая эмульсия американской корпорации Nema Gen Corp. «Oxyfluor», состоящая из перфтордихлороктана, эмульгированного фосфолипидами до среднего размера частиц менее 0,35 мкм. Растворимость O₂ в препарате ~ 17об.%. Период выведения перфтордихлороктана, также как у перфтордекалина 7 дней, но ПФД - это циклическое соединение, а перфтордихлороктан линейное. Химическая чистота данного перфторсоединения высокая – 99%, молекулярный вес – 471, чуть больше ПФД – 462. Упругость паров (давление) в указанном перфторсоединение очень высокое – 40 мм рт.ст. при 37°C, что вызывает опасения, так как находится за критическим значением для ПФОС, вызывающим легочную эмболию.

Другая американская кровезамещающая эмульсия Addox (20-40 об.%) фирмы «Adamantech» состоит из перфторметиладамантана и эмульгирована фосфолипидами яичного желтка. Вязкость составляет около 3 сП, эмульсия устойчива к тепловой стерилизации и сохраняет стабильность при +40С в течение 1 года, при повышении температуры хранения - несколько месяцев. Величина ЛД₅₀ составляет 138 мл/кг, имеет период полувыведения из организма мышей 5 дней (у ПФД - 7 дней) [22].

Из эмульсий второго поколения известны также такие коммерческие препараты, как Охусyte™ (Synthetic Blood International, USA) и Pher-O2 (Sanguine Corporation, USA). Оксисайт успешно прошел 1 фазу клинических испытаний в 2004 г. и в настоящее время идет 2-я фаза испытаний с его применением для

предотвращения тканевой гипоксии во время ортопедической и сердечной хирургии.

Японская корпорация «Грин Кросс корпорейшен» осознала необходимость усовершенствования своей ранней эмульсии Флюозол-ДА 20% и разработала эмульсию второго поколения на перфторуглероде - FMIQ (F-N- метилдекагидроизохинолин). Эмульгатор - плюроник F-68 был заменен фосфолипидами, а технология приготовления упрощена. Новая эмульсия больше не требует замораживания, может храниться при температуре 5°C и её не надо смешивать перед употреблением. Концентрация FMIQ в эмульсии не превышает 13 об.%, полувыведения 11 дней.

Известно, что свойства перфторуглеродных кровезамещающих эмульсий во многом определяются эмульгаторами. Так, в наших вариантах создания эмульсии второго поколения, использовался проксанол в качестве поверхностно-активного вещества. Проксанольно-фторуглеродные эмульсии, имеют многие положительные свойства, которыми обладает проксанол. Эти эмульсии более мелкодисперсные и однородные, чем эмульсии на фосфолипидах. Изучая фосфолипидные эмульгаторы в составе перфторуглеродных эмульсий, мы пришли к выводу, что перфторуглеродная эмульсия, стабилизированная фосфолипидами, имеет две дисперсии частиц. Первая дисперсия состоит из частиц собственно фосфолипидов (крупнодисперсная, имеющая диаметр до 20 мкм). Вторая дисперсия состоит из частиц ПФОС, окруженных фосфолипидами (мелкодисперсная, имеющая диаметр до 0,3-0,9 мкм). По-видимому, создание субмикронных

эмульсий, стабилизированных фосфолипидами, пока до конца не решенный вопрос.

К эмульсиям II поколения относится отечественная перфторуглеродная кровезамещающая эмульсия ФТОРАН-РК (прежнее название ВИММ-РК), созданная из смеси перфтороктилбромида и перфторметилциклогексилпиперидина, эмульгированной проксанолом-268 до среднего размера частиц 0,05-0,08 мкм с максимальным диаметром (после ультрафильтрации), не превышающим – 0,22 мкм. Разработанная кровезамещающая эмульсия является рентгеноконтрастным препаратом с периодом полувыведения из кровеносного русла около 24 часов. ФТОРАН-РК стерилизуется с помощью динамической фильтрации.

По физико-химическим и биологическим свойствам к кровезамещающим эмульсиям новой генерации относится и новый отечественный модифицированный препарат, проходящий клинические испытания ФТОРЭмульсия III (прежнее название Перфторан-плюс). Перфторуглеродный кровезамещающий препарат Фторэмульсия-III новой генерации, имеет аналогичный состав по ингредиентам с препаратом Перфторан, но отличается по коллоидно-химическим, физико-химическим, медико-биологическим свойствам и технологии получения наноразмерной эмульсии:

-готовая лекарственная форма препарата Фторэмульсия-III стерилизуется методом стерилизационной динамической фильтрации, в отличие от препарата Перфторана, который не стерилизуется, что подчёркивает высокий

технологический уровень получения препарата Фторэмульсия-III и повышает безопасность клинического применения;

-готовая лекарственная форма препарата Фторэмульсия-III депирогенизируется с помощью угольной мембраны, в отличие от препарата Перфторан, что улучшает медико-биологические свойства и подчёркивает высокий технологический уровень получения препарата Фторэмульсия-III;

-в препарате Фторэмульсия-III всё исходное сырьё (перфторуглероды, проксанол, солевая композиция и инъекционная вода) проходят специальную доклиническую очистку с помощью активированного угля (или угольной мембраны), в отличие от препарата Перфторан, что улучшает медико-биологические свойства препарата Фторэмульсия-III;

-в препарате Фторэмульсия-III сужены количественные параметры входящих в него ингредиентов по сравнению с препаратом Перфторан, что улучшает медико-биологические свойства и подчёркивает высокий технологический уровень получения препарата Фторэмульсия-III;

-технологические изменения и уникальное дезинтеграционное оборудование, также ультрафильтрация позволили получить в препарате Фторэмульсия-III более предпочтительный средний размер частиц 0,03-0,10 мкм, по сравнению с препаратом Перфторан, в котором средний

размер больше и составляет 0,03-0,15 мкм, что увеличивает седиментационную и агрегативную устойчивость препарата Фторэмульсия-III и уменьшает количество побочных реакций;

-технологические изменения и динамическая ультрафильтрация позволили убрать из препарата Фторэмульсия-III крупнодисперсные частицы свыше 0,22 мкм, по сравнению с препаратом Перфторан, в котором имеются крупнодисперсные частицы свыше 0,3 мкм, что способствует улучшению реологических свойств препарата Фторэмульсия-III и уменьшает количество побочных реакций;

-препарат Фторэмульсия-III готовится по улучшенной и модифицированной технологии гомогенизации на дезинтеграторах сверхвысокого давления второго поколения;

-улучшена гомогенизационная камера эмульгации перфторуглеродной эмульсии, что способствует более быстрому получению наноразмерного уровня частиц эмульсии;

-повышены требования к параметрам гомогенизации (давление, температура, время, концентрация), что способствует получению наночастиц перфторуглеродной эмульсии монодисперсного характера;

-разработана опытно-промышленная технология получения крупных клинических партий перфторуглеродной эмульсий ареактогенного характера;

-технологические новшества и уникальное дезинтеграционное оборудование способствует значительному улучшению коллоидно-химических и физико-химических характеристик перфторуглеродной эмульсии Фторэмульсия-III, что позволяет размораживать готовую лекарственную форму препарата Фторэмульсия-III при высоких температурах (до $+90\text{C}^0$) в течение нескольких минут, по сравнению с препаратом Перфторан, который размораживается несколько часов (5 – 6 ч.) при комнатной температуре, это преимущество становится ключевым фактором в оказании экстренной помощи пациентам в медицине катастроф;

-клинические испытания выявили, технологически модифицированный и улучшенный препарат Фторэмульсия-III является более безопасным препаратом и имеет меньшее количество побочных реакций 6-10%, по сравнению с препаратом Перфторан, имеющим 20-30% побочных реакций, что позволяет уверенно использовать и расширять области применения Фторэмульсии-III.

Средний размер и распределение частиц зарубежных кровезамещающих эмульсий.

Рассматривая данные по распределению частиц перфторуглеродных кровезаменителей, полученных американскими исследователями с помощью современного метода SdFFF (Sedimentation Field Flow Fractionation) и частично подтвержденными нашими исследованиями, полученными с

помощью электронно-микроскопического метода, можно заключить следующее.

