

ПОЛВЕКА ИССЛЕДОВАНИЙ ИСКУССТВЕННЫХ КРОВЕЗАМЕНИТЕЛЕЙ НА ОСНОВЕ ПФО-ЭМУЛЬСИИ. ИСТОРИЧЕСКИЙ ОЧЕРК.

HALF A CENTURY OF RESEARCH IN ARTIFICIAL BLOOD SUBSTITUTES BASED ON PFO-EMULSION. HISTORICAL ESSAY.

П.И.Катунян¹, А.В.Рудаков², С.Ю.Пушкин³
Pogos Katunyan¹, Andrey Rudakov², Sergey Pushkin³

¹ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М.Сеченова, кафедра травматологии, ортопедии и хирургии катастроф, Москва, ул. Салям-Адиля, д. 7; ²ГБУЗ РК «Медвежьегорская ЦРБ», Республика Карелия, г. Медвежьегорск, ул. Солунина, д. 14; ³ООО «ЛАБОРАТОРИЯ ПУШКИНА», Московская область, г. Пущино, эл. почта: LaboratoryPushkin@yandex.ru, www.pushkin.biz.

Абстракт. Высокая эффективность применения искусственных кровезаменителей на основе эмульсии перфторорганических соединений в терапии критических состояний привела к созданию в разных странах большого числа экспериментальных эмульсий, которые в научной литературе традиционно разделяют на несколько поколений в зависимости от их физико-химических свойств. С начала первых экспериментов Леланда Кларка прошло полвека. В данной работе представлен обзор наиболее успешных проектов по созданию эмульсий перфторуглеродов в Японии, России и США.

Abstract. High efficiency of drugs based on a perfluoroorganic compound in the treatment of critical conditions has led to the creation of a large number of different countries experimental perfluorocarbon emulsions that their creators traditionally divided into multiple generations, depending on their physico-chemical properties. Since the beginning of the first experiments of Leland Clark has passed half a century. In this paper, we present an overview of the most successful projects to create emulsions of perfluorocarbons in Japan, Russia and the United States.

Ключевые слова: кровезаменители, переносчики кислорода, перфторуглероды, Перфторан, наноэмульсия, поколение перфторуглеродных эмульсий, ПФО-терапия, ПФО-коррекция.

Keywords: blood substitutes, oxygen carriers, perfluorocarbons, Perftoran, Oxygent, Oxycyte, nanoemulsion, generation of perfluorocarbon emulsions, PFO-therapy, PFO-correction.

Введение

Началу эпохи использования эмульсий перфторорганических (ПФО) соединений в биологии и медицине послужили в 1966 г. эксперименты знаменитого ученого, изобретателя электрода Кларка и «отца биосенсоров» Леланда Кларка-младшего (1918-2005 гг.) (Фото 1) [1]. В научно-популярных изданиях широко известен его эксперимент с погружением живой мыши в колбу с оксигенированными жидкими ПФО соединениями.

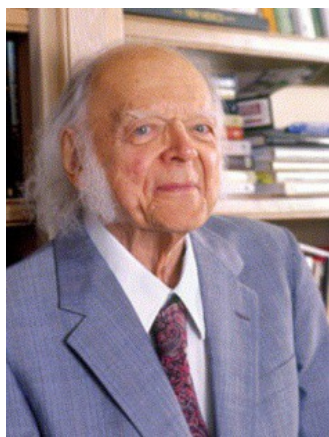


Фото 1. Профессор Леланд Кларк-младший.

Начавшиеся работы по созданию искусственного кровезаменителя на основе ПФО соединений в 70-х гг. 20-го века в США, Японии и СССР, давали надежду врачам, что будут решены задачи, связанные с всё возрастающей потребностью в донорской крови при участившихся катастрофах техногенного и природного характера, помогали бы решить проблему групповой совместимости донорской крови, а также снижали бы риски заражения при переливании крови и ее компонентов все вновь открываемыми опасными вирусными инфекциями.

Напомним, ПФО соединения это органические вещества, в которых все атомы водорода заменены на фтор. Такие свойства, как химическая инертность и способность растворять газы, делает их подходящими кандидатами для создания искусственных кровезаменителей.

Несмотря на то, что за полувековой срок мировой научной общественности было представлено более двух десятков разработок ПФО-эмульсий, выполняющих роль и кровезаменителей, и лекарственных средств для ПФО-терапии других нозологий, в мировом здравоохранении только два кровезаменителя на основе ПФО-эмульсии, это японско-американский препарат Fluosol-DA и российский «Перфторан», получили статус зарегистрированного лекарственного средства.

В научно-медицинской литературе последнего десятилетия достаточно широко освещено современное состояние проблемы создания кровезамещающих составов на основе ПФО соединений [2, 3–9]. В составе создаваемых кровезаменителей использовались различные ПФО соединения или их смеси: перфтордекалин (ПФД), перфтортрибутиламин (ПФТБА), перфтортрипропиламин (ПФТПА), фожалин, перфторметилциклогексилпиперидин (ПМЦП), перфтороктилбромид (ПФОБ), перфтордецилбромид (ПФДБ), перфтордихлороктан, перфтор-трет-бутил-циклогексан (FtBu). А в качестве эмульгатора применялись: полоксамер 188, фосфолипиды, полученные из яичного желтка, глицерин и триглицерид, а также различные фторированные сурфактанты. Несмотря на такое разнообразие композиций ПФО-эмульсий, некоторые их физические и биологические свойства оказались схожими.

Например, исследователями и врачами было замечено, что способность ПФО соединениями к растворению CO_2 в 3-4 раза большей, чем O_2 , позволяет ПФО-эмульсиям при внутривенном введении быстро нормализовать кислотно-щелочной баланс крови [10].

В научных публикациях можно встретить упоминание небольшого числа кровезаменителей, которые были допущены до клинических исследований (КИ): Fluosol-DA (Япония - США), Перфторан (РФ), Oxigent (США), Oxycyte (США), Oxyfluor (NemaGen/PFC, США), и целый ряд ПФО-эмульсий, которые не были допущены до КИ Перфукол (СССР), PHER- O_2 (Sunquine Corp., USA), Neo-PFC (Department of Surgery, Hokkaido University School of Medicine, Japan) или являлись исключительно научными разработками, которые создавались чаще всего для решения конкретной научной задачи, без перспективы дальнейшей регистрации лекарственного средства и другие мало известные проекты.

Проанализируем основные закономерности успеха и провала разработчиков ПФО-эмульсий. Это актуально в связи с тем, что два последних крупных проекта потерпели неудачу, сначала в США в 2007 г. был закрыт проект Oxigent, а потом в 2014 г. заморожен проект Oxycyte.

Первая ПФО-эмульсия Fluosol.

Первой эмульсией, разрешенной к применению в клинике, был созданный Green Cross Corp. (Japan) в 1978 г. препарат Fluosol-DA. В США Fluosol-DA впервые был применен в США в ноябре 1979 г. больным, которые отказались от переливания крови по религиозным мотивам [1, 9].

Препарат представлял собой 20 вес.% эмульсию, состоящую из ПФД и ПФТПА в соотношении 2:1, с использованием смеси (3,9%) следующих поверхностно-активных веществ (ПАВ): полоксамера, фосфолипидов яичного желтка и глицерина. Средний размер частиц эмульсии 200 нм, показатель токсичности ЛД₅₀ очень низкий 25 г/кг (Таблица 1).

Таблица 1. Свойства наиболее известных ПФО-эмульсий.

Название	Разработчик, страна	Средний размер частиц, нм	Вязкость, сП	Время нахождения в кровяном русле, ч	ЛД ₅₀ , г/кг веса
Fluosol-DA	Green Cross Corp. (Japan), Alpha Therapeutics (USA)	200	2.8	8	25
PHER-O ₂	Sanguine Corp. (USA).	200	Н. д.	Н. д.	Н. д.
Oxygent	Alliance Pharmaceutical (USA).	160 – 180	4.1	20	54
Oxyfluor	HemaGen/PFC (USA).	220–250	4	Н. д.	Н. д.
Neo-PFC	Hokkaido University School of Medicine (Sapporo, Japan)	Н. д.	Н. д.	Н. д.	Н. д.
Охусйте	Oxygen Biotherapeutics (USA)	200-300	Н. д.	20	Н. д.
Перфторан	НПФ «Перфторан», Россия	50-80	2.5-3.0	24	269

Примечание: Н.д. – нет данных.

