

# Sustitutos sanguíneos como alternativa a la donación de células sanguíneas.

## Blood substitutes as an alternative to blood cell donation.

Juanita Nur Herrera<sup>1,a</sup>

1. Estudiante de Medicina.

a. Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Pontificia Bolivariana (Colombia).

### CORRESPONDENCIA

Juanita Nur Herrera

ORCID ID <https://orcid.org/0009-0002-4877-3048>

Universidad Pontificia Bolivariana (Colombia)

E-mail: [juanita.nur@upb.edu.co](mailto:juanita.nur@upb.edu.co)

### CONFLICTO DE INTERESES

Las autoras del artículo hacen constar que no existe, de manera directa o indirecta, ningún tipo de conflicto de intereses que pueda poner en peligro la validez de lo comunicado.

RECIBIDO: 26 de diciembre de 2024.

ACEPTADO: 10 de marzo de 2025.

### RESUMEN

Las transfusiones de sangre son esenciales para pacientes con diversas condiciones médicas, pero los glóbulos rojos obtenidos por medio de donación de sangre tienen una vida útil limitada de 42 días, lo que reduce su disponibilidad. A nivel mundial, hay una escasez significativa frente a la demanda. Factores como salud, falta de información y creencias personales dificultan la donación. Lo que ha impulsado a la comunidad científica a diseñar sustitutos sintéticos para suplir la demanda de sangre principalmente para dos funciones esenciales de la sangre: el transporte de oxígeno por los glóbulos rojos y la hemostasia por las plaquetas, enfocándose particularmente en asegurar el transporte de oxígeno hacia los tejidos. Aunque se han logrado avances significativos y se han realizado experimentos prometedores, estos métodos aún no se utilizan clínicamente en su totalidad.

**Palabras clave:** Sangre, transfusión, sustituto, hemo, donación.

### ABSTRACT

Blood transfusions are essential for patients with various medical conditions, but red blood cells obtained through blood donation have a limited shelf life of 42 days, which reduces their availability. Globally, there is a significant shortage versus demand. Factors such as health, lack of information and personal beliefs make donation difficult. This has prompted the scientific community to design synthetic substitutes to supply the demand for blood mainly for two essential blood functions: oxygen transport by red blood cells and hemostasis by platelets, with a particular focus on ensuring oxygen transport to tissues. Although significant advances have been made and promising experiments have been conducted, these methods are not yet fully utilized clinically.

**Key words:** Blood, transfusion, substitute, hemo, donation.

Nur-Herrera J. Sustitutos sanguíneos como alternativa a la donación de células sanguíneas. *Salutem Scientia Spiritus* 2025; 11(1):104-109.



La Revista *Salutem Scientia Spiritus* usa la licencia Creative Commons de Atribución - No comercial - Sin derivar:

Los textos de la revista son posibles de ser descargados en versión PDF siempre que sea reconocida la autoría y el texto no tenga modificaciones de ningún tipo.

## INTRODUCCIÓN

La donación sanguínea es un recurso importante para diversas poblaciones, como las mujeres embarazadas, pacientes con enfermedades onco-hematológicas, sobrevivientes de traumas, pacientes sometidos a cirugías extensas o con complicaciones quirúrgicas, y pacientes anémicos.<sup>1</sup>

Las transfusiones de sangre desempeñan un papel fundamental incrementando la calidad y la esperanza de vida de los pacientes.<sup>2</sup> Por esto, las transfusiones de hemoderivados son la opción de tratamiento más utilizada para pacientes que pierden una gran cantidad de sangre; sin embargo, un problema de la transfusión sanguínea es que los glóbulos rojos de los donantes se deben refrigerar constantemente, teniendo una vida útil de aproximadamente 42 días, lo cual limita su disponibilidad.<sup>3</sup> Además de estas dificultades, hay retos logísticos vinculados al transporte en condiciones de cadena de frío de glóbulos rojos refrigerados a una temperatura controlada de entre 2°C y 6°C para evitar la activación de procesos como la hemostasia, especialmente en lugares con recursos limitados.<sup>4</sup>