Зарубежные перфторуглеродные эмульсии, применяемые в медико-биологической практике - это полидисперсные эмульсии не субмикронного, а всего лишь микронного уровня, максимальный размер частиц которых составляет 20 мкм, что превышает размер эритроцита в 2,5 раза. По-видимому, эффективность и безопасность применения при таком содержании крупнодисперсных частиц в эмульсиях, проходящих клинические испытания, будут проблематичными.

Исследования по токсичности, проведенные с помощью лимфобластоидных клеток человека (линия Raji) проксанольно-фторуглеродной эмульсии Перфторан и фосфолипидно-фторуглеродной эмульсии Оксигент (AF0104, США), а также перфторсоединений, используемых в данных эмульсиях, показали (таблица 3.2.3.), что эмульсия Перфторан более безопасна, чем американские препараты. Эмульсия Оксигент полностью подавляет рост клеток в среде, где содержание Оксигента составляло всего лишь 10%.

Таблица 3.2.2. Средний размер и распределение частиц по размеру японской кровезамещающей эмульсии Флюозол-ДА 20% и американской эмульсии Оксигент (предоставлено Alliance Corp.)

Диаметр частиц (мкм)	Количество частиц (шт.) в Флюозол-ДА	Количество частиц (шт.) в Оксигент
частиц 4 - 5 мкм в 1 мл эмульсии	140000	150000

частиц 5 -10 мкм в 1 мл эмульсии	36000	500000
частиц 10 - 20 мкм в 1 мл эмульсии	10000	9200
частиц > 20 мкм в 1 мл эмульсии	5100	1800
Средний размер (мкм)	0,13 ± 0,08	0,27 ± 0,17

Специальная доклиническая очистка, проведенная нашими специалистами, компонента американской эмульсии - ПФОБ резко уменьшило его токсичность (в 2,5 раза), которая остается все же значительно выше (в 2 раза) отечественных перфторуглеродов. Незначительная токсичность Перфторана (подавление клеток до 50-95%) полностью зависит от токсичности – проксанола-268 (подавление клеток до 50-90%). Входящие в эмульсию Перфторан (и в препарат Фторэмульсия III) перфторсоединения, в отличие от компонентов американской эмульсии, практически не токсичны. Рост клеточной культуры на ПФД и ПФМЦП был такой же, как в контроле.

Таблица 3.2.3. Токсичности кровезамещающей эмульсий ПФОС и её компонентов, определённой с помощью клеток линии Raji

СОСТАВЫ	Концентрация среда/состав	Прирост клеток в среде с исследуемым составом (%)
---------	------------------------------	--

Контроль (рост клеток на стекле)	-	100 ± 7
ПФД (очищенный)*	-	105 ± 8
ПФМЦП (очищенный)	-	102 ± 7
ПФОБ (очищенный)	-	85 ± 5
проксанол-268 (очищенный)	10/1	50 - 90
эмульсия Перфторан (Россия)	10/1	50 - 95
эмульсия Оксигент AF0104** (США)	10/1	полное подавление роста клеток
ПФОБ (США) до очистки *	-	16
ПФОБ (США) после очистки	-	44

*) - очистка активированным углем;

**) - условное обозначение американской эмульсии.

Таблица 3.2.4. Физико-химические характеристики некоторых перфторуглеродных кровезамещающих эмульсий (предоставлено американской компанией Alliance Corp.)

Показатели	I поколение препаратов		II поколение препаратов
	Флюозол-ДА 20% (Япония)	Перфторан (Россия)	Оксигент (США)
Чистота ПФОС	ПФД ~ 98% ПФТПА ~ 85%	ПФД ~ 94% ПФМЦП~97 %	ПФОБ > 99%
Период полувыведения	ПФД ~ 7 дней, ПФТПА ~ 65 дней	ПФД ~ 7 дней, ПФМЦП ~ 90 дней	ПФОБ ~ 4 дня
Эмульгаторы	Плюроник 68, Фосфолипид	Проксанол-268	Лецитин
Концентрация ПФОС; Растворение O ₂	20 % 6 об.%	20 % 6 -7 об.%	31 - 52 % 17-27 об.%
Хранение	В замороженном виде	+4°С - 1 мес. -18°С - 2 года	> 1 года при комнатной t°
Стерилизация	< 115°С	изготовлен о асептически	121°С

Особые свойства	Газо-транспортные	Газо-транспортные, реологические	Газо-транспортные, рентгеноконтрастные
-----------------	-------------------	----------------------------------	--

Отечественный перфтороктилбромид после очистки имел прирост клеточной массы 85%, а токсичность американского аналога ПФОБ, даже после очистки, была в два раза выше (рост клеточной массы на данном ПФОБ был 44%).

Стабильность эмульсий зависит от химической природы перфторорганических соединений и эмульгаторов - поверхностно-активных веществ.

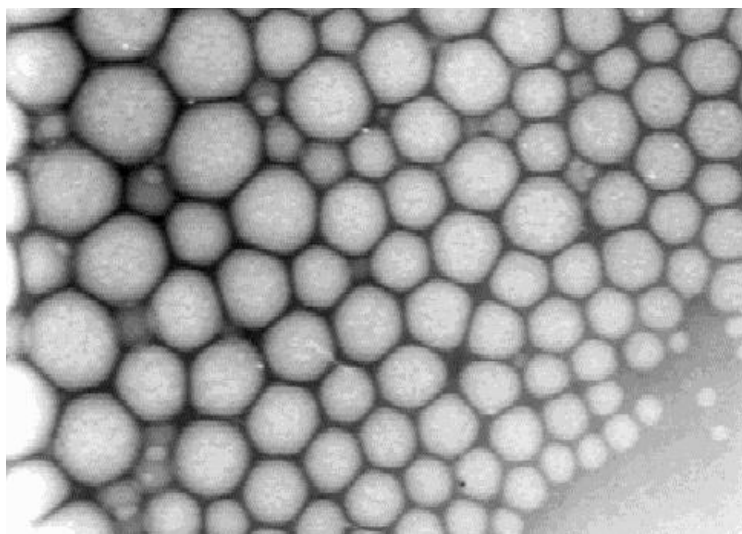
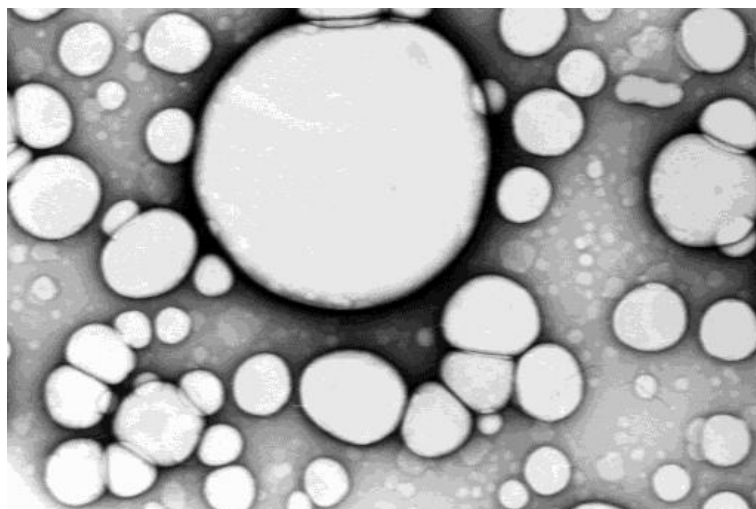
В таблице 3.2.4. представлены данные по хранению и стерилизации японской эмульсии Флюозол-ДА 20%, Перфторана и американской эмульсии Оксигент. Так, японская эмульсия не может храниться в размороженном виде более 8 часов. При этом стерилизация проходит в «мягких» условиях, не выше 115°C. Японская эмульсия состоит из смеси ПФД/ПФТПА, стабилизированной плуроником F-68 с добавками фосфолипидов яичного желтка. Все эти данные свидетельствуют о том, что медико-биологическая эффективность отечественных проксанольно-фторуглеродных эмульсии более предпочтительны, чем у зарубежных препаратов.

