

Влияние режимов замораживания на криоконсервирование тромбоцитов человека под защитой многокомпонентных криопротекторных сред

О.А. БОГДАНЧИКОВА, А.М. КОМПАНИЕЦ

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Effect of Freezing Regimens on Cryopreservation Efficiency of Platelets under Protection of Multicomponent Cryoprotective Solutions

O.A. BOGDANCHIKOVA, A.M. KOMPANIETS

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

Оптимизация методов криоконсервирования тромбоцитов человека для клинической практики остается актуальной задачей криобиологии.

Цель работы – изучение влияния неконтролируемых режимов охлаждения концентратов тромбоцитов в различных комбинированных криозащитных растворах на сохранность морфофункциональных свойств кровяных пластинок.

Концентрат тромбоцитов (КТ) получали из дозы цельной крови, заготовленной на растворе “Глюгидир”, способом из лейкоцитомоноцитарного слоя. Образцы КТ соединяли с многокомпонентными растворами на основе криопротекторов ряда амидов и полиолов, после 30 мин насыщения их замораживали в контейнерах, размещенных на разной высоте над поверхностью зеркала азота, погружением в азот. При замораживании использовали режимы с рассчитанными скоростями: 0,5–3,5 и 16–30°C/мин. Изменение температуры регистрировали медь-константовой термопарой. Количественную сохранность тромбоцитов определяли после размораживания образцов, функциональные показатели тромбоцитов – после удаления криопротекторов.

Замораживание тромбоцитов в многокомпонентных криозащитных средах позволяет получить высокие показатели морфологической и функциональной сохранности кровяных пластинок. Замораживание со скоростью 0,5–3,5°C/мин характеризуется длительным плато кристаллизации системы (до 21 мин). При замораживании со скоростью 16–30°C/мин повышаются показатели сохранности тромбоцитов для всех исследуемых в работе многокомпонентных растворов. Это объясняется тем, что при криоконсервировании с большей скоростью значительно уменьшается длительность фазового перехода “вода-лед”, наблюдаемая на термограммах, что сокращает время нахождения тромбоцитов в концентрированном растворе. Замораживание путем погружения в азот вызывает значительное снижение всех функциональных показателей тромбоцитов, наблюдается отсутствие АДФ-агрегации. Отмечены высокие показатели сохранности тромбоцитов, криоконсервированных со скоростью 16–30°C/мин с раствором на основе диметил-ацетамида и оксиэтилированного глицерина (n = 5). Данная криозащитная среда при замораживании с большей скоростью позволяет значительно сократить время нахождения тромбоцитов в концентрированных растворах, избежать переохлаждения, которое является одним из повреждающих факторов при криоконсервировании, а также сохранить наибольшую функциональную полноценность тромбоцитов при замораживании.

Optimization of human platelet cryopreservation methods for clinical application remains a current task for cryobiology.

The research aim is the study of effect of non-controlled freezing regimens of platelet concentrates of different combined cryoprotective solutions on integrity of morpho-functional properties of blood platelets.

The concentrate of platelets (CP) was derived from the whole blood dose, procured with “Glugicyr” solution by the method of leukocyte-platelet layer (LPL). The samples of CP added to multicomponent solutions, based on cryoprotectants of amide and polyols series. After 30 min saturation they were frozen in the containers, placed at various heights above the nitrogen surface by plunging into nitrogen. During freezing the regimens with calculated rates as 0.5–3.5 and 16–30°C/min were used. Changing of temperature was recorded with copper-constantan thermocouple. Quantitative integrity of platelets after thawing of the samples and functional indices of platelets after removal of cryoprotectants were determined.

Freezing of platelets in multicomponent cryoprotective media enables to obtain the high indices of morphological and functional integrity of blood plates. Freezing with the 0.5–3.5°C/min rate is characterized with long-term crystallization plateau of the system (up to 21 min). During freezing with 16–30°C/min rate the integrity indices of platelets for all the studied multicomponent solutions are increased. This is explained by the fact that during cryopreservation with higher freezing rate there is a significant reduction in the duration of phase transition “water-ice”, observed in thermograms, that reduce the time of platelets being in a concentrated solution. Freezing with plunging into nitrogen induces significant reduction of all functional indices of platelets, the absence of ADP-induced aggregation is observed. The high integrity indices of platelets, cryopreserved with 16–30°C/min with the solution based on dimethyl acetamide and oxyethylated glycerol (n = 5) are noted. This cryoprotective medium during freezing with higher rate enables to significantly decrease the time of being platelets in concentrated solutions, to avoid over-cooling, which is one of damaging factors during cryo-preservation, and also to preserve the higher functional integrity of platelets during freezing.