**Проблемы создания искусственной крови.**

***1. Введение****.*

Сейчас повсеместно для восполнения кровопотери при различных патологических состояниях, возникающих в результате травм, боевых ранениях при ведении военных действий, некоторых заболеваний организма, в экстремальных ситуациях характеризующихся патологией системы крови, используются гемотрансфузии как цельной крови, так и отдельных ее компонентов. Но существуют недостатки применения гемотрансфузий, которые играют в клинике немаловажную роль.

Эти недостатки связаны с опасностью передачи с переливанием крови бактериальных и вирусных инфекций (гепатит В; ВИЧ); возможностью несовместимости донорской крови и крови реципиента по антигенному составу; короткими сроками хранения донорской крови. Кроме этого, в определенных клинических ситуациях (шок, обусловленный тяжелой кровопотерей, анемия, массовый травматизм) наличие растворов кислородпереносящих кровезаменителей было бы весьма желательным. Еще в 1796 г. Российская Академия наук объявила конкурсную тему: " О химическом составе крови и возможности создать искуcственный заменитель " [7].

В нашей стране работа по созданию и изучению " искусственной крови " ведется в Центральном и Санкт-Петербургском институтах гематологии и переливания крови и в Институте биофизики г. Пущино [7].

Для лечения кровопотери и шока необходимы прежде всего кровозаменители, которые обладали бы выраженным волемическим свойством и способностью существенно улучшать реологические свойства крови и микроциркуляцию.

После кровопотери, механической, термической травмы с развитием шока в организме обнаруживаются изменения функций по существу всех органов и систем. При этом особое место занимает гипоксия и интоксикация организма. Для коррекции этих нарушений уже недостаточно указанных выше свойств кровозаменителей. В связи с этим возникает необходимость расширить спектр их лечебной эффективности. Это может быть реализовано двумя путями: введением кровозаменителей с одновременным применением различных фармокологических и биологически активных веществ или использованием комплексных кровезаменителей, включающих различные средства, нормализующие функцию органов и систем.

В связи с расширением исследований по созданию кровезаменителей полифункционального действия возникает вопрос, сколь большой может быть номенклатура кровезаменителей полифункционального действия.

Нельзя не отметить, что создание каждого кровезаменителя полифункционального действия - довольно сложный и трудоемкий процесс, требующий всесторонних доклинических и клинических исследований. При попытке введения в состав кровезаменителя ингредиентов, обеспечивающих коррекцию различных функций организма, приходится сталкиваться с физико-химической несовместимостью ряда ингредиентов, трудностями длительного хранения создаваемых растворов, невозможность учитывать фазность их действия.

Одна из важнейших задач современной трансфузиологии - создание кровезаменителей, обладающих функцией переноса кислорода и способных при кровопотере и шоке возместить уменьшение количества эритроцитов в сосудистом русле. Исследования по решению этой задачи проводятся как в нашей стране, так и за рубежом по двум направлениям: разработка кровезаменителей на основе гемоглобина, свободного от стромальных белков и прокоагулянтов, и создание кровезаменителей на основе перфторированных соединений. Несмотря на определенные успехи в этой области, требуются дальнейшие исследования по повышению способности указанных кровезаменителей транспортировать кислород и изучению их безвредности для организма [18, 12].

***2. Патофизиологические основы создания и применения кислородпереносящих кровезаменителей.***

Интенсивность диффузии кислорода из крови микрососудов в ткани определяется уровнем напряжения кислорода (рО2) в крови микрососудов. В свою очередь этот показатель зависит от величины рО2 в крови аорты, величины кислородной емкости крови, формы и положения кривой диссоциации оксигемоглобина, скорости кровотока в микрососудах (капиллярах).

Эритроциты "решают проблему" высокой кислородной емкости крови без чрезмерного увеличения онкотического давления в плазме, что неизбежно произошло бы, если бы гемоглобин был растворен в плазме крови. "Изоляция" гемоглобина мембраной эритроцита позволяет создавать ионную и субстратную среду и таким образом регулировать наиболее эффективно кривую диссоциации оксигемоглобина (КДОГ).