В декабре 1989 г. Fluosol был разрешен FDA к использованию в США при коронарной ангиопластике. Fluosol использовался для консервации донорских органов в трансплантологии и был эффективен как дополнение к противоопухолевой терапии [1]. Права на препарат принадлежали американской компании Alpha Therapeutics. Однако клинический опыт показал, что препарат обладает достаточно низкой эффективностью, коротким временем циркуляции в организме, температурной нестабильностью, низкой кислород-транспортной способностью и побочными эффектами, такими как активация комплемента и разрушение альвеолярного сурфактанта [1, 9]. Вероятность развития тяжелых аллергических реакций при внутривенном его введении достигала 2–4% у монголоидов и до 35% у людей европеоидной расы. Из-за этих недостатков Fluosol был запрещен для использования в 1994 г.

Плазмозамещающее и газотранспортное средство Перфторан

Научная группа под руководством проф. Ф.Ф. Белоярцева начала работать по теме создания лекарственных средств на основе ПФО-эмульсий в 1979 г. на базе Института биофизики АН СССР (директор проф. Г.Р. Иваницкий) в г. Пущино Московской области.

В лаборатории медицинской биофизики шли работы по созданию нескольких лекарственных средств на основе ПФО-эмульсии: кровезаменитель «Перфторан» и препараты для кардиopleгии «Перфузоль» и для консервации донорских органов «Фторэм».

Авторами (создателями) состава и технологии изготовления кровезаменителя «Перфторан» по праву считаются заведующий Лаборатории профессор д.м.н. Феликс Федорович Белоярцев и его заместители в настоящее время профессора и доктора медицинских наук Евгений Ильич Маевский и Бахрам Исламович Исламов.

Экспериментальные и доклинические исследования создаваемых препаратов проводились на различных моделях и видах животных: мышах, крысах, кроликах, кошках, собаках.

Из-за недофинансирования выйти на КИ смог только препарат «Перфторан».

КИ препарата «Перфторан» проводились с января 1984 г. по октябрь 1985 г. Институтом биофизики, а с 1991 г. созданным на заре СССР ОАО НПФ «Перфторан».

И в 1996 г. Министерство здравоохранения и медицинской промышленности России выдало регистрационное удостоверение акционерному обществу «Перфторан», на плазмозамещающее средство с газотранспортной функцией «Перфторан».

По состоянию на 2017 г. 100 мл эмульсии содержат: пфокалина (очищенный ПФД) 13 г, пфоридина (очищенный ПМЦП) 6,5 г, проксанола (полоксамер 188) 4 г и солевой композиции, обеспечивающую осмотическую концентрацию на уровне 280-310 мосм/л. Технология изготовления наноэмульсии позволяет получить средний размер частиц наноэмульсии 50–70 нм, что более чем в 100 раз меньше размера эритроцита (размер эритроцита 7000 – 10000 нм). Особо стоит отметить, что эта наноэмульсия обладает высокой монодисперсностью (95,1% частиц не больше 90 нм), а также отсутствуют частицы крупнее 200 нм (Рис.1). Наноэмульсия обеспечивает необходимые свойства перфторана: высокую реологию, транспорт газов и низкую реактогенность [2]. ЛД₅₀ составляет 269 г/кг [11].

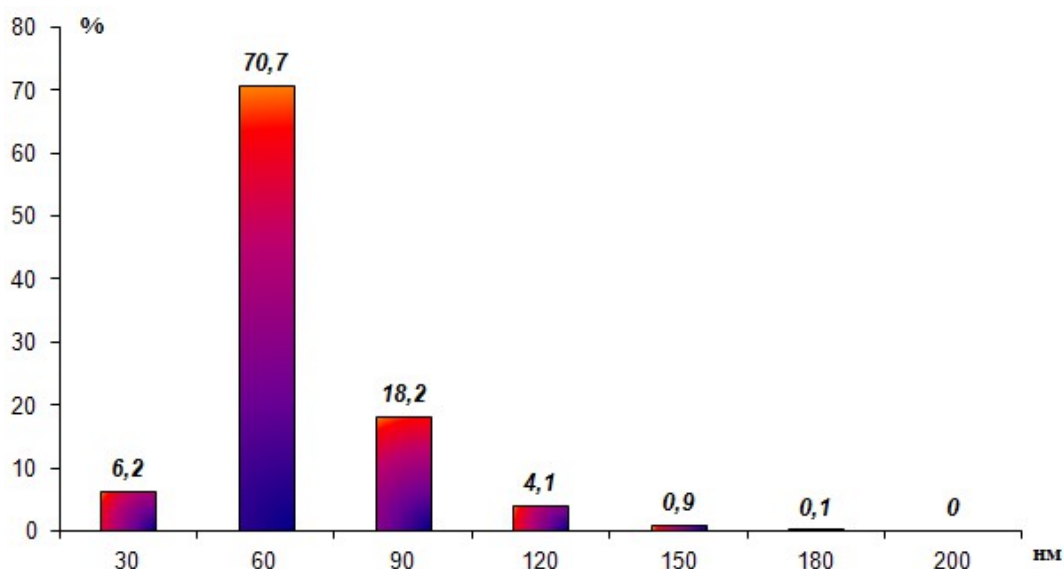


Рис. 1. Распределение частиц наноземульсии «Перфторан».

Перфторан транспортирует кислород и оксид азота из легких в клетки организма, а углекислый газ из клеток тканей в легкие за счет собственной газовой емкости, и своих реологических свойств (вязкость – 2,5 сП, значительно большая суммарная площадь поверхности частиц эмульсии (в 100 мл эмульсии – 1000 м²) по сравнению с суммарной площадью поверхности эритроцитов (в 100 мл крови 79 м²) (Таблица 1, 2). У препарата «перфторан» высокие реологические, диуретические, гемодинамические, мембранно-стабилизирующие, кардиопротекторные и сорбционные свойства [12].

Таблица 2. Газотранспортная эффективность ПФО-эмульсий

ПФО-эмульсия	Количество ПФО соединений, вес. %	Средний размер частиц, нм	Суммарная площадь поверхностей частиц в 100 мл, м ²
Fluosol	20	200	300
Oxigent	60	160-180	1000-1125
Oxyfluor	40	220-250	480-545
Oscyte	60	200-300	600-900
Перфторан	20	60	1000

За период с 2007 по 2010 гг. ПФО-терапию прошли более 17 000 пациентов. В течение этого периода была зафиксирована только одна серьезная неблагоприятная реакция анафилактического типа [13].

Искусственный кровезаменитель «Перфторан» разрешен с 2005 г. к клиническому применению в Мексике как Perftec (Laboratorios KEM, Мексика) (Фото 2), а также на Украине, в Казахстане, Киргизии и Узбекистане.



Фото 2. Кровезаменитель Perftec – торговое название препарата «Перфторан» в Мексике.

В период с 1997 по 2012 гг. генеральным директором ОАО НПФ «Перфторан» был С.Ю. Пушкин.

Успехи «Перфторана» не были не замечены американскими конкурентами.

Авторы патента EP2034959 Дж. Уирс, Д. Клейн, С. Джонсон, заявка на который была подана в мае 2006 г., а права на него принадлежали компании Alliance, т.е. через год после регистрации препарата в Мексике и публикации результатов КИ в научно-медицинских изданиях, пишут, что никаких исследований с «Перфтораном» никогда не проводилось за пределами России, а про размер частиц российской эмульсии указали только, что он меньше 200 нм [14].

А в июне 2006 г. президент компании Synthetic Blood Р. Никора, объявляя о начале разработки протокола КИ в Мексике, бездоказательно заявил, что российский препарат первого поколения «Перфторан», уже одобренный для использования в Мексике, значительно хуже препарата третьего поколения Охусуте по следующим критериям: безопасность и кислородтранспортные функции [15].

В 2015 г. права на производство, товарный знак «Перфторан» приобрело ООО «Гротекс» (фармацевтический завод «Солофарм», Санкт-Петербург, Россия) [16].

В 2016 г. ООО «Лаборатория Пушкина» приступила к доклиническим исследованиям ПФО-эмульсии III, являющейся аналогом «Перфторана» (Фото 3) [17]. Изготовление ПФО-эмульсии III осуществляется на основе патента № 2557933 [18].



Фото 3. ПФО-эмульсия III аналог «Перфторана», произведено ООО «Лаборатория Пушкина».