A nivel mundial, existe una preocupación crítica de salud pública, que se debe a que existe una diferencia notable entre los donantes de sangre y las personas que requieren de dicha donación, ya que existe una escasez significativa de sangre frente a la demanda de millones de personas.<sup>5</sup> Adoptar una postura positiva hacia la donación de sangre podría contribuir a equilibrar esta situación.<sup>6</sup> En todo el mundo, existen varios centros de donación de sangre; en países desarrollados, los donantes de sangre son voluntarios sin beneficio económico, sin embargo, en países de bajos ingresos o en residencias rurales, la mayoría de los donantes solo tienen interés en donar sangre a sus familiares y amigos cercanos.<sup>7</sup> Incluso durante la pandemia la donación voluntaria de sangre presentó múltiples dificultades, disminuyendo el inventario de sangre y limitando la capacidad de servicio.<sup>8</sup> Ante el aumento en la necesidad de donaciones de sangre voluntarias, es fundamental intensificar los esfuerzos para captar y fidelizar donantes, especialmente en los países en desarrollo.<sup>9</sup>

En el mundo se han realizado múltiples estudios para mostrar las actitudes y los conocimientos que poseen los posibles donantes de sangre hacia la donación sanguínea, en el que la mayoría de estos estudios revelaron que el nivel de conocimiento y las actitudes de las personas hacia la donación de sangre son insuficientes.<sup>10</sup> Sin embargo, las características personales, creencias, motivaciones, nivel educativo y otros factores de una persona, su entendimiento, percepción, disposición, conocimiento, postura y hábitos relacionados con la donación de sangre pueden diferir.<sup>11</sup> Estudios adicionales buscaron identificar los posibles impedimentos para la donación voluntaria de sangre, como un mal estado de salud, falta de información sobre la donación sanguínea, entre otros.<sup>12</sup>

Por lo que otros académicos propusieron que tanto los bancos de sangre locales como nacionales deberían implementar una estrategia para superar los problemas respecto a la falta de donación voluntaria de sangre.<sup>13</sup>

## GENERALIDADES

El incremento en los procedimientos quirúrgicos y los casos de traumatismo ha generado una mayor demanda de transfusiones de sangre, el cual es escaso para satisfacer la alta demanda de la atención de la salud actual, en el que menos del 5% de la población dona sangre continuamente, por lo que las unidades de sangre de donantes voluntarios son insuficientes para cubrir las crecientes necesidades derivadas de las prácticas médicas y los procedimientos quirúrgicos actuales.<sup>14</sup> Esto se debe a que la gente no quiere donar debido a posibles riesgos de adquirir infecciones transmitidas por la sangre, reacciones alérgicas, el incremento de los costos relacionados a la recolección y la compatibilidad cruzada; por ende, es crucial que la comunidad científica diseñe un sustituto sanguíneo o sangre sintética para abordar este desafío.<sup>15</sup> Es importante mencionar que la sangre artificial no réplica del todo las funciones fisiológicas de la sangre natural, los sustitutos sanguíneos se diseñaron para reforzar la función terapéutica de la sangre, sin embargo, los científicos han dirigido sus esfuerzos hacia la creación de sustitutos sintéticos para dos funciones esenciales de la sangre: el transporte de oxígeno por los glóbulos rojos y la hemostasia por las plaquetas, enfocándose particularmente en asegurar el transporte de oxígeno hacia los tejidos.<sup>16</sup> En la actualidad, la sangre artificial se desarrolla en diversas formas, como glóbulos rojos generados a partir de células madre, transportadores de oxígeno basado en perfluorocarbonos y transportadores de oxígeno derivados de la hemoglobina; estas innovaciones tienen el potencial de revolucionar las transfusiones sanguíneas y beneficiar a un gran número de personas, marcando un progreso notable en el ámbito de la medicina.<sup>15</sup>

La principal función de la sangre artificial consiste en sostener de manera temporal el sistema circulatorio mientras la médula ósea genera una cantidad suficiente de glóbulos rojos; por ejemplo, la sangre artificial se podría usar en personas que sufrieron traumatismos y reponer el volumen, o en personas en cirugía cardiovascular para estabilizar y para reemplazo intraoperatorio, aunque también puede emplearse para el tratamiento del accidente cerebrovascular y la anemia de células falciformes.<sup>17</sup> Su uso también es importante en cirugías electivas, en el que, si hay una pérdida significativa de volumen, la sangre artificial pueda reemplazarlo durante el procedimiento.<sup>18</sup>