Благодаря эритроцитам кровь приобретает физические свойства неньютоновской жидкости, последнее обеспечивает снижение вязкости при прохождение крови через очень тонкие трубки (капилляры) в отличие от обычных ньютоновских жидкостей, вязкость которых в таких условиях повышается. Понижение вязкости в конечном итоге обеспечивает достаточно высокую скорость кровотока в капиллярах.

При введении в кровеносное русло раствора гемоглобина без эритроцитов или эмульсии перфторуглеродов (ПФУ) эти важные условия нарушаются. В случае кислоропереносящих кровезаменителей на основе гемоглобина неизбежно приходится сталкиваться с проблемой малой кислородной емкости кровезаменителя и сдвига КДОГ заменителя влево. Введение в кровеносное русло любого кислородпереносящего кровезаменителя с кислородной емкостью меньше таковой циркулирующей крови, всегда ведет к уменьшению кислородной емкости образующейся смеси и, следовательно, к ухудшению кислородтранспортных свойств крови. Существует и проблема скорости движения разбавленной крови кровезаменителем в капиллярах. Она становится очевидной, если молекулярная масса модифицированного гемоглобина в заменителе превышает некоторый предел. Минутный объем кровотока (МОК) при этом уменьшается и происходит гибель. Конечно, выход за пределы нормы одного из указанных параметров может физиологически компенсироваться за счет других. Так, например, понижение кислородной емкости крови компенсируется увеличением скорости кровотока. Сдвиг КДОГ влево теоретически может компенсироваться увеличением кислородной емкости и т.д. Такие компенсаторные реакции сглаживают недостатки кислородпереносящих кровезаменителей. Поэтому важнейшую физиологическую проблему в клинике составляет транспорт кислорода кислородпереносящими кровезаменителями при замещении им 0,5 - 1,5 л крови, что соответствует примерно среднетяжелому или тяжелому кровотечению.

Основой для решения этой проблемы становится гемодилюция, или разбавление крови обычным кровезаменителем. Сравнение по различным показателям одинаковой по величине гемодилюции плазмозаменителями и кислородпереносящими кровезаменителями позволяет наиболее точно судить об эффективности последнего. При гемодилюции плазмозаменителем поддерживается нормальный уровень газообмена до гематокрита 12 - 15%, благодаря увеличению МОК в 2 - 2,5 раза. Но даже при гемодилюции до гематокрита всего лишь 20 - 25% средняя скорость кровотока в микрососудах мозга возрастает на 25 - 30%.

Углубление гемодилюции неизбежно ведет к исчерпанию "запасов кислорода в крови, к понижению рО2 в микрососудах ниже допустимого физиологического уровня и как следствие этого приводит к возникновению в тканях глубоких гипо и аноксических участков. Величина в тканях рО2 является интегральным показателем эффективности компенсаторных реакций и эффективности функций кислородпереносящих кровезаменителей. По мере разбавления крови происходит постепенное снижение рО2 в микропространствах между капиллярами и, следовательно, кислородпереносящие кровезаменители дают вклад в транспорт кислорода лишь при очень низком гематокрите. При более высоком гематокрите с точки зрения транспорта кислорода они практически не отличаются от плазмозаменителей, не обладающих кислородпереносящей функцией. Однако, вклад кровезаменителей в транспорт кислорода и поддержание потребления кислорода в организме на исходном уровне имеются на фоне физиологических реакций, компенсирующих недостаток кислорода [5, 6].

***3. Кровозаменители на основе гемоглобина.***

Попытки применения растворов гемоглобина в клинических целях предпринимались уже в начале века и были возобновлены в 30 - 40 гг. Эксперименты по введению растворов гемоглобина в различных дозах, концентрациях и при разных степенях кровопотери показали способность последних поддерживать жизнь животных, обеспечивая транспорт кислорода. Однако эти работы выявили также выраженную нефротоксичность этих препаратов.

Одна из основных причин нефротоксичности установлена в 1967 г. после применения растворов гемоглобина, очищенных от стромальных компонентов. Они не повреждали почки. Сделан вывод в том же году, что повреждение почек вызывается стромальной фракцией эритроцитов [3].