Кровезаменитель Охугент американской компании Alliance Pharmaceutical

Американская компания Alliance Pharmaceutical (Alliance) была создана в 1983 г., и до слияния в 1989 г. с компанией Fluoromed Pharmaceutical (Сан-Диего, Калифорния, США) называлась Otisville BioPharm (Otisville, New York, USA) [19].

В начале 1990-х гг. Alliance пригласила на работу в компанию нескольких российских ученых, принимавших участие в разработке эмульсии «Перфторан» и ПФО соединений для нее [20].

Основным разрабатываемым продуктом компании был Охугент, кровезаменитель с функцией переноса кислорода, на основе собственной технологий изготовления ПФО-эмульсии [19].

В отличие от японского Fluosol-DA и российского «Перфторана» компания Alliance использовала в своей эмульсии не циклические ПФО соединения, а линейные (ПФОБ ($C_8F_{17}Br$) и ПФДБ ($C_{10}F_{21}Br$)).

Другим отличием эмульсии Охугент являлась более высокая концентрация ПФО соединений - 60 вес.% (58 вес.% ПФОБ и 2 вес.% ПФДБ). В качестве эмульгатора использовались 3,6 вес.% фосфолипиды яичного желтка. Средний размер частиц эмульсии составлял 160-180 нм. Полученную эмульсию можно было хранить в незамороженном виде [21].

В опубликованных научных статьях упоминаются только эксперименты с мышами и крысами, которые проводились уже после начала КИ. Авторы статей предполагают, что

Охугент прошел тщательное тестирование безопасности, несмотря на то, что большинство результатов этих исследований не опубликованы в научной литературе. Их уверенность основана на том, что регулирующие органы дали разрешение на КИ [21].

С середины 1990-х гг. Alliance совместно с Johnson & Johnson проводил КИ Охугент. В RW Johnson Pharmaceutical Research Institute, принадлежащий Johnson & Johnson, на конец 1997 г. в рамках II фазы КИ приняло участие 256 пациентов [22].

На начало 2000 г. в КИ нового кровезаменителя приняло участие более 1000 пациентов [23].

В мае 2000 г. между Alliance и Baxter Healthcare Corp. (Deerfield, IL, USA) было заключено инвестиционное соглашение о производстве, продаже и распространении эмульсии Охугент в США, Канаде и Европе. Размер инвестиций составлял 20 млн. долларов США в привилегированные акции компании Alliance и 30 млн. долларов для проведения КИ до конца 2001 г. [23].

В августе 2002 г. Alliance объявила о выходе из соглашения с Baxter Healthcare. Alliance из-за финансовых трудностей уволил 55 из 135 своих сотрудников [24].

В апреле 2004 г. Alliance подписала соглашения о продвижении Охугент в Европе с датской компанией Nyscomed [25], а в Южной Корее с южнокорейской компанией IL YANG [26].

В январе 2005 г. Alliance для продвижения эмульсии Охугент в Европе заключила соглашение с другой датской компанией Leo Pharma, т.к. Nyscomed отказалась финансировать проект из-за сомнений Европейского медицинского агентства в представленных планах КИ и регистрации Охугент [27]. В декабре 2006 г. французские регулирующие органы выдали разрешение на проведение КИ препарата Охугент [28].

Последняя новость об Охугент была в мае 2007 г. Alliance заключила договор с китайской компанией Beijing Double-Crane Pharmaceutical о начале КИ в Китае. По этому договору Alliance должна была осуществить трансфер технологии для производства Охугент в Китае после завершения КИ, успешное окончание которых ожидалось в 2008 г. [29].

Кровезаменитель Охусуце американской компании Tenax Therapeutics

Компания была создана в 1967 г. в Нью-Джерси, США и носила название Rudmer, David & Associates. Впоследствии изменила свое название на Synthetic Blood International. В июне 2008 г. в связи с переездом в штат Делавэр изменилось название компании на

Oxygen Biotherapeutics. Нынешнее название Tenax Therapeutics (Tenax) компания носит с сентября 2014 г. [30]

В течение почти 10 лет с 1991 г. должность вице-президента по науке возглавлял знаменитый Леланд Кларк-младший [31]. Стоит отметить, что доктор Леланд Кларк-младший был автором патентов, которые принадлежали также и конкуренту Tenax компании Nemagen/PFC, разрабатывающей продукт Охуfluог [32].

До 2014 г. основные усилия компании были направлены на разработку кислород-транспортного кровезаменителя Охусуte, на основе собственного ПФО соединения [30].

Tenax, не стала повторять опыт Alliance в выборе ПФО соединения, и в своей эмульсии использовала циклический FtBu ($C_{10}F_{20}$), но, так же как и Alliance, концентрацию ПФО соединений довела до 60 вес.%, а в качестве эмульгатора использовала фосфолипиды яичного желтка. Полученную эмульсию можно хранить в незамороженном виде.

В патенте EP2419392 с приоритетом от 15 апреля 2009 г. Tenax указала, что 100 мл эмульсии содержат: FtBu – 60 г, фосфолипидов яичного желтка – 3,6 г, глицерина – 1,397 г, натрия дигидрофосфат – 0,057 г, натрия гидрофосфат гептагидрат – 0,391 г, натрия кальция эдетат – 0,018 г, витамина E – 0,005 г. А средний размер частиц эмульсии находится в диапазоне 200-300 нм. [33].

Кстати, в компании Alliance считали, что FtBu не только дорогой в производстве из-за специального синтеза, но и сложно добиться медицинского уровня чистоты данного ПФО соединения [14].

В мае 2000 г. президент Tenax Роберт Никора заявил о начале доклинических исследований на крысах. Одно из исследований проходило в старейшем университете Германии Heidelberg в качестве нейропротекторного средства при церебральной ишемии у крыс [34].

В феврале 2003 г. Tenax подала в FDA заявку на проведение I фазы КИ кровезаменителя на основе ПФО-эмульсии как кислородтранспортное средство. [35]

Компания Tenax проводила КИ эмульсии Охусуte вплоть до 2012 г.

В конце октября 2007 Управление военно-морских исследований ВМС США утвердило три многомиллионных гранта для доклинических исследований Охусуte для лечения и профилактики декомпрессионной болезни. Гранты были получены доктором Б. Шписсом. Исследование доктора Шписса в рамках этих грантов будет способствовать достижению цели ВМС США в отношении использования ПФО-эмульсии Охусуte профилактического использования на подводных лодках ВМС США. Четвертый грант для финансирования исследований ЧМТ на животных находился на рассмотрении [36].

В мае 2008 г. Tenax арендовала помещения для офиса в Исследовательском парке Virginia BioTechnology Research, расположенном в Ричмонде, штат Вирджиния для более эффективной координации КИ между компанией и Реанимационным шоковым центром Университета Вирджинии (VCURES). Директор VCURES доктор Б. Шписс, д.м.н., проф. Университета, профессор анестезиологии и экстренной медицины, член Совета директоров компании. Доктор Шписс также совмещал должности сопредседателя Научного консультативного совета компании и руководителя КИ по лечению пациентов с ЧМТ с применением Охусуце [37].

Через год Tenax подала заявку в FDA для регистрации Охусуце в качестве орфанного лекарства для лечения пациентов с тяжелой закрытой ЧМТ. Статус орфанного лекарства дает нормативные и налоговые льготы. Председатель и главный исполнительный директор компании Крис Стерн сообщил о планируемых КИ в Швейцарии и Израиле, и о надеждах вывести на рынок Охусуце с несколькими показаниями терапии [38].

В апреле 2009 г. Tenax объявила о второй смене контрактной производственной площадки. Компания Hospira Inc., созданная Abbott в 2004 г. для производства госпитальных лекарственных средств, обязалась изготавливать Охусуце [39].

В начале 2010 г. генеральный директор компании К. Штерн сообщил инвесторам, что разработаны два ветеринарных препарата на основе Охусуце. Один препарат для лечения ран, а второй внутривенный препарат полифункционального действия. Регистрацию ветеринарного лекарственного средства для ПФО-терапии ран планировали начать в том же году [40].

FDA в октябре 2012 г. запросило от компании дополнительные данные о безопасности ПФО-эмульсии Охусуце. В частности, КИ показали, что внутривенное использование кровезаменителя Охусуце вызывает кратковременную тромбоцитопению как у животных, так и у людей. Также возникли вопросы по воздействию Охусуце на нормальное функционирование иммунной системы человека [41].

