

Криоконсервирование клеток костного мозга собак под защитой проникающих и непроникающих криопротекторов

Л.А. ВОДОПЬЯНОВА, Г.Ф. ЖЕГУНОВ

Харьковская государственная зооветеринарная академия

Cryopreservation of Canine Bone Marrow Cells Under Protection of Penetrating and Non-penetrating Cryoprotectants

L.A. VODOPYANOVA, G. F. ZHEGUNOV

Kharkov State Zooveterinary Academy

Цель работы – исследование сохранности клеток костного мозга собак после криоконсервирования без применения криопротекторов и при использовании растворов ДМСО 5, 7, 10%; ПЭО-400 10, 15, 20% и глицерина 10, 20, 30%. Перечисленные криопротекторы не оказывали существенного влияния на сохранность клеток костного мозга собак во время экспозиции перед замораживанием. Показатели сохранности клеток существенно не отличались от данных, полученных при использовании свежеполученной суспензии клеток.

Сохранность клеток в присутствии ДМСО 7% составляла до 83%. Установлено, что ПЭО-400 и глицерин менее эффективны. В присутствии глицерина сохраняется только 59% клеток костного мозга, а ПЭО – до 74%. Наименьший показатель сохранности клеток КМ 45% получен в пробах, замороженных под защитой 30%-го раствора глицерина.

Один из критериев жизнеспособности клетки – состояние ее энергетической системы. Инкубация клеток костного мозга собак с растворами криопротекторов снижает содержание гликогена в клетках. Причем, чем выше концентрация и длительнее инкубация, тем ниже средний гистохимический коэффициент (СГК).

После замораживания-отогрева содержание гликогена в клетках значительно снижается. В меньшей степени этот процесс выражен в недифференцированных бластах и миелобластах.

Наиболее эффективным из примененных криопротекторов оказался ДМСО в концентрации 7%, но показатели СГК в клетках, криоконсервированных под защитой растворов ДМСО и ПЭО-400, отличались незначительно.

Глицерин как криопротектор во всех использованных концентрациях был малоэффективен.

Дальнейшее изучение содержания энергетического материала в элементах гемопоэза позволит получить необходимые данные для понимания метаболических особенностей кроветворных клеток при действии криопротекторов и низких температур. На этой основе возможна разработка эффективного способа долгосрочного хранения и использования костного мозга.

The research aim is to study the survival rate for the cells of canine bone marrow after cryopreservation with no use of cryoprotectants and when using DMSO solutions of 5, 7, 10%; PEO-400 10, 15, 20% and glycerol 10, 20, 30%. Listed cryoprotectants did not render considerable effect on the integrity of canine bone marrow cells during exposure prior to freezing. The indices of cells integrity did not significantly differ from the data obtained when fresh cell suspension was used.

Cell integrity in 7% DMSO presence made up to 83%. It has been found that PEO-400 and glycerol are less effective. In glycerol presence only 59% bone marrow cells are preserved and PEO does up to 74%. The lowest index of bone marrow integrity 45% was obtained in the samples frozen with 30% glycerol solution.

One of the criteria of cell viability is the state of its energetic system. Incubation of the cells of canine bone marrow with the solutions of cryoprotectants decreases the content of glycogen in the cells.

Moreover the higher concentration and longer incubation, the lower mean histochemical coefficient (MHC).

After freeze-thawing the content of glycogen in the cells significantly reduces. In non-differentiated blasts and myeloblasts this process is less manifested.

DMSO under concentration of 7% occurred to be the most efficient, but the indices of MHC in the cells cryopreserved under protection of DMSO and PEO-400 differed insignificantly.

Glycerol as cryoprotectants under all studied concentrations was inefficient.

Further investigation of the content of energetic material in hemopoiesis elements enables to obtain needed data for understanding metabolic peculiarities of hemopoietic cells under the effect cryoprotectants and low temperatures. On this base the development of effective way of long-term storage and use of bone marrow is possible.