Уже рассмотренные выше патофизиологические основы сниженной отдачи кислорода тканям растворами внеэритроцитарного гемоглобина связаны с потерей в процессе выделения очищенного раствора гемоглобина 2,3-дифосфоглицерата, природного специфического регулятора обратимой оксигенации, находящийся внутри эритроцита. Ученые довольно продолжительное время решали эту проблему и в результате пришли к выводу о замене этого регулятора каким-либо другим.

Впервые в качестве необратимого присоединения был описан пиридоксаль-5'-фосфат - коферментная форма витамина В6. Альтернативным путем снижения сродства гемоглобина к кислороду является использование кетокислот, которые также могут необратимо присоединяться к гемоглобину. Это позволило приблизить транспортные характеристики (по кислороду) внеэритроцитарного гемоглобина к физиологическим значениям [3, 14].

Выше уже говорилось о том, что раствор гемоглобина при введении его в кровоток резко увеличивает онкотическое давление, тем самым изменяя гемодинамику. Однако, согласно последним данным, полимеризованный гемоглобин с молекулярной массой 600 000 при концентрации 6г/100 мл обнаруживает сравнительно небольшое онкотическое давление крови порядка 20 мм. рт. ст., что близко к онкотическому давлению крови. Но при концентрации 12г/100мл раствор такого гемоглобина имел онкотическое давление 40 мм. рт. ст. Но в Америке (A.G. Greenburg) создан гемоглобин с молекулярной массой 1млн., который даже в концентрации 14г/100 мл обусловливал онкотическое давление 20 мм рт. ст. При такой концентрации раствор имеет кислородную емкость, равную таковой для цельной крови.

Известно, что с помощью пиридоксальфосфата Р50 полимеризованного гемоглобина онкотическое давление может быть повышено с 15 - 20 до 28 - 30 мм рт. ст. и выше. При специальных мерах предосторожности такие препараты могут сохранять свои кислородпереносящие свойства в течение 2 -12 месяцев при образовании метгемоглобина не более 0,6% в месяц.

В современной литературе по этой проблеме встречаются мнения о том, что полимеризованный гемоглобин с большой и очень большой молекулярной массой является первым реальным кандидатом на преклинические и клинические испытания. Но возникают проблемы, без решения которых нельзя приступать к клиническим испытаниям.

Одна из таких проблем - неясность судьбы этих гигантских молекул в организме.

Предполагают, что они разрушаются в ретикулоэндотелиальной системе опсонинами плазмы и макрофагами. Это, по мнению Greenburg, "отвлекает" иммунологические механизмы от выполнения прямых задач и ослабляет иммунологическую защиту. Кроме того, при массивных инфузиях гигантские молекулы оказывают токсическое действие на ткани как самой молекулой, так и образующимися метгемоглобином и димерами гемоглобина. Внеэритроцитарный гемоглобин слишком быстро выводится из кровеносного русла [6].

В настоящее время обсуждаются следующие пути решения этой проблемы: моделирование эритроцитов путем микрокапсулирования растворов гемоглобина; химическая модификация гемоглобина с получением полигемоглобина и его конъюгатов с биополимерами; внутримолекулярная модификация гемоглобина, препятствующая его диссоциации на димеры.

Важным направлением в современном развитии проблемы создания "искусственной крови" является создание неких микротелец или микрокапсул, содержащих гемоглобин. Тяжелые физиологические последствия разрушения эритроцитов известны давно, и еще в 1971 г. были сделаны первые попытки создания искусственных эритроцитов в виде твердых нейлоновых капсул с гемоглобином (T. Chang). Но первые опыты были неудачны, а перспективную идею вывели из небытия совсем недавно M.C. Farmer и B.P. Garber, создав методику получения липосом. При осуществлении микрокапсулирования растворов гемоглобина для создания искусственных мембран используются, кроме липидов, и синтетические полимеры, некоторые полимеризованные белки. Толщина получаемых мембран сравнима с толщиной мембран эритроцитов.

Основная проблема - короткий период циркуляции микрокапсул в кровеносном русле. А в 1989 г. Е. Tsuchida с помощью новейших методов создал структурные единицы в виде телец овальной формы диаметром в среднем 0,1 мкм. Каждая частица состояла из 500 - 2300 гемов гемоглобина, заключенных в двухслойную фосфолипидную мембрану. Двухслойная мембрана липосом обладала повышенной механической прочностью и стабильностью. Последняя значительно увеличивалась при внедрении особым способом в состав мембран токоферола (витамина Е), являющимся сильным антиоксидантом. Он предохранял мембрану от разрушительного действия оксидантов и удлинял срок сохранения ее структурной целостности. При замещении крови на 80 - 90% все животные выживали. Из этого следует, что по сути дела речь идет о создании аналогов функционирующей клетки.