El desarrollo de la sangre artificial se ha expandido más allá de la medicina humana, llegando a utilizarse en veterinarias; principalmente en perros durante la terapia de transfusión; el uso de sangre artificial se ha implementado ya que actualmente los ani-

males de compañía no cuentan con bancos de sangre dedicados, esto implica que los veterinarios deban gestionar por su cuenta la obtención de la “sangre” requerida para las transfusiones.<sup>19</sup> Los investigadores han logrado desarrollar y evaluar muestras de sangre artificial para perros; este proceso comenzó con la síntesis de albumina sérica canina recombinante (rCSA) mediante ingeniería genética, utilizando levaduras del género “*Pichia*”, en el que las proteínas obtenidas mostraron características idénticas a las de la albumina sérica nativa extraída del plasma canino; además, se determinó la estructura cristalina de la rCSA con una resolución de 3,2 Å, en el que posteriormente, se combinó covalentemente la hemoglobina con la rCSA, dando lugar a un compuesto llamado hemoglobina-albumina (Hb- rCSA3), diseñado como un transportador de oxígeno artificial que actúa como sustituto de los glóbulos rojos (RBC).<sup>15</sup> El sustituto de sangre ideal para animales debería replicar la capacidad de transporte y entrega de oxígeno de los glóbulos rojos, ser fácil de producir a gran escala, no provocar reacciones inmunológicas por sus propiedades no antigénicas y permanecer estable en el torrente sanguíneo durante un tiempo prolongado; estas características son fundamentales para desarrollar una alternativa segura y eficaz a la sangre natural en aplicaciones veterinarias.<sup>15</sup>

### LA EVOLUCIÓN EN EL DESARROLLO DE SUSTITUTOS SANGUÍNEOS: TIPOS Y PERSPECTIVAS

Actualmente se están implementando dos tipos principales de sustitutos artificiales de glóbulos rojos que son transportadores de oxígeno basado en hemoglobina (HBOC) y los perfluorocarbonos. Existen varios tipos de (HBOC), como:<sup>20</sup>

- Transportadores basado en productos químicos, como los perfluorocarbonos (PFC).
- Hemoglobina acelular, conjugada y polimérica recombinante.
- Hemoglobina celular, encapsulada en liposomas y encapsulada en polímeros.

Los HBOC, se emplean en sangre artificial para distribuir oxígeno a través del cuerpo, en comparación con las transfusiones de sangre tradicionales, los HBOC presentan varias ventajas potenciales, como una mayor vida útil, la eliminación de la necesidad de tipificación sanguínea o pruebas de compatibilidad, y un menor riesgo de transmisión de enfermedades infecciosas, sin embargo, su eficacia y seguridad están siendo evaluadas, particularmente en relación con posibles efectos adversos y su capacidad para interferir con los mecanismos naturales de coagulación sanguínea; estas aún son mayormente experimentales y no están ampliamente utilizadas en el uso clínico.<sup>21</sup>

En el caso de los (PFC) son compuestos sintéticos formados únicamente por átomos y flúor, biológicamente inerte y altamente capaces de disolver gases como el oxígeno, con una capacidad

Posee	Beneficios
Enlaces disulfuro intramoleculares	Evitan la separación de las subunidades de una misma cadena polipeptídica
Un peso molecular relativamente elevado (3,6 MDa)	Impide la fuga hacia los tejidos
Alta estabilidad térmica (55 °C)	No necesita refrigeración
Afinidad por el oxígeno es similar a la de los glóbulos rojos humanos	Limita el transporte de los glóbulos rojos

50 veces superior al plasma sanguíneo; entre los más utilizados están el bromuro de perfluorooctilo (PFOB) y la perfluorodecalina, empleados como transportadores de oxígeno en sustitutos de sangre.<sup>16</sup> Los PFC han presentado desventajas para su uso como sangre artificial, ya que son insolubles en agua, lo que requiere emulsiones específicas, y su capacidad de transporte de oxígeno es menor que la de productos basados en hemoglobina, lo que obliga a utilizar grandes cantidades para lograr eficacia; aunque algunos productos han sido aprobados, su implementación clínica sigue siendo limitada, y las emulsiones mejoradas aún están en desarrollo.<sup>16</sup>