В сентябре 2014 г. Tenax приостановила разработку кровезаменителя Охусуце [30].

В настоящее время, все права на разработку и коммерциализацию Охусуце принадлежат компании Augum Biosciences, Ltd (Шотландия). Augum в ноябре 2015 г. подписал соответствующее соглашение с Tenax [42].

Косметические продукты компании Tenax для ПФО-коррекции

Тенах в мае 2009 г. подала документы добровольной регистрации в FDA на косметические «кислородные» продукты для ПФО-коррекции кожи под маркой Dermacyte [43], которые были продемонстрированы на конференции Spa & Resort / Medical Aesthetics Spa and Expo, которая проходила в Нью-Йорке в сентябре 2010 г. Было представлено два продукта под маркой Dermacyte: Oxygen Concentrate и Oxygenating Eye Complex.

Состав Dermacyte Oxygen Concentrate: FtBu, очищенная вода, полоксамер 105, глюконолактон, полоксамер 338, бензоат натрия, глюконат кальция.

Состав Dermacyte Oxygenating Eye Complex: очищенная вода, FtBu, циклопентасилоксан, пропандиол, каприловый триглицерид, бутиленгликоль, глицерин, масло ши, диметикон, калия цетил фосфат, стеариновая кислота, масло из семян пенника лугового, глицерил стеарат, ПЭГ-100 стеарат, аскорбил глюкозид, подсолнечное масло, масло авакадо, экстракт коры ясеня белого, экстракт овса, калия глицирризинат, ниацинамид, пальмитоил олигопептид, пальмитоил тетрапептид-7, акрилат/диметикона сополимер, стеарет-20, силанетроил, N-гидроксисукцинимид, хризин, полиуретан-40, диоксид кремния, цитрат калия, полисорбат 20, карбомер, динатрий ЭДТА, гидроксид натрия, каприлил гликоль, хлорфенезин, феноксиэтанол, аромат зеленого чая 5 [44].

В сентябре 2010 г. также были представлены результаты 8-недельного косметического исследования по применению Dermacyte Oxygen Concentrate. Исследование было проведено Стивеном Х. Дайаном, MD, из компании DeNova Research (Чикаго, США).

В косметическом исследовании приняли участие 36 женщин в возрасте 39-63 лет с мягкими или умеренными морщинами на лице: 80% испытуемых испытали по крайней мере улучшение на одно значение по шкале оценки морщин ($P < 0,0001$); 97% испытывали по крайней мере на одно значение улучшение по сравнению с их базовыми фотографиями в соответствии со шкалой Глобального Эстетического Улучшения (GIAS) ($P < 0,0001$); и 84% по крайней мере улучшили свое самовосприятие GIAS ($P < 0,0001$) [45].

В январе 2012 г. Тенах объявила о первом дерматологическом исследовании в больнице медицинского колледжа Сент-Джонса в Бангалоре, Индия. Это исследование планировалось быть первым из серии исследований, запланированных на 2012 год для изучения эффективности Dermacyte для лечения различных дерматологических состояний, таких как аллергический контактный дерматит, псориаз и прыщи. Исследование проводилось под руководством клинической исследовательской организации Max Neeman International [46].

В феврале 2013 г. Тенах объявила, что в связи с продолжающейся реорганизацией компании, передала компании Valor SA (Лозанна, Швейцария) права на продажу, импорт,

экспорт, распространение, упаковку, маркировку и другое коммерческое использование Dermacyte.

Президент Tenax Майкл Джебсен в связи с этим заявил: «Мы вернулись к нашим корням как компании по разработке лекарств, создающей наш препарат на основе ПФО соединений Oxucyte, для ЧМТ, инсульта и декомпрессионной болезни» [47].

Применение ПФО-терапии.

В современной медицинской практике для особого обозначения лечения с применением лекарственного средства «перфторан» имеет смысл ввести новый термин «ПФО-терапия». Это связано с тем, что введение в даже стандартный курс терапии эмульсии «перфторан», кардинально изменяет течение болезни: уменьшает срок выздоровления, снижает смертность, улучшает фармако-экономические показатели лечения, а в большинстве случаев применение ПФО-эмульсии «перфторан» является ключевым показателем качественной успешной терапии [48].

Изначально препараты на основе ПФО-эмульсий предназначались для уменьшения потребности в донорской крови и/или эритроцитов. За прошедшие десятилетия, российскими исследователями опубликованы многочисленные клинические данные (в том числе рандомизированных) по успешному и уже рутинному применению ПФО-терапии внутривенно, ингаляционно, подкожно, внутривожно, внутрикостно, внутрисуставно и наружно. ПФО-терапия эффективна:

- при шоках различного генеза [49, 50];
- при кровопотере, острой или хронической [49, 51-55];
- при гнойно-септических состояниях (сепсисы и перитониты)[56-58];
- для профилактики и при уже развившейся эмболии (тромбоэмболии, воздушной или жировой эмболии) [49];
- в первой стадии ДВС-синдрома [49];
- при респираторном дистресс-синдроме [59];
- при травматическом повреждении спинного мозга [60, 61] и сочетанных политравмах [62];
- при операциях на открытом сердце с применением АИК [63];
- в трансплантологии для защиты донорских органов от ишемии и для уменьшения вероятности отторжения до, во время и после пересадки [64, 65];
- при окклюзионных заболеваниях сосудов конечностей [66, 67];
- при сосудистых и воспалительных заболеваниях головного мозга [68];

- при тяжелом осложненном течении различных инфекционных заболеваний (вирусные гепатиты; брюшной, сыпной, возвратный тифы; лихорадки различного генеза; менингоэнцефалиты), при СПИДе [69, 70];
- при онкологических заболеваниях для повышения эффективности и для снижения неблагоприятных последствий радио- и химиотерапии [71];
- в токсикологии при отравлении нейротропными и гепатотропными ядами [63, 72].

Клиническую и биологическую эффективность ПФО-терапии изучали не только российские ученые, но и ученые из других стран: США [73–75], Мексики [76, 77], Испании [78], Польши [79], Румынии [80], Украины [81, 82], Литвы [83], Белоруссии [84]. В частности в одной из этих работ отмечается значительное снижение газовой микроваскулярной эмболии после введения Перфторана [73]. Verdin-Vasquez RC с соавт., показали эффективность ПФО-терапии во время хирургических операций на сердце, что позволяет уменьшить количество используемой аллогенной крови [76]. Kligunenko с соавт. [81] на основании большой практики оказания помощи травмированным при аварии шахтерам рекомендуют ПФО-терапию при политравмах и ожоговом шоке, в этих случаях перфторан применяют местно, внутрикочно и подкожно. Maksimenko с соавт. [82] использовали перфторан в качестве кардиоплегического раствора при хирургической коррекции пороков сердца. В работах Miskevich с соавт. [84] показано оздоравливающий эффект ПФО-терапии на поврежденную алкоголем печень.

Вышеперечисленные исследования подтвердили действенность ПФО-терапии, а наноземульсия «Перфторан» зарекомендовала себя не только как плазмозамещающее средство, но и как эффективный полифункциональный лекарственный препарат с различными способами введения: внутривенным, подкожным, внутрикочным, внутрикостным, внутрисуставным, ингаляционным и наружным.

Косметические продукты для ПФО-коррекции.

Наружное применение лекарственного средства «Перфторан» показало эффективность ПФО-терапии ран различного генеза, остеомиелита [85]. В дерматологии был получен положительный эффект при накожном применении ПФО соединений при лечении больных атопическим дерматитом, экземой, трофическими язвами, герпесом, акне, пиодермией. Характерным свойством перфторуглеродов является их противозудное действие, не уступающее гормональным препаратам [86].

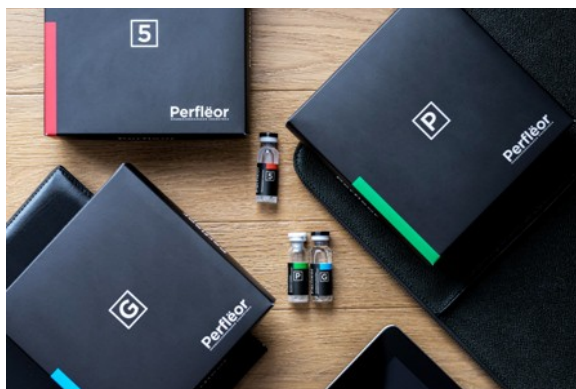


Фото 4. Состав профессиональной косметики Perflëor: Кислородная эмульсия PRO5, Маска-база G, Пептидная биопудра P.