Казалось бы, что эта упрощенная модель эритроцита, судя по экспериментальным данным, может успешно функционировать в человеческом организме, и пора бы переходить на клинические испытания. Но в этих липосомах гемолипидный комплекс был способен осуществить лишь около 1 тысячи циклов "оксигенация - дезоксигенация". Это означает 6 - 8 часов "работы". Эритроцитарный же гемоглобин функционирует в течение 90 - 120 дней (по другим данным 40 дней) и способен осуществить 400 тысяч циклов.

Кроме этого, автор в своей работе засекретил методику изготовления микротелец, но, учитывая строение микротелец и насколько сложна их конструкция, можно предположить, что методика очень дорогая и трудоемкая, и она не сможет удовлетворить потребности, например при массовом травматизме. К тому же возникает вопрос о механизмах разрушения и дезактивации таких очень сложных структур и продуктов их разрушения. Отмечается также внедрение искусственных липосом в элементы ретикулоэндотелиальной системы клетки и нарушении ее функции [3, 6, 22].

Самой важной проблемой создания "искусственной крови" данного направления остается сохранение гемоглобином нативных свойств в течении длительного промежутка времени. В норме непрерывно происходящее разрушение этой сложной молекулы в эритроците купируется с помощью биологической работы ресинтеза, которая протекает с использованием энергии за счет гидролиза АТФ. Возможность искусственного получения таких мембран была показано еще 20 лет назад. Имеется принципиальная возможность создания таких мембран и для гемоглобинсодержащих липосом, но такая перспектива выглядит довольно отдаленной [6, 12].

Очень перспективным и довольно интересным является другой вариант конструкции кислородпереносящих кровезаменителей на основе гемоглобина является разработка конъюгированного (или модифицированного) гемоглобина. Обычно это соединение гемоглобина с некоторыми органическими молекулами, которые защищают гемоглобин от разного рода внешних воздействий.

В качестве защитного вещества можно использовать полиоксиэтилен. В опыте было показано, что при замещении крови этим раствором у собак до 5 % каких-либо функциональных и органических изменений обнаружено не было. Полупериод жизни препарата составил 36 часов. Но снова возникает вопрос, на который в литературе нет ответа: а каковы механизмы разрушения такой сложной системы. Но и еще полупериод жизни 36 часов предполагает во времени повторную трансфузию, а последствия повторных массивных инфузий неизвестны, а поэтому непредсказуемы [6, 8]. Хотя известно, что в растворе полимеризованных гемоглобинов есть вызывающие токсичность примеси - стромальные липиды, эндотоксины, высокомолекулярные фракции гемоглобина, а через почки выводится лишь только половина гемопротеида, вторая половина из плазмы исчезает, но не появляется в моче, т.е. захватывается организмом. Большую роль в это играет процессы трансгемирования гемоглобина ( переход гема с гемоглобина на человеческий сывороточный альбумин). Поэтому эти препараты с осторожностью назначают при печеночной недостаточности в связи с нарушением белковообразовательной функции печени [15].

Недостаток модифицированного гемоглобина - в более высоком, по сравнению с донорской кровью, сродстве к кислороду, что связано с отсутствием регулятора обратной оксигенации и более низкой кислородной емкости. В последнее время найден метод, который позволяет устранить этот недостаток путем создания модифицированного гемоглобина, способного к обратимой оксигенации. Регулятором в таком случае является имизатглутаралальдегида: в атмосфере азота к глобину присоединяется пиридоксаль-фосфат, в дальнейшем полимеризация полученных комплексов посредством сшивания глутаралальдегидом. В качестве основы для такого полимеризованного гемоглобина можно использовать даже гемоглобин крупного рогатого скота. Но при всех этих преимуществах наблюдаются выраженные иммунные реакции организма на введение такого препарата, полученного из гемоглобина животных. Кроме того, применяется еще и внутримолекулярная сшивка для увеличения времени циркуляции препарата в кровеносном русле, но при этом нужно учитывать доказанную экспериментально малую селективность его, приводящую к образованию производных гемоглобина [3].

