

Перспективность использования комбинированных криопротекторов при замораживании компонентов крови одноступенчатым способом при температуре -196°C

Е.М. КОРНИЕНКО¹, В.А. БОНДАРЕНКО²

¹Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина

²Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Perspective in Using Combined Cryoprotectants During Blood Component Freezing by One-step Method at -196°C

E.M. KORNIENKO¹, V.A. BONDARENKO²

¹V.N.Karazin Kharkov National University

²Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine

Исследование криобиологической эффективности комбинированных сред, включающих проникающие (ДМСО, 1,2-ПД) и непроникающие (декстран М 10000 и ПЭГ М 2000) криопротекторы, представляет существенный интерес. Непроникающие криопротекторы образуют вокруг клетки диффузионный слой и препятствуют росту кристаллов во внеклеточной среде. Применение проникающих криопротекторов приводит к торможению роста кристаллов льда внутри клетки и эффективному связыванию воды внутри клеток.

Были исследованы концентрационные ряды (5, 10, 12, 15, 20, 25, 30 %) ДМСО, 1,2-ПД, декстран, ПЭГ, а также среды, включающие комбинации проникающих и непроникающих криопротекторов. Установлено, что при повышении концентрации проникающих криопротекторов изоосмотический лизис клеток проявляется при достаточно высоких концентрациях криопротекторов (30% и более). Были выбраны оптимальные концентрации комбинаций криопротекторов: ДМСО-декстран; ДМСО-ПЭГ; 1,2-ПД-декстран; 1,2-ПД-ПЭГ, в которых токсический эффект проникающих криопротекторов не проявлялся. Применение комбинаций проникающих и непроникающих криопротекторов позволило при быстрых скоростях замораживания-отогрева получить более высокие значения сохранности эритроцитов. Оптимальные концентрации криопротекторов соответствовали осмолярности среды 0,8 Осмоль.

Полученные данные свидетельствуют о том, что применение комплексов криопротекторов в сравнении с однокомпонентными растворами последних приводит к более высоким значениям сохранности эритроцитов, что подтверждается биохимическими исследованиями уровня МДА, восстановленного глутатиона, а также активности глутатионредуктазы и глутатионпероксидазы.

Of great interest is to study the cryobiological efficiency of combined media, including penetrative (DMSO, 1,2-PD) and non-penetrative (dextran M 10000 and PEG M 2000) cryoprotectants. Non-penetrative cryoprotectants form a diffusive layer around a cell and prevent crystal growth in extracellular medium. Application of penetrative cryoprotectants results in ice crystal growth inhibition inside a cell and an efficient water binding inside cells. The concentration series (5, 10, 12, 15, 20, 25, 30%) of DMSO, 1,2-PD, dextran, PEG as well as the media, comprising the combinations of penetrative and non-penetrative cryoprotectants, have been under study. When increasing the penetrative cryoprotectant concentrations the isoosmotic cell lysis was established as manifesting under quite high concentrations of cryoprotectants (30% and higher). There were selected the optimal concentrations of cryoprotectant combinations such as: DMSO-dextran; DMSO-PEG; 1,2-PD-dextran; 1,2-PD-PEG, where no toxic effect of penetrative cryoprotectants was manifested. The application of penetrative and non-penetrative cryoprotectant combination enabled under more rapid freeze-thawing rates to obtain higher values of erythrocyte integrity. The optimal cryoprotectant concentrations corresponded to 0.8 Osmol medium osmolarity.

The data obtained testify to the fact that the application of cryoprotectant complexes results in higher values of erythrocyte integrity, if comparing with mono-component cryoprotectant solutions, that is confirmed by biochemical studies of MDA level, reduced glutathione, as well as glutathione reductase and glutathione peroxidase activities.