Именно невозможность хранения данной эмульсии в размороженном состоянии ограничивает ее применение. Известно, что тепловая стерилизация резко ухудшает физико-химические свойства эмульсии, а именно, происходит укрупнение диаметра частиц эмульсии, что негативным образом сказывается на всех

биологических эффектах перфторуглеродных эмульсий, в том числе на реологии и микроциркуляции. Тем не менее, американская эмульсия, эмульгируемая с помощью фосфолипидов, стерилизуется при +121°C. Какое же при этом наблюдается распределение частиц эмульсии? Как представлено в работе [24], распределение частиц в американской эмульсии Оксигент AF0104 достаточно широкое, со средним размером 0,27 мкм и большим количеством (9,5%) крупнодисперсных частиц свыше 0,5 мкм. В отличие от распределения частиц Перфторана, с более узким диапазоном распределения частиц (средний диаметр 0,07 мкм) и максимальным диаметром 0,25 мкм, американская эмульсия Оксигент является полидисперсным составом.

Таблица 3.2.5. Некоторые физико-химические свойства кровезамещающих эмульсий Перфторан и американских эмульсий Оксигент (предоставлено американской компанией Alliance Corp.)

Свойства	Перфторан (Россия)	Оксигент AF0104	Оксигент AF0143	Оксигент AF014
Содержание ионов фтора: до (мМ/л) стерилизации	1,0	-	1,0	1,2
- после (мМ/л)	-	16	18	10
Вязкость (сР)	2,6	31	55	4



Размер частиц: - с р е д н и й диаметр (мкм)	0,07	0,27	0,15	0,16
-более 0,5 мкм (%)	0,0	9,5	0,2	1,4

-----20мкм-----

Рис.3.2.3. Электроннограмма американской кровезамещающей эмульсии Оксигент AF0104 (средний размер частиц – 0,27 мкм)

--0,2мкм--

Рис.3.2.4. Электроннограмма российской кровезамещающей эмульсии Перфторан (средний размер частиц – 0,07 мкм)

Необходимо отметить и высокую вязкость Оксигента 31-55 сР, по сравнению с Перфтораном – 2,6 сР.

Электроннограмма представленных кровезамещающих эмульсий полностью подтверждает полидисперсный характер американской эмульсии Оксигент AF0104 (рис. 3.2.3.) в отличие от эмульсии Перфторан, где частицы достаточно однородны и мелки (рис. 3.2.4.).

Кроме этого, вызывает серьезные опасения концентрация ионов фтора в эмульсиях типа Оксигент (таблица 3.2.5.), после жесткой стерилизации. Во всех модификациях Оксигента: AF0104, AF0143, AF0144 концентрация ионов фтора составляла высокие значения: 16, 18, 10 мМ/л. в сравнении с Перфтораном – до 1,0 мМ/л.

В заключение необходимо привести высказывания известного английского учёного, одного из создателей американской кровезамещающей эмульсии «Охугент», вице-президента американской фармацевтической корпорации «Alliance Corp.» по

медицинским исследованиям Саймона Файтфулла (S.N.Faithfull) одному из руководителей компании ОАО НПФ «Перфторан» проф. С.И.Воробьёву. Английский ученый был удивлен физико-химическим и биологическим характеристиками российской кровезамещающей эмульсии Перфторан *«...вы имеете очень хорошую эмульсию...» «...у вас очень хорошая эмульсия. Особенно нас поразил очень маленький размер частиц эмульсии, который вы можете получать...»*. Изучая американский коммерческий препарат Оксигент AF0104 по физико-химическим и биологическим параметрам к такому выводу мы не пришли.

4. Физико-химические свойства перфторуглеродных синтетических кровезаменителей.

4.1. Устойчивость перфторуглеродных кровезаменителей.

Кровь – это дисперсная система, устойчивость которой сохраняется на всё время жизни. Так, например клетки крови «живут», они зарождаются, функционируют, укрупняются (тромбы), перемещаются и поглощаются, но они всегда устойчивы в организме.

Под устойчивостью перфторуглеродных кровезамещающих эмульсий - дисперсных систем понимается – способность дисперсной системы сохранять во времени своё первоначальное состояние: размер частиц дисперсной фазы (агрегативная устойчивость) и их равновесное распределение в дисперсной среде (седиментационная устойчивость).

Устойчивостью перфторуглеродных кровезамещающих эмульсий в основном зависит от диаметра частиц собственно перфторорганических соединений и структурно-механического

барьера во круг частиц перфторуглеродов, препятствующий их слипанию. Ультрадисперсность перфторуглеродных частиц, создают уникальные свойства данным эмульсионным кровезамещающим системам и ставят их в особую переходную наноразмерную область (10^{-8} м), рядом с коллоидным (10^{-9} м) и атомно-молекулярным состоянием вещества. Это особое состояние перфторуглеродных кровезамещающих дисперсных систем проявляется в их высокой медико-биологической активности. Сравнительная размерность перфторуглеродных частиц представлено в таблице 4.1.

Таблица 4.1. Размерность биокolloидных дисперсных систем

Система	Размер
Коллоидная (наноразмерная, ультрамикроретерогенная), частицы видимы в электронный микроскоп и в атомный силовой микроскоп (кровезамещающая перфторуглеродная эмульсия, вирусы)	$10^{-9} - 10^{-7}$ м от 1 до 100 нм
Микрогетерогенная (среднедисперсная), частицы видны в обычный микроскоп (бактерии)	$10^{-7} - 10^{-5}$ м от 100 до 10000 нм (от 0,1 до 10 мкм)
Крупнодисперсная (грубодисперсная), частицы видны невооруженным глазом (споры растений)	$10^{-5} - 10^{-3}$ м от 10 до 1000 мкм

Седиментационная устойчивость.

Седиментационная устойчивость – способность дисперсной системы сохранять равномерное распределение частиц дисперсной фазы по объёму дисперсионной среды. Седиментация – это оседание или всплытие частиц (капель) дисперсной фазы. Седиментационно устойчивы дисперсные системы, частицы которых имеют размер менее 1 мкм и находятся в активном броуновском движении. Рассмотрим седиментационную устойчивость на примере синтетического заменителя донорской крови - перфторуглеродных кровезамещающих эмульсиях.

Таблица 4.2. Линейные размеры частиц дисперсной системы на основе 20% кровезамещающей эмульсии перфторсоединений

Диаметр частицы	$5-8 \times 10^{-8}$ м (50-80 нм)
Радиус частицы	$2,5-4 \times 10^{-8}$ м (25-40 нм)
Площадь частицы	$7,8 \times 10^{-15}$ м ²
Объем частицы	$6,54 \times 10^{-23}$ м ³
Масса частицы	$1,3 \times 10^{-16}$ г
Количество частиц в 1 литре 20% эмульсии ПФОС	$1,53 \times 10^{16}$

Общая площадь частиц в 1 литре 20% эмульсии ПФОС	12000 м ² (1,2 га)
--	-------------------------------

Так, при наличии частиц эмульсии дисперсной фазы 0,03-0,15 мкм, тем не менее, происходит оседание частиц, в связи с высокой плотностью собственно перфторуглеродов 1,8-1,9 г/см³. В отечественных перфторуглеродных эмульсиях, с концентрацией 10-40% и средним размером частиц ~ 0,07-0,1 мкм (70-100 нм), дисперсность имеет достаточно узкое распределение, поэтому оседания происходит медленно, каждая частица под действием силы тяжести оседает отдельно, не сцепляясь с другими. Но имеются частицы в небольшом количестве 0,1-0,2% с размером 0,2-0,3 мкм, оседание которых происходит быстрее, также без сцепления. Такая дисперсная система может называться седиментационно неустойчивой, но агрегативно устойчивой, т.к. устойчивость связана против сцепления частиц, против коагуляции. Возможен и другой тип оседания перфторэмульсий, когда слабый и неоднородный структурно-механический барьер из поверхностно-активного вещества не может противостоять межмолекулярным силам сцепления, что приводит к коагуляции и быстрому оседанию перфторэмульсий в виде целых хлопьев. Такое оседание в основном происходит после разморозки кровезамещающей эмульсий, и данная система может называться седиментационно и агрегативно неустойчивой дисперсной системой. Таким образом, кровезамещающие перфторэмульсии седиментационно неустойчивы, но могут быть как агрегативно устойчивыми, так и

наоборот, агрегативно неустойчивыми, в зависимости от целого ряда факторов.