Вследствие больших размеров молекулы модифицированного гемоглобина (при его степени полимеризации свыше 25 - 30%) увеличивается СОЭ до 55 - 60мм/ч [1].

В последнее время активизировались исследования бычьего гемоглобина с целью использования его в качестве основы для создания "искусственной крови". Бычий гемоглобин тщательно очищают от примесей путем кристаллизации, полимеризуют и соединяют его с пиридоксаль-фосфатом.

Благодаря слабым антигенным свойствам бычий гемоглобин в принципе может быть использован для конструирования "искусственной крови". Но нельзя не учесть возможность анафилактических реакций, при повторной инфузии их вероятность увеличивается во много раз [6]. Бычий гемоглобин имеет преимущество над человеческим своей высокой доступностью и низкой стоимостью; отсутствием риска заражения реципиента инфекционным гепатитом и СПИДом; кроме этого, в силу своих структурных особенностей имеет низкое сродство к кислороду, близкое к таковому для донорской крови человека. Это позволяет избежать при получении полимера из бычьего гемоглобина по сравнению из гемоглобина человека весьма трудоемкого этапа - присоединения регулятора обратимой оксигенации пиридоксаль-5'- фосфата [16].

***4. Перфторуглеродные эмульсии.***

Другое направление создания "искусственной крови" - создание синтетической модели крови на основе перфторорганических соединений.

Уникальные свойства ПФУ - способность растворять кислород и углекислоту, высокая инертность - послужили основанием для создания кислородпереносящих кровезаменителей именно на основе перфторуглеродов. Первое поколение ПФУ - флюосол- ДА (Япония) был испытан в клинике [13].

Перфторированные жидкости полностью нерастворимы в воде и поэтому в качестве кровозаменителей их можно использовать только в виде эмульсий. Капельки эмульсии можно рассматривать как своеобразную модель эритроцита, где фторуглерод заменяет гемоглобин, а слой эмульгатора наружную мембрану эритроцита. Но, в отличие от гемоглобина, характер присоединения и отдачи кислорода эмульсией перфторуглеродистых соединений иной. Кривая диссоциации цельной крови (оксигемоглобин) имеет S-образную форму, зависимость насыщения же фторорганической эмульсии от парциального давления кислорода выражается на графике прямой линией [7]. Известны ПФУ, обладающие повышенной кислородной емкостью: диметиадамантан, октилбромид и некоторые другие [6, 19].

В рецептуру большинства существующих в настоящее время эмульсий перфторорганических соединений, предназначенных для применения в медицинской практике, включен синтетический эмульгатор, относящийся к классу поверхностноактивных веществ - блоксополимер оксида этиленаоксида пропилена, известный в зарубежной литературе под названием "плюроник", а в отечественной - "проксанол".

Это поверхностно-активное вещество стабилизирует перфторорганические соединения in vitro, препятствуя процессу коалесценции [17].

Эмульсии перфторорганических соединений могут быть использованы для трансфузии, по мнению некоторых исследователей, только лишь в том случае, если животные или человек будут дышать при этом не воздухом, а кислородом [7,21].

Известно, что различные эмульсии перфторорганических соединений неодинаково выводятся из организма, некоторые из них могут длительное время сохраняться в организмах экспериментальных животных. Это представляет серьезную проблему, решить которую позволят исследования длительности нахождения фторуглеродов в организме, времени циркуляции в кровотоке, мест кумуляции и депонирования, методов дезинтоксикации и путей выведения из организма. Кроме того, частицы эмульсии перфторорганических соединений способны сорбировать большие количества холестерина и липидов, что, возможно, влияет на время циркуляции в кровотоке и места кумуляции. Этот эффект сорбции можно использовать в медицинской практике, в частности в кардиологии. Эффект нужно учитывать при разработке новых эмульсий ПФУ и иметь ввиду при назначении таких препаратов больным с большим содержанием холестерина в крови. У эмульсий ПФУ есть еще один эффект, который нельзя не учитывать: применение их в качестве кислородпереносящих кровезаменителей активирует в клетке функции цитохрома Р 450. Такой эффект указывает на повышенное образование в клетке кислородных радикалов, которые могут участвовать в разрушении клеточных структур. Эмульсии ПФУ не влияют на реакцию связывания аллоантигенов человека с полными (АВО) и неполными (Rh), алло- и преципитирующими ксеногенными антителами и, следовательно, на определение групповой и резуспринадлежности крови. Присутствие эмульсии ПФУ заметно угнетает реакцию лимфоцитотоксических HLA - антител с лимфоцитами, розеткообразование Т- и В-лимфоцитов. Эмульсии ПФУ обеспечивают эффективное восстановление капиллярного кровотока, функционального состояния микрососудов и перфузии тканей.