Это позволило предположить, что косметические средства, произведенные по технологии изготовления «Перфторана», будут, не менее эффективны для устранения эстетических недостатков кожи, в том числе связанных с выпадением волос.

И другие компании, занимавшиеся разработкой лекарственных средств на основе ПФО-эмульсии, например Tenax Therapeutics, пытались создать формулы «кислородных» косметических средств (Dermacyte). Но технология производства лекарственного средства Охусуе позволяла изготовить только эмульсию со средним размером частиц 200 - 300 нм.

В 2015 г. компания «Лаборатория Пушкина», основываясь на патенте № 2557933, разработала и выпустила на рынок профессиональную косметику Perflëor (Рис. 4), предназначенную для роста и укрепления волос [87]. С 2016 года торговый бренд Perflëor принадлежит компании «Жюнесс».

ПФО-эмульсии в составе косметики, различаются по концентрации ПФО соединений, и выполняют функции не только транспортировки газов, но и адьюванта [77]. ПФО-эмульсия усиливает действие ингредиентов, добавленных в эмульсию, например кофеина, сульфата цинка, никотиамида и пр.

Применение ПФО-коррекции позволяет за один курс увеличить на 25% плотность волос на 1 см² и на 63% скорость роста волос за 24 часа (рис. 2) [88].

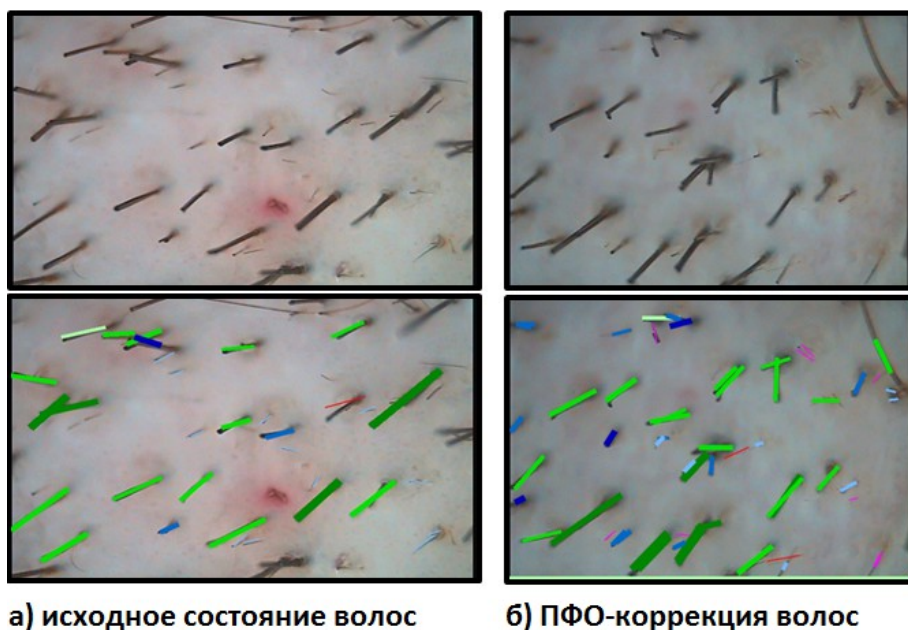


Рис. 2. а) исходное состояние волос. Плотность: 164 /см², анаген: 55%, телоген: 45%, веллус: 39%, V_{роста волос}: 0,19мм за 24 часа. б) ПФО-коррекция волос. Плотность: 205/см², анаген: 67%, телоген: 33%, веллус: 17%, V_{роста волос}: 0,31 мм за 24 часа.

«Поколения» эмульсий для терапии критических состояний

ПФО-эмульсии для терапии критических состояний разнообразны по своему составу, стабильности, размеру частиц, растворимости кислорода, вязкости, токсичности (Таблица 1).

Авторы ряда обзорных работ [10, 89-91] с подачи разработчиков ПФО-эмульсий, создание которых началось в 90-е гг. прошлого столетия, предлагают разделить эмульсии для ПФО-терапии на две - три группы – «поколения» согласно трем критериям: 1) доля фторуглеродной составляющей в составе эмульсии; 2) природа эмульгатора; 3) условия хранения (с заморозкой или без). То есть это обычная классификация ПФО-эмульсий по их химическому составу и некоторым физическим свойствам. Castro и Briceno (2010) делят все эмульсии на два поколения и при этом отмечают в качестве преимуществ ПФО-эмульсий второго поколения увеличение доли фторуглеродной составляющей, использование природных фосфолипидов в качестве эмульгатора и хранение эмульсии без заморозки [89]. К первому поколению они относят Fluosol-DA, Oxupherol (Fluosol-43) и Перфторан (эмульсии с 20 вес.% содержанием ПФО соединений и хранящиеся в замороженном виде), а остальные эмульсии с содержанием ПФО соединений от 40 до 60 вес./об.% – ко второму. Разработчики и некоторые исследователи относят ПФО-эмульсию Охусуте то ко второму, то к третьему поколению [90, 91].

Нам представляется, что основными критериями принадлежности искусственных кровезаменителей к тому или иному поколению являются их медико-биологическая эффективность и безопасность. И чем выше эффективность и безопасность эмульсии, тем больше у нее преимуществ перед остальными, пусть даже созданными в более позднее время и включающими более насыщенную ПФО-составляющую.

Например, одним из критериев, который влияет на газотранспортную эффективность ПФО-эмульсии, является суммарная площадь поверхностей частиц эмульсии. По этому показателю, препарат «первого» поколения «Перфторан» не уступает и даже превосходит все эмульсии «второго» и «третьего» поколений (Таблица 2). Это связано с тем, что средний размер частиц эмульсии «Перфторан» в 3-5 раз меньше размера частиц эмульсий Oxigent, Oxucyte, Oxufluor.

А с учётом, ещё и других важных критериев эффективности кровезаменителей «вязкости» и «времени нахождения в кровеносном русле», то «Перфторан» по газотранспортной эффективности значительно опережает эмульсии «второго» и «третьего» поколений, т.к. его вязкость на 30-40% меньше, а время нахождения в кровеносном русле на 20% больше (Таблица 1).

Не менее важным критерием деления ПФО-эмульсий на поколения по нашему мнению наряду с эффективностью является их безопасность, основным показателем которой является токсичность. Токсичность ПФО-эмульсий оценивают по ЛД₅₀, т.е. дозе введенной эмульсии в мл или г на кг массы тела животного, при которой выживает 50% животных. Этот показатель в литературных источниках нам удалось найти только для трех ПФО-эмульсий: Перфторан (Россия), Fluosol (Japan) и Oxugent (USA) (Таблица 1). По данному показателю Перфторан превосходит Fluosol практически на порядок, а Oxugent – примерно в пять раз.

На основе физико-химических и клинических данных (эффективность и безопасность) ПФО-эмульсии можно было бы условно распределить по «поколениям» следующим образом (Таблица 3).

Таблица 3. Фармацевтический статус ПФО-эмульсий

Наименование	«Поколение»	Фармацевтический статус
Fluosol (Япония)	I	В 1994 г. производство прекращено.
Oxugent (США)	II	В 2009 г. клинические исследования прекращены.
Oxucyte (США)	II	В 2014 г. разработка остановлена.
Перфторан (Россия) Perftec (Мексика)	III	1996 – зарегистрирован в России, 1999 – на Украине, 2003 – в Казахстане, 2005 – в Мексике, 2006 – в Киргизии, 2014 – в Узбекистане.

Заключение

В чем уникальность Перфторана - единственного в мире кровезаменителя, прошедшего сложный путь исследования, тестирования до его многогранного клинического применения как коммерческого препарата? Композиция перфторуглеродов, размеры частиц, свойства эмульгатора, технология производства – вот ряд факторов, обеспечивших его успех в качестве искусственного кровезаменителя.