Седиментация ведёт к расслоению эмульсии и образованию высококонцентрированного слоя и чистой дисперсной среды. Седиментация частицы определяется величиной и направлением равнодействующей двух сил – постоянной силы тяжести $f = \text{const}$ и противоположно направленной силы вязкого сопротивления F , возрастающей с увеличением скорости движения частицы. Скорость седиментации частиц прямо пропорционально квадрату радиуса частиц, обратно пропорционально вязкости среды и зависит от плотности среды.

Агрегативная (коагуляционная) устойчивость.

Агрегативная (коагуляционная) устойчивость – способность дисперсной системы сохранять во времени дисперсность. Под агрегативной устойчивостью лиофобной системы, в данном случае кровезамещающие эмульсии перфторуглеродов, понимают способность системы противостоять процессам, приводящим к изменению размеров частиц дисперсной фазы в результате их слияния (коалесценции), объединения в агрегаты (коагуляция) или переноса веществ между частицами (изотермическая перегонка или диффузия). Устойчивость системы характеризуется временем её жизни в практически неизменном состоянии. Скорость изотермической перегонки или диффузии в основном определяется природой дисперсной фазы и дисперсионной среды. Наоборот скорость коагуляции (коалесценции) определяется природой и свойствами адсорбционных слоёв ПАВ, которые могут сильно стабилизировать систему. В зависимости от соотношения

скоростей трёх основных процессов – коагуляции, коалесценции, изотермической перегонки – разрушение систем может приводить к возникновению новых различных по строению и свойствам систем.

Устойчивость лиофобных дисперсных систем может иметь как термодинамическую, так и кинетическую (седиментационную), также смешанную природу. Термодинамические факторы устойчивости связаны с возникновением энергетических барьеров, препятствующих процессу сближения частиц дисперсной фазы, тогда как кинетические факторы только замедляют этот процесс. Эмульсии – это лиофобные дисперсные системы, состоящие из двух жидких фаз. Их устойчивость и механизм разрушения в значительной мере определяется концентрацией дисперсной фазы в системе. Разбавленные эмульсии могут быть агрегативно устойчивы за счёт образования на поверхности капелек двойных электрических слоёв. Концентрированные эмульсии обладают заметной устойчивостью лишь при наличии «толстой» структурированной адсорбционной оболочки предельно сольватированной со стороны дисперсной среды. Такая оболочка механически препятствует слиянию капель. Высококонтрированные эмульсии – структурированные дисперсные системы с ярко выраженными твёрдообразными свойствами. В лиофобных дисперсных системах уменьшение поверхностной энергии, может происходить в результате уменьшения площади поверхности раздела фаз или в результате уменьшения удельной свободной поверхностной энергии.

Коагуляция.

Коагуляция – образование агрегатов из частиц дисперсной фазы

в объёме дисперсной среды, т.е. слипание частиц дисперсной фазы. На коагуляцию влияют два фактора: кинетическая энергия частицы (КТ) и высота энергетического барьера (U_{\max}). Данный процесс приводит к образованию агрегатов частиц дисперсной фазы в объёме дисперсной среды. Агрегативная устойчивость, как известно, определяет способность дисперсной системы к сохранению степени дисперсности. Данный процесс необходимо различать от слипания частиц. Если не произошла коагуляция частиц эмульсии, тогда обычное встряхивание устраняет процесс слипания. При слипании происходит уменьшение свободной поверхностной энергии, и образуются фазовые контакты между частицами эмульсии, система переходит в более устойчивое состояние. При слипании если силы взаимодействия малы, тогда процесс слипания обратимый и называется флокуляцией. И наоборот, если силы взаимодействия велики, тогда происходит процесс коагуляции. Крупнодисперсные частицы эмульсии естественно оседают быстрее, чем мелкодисперсные, т.е. коагуляция (объединение частиц) приводит к уменьшению седиментационной устойчивости дисперсной системы.

Введение в систему электролитов вызывает коагуляцию, так как понижает энергетический барьер (U_{\max}). Поэтому первая японская кровезамещающая перфторуглеродная эмульсия «Флюозол ДА» 20% хранилась без электролитного состава, и только перед употреблением добавлялись электролиты.

Коалесценция.

Необходимо отметить ещё один процесс, наиболее важный для перфторуглеродных кровезамещающих эмульсий – это

коалесценция, при котором происходит основное укрупнения перфторуглеродных частиц, за счёт слияния мелких частиц эмульсии в крупные с конечным выделением вещества дисперсной фазы в гомогенный слой. Именно процесс коалесценции приводит к необратимому укрупнению эмульсий. Устойчивость эмульсий ПФОС к коалесценции в основном определяется структурно-механическими свойствами адсорбционных слоёв эмульгатора – проксанола. Коалесценция – это кинетический процесс, который определяется движущей силой и сопротивлением. При этом разрушение эмульсии происходит в связи с тем, что разделяющий межфазный слой эмульгатора – проксанола стремится приобрести меньшую свободную энергию за счёт сокращения поверхности. Отсюда можно заключить, что поверхностное натяжение и межмолекулярные силы создают предпосылки к коалесценции. В противоположность коалесценции действуют силы адсорбции, удерживающие молекулы проксанола на поверхности раздела фаз. При контакте перфторуглеродных частиц защитный (или структурно-механический) слой (барьер) проксанола (ПАВ) должен предотвратить коалесценцию, сохраняя определённое расстояние между частицами, которое, как известно, должно быть больше, чем радиус действия дисперсных сил в жидкости и составляет $10A^0$. Это подчёркивает, что при гомогенизации (эмульгировании) перфторуглеродных частиц - концентрация проксанола на поверхности собственно перфторуглеродов должна быть такой, чтобы не возникали участки поверхности без защитного проксанольного слоя, т.е. адсорбция проксанола должна быть предельной монослойной с толщиной слоя более $10A^0$. Скорость

коагуляции и коалесценции в разбавленных эмульсиях определяется частотой столкновения частиц ПФОС в броуновском движении и свойствами защитного проксанольного слоя, тогда как в концентрированных эмульсиях только свойства и величина защитного слоя стабилизатора определяет устойчивость дисперсной системы – эмульсии ПФОС.

Диффузия (изотермическая перегонка).

Процесс переноса вещества с выравниванием концентраций молекул или коллоидных частиц является диффузией (изотермической перегонкой). Явление диффузии универсально, оно наблюдается также у частиц дисперсной перфторуглеродной фазы синтетических перфторуглеродных кровезаменителей. В лиофобных дисперсных системах (перфтор-эмульсиях) уменьшение поверхностной энергии F_s может происходить в результате уменьшения площади поверхности раздела фаз или в результате уменьшения удельной свободной поверхностной энергии (поверхностного натяжения) σ межфазной поверхности: $dF_s = \sigma dS + S d\sigma$. Уменьшение площади межфазной поверхности возможно в результате коалесценции частиц дисперсной фазы (слияние капель) при изотермической перегонке – переносе вещества от малых частиц ПФОС к крупным, а также при изменении формы частиц. При этом мелкие частицы постепенно исчезают. А более крупные сначала растут, а затем начинают растворяться и также исчезают за счёт переноса вещества к ещё более крупным частицам. Это приводит к постепенному падению дисперсности системы и уменьшению её свободной поверхностной энергии. Скорость этого процесса определяется скоростью

диффузионного переноса вещества дисперсной фазы через дисперсионную среду.

Менее резкое понижение поверхностной энергии происходит в процессе коагуляции, когда частицы ПФОС непосредственно не контактируют. Соответственно малое снижение F_s при коагуляции обуславливает обратимость этого процесса и благодаря этому, возможность его предотвращения или резкого замедления при введении в систему эмульгаторов. Вместе с тем, коагуляция с переходом к непосредственному контакту частиц дисперсной фазы всегда является промежуточной стадией разрушения эмульсии ПФОС, в которой в дальнейшем возможна коалесценция, что сближает эти процессы и обуславливает общность факторов, замедляющих их протекание. Поэтому, хотя по движущим силам коалесценция близка к изотермической перегонке, общность факторов, определяющих кинетику разрушения эмульсии, позволяет совместно рассматривать коагуляцию и коалесценцию. Процесс изотермической перегонки веществ, совершенно другой процесс, имеющий другую природу и слабо зависящий от введения стабилизаторов, таких, как например, фосфолипиды и проксанолы.

