

Криоконсервирование концентратов тромбоцитов при умеренно низких температурах ($-70...-80^{\circ}\text{C}$) с консервантами на основе комбинаций криопротекторов

А.В. Коробкова, А.М. Компаниец

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Cryopreservation of Platelet Concentrates Under Moderately Low Temperatures ($-70...-80^{\circ}\text{C}$) With Preservatives Based on Combination of Cryoprotectants

A.V. Korobkova, A.M. Kompaniets

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

При разработке консервантов для замораживания тромбоцитов в условиях низких температур ($-150...-196^{\circ}\text{C}$) экспериментально установлен наиболее высокий уровень криозащитного действия растворов, содержащих комбинации диметилацетамида (ДМАц) с 1,2-пропандиолом (1,2-ПД), глицерином и оксиэтилированным глицерином со степенью полимеризации $n = 5$ (ОЭГ _{$n=5$}).

Целью настоящей работы явилось изучение эффективности разработанных консервантов при криоконсервировании концентратов тромбоцитов в морозильной камере ($-70...-80^{\circ}\text{C}$).

Концентрат тромбоцитов (КТ), выделенный из отдельных доз донорской крови методом из лейкоцитарного слоя, соединяли в соотношении 1:1 с криозащитными средами, содержащими 10%-ю суммарную концентрацию ДМАц/ОЭГ _{$n=5$} ; ДМАц/глицерин или ДМАц/1,2-ПД в плазме, а также с 10%-м ДМСО и раствор «Тромбокриодмац» (контроль). Время экспозиции составляло 30 мин. Суспензию тромбоцитов ((110 ± 10) мл) в полимерных контейнерах вместимостью 300 мл помещали в металлические криокассеты и охлаждали по следующему режимам: непосредственно в морозильной камере ($-70...-80^{\circ}\text{C}$) (режим 1) или охлаждение в парах азота при $-188...-193^{\circ}\text{C}$ до $-65...-70^{\circ}\text{C}$ с последующим хранением в камере (режим 2). Образцы отогревали на водяной бане (37°C). Сохранность КТ оценивали после удаления криопротекторов по следующим показателям: агрегация, индуцированная АТФ (200×10^{-6} и 50×10^{-6} М) и коллагеном ($6,7 \times 10^{-3}$ М); реакция на гипотонический шок, ретракция сгустка; количество тромбоцитов в КТ.

Наиболее высокие показатели сохранности функциональных свойств криоконсервированных КТ по тестам *in vitro* установлены для криоконсерванта ДМАц/ОЭГ _{$n=5$} при условии замораживания в парах азота с последующим хранением в морозильной камере (режим 2). Для замораживания и хранения при $-70...-80^{\circ}\text{C}$ (режим 1) наилучшие показатели получены для криоконсерванта ДМАц/1,2-ПД, криозащитная эффективность остальных консервантов распределилась следующим образом (в порядке убывания): ДМАц/ОЭГ _{$n=5$} ; ДМСО; «Тромбокриодмац», ДМАц/глицерин.

Показана возможность повышения эффективности криоконсервирования стандартных доз КТ донорской крови человека при умеренно низких температурах за счет использования комбинированных криоконсервантов, а также более высоких скоростей охлаждения тромбоцитов до температуры -70°C .

When developing the preservatives for freezing platelets under low temperatures ($-150...-196^{\circ}\text{C}$) there was experimentally established the highest level of cryoprotective effect of the solutions, containing combinations of dimethylacetamide (DMAc) with 1,2-propanediol (1,2-PD), glycerol and oxyethylated glycerol with polymerization degree $n = 5$ (OEG _{$n=5$}).

This research aim was to study the efficiency of developed preservatives during platelet concentrate cryopreservation in freezing chamber ($-70...-80^{\circ}\text{C}$).

Platelet concentrate (PC), derived from individual samples of donor blood by the method from buffy coat was combined in 1:1 ratio with cryoprotective media comprising 10% total concentration of DMAc/OEG _{$n=5$} ; DMAc/glycerol or DMAc/1,2-PD in plasma, as well as with 10% DMSO and 'Trombokriodmats' solution (control). The exposure time was 30 min. Platelet suspension ((110 ± 10) ml) in 300 ml polymeric containers was placed into metal cryoholders and cooled by the following regimens: directly in freezing chamber ($-70...-80^{\circ}\text{C}$) (Regimen 1) or cooling in nitrogen vapours at $-188...-193^{\circ}\text{C}$ to $-65...-70^{\circ}\text{C}$ with following storage in a chamber (Regimen 2). Samples were thawed in a water bath (37°C). PC integrity was assessed after cryoprotectants removal according to the following indices: aggregation, induced by ATP (200×10^{-6} and 50×10^{-6} M) and collagen ($6,7 \times 10^{-3}$ M); response to hypotonic shock, clot retraction; number of platelets in PC.

The highest indices of preserved functional properties of cryopreserved PC according to *in vitro* tests were established for cryopreservative DMAc/OEG _{$n=5$} for freezing in nitrogen vapours and following storage in freezing chamber (Regimen 2). For the regimen of freezing and storage at $-70...-80^{\circ}\text{C}$ (Regimen 1) the best indices were obtained for DMAc/1,2-PD, a cryoprotective efficiency of other preservatives was arranged as follows (in descending order): DMAc/OEG _{$n=5$} ; DMSO; 'Trombokriodmats', DMAc/glycerol.

Thus, the study showed the possibility to increase the cryopreservation efficiency for the standard dose of human donor blood PC under moderately low temperatures due to applying combined cryopreservatives, as well as higher cooling rates for platelet cooling down to -70°C .

