## Влияние снижения температуры и вида криопротектора на кристаллогенные свойства плазмы донорской крови

A.A.Kостяев $^1$ , A.K.Mартусевич $^2$ 

¹ФГБУН "Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови ФМБА России"

<sup>2</sup>Нижегородский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии

## Effect of Lowering the Temperature and Type of Cryoprotectant on Crystallogenic Properties of Donor's Blood Plasma

A.A.Kostyaev<sup>1</sup>, A.K.Martusevich<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Kirov Institute of Hematology and Blood Transfusion, Kirov, Russia <sup>2</sup>Nizhny Novgorod Research Institute of Traumatology and Orthopedics, Nizhny Novgorod, Russia

Целью работы являлось исследование особенностей кристаллогенных свойств плазмы крови с учетом уровня гипотермии и вида внесенного in vitro в кровь водного раствора криопротектора.

Кристаллогенные свойства плазмы из донорской крови, в которую были внесены растворы криопротекторов: 1 - 5% ДМСО; 2 - 5% ДМАЦ + 5% глюкозы (раствор «Тромбокриодмац»); 3 - 5% глицерина + 4% глюкозы, оценивали in vitro до и после воздействия отрицательных температур. Смеси замораживали до -80 или -196°C с последующим отогревом на водяной бане при 38°C. Инкубирование крови проводили в термостате при 37°C в течение 4 и 24 ч. Кристаллизацию сформированных биосистем исследовали путем качественного и количественного анализа дегидратированных без термической стимуляции капель плазмы с использованием комплекса визуаметрических параметров [Мартусевич А.К., Гришина А.А., 2009].

Установлено, что по степени выявленных признаков деструкции биосистемы с криопротекторами, выдержанными при  $22 \pm 2$ °C, следуют: 5% ДМСО > 5% ДМАЦ + 5% глюкозы > 5% глицерина + 4% глюкозы.

В серии опытов с использованием «Тромбокриодмац», подвергнутого замораживанию до -196°C, кристаллогенные свойства плазмы развивались в более благоприятном направлении по сравнению с биосубстратом, который содержал тот же гемоконсервант, но замороженный до -80°C. Данная тенденция прослеживалась через 4 и 24 ч инкубации крови в термостате.

Добавка 5%-го раствора ДМСО во всех биопробах демонстрировала большую сохранность физиологической картины структуризации плазмы, чем ДМАЦ + 5% глюкозы или 5% глицерина + 4% глюкозы. Внесение в кровь криопротекторов, подвергнутых замораживанию до -80°C, способствовало более быстрому развитию процессов структуризации в плазме, чем при внесении образцов тех же растворов, замороженных до -196°C. Сохранность кристаллогенных свойств сформированной системы «плазма крови – криопротектор» была выше при использовании препаратов после замораживания до-196°С.

Таким образом, среди испытанных криопротекторов наиболее физиологичным по кристаллогенным свойствам системы «плазма крови – криопротектор» является 5% раствор ДМСО, а наиболее предпочтительным режим замораживания при -196°C.

The research aim was to study the crystallogenic properties of plasma according to hypothermia level and type of aqueous cryoprotectant, introduced into blood in vitro.

Crystallogenic properties of plasma from donor's blood, wherein cryoprotective solutions were introduced: 1-5%DMSO, and 2-5% DMAC + 5% glucose (Thrombocryodmac solution), and 3 - 5% glycerol + 4% glucose were evaluated *in vitro* prior to and after the exposure to freezing temperatures. The mixture was frozen at -80 and -196°C, followed by warming on water bath at 38°C. Blood was incubated in an incubator at 37°C for 4 and 24 hrs. Crystallization of the formed biosystems was investigated by qualitative and quantitative analysis of dehydrated without thermal stimulation drops of plasma using the complex of visuametry methods [Martusevich A.K., Grishin A.A., 2009].

It has been found that according the destructive effect on biosystem with cryoprotectants at  $22 \pm 2$ °C the studied solutions made the following row 5% DMSO > 5% DMAC + 5% glucose > 5% glycerol + 4% glucose.

In the series of experiments with Thrombocryodmac subjected to freezing down to -196°C, crystallogenic plasma properties developed in more favorable direction if compared to biological substrate, which contained the same hemopreservative but frozen down to -80°C. This tendency was observed after 4 and 24 hrs of blood incubation in the thermostat.

The addition of 5% DMSO solution in all the bioassays showed higher preservation of physiological picture of plasma structuring than DMAC + 5% glucose or 5% glycerol + 4% glucose. Introduction in to the blood of cryoprotectants subjected to freezing down to -80°C, promoted the development of more rapid structuring processes in plasma than when introducing the samples of the same solutions, frozen down to -196°C. Preservation of crystallogenic properties of the 'blood plasma - cryoprotectant' system was higher using the solutions after freezing down to −196 ° C.

Thus, among the tested cryoprotectants the most physiological from the point of view of crystallogenic properties of the 'blood plasma – cryoprotectant' system was 5% DMSO solution, and the most preferred freezing protocol was at -196°C.