Кровезамещающие эмульсия ПФОС в термодинамическом смысле, как уже отмечено выше, является нестабильной системой, в которой частичное увеличение среднего диаметра частиц при хранении происходит также по законам оствальдова созревания (Ostwald riping). Укрупнение частиц эмульсии происходит не только в результате коалесценции и коагуляции, но и путём молекулярной диффузии ПФОС через водную фазу из частиц меньшего диаметра в частицы большего. Скорость укрупнения

частиц эмульсии, ее стабильность в этом случае критически зависит от растворимости ПФОС в воде. В частности, эмульсия перфтордекалина (ПФД), растворимость которой в воде составляет $9,9 \times 10^{-9} \text{M}$, стабильна несколько дней, в то время как эмульсия перфтортрибутиламина (ПФТБА) (растворимость в воде $\sim 10^{-12} \text{M}$), может храниться в течение нескольких лет. Справедливость законов оствальдова созревания для взаимодействия частиц эмульсии ПФОС, демонстрируют следующие эксперименты (Перцов А.В. с соавт., 1988) по обратной реконструкции, суть которых заключается в следующем. В двух эмульсия ПФОС, перфторуглероды которых резко различаются по растворимости в воде, например, ПФД и ПФТБА, причем эмульсия ПФД имеет больший диаметр частиц, чем эмульсия ПФТБА. При смешивании этих эмульсий наблюдается парадоксальная картина уменьшения среднего диаметра смешанной эмульсии со временем. Суть наблюдаемого явления, названного «композиционным созреванием» эмульсии ПФОС, лежит в различных скоростях диффузии ПФОС из одних частиц в другие. Изменение свободной энергии, обусловленное взаимным растворением ПФОС, является движущей силой этого процесса. Поскольку скорость диффузии, более растворимого ПФД, в частицы эмульсии ПФТБА происходит существенно выше, чем скорость диффузии молекул ПФТБА в обратном направлении, поэтому наблюдается «усреднение» среднего диаметра частиц смешанной эмульсии.

Термодинамическая устойчивость.

Термодинамически устойчивыми являются лиофильные коллоидные системы, образующиеся самопроизвольно, при низких значениях межфазного натяжения ($\sigma_{12} \ll \sigma_{\text{крит}}$).

Термодинамически неустойчивыми являются лиофобные дисперсные системы, к которым относятся перфторуглеродные кровезамещающие эмульсии, образующиеся в результате механического воздействия на систему при значениях межфазного натяжения ($\sigma_{12} \gg \sigma_{\text{крит}}$), характеризуются временной устойчивостью к агрегации частиц. Леофобные системы по определению обладают избытком поверхностной энергии, в них самопроизвольно идут процессы укрупнения частиц дисперсной фазы. Для придания леофобной системы временной устойчивости в систему вводят стабилизатор – поверхностно-активное вещество.

Дисперсность (раздробленность).

Устойчивость перфторуглеродных кровезамещающих эмульсий зависит в том числе и от дисперсности. Известно, что минимальный размер дисперсной фазы не может быть меньше 1 нм (нанометра) или 10^{-9} м. Размеры частиц как в коллоидной химии, так и в биологических системах в значительной степени определяют свойства дисперсной системы в целом. Для этого используют величину, обратную размерам частиц, которая называется дисперсностью. *Дисперсность* или раздробленность является количественным признаком объектов. Применяются следующие количественные параметры раздробленности: размер частиц α , дисперсность D , удельная поверхность $s_{уд}$. В зависимости от формы частицы берется ее характеристический размер: для сферы – диаметр d , для куба – ребро l . Для частиц неправильной

формы в качестве количественной характеристики раздробленности применяются радиус эквивалентной сферы r и u .

Между этими характеристиками существуют простые соотношения.

$$D = \frac{1}{a} ; \left[\frac{1}{M} \right]$$

Известно, что диаметр эритроцитов крови человека составляет в среднем 7-8 мкм (7000-8000 нм или $7-8 \times 10^{-5}$ м), у слона - 9 мкм, лягушки - 30 мкм. В соответствии с выше указанной формулой наибольшая дисперсность у эритроцитов человека, наименьшая – у эритроцитов лягушки.

4.2. Коллоидно-осмотическое давление перфторуглеродных кровезаменителей.

Коллоидно-осмотическое давление, создаваемое высокомолекулярными компонентами раствора, играет важную роль в образовании межклеточной жидкости. В плазме крови человека это давление составляет лишь около 0,5% осмотического давления. Частицы дисперсной системы на основе перфторуглеродной кровезамещающей эмульсии, обладающие коллоидными размерами, создают определённое коллоидно-осмотическое давление. Осмотическое давление для обычных разбавленных растворов прямо пропорционально количеству молекул в 1 см^3 , принимающих участие в молекулярно-тепловом движении. Это выражение справедливо и для коллоидных систем,

где степень дисперсности не доходит до молекулярной. В коллоидных системах число частиц в 1 см³ обычно значительно меньше, чем у истинных растворов, и осмотическое давление в таких системах также соответственно меньше. Так, например, японская 25% кровезамещающая перфторэмульсия Флюозол-ДК, имеет коллоидно-осмотическое давление 63 мм вод.ст., за счет частиц коллоидных размером – 0,096 мкм. Отечественные перфторуглеродные кровезамещающие эмульсии типа Перфторан и Фторэмульсия III имеют коллоидно-осмотическое давление ~60 мм вод.ст. Коллоидно-осмотическое давление в сбалансированных инфузионных растворах типа 5% раствор альбумина составляет около 380-390 мм вод.ст. (или ~20 мм рт.ст.). Измерение коллоидно-осмотического давления в коллоидных системах, позволяет оценивать размер коллоидных частиц, в частности в перфторуглеродных кровезамещающих эмульсиях.

5. Клинические рекомендации применения перфторуглеродных кровезаменителей.

Перфторуглеродные кровезаменители с газотранспортной функцией применяются как противошоковое, противоишемическое и кардиопротекторное средство при:

- острой и хронической гиповолемии (травматическом, геморрагическом, ожоговом и инфекционно-токсическом шоке, черепно-мозговой травме, операционной и послеоперационной гиповолемии и т.д.);

- нарушении микроциркуляции и периферического кровообращения (изменении тканевого метаболизма и газообмена, гнойно-септическом состоянии, инфекции,

нарушении мозгового кровообращения, отравлении, жировой эмболии и т.д.);

-противоишемической защите донорских органов (для предварительной подготовки донора и реципиента);

-кардиоплегии (использование в качестве кардиоплегического состава и в аппарате искусственного кровообращения);

-для регионарного и местного применения (при регионарной перфузии, лаваже легких, промывании гнойных ран, брюшной и других полостей и т.д.).

Клинические рекомендации.

Клинические рекомендации применения перфторуглеродных кровезаменителей типа Перфторан достаточно подробно разработаны в Санкт-Петербургском государственном медицинском университете им. академика И.П.Павлова [10].

При кровопотере. При инфузионно-трансфузионной терапии.

1.Препарат назначается в дозе 4-15 мл/кг массы тела на догоспитальном этапе до остановки кровотечения.

2.Препарат может быть введен после остановки кровотечения в интра- и послеоперационном периодах.

Осложнения. 1.Резко выраженная гипотония, требующая замедление темпа инфузии и внутривенного введения дофамина (5-10 мкг/кг/мин) и кортикостероидов (30-60 мг по преднизолону), и прекращения инфузии при сохраняющейся гипотонии.

2.Анафилактикоидная реакция, требующая прекращение введения, внутривенного введения дофамин (5-15 мкг/кг/мин) до достижения

желаемого эффекта, внутривенно кортикостероиды (60-90 мг по преднизолону) и антигистаминные препараты.

Резюме. Использование перфторуглеродных кровезаменителей с газотранспортной функцией при лечении кровопотери дает возможность уменьшить частоту послеоперационных осложнений на 12,5%, сократить объем вводимой крови и эритроцитарной массы в 1,5 раза.

При ожоговом шоке.

Ожоговый шок средней и более тяжелой степени, доза 3-7 мл/кг.

Осложнения. Те же, что и в предыдущем разделе.

Резюме. Однократное введение перфторуглеродных кровезаменителей с газотранспортной функцией позволяет снизить общую летальность при ожоговом шоке средней степени тяжести на 20,2%, двукратное введение его дает дополнительное снижение общей летальности ещё на 12,6%.