Одним из недостатков инфузии кровезамещающего раствора является некоторое ухудшение агрегатного состояния крови и повышение проницаемости микрососудов. Вполне вероятно, что эти качества препарата связаны с недостаточной очисткой исходного материала и неполной гомогенностью суспензии [17, 6, 11, 9, 10, 20].

***5. Заключение.***

Важным разделом разработки новых кровезамещающих растворов для лечения кровопотери и шока является организация их доклинического и клинического изучения. При этом методика должна быть четко стандартизирована, исключительно большой значение имеет создание унифицированных моделей кровопотери, шока, которые могут быть реализованы для доклинической оценки новых кровезаменителей.

Эффективность нового кровезаменителя должна быть сопоставлена с эффективностью имеющихся аналогов. Следует считать весьма актуальной задачей более широкое применение методики перфузии изолированных органов при доклиническом изучении кровезаменителя и предварительном скрининге их компонентов. Окончательный итог работы по созданию нового кровезамещающего раствора, его качество и эффективность может быть объективно определены только на основе единой системы стандартизированных оценочных показателей доклинического изучения [18].

На основе теоретического материала сформулированы клинические требования к кровезаменителям:

1. Кислородпереносящие кровезаменители должны обеспечивать "вклад" в транспорт кислорода кровью при снижении гематокрита ниже 30% или по крайней мере 25%.

2. Это не должно сопровождаться сколько-нибудь значительным напряжением сердечно-сосудистой системы.

Два основных пути решения проблемы:

- повышение эффективности кровезаменителя за счет увеличения кислородной емкости препаратов, однако без увеличения осмотического (онктического) давления и вязкости.

- сдвиг кривой диссоциации оксигемоглобина в растворе вправо [5].

Теоретически создание такого кровезаменителя возможно, однако нужно иметь ввиду токсичность препарата. Важная проблема состоит в нарушении функций ретикулоэндотелиальной системы и иммунологических свойств организма, нарушение коагуляции крови [5].

И хотя эмульсии фторуглеродов и называют "искусственной кровью" следует иметь ввиду, что название это весьма условно. Так как существует много проблем, без решения которых считать эмульсии фторуглеродов полным заменителем крови неправомочно. Скорее речь идет о "искусственных эритроцитах", или, если быть точными, об упрощенной модели эритроцита, так как эритроцит, кроме кислородпереносящей функции, выполняет множество других, не зависящих от транспорта кислорода, функций.

Поэтому частичным решением проблемы замены крови является введение в организм комплексных, полифункциональных препаратов, в составе которых наряду с кислородпереносящими кровезаменителями присутствуют и плазмозаменители (создание и применение последних играет немаловажную роль, так как существующие в настоящее время плазмозаменители могут восполнить 30-40% всех функций плазмы крови). И всегда нужно помнить о том, что переливание эмульсии отнюдь неравнозначно переливанию крови. Таким образом, создание кислородпереносящих кровезаменителей будет огромным шагом к решению проблемы "искусственной крови".

Ряд вопросов, связанных с созданием и применением эмульсии фторуглеродов, требует еще своего разрешения: вопросы задержки и накопления в тканях, стабилизации эмульсии, ее хранения, повышения кислородной емкости.