Por otra parte, está la hemoglobina acelular, la cual es conocida por el nombre, eritrocruorina de *Lumbricus terrestris*. Este transportador de oxígeno aún se encuentra en proceso de investigación, sin embargo, en la literatura encontramos proyectos, donde su finalidad es buscar la optimización y la portabilidad del *L. terrestris*, transformándolo en un polvo liviano liofilizado, fácil de almacenar, el cual puede ser reconstituido rápidamente con solución salina u otros líquidos de rehidratación.<sup>22</sup> La liofilización se usa para almacenar proteínas, en la que la eliminación del agua de la proteína evita la hidrólisis, la oxidación, la agregación y los reordenamientos de disulfuro.<sup>23</sup> De hecho, Zal *et al*<sup>25</sup> hicieron un método para liofilizar la eritrocruorina de *Arenicola marina* para ser utilizado como sustituto de glóbulos rojos utilizando trehalosa, sacarosa y manitol. En su trabajo se demostró que la eritrocruorina de *A. marina* liofilizada era capaz de transportar oxígeno sin perder su estructura después de ser restablecida en solución. Esto solo se monitoreo durante cinco días a 37°C. Pero se han desarrollado nuevos protocolos de liofilización, almacenamiento y resuspensión en la que se minimizó la oxidación del hemo en el almacenamiento mientras se aumentaba la recuperación de *L. terrestris* soluble en su estado totalmente integrado y reducido<sup>25</sup> (Tabla 1).

Los sustitutos de la sangre también se han estudiado para tratar

**Tabla 2.** Evaluación de dodecafluoropentano como terapéutico de oxígeno en modelos de reemplazo sanguíneo con dextrano

Modelo animal	Condición experimental	Resultados
Ratas	Placebo o dodecafluoropentano (0,7 ml/kg).	Placebo: ninguno sobrevivió. Dodecafluoropentano: sobrevivieron 240 min, útil como puente de transfusión.
Cerdos	Hextend (7 ml/kg) o dodecafluoropentano (0,6 ml/kg)	Hextend: 8/10 vivos, lesiones renales presentes. Dodecafluoropentano: 10/10 sobrevivieron, sin lesiones renales.

condiciones de hipoxia, basados en hemoglobina y fluorocarbono, como la hemoglobina liposomal que aún es objeto de estudio y desarrollo como sustituto de la sangre, y los fluorocarbonos que tienen la capacidad de disolver oxígeno y gases respirables.<sup>26</sup> El uso de fluorocarbono se prueba como sustituto sanguíneo en la terapia de oxígeno, aumentando la capacidad de transporte de oxígeno de la sangre.<sup>27</sup> Al igual que el perfluorocarbono, el dodecafluoropentano, se está implementando como un agente terapéutico de oxígeno, que permite aumentar la capacidad de transporte de oxígeno de la sangre y el suministro de oxígeno a los tejidos. Por último, el dodecafluoropentano aumenta el suministro de oxígeno al tejido hipóxico.<sup>28-31</sup>

## EXPERIMENTACIÓN Y AVANCES EN EL DESARROLLO DE NUEVOS SUSTITUTOS SANGUÍNEOS

El dodecafluoropentano se ha utilizado como producto de reemplazo de sangre. Ku *et al*<sup>32</sup> utilizaron modelos animales, los cuales fueron desangrados y en ellos utilizaron un reemplazo sanguíneo con dextrano (Tabla 2). En estos experimentos se demostró que el dodecafluoropentano tuvo una eficacia en modelos experimentales de accidente cerebrovascular isquémico bajo condiciones normóxicas, y que tiene un tiempo de vida corto, en la que proporciona efectos por un máximo de cuatro horas.<sup>33</sup> Su tiempo de vida es corto debido a que su tamaño molecular es pequeño y tiene mayor volatilidad, lo cual facilita la disolución eficiente del oxígeno y proporciona una entrega optimizada a los tejidos.<sup>34,35</sup>

El dodecafluoropentano se elimina principalmente a través de la exhalación sin sufrir metabolismo, con una vida media terminal de aproximadamente 90 minutos; su administración en dosis bajas, su rápida eliminación y su amplio margen terapéutico lo convierte en el primer perfluorocarbono apto para múltiples aplicaciones sucesivas.<sup>36</sup>

Además del dodecafluoropentano como un agente terapéutico en la oxigenoterapia, con aplicaciones tanto como sustituto sanguíneo como puente hacia las transfusión, se han realizado otros experimentos como la aplicación de la tecnología de mi-

crofluidos en el tratamiento de la trombosis arterial, evidenciado por Brown *et al*,<sup>37</sup> quienes emplearon la fabricación de *chips* con microcanales altamente estructurados que replican las condiciones del flujo sanguíneo en los vasos; gracias a su capacidad para regular con precisión la velocidad y la presión del fluido, esta tecnología permite analizar tanto fenómenos fisiológicos como procesos patológicos relacionados con la circulación, y proponer estrategias innovadoras para la prevención y el tratamiento de la trombosis arterial.<sup>38</sup>