Черепно-мозговая травма.

1. Ушиб головного мозга любой тяжести (в комплексе традиционных экстр- и интракраниальных мероприятий).

2. Препарат вводится внутривенно в дозе 3-7 мл/кг со скоростью 30-60 капель в минуту под контролем артериального давления.

Противопоказания. Сдавливание головного мозга эпи-суб- или внутримозговой гематомой.

Осложнения. Те же, что и в предыдущем разделе.

Резюме. Применение при тяжелой ЧМТ позволяет уменьшить общую летальность на 8,3%, сократить продолжительность комы на 1,5-2 суток, увеличить на 21,5% полную социально-трудовую адаптацию пострадавших.

Постреанимационная болезнь.

1. Первые шесть часов (но не позже 12 часов) после выхода пациента из клинической смерти любого генеза в дозе 5-7 мл/кг.

2. Постгипоксическая энцефалопатия.

Противопоказания. 1. Запредельная кома (III ст.);

2. Крайне неблагоприятное течение постреанимационной болезни с клиническими признаками гибели головного мозга;

3. IV-V стадии течение постреанимационной болезни.

Осложнения. Те же, что и в предыдущем разделе.

Резюме. 1. Применение с целью предотвращения и лечения ишемического и реперфузионного повреждения головного мозга в постреанимационном периоде у больных, перенесших коматозное состояние, позволяет: а) сократить на 1,5-2 часа продолжительность коматозного периода; б) уменьшить частоту и степень выраженности психоневрологических осложнений; в) снизить на 6,9% летальность; г) обеспечить более полное восстановление интеллектуальных способностей, профессиональной и социальной активности больных.

Хирургические заболевания брюшной полости.

Опыт применения Перфторана при операциях на органах брюшной полости позволил сформулировать основные принципы его применения. Использование Перфторана в программах инфузионно-трансфузионной терапии дает возможность в 2 раза сократить расход донорской крови.

Использование в хирургии печени. Применение Перфторана в дозе 400-1200 мл больным с обширными резекциями печени и высоким операционно-анестезиологическим риском позволили:

1. в 2-2,5 раза уменьшить объем переливаемой во время операции донорской крови; 2. предотвратить ишемические повреждения печени при длительной окклюзии (25-40 минут) печеночно-двенадцати-перстной связки.

Острый инфаркт.

Острый инфаркт миокарда в первые 6-12 часов болевого приступа. Перфторан вводили внутривенно в дозе 3-5 мл/кг под контролем артериального давления. Первоначальная скорость инфузии 4-6 капель в минуту. При хорошей переносимости скорость может быть увеличена до 35-40 капель в минуту.

Противопоказания. 1. ЦВД выше 180 мм вод.ст. или явления застойной сердечной недостаточности; 2. Сопутствующая патология (онкологические и эндокринные заболевания, заболевания крови); 3. Повышенная чувствительность к препарату.

Осложнения. Те же, что и в предыдущем разделе.

Резюме. Использование Перфторана в комплексе интенсивной терапии ОИМ позволяет более чем в 2 раза увеличить объем массы сохраненного миокарда, обеспечить лучшее качество жизни в постинфарктном периоде (ретроспективное исследование через 1 год); уменьшить число повторных инфарктов, снизить на 21,2% частоту развития недостаточности кровообращения.

6. Заключение

Газопереносящие среды на основе перфторуглеродных кровезамещающих эмульсий открывают ряд новых перспектив во многих областях медицины и биологии, когда применение донорской крови оказывается неэффективно или вообще

невозможно. Эффективность перфторуглеродных кровезамещающих эмульсии является следствием как общности ряда ее свойств с натуральной кровью (транспортировка O_2 и CO_2 , поддержание осмотического давления, pH и т.д.), так и отличия от крови, а именно: отсутствие групповой совместимости и резус-фактора, более низкая вязкость, меньший размер частиц, устойчивость к механическим воздействиям, возможность промышленного выпуска, длительное хранение и стерилизация, отсутствие заражения инфекциями и рядом других факторов.

ОСНОВНЫЕ ИСТОРИЧЕСКИЕ ВЕХИ
СОЗДАНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ
ПЕРФТОРУГЛЕРОДНЫХ КРОВЕЗАМЕЩАЮЩИХ
ЭМУЛЬСИЙ

I. эксперимент - впервые в мире в 1966 году использовалось перфторсоединение - ПФБТГ в качестве среды для транспорта кислорода к изолированному органу и живому организму (Clark L., Gollan F., 1966, США);

II. эксперимент - впервые в мире в 1975 году использовалась кровезамещающая эмульсия FC-47 для кровезамещения экспериментальным животным (Geyer R., 1975, США);

III. клиника - впервые в мире в 1978 году разрешено клиническое испытание перфторуглеродного кровезаменителя Флюозол - ДА 20% на добровольцах (Naito R., 1978 «Green Cross Corporation» Япония);

IV. клиника - впервые в мире в 1996 году разрешено клиническое применение перфторуглеродного кровезаменителя Перфторан на пациентах (Воробьёв С.И., Иваницкий Г.Р. соав., 1996 НПФ «Перфторан» РФ).

7.Тестовые задания.

1. Перфторорганические соединения это:

- A. Углеводороды, имеющие одно фторированное соединение.
- B. Углеводороды, имеющие > 50% фторированных соединений.
- C. Углеводороды, имеющие < 50% фторированных соединений.
- D. Углеводороды, имеющие 4 фторированных соединений.
- E. Углеводороды полностью фторированные соединения.

2. Перфторорганические соединения:

- A. Все гидрофильны.
- B. Все гидрофобны.
- C. Гидрофильны только с линейной структурой.
- D. Гидрофобны только с циклической структурой.
- E. Гидрофильны только имеющие метильные группы.

3. Важнейшей характеристикой кровезамещающих препаратов на основе перфторуглеродов являются:

- A. Газотранспортные свойства.
- B. Композиция используемых перфторуглеродов.
- C. Концентрация перфторуглеродов.
- D. Агрегативная стабильность эмульсии.
- E. Наименьший размер частиц эмульсии.

4. Перфторорганические соединения:

- A. Включаются в обмен углеводов.
- B. Включаются в обмен липидов.
- C. Включаются в обмен порфиринов.
- D. Включаются в обмен белка и аминокислот.
- E. Не включаются ни в один вид обмена.

5. *Перфторорганические соединения:*

A. Растворяют любые газы.

B. Растворяют только кислород.

C. Растворяют любые газы только в зависимости от величины их коэффициента растворения.

D. При температуре выше 50°C растворяют только инертный газ.

E. Растворяют собственно газы и не растворяют смеси газов.

6. *Растворение кислорода в плазме крови в сравнении с его растворением в частицах эмульсии перфторуглеродов происходит:*

A. Примерно в 2 раза быстрее. B. Примерно в 10 раз быстрее.

C. Примерно в 20 раз быстрее. D. С одинаковой скоростью.

E. Примерно в 2 раза медленнее.

7. *Композиция перфторуглеродов в перфторуглеродном кровезаменителе Перфторан:*

A. Перфтордекалин и перфтороктилбромид.

B. Перфтордекалин и перфторметилциклогексилпиперидин.

C. Перфтордекалин и перфтортрипропиламин.

D. Перфтороктилбромид и перфторметилциклогексилпиперидин.

E. Перфтортрибутиламин и перфторметилциклогексилпиперидин.

8. Перфторан представляет собой кровезамещающую эмульсию перфторуглеродов с концентрацией:

A. 10 об%; B. 20 об%; C. 30 об%; D. 40 об%; E. 50 об%.

9. Перфторан является эмульсионной бинарной смесью пер-фтордекалина и перфторметилциклогексилпиперидина в соотношении:

A. 1 / 2; B. 2 / 1; C. 1 / 1; D. 1 / 3. E. 1 / 5.

10. Основная часть перфторуглеродов, после их введения в составе кровезамещающей эмульсии удаляется из организма:

A. Перспирацией через легкие и кожу.

B. Перспирацией только через легкие.

C. С мочой. D. С кишечным секретом. E. С желчью.

11. Перфторуглеродные кровезамещающие препараты это:

A. Прямые перфторуглеродные эмульсии.

B. Свободнодисперсные перфторуглеродные эмульсии.

C. Гетерогенные перфторуглеродные эмульсии.

D. Термодинамически неустойчивые перфторуглерод. эмульсии.

E. Лифобные коллоидные перфторуглеродные системы.

12. Какие недостатки первого поколения перфторуглеродных кровезамещающих эмульсий:

A. Нестабильность.

- В. Высокая реактогенность.
- С. Крупнодисперсность частиц эмульсии.
- Д. Не способность стерилизоваться.
- Е. Не способность находиться в незамороженном состоянии.