В качестве эмульгатора в состав Перфторана включен полоксамер 188. Благодаря своему химическому составу и стереохимическим свойствам данный ПАВ уменьшает скорость коагуляции частиц эмульсии при хранении *in vitro* и снижают скорость, с которой частицы эмульсии фагоцитируются *in vivo*. Сравнение химических ПАВ с фосфолипидами животного и растительного происхождения (липиды яичного желтка, сои, кукурузы), используемые в ряде зарубежных ПФО-эмульсий, выявляет преимущество липидных эмульсий только в длительности хранения без замораживания. Но при этом такие эмульсии обладают существенными недостатками, которые проф. Иваницкий Г.Р. перечислил ещё в 2001 г. [92]:

1. Большая вязкость (вязкость Охугент равна 4.1 сП), чем вязкость крови (3–7 сП) и тем более Перфторана (2.5–3 сП) (таблица 1, 2).
2. Невозможность создания наноэмульсии, средний размер частиц около 200 нм, что ведет к росту аллергических реакций при использовании ПФО-эмульсии.
3. Наличие в составе эмульсий «частиц-пустышек», т.е. липидноводных везикул без фторуглерода, которые затрудняют кровоток, но не выполняют газотранспортную функцию.
4. Взаимодействуя со стенками капилляров, ухудшают микроциркуляцию крови.
5. Жировые ПФО-эмульсии не обладают свойством полоксамерных эмульсий модифицировать мембраны эритроцитов и тем самым продлевать время их жизни в кровотоке, предотвращая гемолиз.
6. В экстремальных ситуациях (например, в транспортных авариях) кровопотеря часто сопровождается переломами костей, что приводит к резкому увеличению липидов в крови. Введение в такой ситуации жировых эмульсий неизбежно усилит эмболию, в то время как полоксамерные эмульсии разжижают липиды и способствуют их выведению из кровотока.

Способ хранения эмульсий при температуре до минус 18⁰С часто рассматривается как большой недостаток. Однако, зная физические свойства эмульсий, их нестабильность при физических воздействиях, например, транспортировке, такой способ их хранения

оптимален, поскольку позволяет сохранить эмульсионное равновесие и монодисперсность. Наноэмульсия Перфторан хранится в замороженном состоянии до 3 лет, в размороженном состоянии – до 2 недель, сохраняя свои свойства. При этом качество её не изменяется после 5-кратных размораживаний/замораживаний [12].

Суммируя все вышесказанное, можно сделать вывод о том, что так называемые эмульсии второго и третьего «поколения» по своим характеристикам не смогли превзойти наноэмульсию «Перфторан». А тот факт, что все КИ ПФО-эмульсий второго и третьего «поколения» остановлены, в том числе и из-за большей смертности пациентов, чем в контрольной группе, свидетельствует о том, что эмульсии с концентрацией ПФО соединений 40-60 вес.% и фосфолипидами в качестве эмульгатора тупиковая ветвь в создании внутривенных лекарственных средств на основе ПФО-эмульсий.

Продолжение научных исследований в России и Мексике кровезаменителя с газотранспортной функцией «Перфторан», появление на свет его аналогов дает большую надежду на появление новых областей применения ПФО-терапии.

Список литературы

1. Heineman WR, Jensen WB.: Leland C. Clark Jr. (1918–2005). Obituary. *Biosensors and Bioelectronics* 21 (2006) 1403–1404
2. Lowe KC: Blood Substitutes: from chemistry to clinic. *J Mater Chem* 2006; 16:4189-4196
3. Spahn DR and Kocian R: Artificial O₂ carriers: status in 2005. *Curr Pharm Des* 2005; 11:4099-4114
4. Winslow RM: Current status of oxygen carriers (blood substitutes): 2006. *Vox Sanguinis* 2006; 91:102-110
5. Henkel-Honke T, Oleck M: Artificial oxygen carriers: a current review. *AANA J* 2007; 75:205-211
6. Jahr JS, Walker V, Manoochchri K: Blood substitutes as pharmacotherapies in clinical practice. *Curr Opin Anaesthesiol* 2007; 20:325-330
7. Barbosa FT, Juca MJ, Castro AA, et al.: Artificial oxygen carriers as a possible alternative to red cells in clinical practice. *San Paulo Med J* 2009; 127:97-100
8. Spiess BD: «Better than blood?» *Popular Science Magazine* November 2006
9. Grethlein SJ, Rajan A: Blood. *Substitutes EMedicine medscape com eMedicine Hematology*. Februar 23, 2010
10. Cabrales P, Intaglietta M: Blood Substitutes: Evolution from Non-Carrying to Oxygen

and Gas Carrying Fluids. ASAIO J. 2013 Jul-Aug; 59(4): 337–354.

11. Рыбалкин С.П., Дядищев Н.Р., Гольцев И.А. и др.: Экспериментальное изучение общетоксического действия препарата Перфторан на неполовозрелых животных. / Перфторуглеродные соединения в медицине и биологии. Сборник материалов XII Международной конференции (25-26 июня 2002 г., г.Пушино), с. 95-120
12. Сухоруков В.П., Рагимов А.А., Пушкин С.Ю. и др.: Перфторан – перфторуглеродный кровезаменитель с газотранспортной функцией. Пособие для врачей. 2-е изд., перераб. и доп., Москва, 2008, 79 с.
13. Периодический отчет по безопасности лекарственного средства Перфторан®. № 1, 24.09.2010
14. Weers J, Klein D, Johnson C: Optimized fluorocarbon emulsions for blood substitutes and other therapeutic uses. EP 2034959. May 22, 2006
15. Synthetic Blood Receives Letter of Intent to Initiate Oxycyte Cardiopulmonary Bypass Surgery Registration Trial in Mexico / The Free Library. 2006 Business Wire. June 19, 2006, www.thefreelibrary.com/Synthetic+Blood+Receives+Letter+of+Intent+to+Initiate+Oxycyte+...-a0147192110
16. Фармкомпания Solopharm (Санкт-Петербург) планирует производить кровезаменитель «Перфторан». AllToday.ru: Официальные пресс-релизы компаний, 09.04.2016, http://www.alltoday.ru/health/2016/04/news_6484.html
17. Начались доклинические исследования дженерика кровезаменителя "Перфторан". Сайт www.pushkin.biz. Новости от 14.10.2016
18. Пушкин С.Ю.: Способ приготовления стерильной наноземulsion перфторорганических соединений. Патент РФ 2557933, 2015
19. The World Company Database. Alliance Pharmaceutical Corp., <https://www.myglobalbizz.com/2013/12/alliance-pharmaceutical-corp/>
20. «Драмы идей» и парадоксы поступков до сих пор следуют за изобретением Феликса Белоярцева / «Фармацевтический вестник» Декабрь, 2009 №40. <https://www.pharmvestnik.ru/publs/staryj-arxiv-gazety/17100.html#.WfjOm1u0PIU>
21. Spahn DR: Blood substitutes Artificial oxygen carriers: perfluorocarbon emulsions / Crit Care. 1999; 3(5): R93–R97
22. Alliance Pharmaceutical Corp. Announces Oxygent™ Enhances Oxygenation More Effectively than Blood in Phase II Trials / The Free Library. 2006 Business Wire. Sep 8, 1997, [https://www.thefreelibrary.com/Alliance+Pharmaceutical+Corp.+Announces+Oxygent\(TM\)+Enhances...-a019743039](https://www.thefreelibrary.com/Alliance+Pharmaceutical+Corp.+Announces+Oxygent(TM)+Enhances...-a019743039)
23. Alliance Pharmaceutical Corp. and Baxter Enter Into Agreement for Oxygent. / The Free