El uso de tecnología microfluidica en el tratamiento de la trombosis arterial ha demostrado avances significativos, especialmente en áreas como el desarrollo de fármacos, la medicina personalizada y la orientación quirúrgica, ofreciendo enfoques innovadores para abordar esta condición; una de sus principales ventajas radica en la creación de modelos microvasculares artificiales *in vitro*, que permiten un análisis detallado del comportamiento plaquetario y las formación de trombos, gracias a su capacidad de controlar con precisión la velocidad de flujo y replicar con fidelidad la estructura de los vasos sanguíneos, esta tecnología facilita la introducción y manipulación de variables clave en la adhesión y agregación plaquetaria, además posibilita un monitoreo en tiempo real del proceso de formación de trombos, reduciendo la necesidad de grandes volúmenes de muestras sanguíneas.<sup>30,39,40</sup>

## CONCLUSIONES

La sangre artificial o sustituto sanguíneo, muestra un gran potencial en el ámbito médico como reemplazo de la sangre natural, especialmente en emergencias, cirugías y para personas con trastornos hematológicos específicos; ya que en situaciones críticas la sangre natural es difícil de conseguir, y la sangre artificial puede actuar como una alternativa vital; la mayoría de estos productos están diseñados para ser compatibles universalmente, eliminando la necesidad de emparejamiento por tipo sanguíneo; además, a diferencia de la sangre donada, que puede transmitir enfermedades infecciosas, los sustitutos reducen significativamente ese riesgo, también la sangre artificial tiene la ventaja de poder almacenarse por más tiempo que la sangre convencional, lo que la hace ideal

para su uso en zonas remotas o en operaciones militares; sin embargo su desarrollo presenta diversos retos, incluidos aspectos científicos, éticos y normativos, ya que el uso de materiales no humanos para su fabricación plantea cuestiones éticas, y los pacientes deben ser plenamente informados sobre el origen y las implicaciones de su uso para tomar decisiones conscientes, algunas personas pueden rechazar estos productos por razones culturales o religiosas, y se debe asegurar una calidad uniforme y la efectividad de cada lote producido, lo que requiere estrictos controles de calidad y procesos de fabricación consistentes; asimismo, debe garantizarse que no provoque reacciones inmunológicas adversas, siendo completamente biocompatible y que su capacidad para transportar oxígeno sea igual de efectiva para considerarse una opción viable.