13. Каким способом переносится кислород в частицах перфторорганических соединениях:

- А. Физическим способом.
- В. Химическим способом.
- С. Физико-химическим способом.
- Д. Химико-физическим способом.

14. Перфторуглеродные кровезамещающие эмульсии это:

- А. Масло в воде.
- В. Вода в масле.

15. Перфторуглеродные кровезамещающие эмульсии имеют устойчивость:

- А. Седиментационную.
- В. Агрегативную.
- С. Коагуляционную.
- Д. Термическую.

16. Какое отличие между отечественными кровезамещающими препаратами Перфторан и Фторэмульсия III:

- А. По концентрации перфторуглеродов.

- В. По концентрации проксанола.
- С. По концентрации фторид иона.
- Д. По среднему размеру частиц эмульсии.
- Е. По количеству побочных реакций

17. Какой из применяемых перфторуглеродов обладает рентгеноконтрастным действием:

- А. Перфтордекалин.
- В. Перфтортрибутиламин.
- С. Перфтортрипропиламин.
- Д. Перфтороктилбромид.

17. Применение перфторуглеродных кровезамещающих эмульсий противопоказано при:

- А. Геморрагических диатезах. В. Беременности.
- С. Неостановленном кровотечении.
- Д. Тяжелом эндотоксикозе.

18. Из каких перфторуглеродов созданы российская и американская перфторуглеродная кровезамещающая эмульсия:

- А. Перфтордекалин.
- В. Перфторметилциклогексилпиперидин.
- С. Перфтортрипропиламин.
- Д. Перфтороктилбромид.

20. Какой общий перфторуглерод в отечественной и японской перфторуглеродной кровезамещающей эмульсии:

- А. Перфтордекалин.

- В. Перфтортрибутиламин.
- С. Перфтортрипропиламин.
- Д. Перфтороктилбромид.

Правильные ответы на тестовые задания:

1-Е; 2-В; 3-А,Е; 4-Е; 5-А; 6-С; 7-В; 8-А; 9-В; 10-В; 11-А,В,С,Д,Е;
12-А,В, С, Д, Е; 13-А; 14-А; 15; 16-Д,Е; 17-Д; 17-А,В,С.18-А,В,Д; 20-
А.

8. Ситуационные задачи.

Задача 1

При хирургическом вмешательстве на желудке образовалась кровопотеря около 3500 мл, возникла острая необходимость в компенсации утраченной газотранспортной функции крови. С этой целью принято решение перелить Перфторан. Для быстрой разморозки препарата, который находится при хранении в замороженном состоянии от -4°C до -18°C потребовалась интенсивная разморозка при температуре около $+40^{\circ}\text{C}$. Через 20 минут размороженный Перфторан подвергнут энергичному встряхиванию, визуально пригоден для переливания. Однако при проведении биологической пробы на реактогенность возникла выраженная реакция непереносимости в виде тахикардии, повышения ЦВД и снижения АД. Переливание Перфторана пришлось прекратить.

Вопросы

1. В чем заключается наиболее вероятная причина непереносимости Перфторана?

2. Какие мероприятия исключают непереносимость Перфторана?

Задача 2

Мужчина 45 лет госпитализирован в хирургическое отделение с диагнозом: язвенная болезнь желудка, язва средней трети желудка по малой кривизне, профузное язвенное кровотечение. Больной экстренно взят в операционную для проведения резекции желудка.

Анализ крови: гемоглобин 88 г/л, эритроцитов $2,2 \cdot 10^{12}$ /л, гематокрит 23%.

Вопросы

1. Что лежит в основе этиопатогенеза язвенной болезни?
2. Какие осложнения могут возникнуть при язвенной болезни желудка?
3. Каков оптимальный режим применения перфторана при хирургическом лечении профузного язвенного желудочного кровотечения у данного больного?

Задача 2

Мужчина 48 лет доставлен бригадой скорой помощи в реанимационное отделение больницы. Диагноз: ИБС, острый инфаркт миокарда с зубцом Q. Поступил в стационар через 3 часа после появления клиники острого инфаркта миокарда.

Вопросы

1. Каковы причины инфаркта миокарда?
2. Объясните механизмы развития биохимических и гематологических нарушений при инфаркте миокарда.
3. Каковы механизмы нарушений сократимости миокарда?
4. Целесообразно ли включение в комплекс терапевтических мероприятий инфузий перфторана?
5. Каковы дозы, режим переливания и противопоказания при применении перфторана?

Варианты ответов

Задача 1

1. Наиболее вероятной причиной реакции непереносимости Перфторана является нарушение режимов размораживания и перемешивания препарата, что привело к изменению его дисперсионной стабильности и укрупнению частиц эмульсии перфторуглеродов до уровня, не допускающего ее переливание.

2. Для исключения подобного осложнения Перфторан следует размораживать медленно при комнатной температуре (не выше 30 С) и перемешивать растаявший препарат осторожно путем медленных переворачиваний флакона.

Задача 2

1. В основе этиопатогенеза язвенной болезни желудка лежит нарушение соотношения между защитными и повреждающими факторами. Защитные механизмы включают в себя: 1) непрерывный слой примыкающего к эпителию геля слизи; 2) щелочной секрет, вырабатываемый эпителиальными клетками, содержащий бикарбонаты; 3) должный кровоток; 4) способность эпителиальных клеток к быстрому обновлению после повреждения любой природы; 5) простагландины, обеспечивающие клеточную защиту; 6) иммунную защиту. К агрессивным факторам относятся: соляная кислота, пепсин, нарушение эвакуации из желудка, дуоденогастральный рефлекс, свободные радикалы. На это равновесие могут влиять несколько причин: наследственность (группа крови O, положительный резус фактор, наличие HLA-антигенов B5, B15, B35, нарушение выработки IgA, увеличение массы обкладочных клеток, повышенное освобождение гастрина в ответ на еду и др.), нейропсихические факторы (психоэмоциональные перегрузки), алиментарные факторы (нерегулярное, некачественное питание), вредные привычки (курение, злоупотребление алкоголем), лекарственные средства (НПВП), инфекция (*Helicobacter pylori*). При развитии язвенной болезни желудка в основном снижаются защитные механизмы.

2. Осложнения язвенной болезни желудка разделяют на две группы: 1) возникающие внезапно и непосредственно угрожающие жизни больного (кровотечение, перфорация); 2) развивающиеся постепенно и имеющие хроническое течение (пенетрация, стенозирование привратника, малигнизация ткани в области язвы).

3. Перфторан следует применять на фоне интенсивной оксигенотерапии после остановки кровотечения. Применение перфторана усиливает неостановленное кровотечение и увеличивает объем кровопотери, что связано с повышением АД и активацией при инфузии перфторана микроциркуляции, со снижением вязкости крови и улучшением ее реологических характеристик. Перфторан ослабляет механизмы первичного и вторичного гемостаза (снижение адгезии и агрегации тромбоцитов, разведение крови, ослабление формирования тромбоцитарной пробки и активации плазменных прокоагулянтов и др.). Все это затрудняет формирование тромба в кровоточащем сосуде, способствует усилению кровотечения.

В данном конкретном случае операцию следует проводить в три этапа: I этап - лапаротомия, гастротомия, пережатие зажимом кровоточащего сосуда в дне язвы; II этап - прекращение хирургических манипуляций, компенсация кровопотери в том числе и переливанием перфторана, стабилизация гемодинамики; III этап - выполнение резекции желудка, коррекция возникших в организме изменений, окончательный гемостаз.

Задача 3

1. Резкое сужение просвета коронарных артерий в результате: а) формирования атеросклеротической бляшки, занимающей более 95-98% внутрисосудистого пространства; б) разрыва атеросклеротической бляшки; в) формирования тромботических масс на поверхности атеросклеротической бляшки; г) коронарораспазма; д) образование внутрисосудистых тромбов, значительные нарушения тромборезистентных свойств эндотелиальных клеток, попадание эмболов.