- Library. 2000 Business Wire. May 12, 2000
<https://www.thefreelibrary.com/Alliance+Pharmaceutical+Corp.+and+Baxter+Enter+Into+Agreement+for...-a062048313>
24. Niiler E. Setbacks for blood substitute companies. *Nature Biotechnology* 20, 962–963(2002). Published online 01 October 2002,
<https://www.nature.com/nbt/journal/v20/n10/full/nbt1002-962.html?foxtrotcallback=true>
25. Alliance and Nycomed announce collaboration agreement for Oxygent development in Europe. / The Free Library. 2004 Biotech Patent News, Apr 1, 2004,
<https://www.thefreelibrary.com/Alliance+and+Nycomed+announce+collaboration+agreement+for+Oxygent+...-a0116498582>
26. Alliance and IL YANG announce a licensing, development and marketing agreement for Oxygent in Korea. / The Free Library. 2004 Biotech Patent News. Apr 1, 2004,
<https://www.thefreelibrary.com/Alliance+and+IL+YANG+announce+a+licensing+%2C+development+and+marketing+...-a0116498570>
27. Burrill & Company Merchant Banking Practice объявляет о повышении активности от фармацевтических компаний. / The Free Library. 2005 PR Newswire Association LLC. Jan 7, 2005,
<https://www.thefreelibrary.com/Burrill+%26+Company+%27s+Merchant+Banking+Practice+Announces+Increasing+...-a0126774691>
28. Alliance Pharmaceutical Corp. Announces Its Intention to Pursue Proof of Concept Study Relating to the Use of Oxygent™ for Organ Protection During Major Surgery. / The Free Library. 2005 PR Newswire Association LLC, May 18, 2005,
<https://www.thefreelibrary.com/Alliance+Pharmaceutical+Corp.+Announces+Its+Intention+to+Pursue+Proof+...-a0132526506>
29. Alliance Pharmaceutical Corp. Updates Clinical Development of Oxygent™ in China. / The Free Library. 2007 PR Newswire Association LLC. Mar 16, 2007,
<https://www.thefreelibrary.com/Alliance+Pharmaceutical+Corp.+Updates+Clinical+Development+of+...-a0160606974>
30. Tenax Therapeutics. Annual Report 2017
31. Leland C. Clark, Jr., https://en.wikipedia.org/wiki/Leland_Clark
32. Leland C. Clark, Jr. Stable perfluorocarbon and oil emulsions. US 5536753, Jan 24, 1986
33. Kiral R, Thompson DP, Clauson GL. Emulsions of perfluorocarbons. EP 2419392. Apr 15, 2009
34. Synthetic Blood International Announces Oxycyte Stroke Study in Animals. / The Free Library. 2006 Business Wire. Feb 13, 2003,
<https://www.thefreelibrary.com/Synthetic+Blood+International+Announces+Oxycyte+Stroke+St>

udy+in+...-a062211239

35. Synthetic Blood International Announces Filing of Oxycyte IND. / The Free Library. 2006 Business Wire. Feb 13, 2003, <https://www.thefreelibrary.com/Synthetic+Blood+International+Announces+Filing+of+Oxycyte+IND.-a097573028>
36. Synthetic Blood International's Oxycyte Featured on PBS' WIRED Science. / The Free Library. 2006 Business Wire. May 7, 2008, www.thefreelibrary.com/Synthetic+Blood+International%27s+Oxycyte+Featured+on+PBS%27+WIRED+Science-a0170469838
37. Synthetic Blood International, Inc. to Open New Research Office at Virginia BioTechnology Research Park. / The Free Library. 2006 Business Wire. May 7, 2009, www.thefreelibrary.com/Synthetic+Blood+International%2C+Inc.+to+Open+New+Research+Office+at+...-a0178702832
38. Oxygen Biotherapeutics, Inc. Submits Orphan Drug Application for Oxycyte. / The Free Library. 2006 Business Wire. May 7, 2009, www.thefreelibrary.com/Oxygen+Biotherapeutics%2C+Inc.+Submits+Orphan+Drug+Application+for+...-a0199170901
39. Oxygen Biotherapeutics, Inc. Signs Supply Agreement for Clinical-Grade Oxycyte for Clinical Trials and Future Needs. / The Free Library. 2006 Business Wire. Apr 14, 2009, <https://www.thefreelibrary.com/Oxygen+Biotherapeutics,+Inc.+Signs+Supply+Agreement+for...-a0197703427>
40. Oxygen Biotherapeutics, Inc. Outlines Plans for New Products During Investor Conference Presentation. / The Free Library. 2006 Business Wire. Jan 10, 2010, <https://www.thefreelibrary.com/Oxygen+Biotherapeutics%2C+Inc.+Outlines+Plans+for+New+Products+During+...-a0216722238>
41. Oxygen Biotherapeutics' Update on U.S. Army-Funded Preclinical Studies Designed to Support the Safety Profile of Oxycyte PFC Emulsion Currently in Clinical Trials Overseas for Traumatic Brain Injury. / The Free Library. 2006 Business Wire. Oct 25, 2012, <https://www.thefreelibrary.com/Oxygen+Biotherapeutics%27+Update+on+U.S.+Army-Funded+Preclinical+...-a0306283863>
42. Aurum Biosciences raises £3M (\$4.5M) from investors in UK and USA and signs strategic US partnership. Aurum Biosciences, News. Nov 13, 2015, http://www.aurumbiosciences.com/news_invest_and_partner/
43. Oxygen Biotherapeutics, Inc. Files Cosmetic Product Ingredient Statement for new Oxycyte-based Cosmetic Gel. / The Free Library. 2006 Business Wire. May 1, 2009, <https://www.thefreelibrary.com/Oxygen+Biotherapeutics%2C+Inc.>

+Files+Cosmetic+Product+Ingredient+...-a0198837020

44. Dermacyte leaves oxygen's skin care benefits up in the air. / Article. Site: Truth In Aging. May 17, 2011, <https://www.truthinaging.com/review/dermacyte-leaves-oxygens-skin-care-benefits-up-in-the-air>
45. Dermacyte appears to improve fine lines on skin. / The Free Library. 2006 Business Wire. Sep 29, 2010, <https://www.thefreelibrary.com/DERMACYTE+APPEARS+TO+IMPROVE+FINE+LINES+ON+SKIN-a0238150123>
46. Oxygen Biotherapeutics To Begin Clinical Study To Determine Efficacy Of Dermacyte® In Relieving Histamine Induced Pruritus. / GlobeNewswire, Inc. Jan 10, 2012, <https://www.clinicalleader.com/doc/oxygen-biotherapeutics-to-begin-clinical-0001>
47. Oxygen Biotherapeutics Enters License and Supply Agreement for Dermacyte® Products with the Cosmetics Division of Valor SA. / The Free Library. 2006 Business Wire. Feb 11, 2013, <https://www.thefreelibrary.com/Oxygen+Biotherapeutics+Enters+License+and+Supply+Agreement+for+...-a0318320897>
48. Багненко С.Ф., Шлык И.В., Батоцыренов Б.В. и др.: Фармакоэкономическая оценка применения лекарственного средства Перфторан в клинической практике. // Вестник службы крови России, 2005. -№2. - С. 46-51.
49. Горюшкин А.А., Гребенников В.Н.: Успешное применение перфторана в комплексной интенсивной терапии тяжелой множественной сочетанной травмы, осложненной травматическим шоком, двухсторонней жировой эмболией в системе легочной артерии, желудочно-кишечным кровотечением, ДВС-синдромом (клиническое наблюдение). // Физиологически активные вещества на основе перфторуглеродов в экспериментальной и клинической медицине. - Санкт-Петербург, 1999. - С.14-16.
50. Захаров А.Е., Гридчик И.Е., Золотокрылина Е.С.: Опыт применения перфторана у больных с геморрагическим шоком. // Перфторорганические соединения в биологии и медицине. - Пущино, 2001. - С. 141-145.
51. Богданов С.Б.: Лечение острой кровопотери с использованием перфторана в условиях ЦРБ. // Вестник службы крови России, 2007. -№1. - С.26-28.
52. Евсеев М.А.: Возможности прогнозирования и предупреждения рецидива острых гастродуоденальных язвенных кровотечений. // Перфторорганические соединения в биологии и медицине. - Пущино, 2003. - С. 64-70.
53. Кемеров С.В.: Клиническая эффективность перфторана в комплексной инфузионно-трансфузионной терапии острой массивной кровопотери. Перфторуглеродные соединения в медицине и биологии. - Пущино, 2004. -С.100 – 102.