### REFERENCIAS

- World Health Organization. Towards 100% voluntary blood donation: a global framework for action. Geneva: World Health Organization; 2010. p. 1-12.
- Getie A, Amlak BT, Ayenew T, Gedfew M, Yilak G, Wondmieneh A, *et al.* Ethiopian residents' knowledge and attitude towards blood donation and its associated factors: systematic review and meta-analysis. *BMC Public Health*. 2024; 24(1):3256. DOI:10.1186/s12889-024-20679-3.
- Kim-Shapiro DB, Lee J, Gladwin MT. Storage lesion: role of red blood cell breakdown. *Transfusion*. 2011; 51(4):844-51. DOI:10.1111/j.1537-2995.2011.03100.x.
- Malsby RF 3rd, Quesada J, Powell-Dunford N, Kinoshita R, Kurtz J, Gehlen W, *et al.* Prehospital blood product transfusion by U.S. Army MEDEVAC during combat operations in Afghanistan: a process improvement initiative. *Mil Med*. 2013; 178(7):785-91. DOI:10.7202/MILMED-D-13-00047.
- Griffin D, Grace D, O'Cass A. Blood donation: comparing individual characteristics, attitudes, and feelings of donors and nondonors. *Health Mark Q*. 2014; 31(3):197-212. DOI:10.1080/07359683.2014.936276.
- Karacan E, Seval GC, Aktan Z, Ayli M, Palabiyikoglu R. Blood donors and factors impacting the blood donation decision: motives for donating blood in Turkish sample. *Transfus Apher Sci*. 2013; 49(3):468-73. DOI:10.1016/j.transci.2013.04.044.
- Salaudeen AG, Odeh E. Knowledge and behavior towards voluntary blood donation among students of a tertiary institution in Nigeria. *Niger J Clin Pract*. 2011; 14(3):303-7. DOI:10.4103/1119-3077.86773.
- Lund TC, Hume H, Allain JP, McCullough J, Dzik W. The blood supply in Sub-Saharan Africa: needs, challenges, and solutions. *Transfus Apher Sci*. 2013; 49(3):416-21. DOI:10.1016/j.transci.2013.06.014.
- Burzynski ES, Nam SL, Le Voir R. Barriers and motivations to voluntary blood donation in sub-Saharan African settings: a literature review. *ISBT Sci Ser*. 2016; 11(2):99-104. DOI:10.1111/voxs.12271.
- Ogundeji SP, Ajayi OD, Busari OE, Ogundeji OA, Adepoju OA, Esan FG. Knowledge, attitude, and perception towards voluntary blood donation among university students in Nigeria. *ISBT Sci Ser*. 2021; 16(1):85-91. DOI:10.1111/voxs.12614.
- Huis in 't Veld EMJ, de Kort WLAM, Merz EM. Determinants of blood donation willingness in the European Union: a cross-country perspective on perceived transfusion safety, concerns, and incentives. *Transfusion*. 2019; 59(5):1783-93. DOI:10.1111/trf.15209.
- Ou-Yang J, Bei CH, He B, *et al.* Factors influencing blood donation: a cross-sectional survey in Guangzhou, China. *Transfus Med*. 2017; 27(6):408-14. DOI:10.1111/tme.12435.
- Mussema A, Bawore SG, Abebaw T, *et al.* Voluntary blood donation knowledge, attitude, and practice among adult populations of Hosanna Town, South Ethiopia: a community-based cross-sectional study. *Front Public Health*. 2023; 11:1141544. DOI:10.3389/fpubh.2023.1141544.
- Kresie L. Artificial blood: an update on current red cell and platelet substitutes. *Proc (Bayl Univ Med Cent)*. 2001; 14(2):158-61. DOI:10.1080/08998280.2001.11927754.
- Sharma R, Kashyap M, Zayed H, Krishnia L, Kashyap MK. Artificial blood—hope and the challenges to combat tumor hypoxia for anti-cancer therapy. *Med Biol Eng Comput*. 2025; 63(5):933-57. DOI:10.1007/s11517-024-03233-6.
- Sarkar S. Artificial blood. *Indian J Crit Care Med*. 2008; 12(3):140-4. DOI:10.4103/0972-5229.43691.
- Kim HW, Greenburg AG. Artificial oxygen carriers as red blood cell substitutes: a selected review and current status. *Artif Organs*. 2004; 28(9):813-28. DOI:10.1111/j.1525-1594.2004.07504.x.
- Haldar R, Gupta D, Chitranshi S, Singh MK, Sachan S. Artificial blood: a futuristic dimension of modern day transfusion sciences. *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem*. 2019; 17(1):11-6. DOI:10.2174/1871525717666190514111112.
- Yamada K, Yokomaku K, Kureishi M, Akiyama M, Kihira K, Komatsu T. Artificial blood for dogs. *Sci Rep*. 2016; 6:36782. DOI:10.1038/srep36782.
- Gao M, Liang C, Song X, Chen Q, Jin Q, Wang C, *et al.* Erythrocyte-membrane-enveloped perfluorocarbon as nanoscale artificial red blood cells to relieve tumor hypoxia and enhance cancer radiotherapy. *Adv Mater*. 2017; 29(35):1701429. DOI:10.1002/adma.201701429.
- Alayash AI. Blood substitutes: why haven't we been more successful? *Trends Biotechnol*. 2014; 32(4):177-85. DOI:10.1016/j.tibtech.2014.01.001.
- Fernandez-Moure JS, Maisha N, Lavik EB, *et al.* The chemistry of lyophilized blood products. *Bioconjug Chem*. 2018; 29(7):2150-60. DOI:10.1021/acs.bioconjchem.8b00194.
- Franks F. Freeze-drying of bioproducts: putting principles into practice. *Eur J Pharm Biopharm*. 1998; 45(3):221-9. DOI:10.1016/S0939-6411(98)00041-4.
- Dowd S, Sharo C, Abdulmalik O, Elmer J. Optimizing the