2. Повышение активности КФК (креатинфосфокиназы), концентрации миоглобина и тропонина в кровотоке

свидетельствует о необратимом повреждении кардиомиоцитов, резком повышении проницаемости цитоплазматических мембран, в результате чего белки теряются ишемизированными клетками. Эти белки являются биохимическими маркерами ранних стадий инфаркта миокарда. Нейтрофильный лейкоцитоз - возбуждение симпатoadреналовой системы в ответ на патологический стресс (боль, ишемия миокарда, циркуляторная гипоксия и пр.), тахикардия, повышение тонуса емкостных сосудов, «смыв» пристеночных лейкоцитов в общий кровоток.

3. Гипо- и акинезы являются следствием:

1) выраженного энергодефицита в результате ишемического повреждения кардиомиоцитов

2) конкуренции между ионами H^+ и Ca^{+} за тропомиозин

3) снижение плотности адренорецепторов на поверхность ишемизированных кардиомиоцитов и выраженного миотропного эффекта катехоломинов на их сократительный аппарат.

4) активности внутриклеточных протеаз, ферментативного нарушения миофибриллярных белков развитие ишемической контрактуры.

4. Острый инфаркт миокарда лечится с соблюдением выработанных и выверенных мировой кардиологической практикой рекомендаций и медикаментов. Приоритетны тромболитическая, антикоагулянтная, антитромботическая терапия. На первом месте лечение должно быть направлено на улучшение работы миокарда, устранение его гипоксии и болевого синдрома, профилактика и лечение осложнений. Полифункциональность перфторана позволяет в той или иной мере решать все задачи лечения острого инфаркта миокарда. Это мембраностабилизирующее и кардиозащитное действие, уравнивание баланса между потреблением и доставкой кислорода к миокарду, улучшение диффузии кислорода к поврежденным клеткам миокарда, реологические, микроциркуляторные и иные изложенные ранее положительные эффекты перфторана. Все это обосновывает целесообразность включения инфузий перфторана в схемы лечения острого инфаркта миокарда. Инфузии перфторана при

возникновении инфаркта миокарда следует применять, по возможности, рано, в первые 6-12 часов развития.

5. Назначается перфторан в дозах до 2-3 мл/кг на фоне оксигенотерапии. Учитывая высокую опасность при инфаркте миокарда возможных побочных эффектов, инфузии перфторана, препарат следует переливать через отдельную новую систему, тщательно выполнять пробу на реактогенность, проводить инфузию медленно (1 капля через 2-3 сек), тщательно следить за изменениями состояния больного, АД, пульса и ЦВД.

9. Рекомендуемая литература.

1. Архипов В.В. Манцигин Ю.А. Клеточный тест на токсичность перфторированных органических соединений. // Перфторорганические соединения в биологии и медицине. Сб. – Пущино. - 2001. – с. 95-97.
2. Афонин Н.И., Алабовский В.В., Доронина Н. И. Антиаритмическое действие эмульсии фторуглеродов. // Бюллет. экспер. биологии и медицины. – 1982. - № 7 60-61.
3. Белоярцев Ф.Ф., Кайдаш А.Н., Исламов Б.И. и др. Медико-биологические аспекты применения эмульсий перфторуглеродов: Сб. – Пущино - 1983. - с.116-127.
4. Воробьев С.И. Создание перфузионной среды с газотранспортной функцией для противоишемической защиты изолированного сердца. // Москва. – Автор. канд. дисс. 1990.
5. Воробьев С.И. Использование субмикронных перфторуглеродных эмульсий, стабилизированных проксанолом в биологии и медицине. // Москва. - Автореф. док. дисс. – 1994.
6. Воробьев С.И., Иваницкий Г.Р., Мороз В.В., Светлов В.Н., Моисеенко О.М., Лебединская О.В., Ивашина А.И. Газотранспортные препараты на основе перфторуглеродных эмульсий. // Вестник интенсивной терапии. 1996. - №2-3. – с. 15-21.
7. Воробьев С.И. Перфторан – плазмозаменитель с газотранспортной функцией. // Препринт. – Москва. – 1997. – 48с.
8. Голубев А.М., Белоярцев Ф.Ф., Васильев А.Э. и др. Реакция биологических систем при замещении крови эмульсиями фторуглеродов. - Астрахань. - 1993.

9. Иванов К.П. Современные проблемы дыхательной функции крови и газообмена в легких. // Физиологический журнал. - 1992 .- N 78 - т.11. - с.11-26.
10. Инструкция по Перфторану. Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И.П.Павлова.
11. Кузнецова И.Н., Гербут К.А., Лягушкина Л.В. Изменение массопереноса газов крови в условиях гипоксии при инфузии эмульсии перфторуглеродов. // Физиологический журнал. - 1986. - N 2. - т. LXXII. - с.231-238.
12. Маркина З.Н., Бовкун О.П., Цикурина Н.Н. и др. Физико-химические свойства перфторуглеродов, применяемых для получения тонкодисперсных устойчивых эмульсий масло-вода. // Перфторированные углероды в биологии и медицине: Сб. - Пушкино. - 1980. - с.58-67.
13. Мороз В.В., Крылов Н.Л., Иваницкий Г.Р., Кайдаш А.Н., Онищенко Н.А., Симанов В.А., Воробьев С.И. Применение Перфторана в клинической медицине. // Анестезиология и реаниматология. – 1995. -№6. – с. 12-17.
14. Образцов В.В., Шехтман Д.Г., Сологуб Г.Р. и др. Индукция микросомальных цитохромов в печени крыс после внутривенного введения животным эмульсии перфторорганических соединений. // Биохимия. - 1985. - т.50. - N 7. - с.1220-1227.
15. Софронов Г.А., Селиванов Е.А., Ханевич М.Д. Вестник Российской Военно-медицинской академии, 1999, №2, 62-65.
16. Селиванов Е.А., Софронов Г.А., Ханевич М.Д. Кровезаменители переносчики кислорода: настоящее и будущее. // Физиологически активные вещества на основе перфторуглеродов в экспериментальной и клинической медицине. // Науч. конф. СПб. – 1999. – с. 72-77.
17. Сухоруков В.П., Рагимов А.А. и др. Перфторан – перфторуглеродный кровезаменитель с газотранспортной функцией. Пособие для врачей. Издание 2-е. М. 2008.
18. Clark L., Gollan F. Survival of mammals breathing organic liquids equilibrated with oxygen at a atmospheric pressure. // Science. - 1966. - v.152. - p.p.1752-1755.
19. Chen H.S., Yang Z.H. Perfluorocarbon as blood substitute in clinical applications and in war casualties.// Biomater Artif Cells Artif Organs. –1988. – 16. - 403-409.
20. Mitsuno T., Tabuchi S., Ohyanagi M., Sugiyoma T. Intake and

- retention of perfluorochemical substance of Fluosol-DA (FDA) in res human. // Proceedings of the 5 th Intern. Symp. on OxygenCarrying Colloidal Blood Substitutes. - Mainz, March 1981.p.220.
- 21.Geyer R. Bloodless rats through the use artificial blood substitutes. // Fed. proc. - 1975. - v.34. - p.p.1499-1505.
- 22.Moore R.F. Physical of a new syntnetic oxygen. // Biomater. Artif. Cells and Artif. Organs. - 1988. - v.16. - N 1-3. - p.p.443-445.
- 23.Naito R. Further studies on the use of "Fluosol" preparations developed since Stockholm symposium - 1977. // IV intern. Sympos. on Perfluorochemical Blood Substitutes. - Kyoto, 1978. - p.p.33-45.
- 24.Riess J., Cornelus C., Krafft M. et al. Fluorocarbon emulsion stabilisation and particle size control usiding mixed fluorocarbon. // Физиологическая активность фторсодержащих соединений: Сб. Пушино. – 1995. – с. 67-73.
- 25.Sloviter H., Petkovic M., Ogoshi S., Yamada H. Dispersed fluorochemicals as substitutes for erythrocytes in whole animals. // Fed. proc. - 1969. - v.28. - N 2. - p.453 (abstr.1099).