Особого изучения требует вопрос о возрастании рО2 в венозной крови и выключении эритроцитов из газообмена, происходящие при дыхании чистым кислородом. Необходимо найти минимальную дозу эмульсии, дающую прибавку в доставке кислорода необходимую для восполнения, а в некоторых случаях и превышение, первоначального снабжения кислородом тканей, и максимально допустимую дозу, при которой еще не происходит нарушений функций организма, в идеале же кровозаменитель должен в таком же объеме, что и кровь, полностью ее заменять, выполняя те же функции без каких-либо побочных эффектов. Нуждается в уточнении и вопрос о круге показаний к применению эмульсий перфторорганических соединений.

До применения эмульсий ПФУ в клинике необходимо решить проблему влияния их на реакцию связывания антигена с антителом в реакциях с полными и неполными аллоантителами, преципитинами и лимфоцитотоксинами, реакцию связывания комплемента, розеткообразующую функцию Т- и В- лимфоцитов, а также изучение адсорбционных свойств эмульсий ПФУ в отношении иммуноглобулинов человека и ксеногенных антиглобулиновых сывороток.

Перспективы в создании искусственных кровезаменителей на основе гемоглобина:

-увеличение степени внутримолекулярных модификаций;

-создание новых кислородпереносящих кровезаменителей на основе полигемоглобин - пиридоксаль-фосфат.

Проблемы, которые являются ведущими на данном этапе разработки кислородпереносящих кровезаменителей на основе гемоглобина: отсутствие ответа в литературе на вопрос о безвредности создающихся препаратов, их токсичности, особенно при повторных инфузиях, разрушения и выведения из организма соответствующих конструкций, стерилизации препаратов, дороговизны их приготовления.

***Список использованной литературы.***

1. Ажигирова М.А., Вязова Е.П. - Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1993 г., т. 115, N 4, с.364-366.
2. Ахсянов У.У., Афонин Н.И. - Гематология и трансфузиология. 1983 г., т.28, с.41-44.
3. Вязова Е.П., Ажигирова М.А. - Химико-фармацевтический журнал, 1989 г., т. 23, N 6, с. 645-649.
4. Гласко Е.Н., Логинова Л.Н. - Гематология и трансфузиология. 1983 г., т.28, N 4, с. 49-50.
5. Иванов К.П. - Гематология и трансфузиология. 1989 г., т.34, N 1, с. 42-47.
6. Иванов К.П. - Гематология и трансфузиология. 1992 г., т. 37, N 2, с. 26-29.
7. Кознер В.Б., Ярочкин В.С. - Бюллетень Сибирсого отделения АМН СССР. 1986 г., N 3, с. 83-87.
8. Лобунец К.А. - Гематология и переливание крови, 1984г., вып. 19, с. 70-72.
9. Матвиенко В.П., Гусенова Ф.М. - Гематология и трансфузиология. 1983 г., т. 28, N 4, с. 38-41.
10. Образцов В.В., Гриманова А.Ю. - Биохимия. 1992 г., т57, вып. 7, с. 1011-1020.
11. Панченко С.М., Адгонин Н.И. - Гематология и трансфузиология. 1988 г., т. 33, N5, с.29-31.
12. Савельев О.Н., Зиновьев Ю.В. - Медицинский реферативный журнал. раздел 18, 1987 г., N 2, с. 17-24.
13. Седова А.А., Питовская Н.Н. - Медицинский реферативный журнал, раздел 18, 1987 г., N 5.
14. Селиванов Е.А., Кочетопов Н.И. - Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1991 г., т. 112, N 8.
15. Смирнов И.В., Хачатурьян А.А. - Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1991 г., т. 112, N 11, с. 500-501.
16. Смирнов И.В., Хачатурьян А.А. - Гематология и трансфузиология. 1992 г.,т.37, N7-8, с. 15-17.
17. Терешина Е.В., Дорошина Н.Н. - Химико-фармацевтический журнал, 1990 г., т. 20, N 7, с. 16-18.
18. Шабалин В.Н.,Кочетопов Н.И. - Гематология и трансфузиология. 1985 г., т.30, N2, с.3-4.
19. Hartman F., Plauth M. - Infusions therapie. 1987, 14,N 4, 185-188.
20. Lane T.A., Krukonis V. - Trancfusion. 1988, 28, N 4, 375-378.
21. Pristoupil T.I., Fricona H. - Cas. Lek. ces., 1986, 125, N 37, 1147-1153.
22. Uchida T., Matsuda S. - Acta haematol. jap., 1986, 49,N 6, 1202-1227