- lyophilization of *Lumbricus terrestris* erythrocytes. *Artif Cells Nanomed Biotechnol.* 2024; 52(1):291-9. DOI:10.1080/21691401.2023.2289016.
25. Zal F, Rousselot M. Annelid haemoglobin lyophilisation process. European Patent Office; 2018. EP3214567A1.
  26. Cannon JW. Hemorrhagic shock. *N Engl J Med.* 2018; 378(4):370-9. DOI:10.1056/NEJMra1705649.
  27. Kawaguchi AT, Fukumoto D, Haida M, *et al.* Liposome-encapsulated hemoglobin reduces the size of cerebral infarction in the rat. *Stroke.* 2007; 38(5):1626-32. DOI:10.1161/STROKEAHA.106.467290.
  28. Johnson JLH. Neuroprotective therapy for stroke and ischemic disease. Cham: Springer International Publishing; 2017. DOI:10.1007/978-3-319-45345-3.
  29. Johnson JLH, Unger E. Dodecafluoropentane emulsion as an oxygen therapeutic. *Artif Cells Nanomed Biotechnol.* 2024; 52(1):462-75. DOI:10.1080/21691401.2024.2402908.
  30. Lin J, Chen S, Zhang C, Liao J, Chen Y, Deng S, *et al.* Recent advances in microfluidic technology of arterial thrombosis investigations. *Platelets.* 2024; 35(1):2316743. DOI:10.1080/09537104.2024.2316743.
  31. Garg S, Heuck G, Ip S, Ramsay E. Microfluidics: a transformational tool for nanomedicine development and production. *J Drug Target.* 2016; 24(6):821-35. DOI:10.3109/1061186X.2015.1122143.
  32. Ku CJ, D'Amico Oblak T, Spence DM. Interactions between multiple cell types in parallel microfluidic channels: monitoring platelet adhesion to an endothelium in the presence of an anti-adhesion drug. *Anal Chem.* 2008; 80(19):7543-8. DOI:10.1021/ac801156c.
  33. Lundgren CE, Bergoe GW, Tyssebotn IM. Intravascular fluorocarbon-stabilized microbubbles protect against fatal anemia in rats. *Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol.* 2006; 34(5):473-86. DOI:10.1080/10731190600868001.
  34. Lundgren C, Tyssebotn I. Development of a minimal-bulk oxygen delivery product to enhance survival during hemorrhagic shock/ studies regarding the use of perfluorocarbon-derived intravascular microbubbles for oxygen transport. Fort Belvoir (VA): Defense Technical Information Center; 2009.
  35. Fitzgerald RT, Ou X, Nix JS, *et al.* Dodecafluoropentane emulsion delays and reduces MRI markers of infarction in a rat stroke model: a preliminary report. *Magn Reson Imaging.* 2015; 33(2):236-9. DOI:10.1016/j.mri.2014.10.013.
  36. Culp WC, Woods SD, Skinner RD, *et al.* Dodecafluoropentane emulsion decreases infarct volume in a rabbit ischemic stroke model. *J Vasc Interv Radiol.* 2012; 23(1):116-21. DOI:10.1016/j.jvir.2011.09.027.
  37. Brown AT, Arthur MC, Nix JS, *et al.* Dodecafluoropentane emulsion (DDFPe) decreases stroke size and improves neurological scores in a permanent occlusion rat stroke model. *Open Neurol J.* 2014; 8:27-33. DOI:10.2174/1874205X01408010027.
  38. Costa PF, Albers HJ, Linssen JEA, Middelkamp HHT, van der Hout L, Passier R, *et al.* Mimicking arterial thrombosis in a 3D-printed microfluidic in vitro vascular model based on computed tomography angiography data. *Lab Chip.* 2017; 17(16):2785-92. DOI:10.1039/C7LC00577J.
  39. Liu ZL, Ku DN, Aidun CK. Mechanobiology of shear-induced platelet aggregation leading to occlusive arterial thrombosis: a multiscale in silico analysis. *J Biomech.* 2021; 120:110349. DOI:10.1016/j.jbiomech.2021.110349.
  40. Gracka M, Lima R, Miranda JM, Student S, Melka B, Ostrowski Z. Red blood cells tracking and cell-free layer formation in a microchannel with hyperbolic contraction: a CFD model validation. *Comput Methods Programs Biomed.* 2022; 226:107117. DOI:10.1016/j.cmpb.2022.107117.