54. Лазаренко Д.Ю., Ханевич М.Д., Софронов Г.А. и др. Влияние перфторана на микроциркуляцию и реологические свойства крови у больных с гастродуоденальными кровотечениями. // Перфторорганические соединения в биологии и медицине. - Пушино, 2003. - С.30-35.
55. Сухоруков В.П., Спинова О.В., Зеленцова В.Ф.: Экстренные инфузии перфторана при лечении острых и подострых массивных кровопотерь в условиях сельской районной больницы. // Вестник службы крови России, 2007. - № 4, – С. 28-30.
56. Гридчик И.Е., Захаров А.Е.: Использование перфторана в комплексной терапии перитонита. // Физиологически активные вещества на основе перфторуглеродов в экспериментальной и клинической медицине. - Санкт-Петербург, 1999. - С. 18-19.
57. Гусейнов А.-К.Г., Мороз В.В., Голубев А.М., Гусейнов А.Г.: Применение перфторана в лечении распространенного гнойного перитонита. // Физиологически активные вещества на основе перфторуглеродов в экспериментальной и клинической медицине. - Санкт-Петербург, 1999. - С. 19-20.
58. Durnovo EA, Furman I.V, Pushkin S, et al: Clinical results of the application of Perftoran for the treatment of odontogenous abscesses and phlegmons in the maxillofacial region. *J Cranio-Maxillofacial Surgery* 2008; 36:161-172
59. Shevchuk I, Titov I: The influence of perftoran on the course of acute pulmonary injury syndrome in patients with destructive pancreatitis. *Klin Khir* 2001; 3:12-15
60. Katunyan P., Musalatov C., Dzukaev D., et al.: The treatment of acute spinal cord injury by oxygenated perftoran. *Restorative Neurology and Neuroscience* 2000, Vol.16, 3, 4:259-260
61. Katunyan P, Klushnik T, Shcherbakova I: Anti-elastase effect of Perftoran in treatment of patients with acute spinal cord injury. "The proceeding of 7th International Neurotrauma Symposium", Adelaida, Australia Sept.12-16. 2004. Medimond press. 2004. p 99-103.
62. Ostapchenko D, Radaev S, Gerasimov L, et al.: Effect of perftoran on the oxidant-antioxidant system in patients with severe trauma and blood loss. *Anesteziol Reanematol* 2003; 6: 13-15.
63. Надирадзе З.З., Васенкин М.В., Коробейников В.И.: Использование перфторана в кардиохирургии. // Перфторуглеродные соединения в экспериментальной и клинической медицине. - Санкт-Петербург, 1999. - С. 63.
64. Шумаков В.И., Онищенко Н.А., Сафонов А.А., Белоярцев Ф.Ф., Долбин А.Г., Глушков А.С., Маевский Е.И.: "Способ определения пригодности донорских почек к пересадке". Авторское св-во N 1325732 от 22.03.87.
65. Reznik ON, Bagnenko SF, Loginov IV, et al: The use of oxygenated perfluorocarbonic emulsion for initial in situ kidney perfusion. *Transpl Proc* 2008; 40:1027-1028

66. Багненко С.Ф., Стойко Ю.М., Нохрин С.П.: Опыт применения перфторана при лечении окклюзирующих заболеваний артерий нижних конечностей в стадии критической ишемии. // Перфторорганические соединения в биологии и медицине. - Пушино, 2001. - С. 128.
67. Сорока В.В., Нохрин С.П., Андрейчук К.А. и др.: Применение перфторана в лечении больных с критической ишемией нижних конечностей // *Ангиол. сосуд. хирург.* – 2006. – Т. 12. – № 4. – С. 17–27.
68. Putintsev A, Sergeev VN, Filip'ev DE, et al: Feasibility study of perftoran for protection of the brain from ischemia in operations on extracranial arteries. *Angiol Sosud Khir* 2008; 14:31-36
69. Papuashvili M, Ilina N, Khaitov R: New quality of perftoran in complex therapy during HIV infection; in: Sofronov G.A., (ed): *Physiological active compounds on the base of perfluorochemical in experimental and clinical medicine*. St.-Petersburg, 1999.
70. Ковеленов А.Ю., Войтенков Б.О., Маевский Е.И., Пушкин С.Ю.: Перспективы лечебного применения перфторуглеродных соединений при ВИЧ-инфекции. // Перфторуглеродные соединения в медицине и биологии. - Пушино, 2004.- С.147 – 154.
71. Петрова М.В., Бирюков Д.Л., Краснова Т.В.: Опыт применения перфторана в комплексном лечении онкологических больных. // Физиологически активные вещества на основе перфторуглеродов в экспериментальной и клинической медицине. - Санкт-Петербург, 1999. - С. 64-65.
72. Шилов В.В., Лазаренко Д.Ю.: Влияние перфторана на реологические свойства эритроцитов при острых отравлениях. // Физиологически активные вещества на основе перфторуглеродов в экспериментальной и клинической медицине. - Санкт-Петербург, 1999b. - С. 105-106.
73. Eckmann DM and Lomivorotov VN: Microvascular gas embolization clearance following perfluorocarbon administration. *J Appl Physiol* 2003; 94: 860-868
74. Rafikova O, Sokolova E, Rafikov R, Nudler E. Control of plasma nitric oxide bioactivity by perfluorocarbons: physiological mechanisms and clinical implications. *Circulation* 2004; 110:3573-3580
75. Nudler E, Rafikov R, Rafikova O: Control of nitric oxide bioactivity by perfluorocarbons. US7767232. Aug 13, 2010
76. Verdin-Vasquez RC, Zepeda-Perez C, Ferra-Ferrer R, et al: Use of peftoran emulsion to decrease allogeneic blood transfusion in cardiac surgery: clinical trial. *Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol* 2006; 34:433-454
77. McCarty MF, Contreras F: Increasing Superoxide Production and the Labile Iron Pool in

- Tumor Cells may Sensitize Them to Extracellular Ascorbate. *Front Oncol.* 2014; 4: 249.
78. Vega Garsía JW: Las emulsiones perfluorocarbonadas en medicina. Barcelona, 1997
79. Kinasiewicz A, Smietanka A, Gajkowska B, Werinski A: Impact of oxygenation of bioartificial liver using perfluorocarbon emulsion perftoran on metabolism of human hepatoma C3A cells *Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol* 2008; 36:525-534
80. Vânătu V, Ordori V, Popa IM, Bolte S: Comparative study regarding of influence of perftoran-HSS association on blood gases parameters in rat model of haemorrhagic shock. *Veterinary Medicine* 2008; 65:31-36
81. Клигуненко Е.Н., Слинченков В.В., Лещев Д.П.: Применение перфторана у больных с ожоговым шоком. *Клінічна хірургія.* – 2000. – № 4. – С.41-43.
82. Максименко В.Б., Лоскутов О.А., Лазоришинец В.В.: Оценка эффективности применения кардиоплегического раствора с добавлением перфторана при хирургической коррекции пороков сердца. *Клінічна хірургія.* - 2002.- №2.- С.8 – 11
83. Вайчулис К., Добровольскене Ж., Жукаускас Г.: Использование перфторана в интенсивной терапии алкогольного психоза. // Физиологическая активность фторсодержащих соединений (эксперимент и клиника): Сб. науч. тр – Пущино: ОНТИ ПНЦ РАН, 1995. – С.213-216.
84. Мискевич Д.А., Петушок Н.Э. и др.: Влияние перфторана на свободнорадикальный гомеостаз при алкогольном абстинентном синдроме. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* - 2007. -Т. 143, N 1. - С. 43-45
85. Хрупкин В.И., Мороз В.В., Писаренко Л.В. и др.: Использование эмульсии перфторуглеродов в местном лечении ран, осложненных хирургической инфекцией. // Физиологически активные вещества на основе перфторуглеродов в военной медицине. Санкт-Петербург. - 1997. -С.117-118.
86. Кукушкин Н.И., Фесенко Е.Е., Межбурд Е.В. и др.: Фармацевтическая композиция для профилактики и лечения климактерических расстройств для местного и наружного применения на основе сигетина. RU2356548. 03.10.2007
87. Пушкин С.Ю.: ПФО-коррекция – новый подход к решению проблем, связанных с выпадением волос / Интернет-журнал о коммерческих биотехнологиях. 15.09.2017, <http://cbio.ru/page/51/id/5936/>
88. Сафонова Л.А.: ПФО - коррекция - новые возможности в практике врача-трихолога. / Доклад на XVII ежегодном заседании Союза трихологов России, Санкт-Петербург 22-24 июня 2017 г.
89. Castro CI, Briceno JC: Perfluorocarbon-based oxygen carriers: review of products and trails. *Artif Organs* 2010; 34:622-634

90. Klinger A, Kandel J, Pichette B and Eckmann D: Perfluorocarbon inhibition of bubble induced Ca^{2+} transients in an *in-vitro* model of vascular gas-embolism / *Exp Biol Med* (Maywood). 2014 Jan; 239(1): 116–122. Published online 2013 Oct 16
91. Schneider U, Karutz T, Schilling L and Woitzik J: Administration of a second generation perfluorochemical in combination with hyperbaric oxygenation does not provide additional benefit in a model of permanent middle cerebral artery occlusion in rats / *Springerplus*. 2014; 3: 32. Published online 2014 Jan 17.
92. Ivanitsky GR: Biophysics at the turn of the millennium: perfluorocarbon media and gas-transporting blood substitutes. *Biophysics* 2001; 46:5-33