

Подход к оптимизации состава криозащитной среды на основе непроникающего криопротектора – оксиэтилированного глицерина для замораживания эритроцитов человека

Ю.С.Есипова, А.М.Компаниец

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Approach to Optimization of Composition of Cryoprotective Medium Based on Oxyethylated Glycerol Non-Penetrating Cryoprotectant for Freezing of Human Erythrocytes

YU.S. ESIPOVA, A.M. KOMPANIETS

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

Цель исследования – оптимизация состава криозащитной среды для замораживания эритроцитов человека, содержащей оксиэтилированный глицерин (ОЭГ) в качестве криопротектора, с помощью метода полного трехфакторного эксперимента. Оценивался уровень сохранности эритроцитов человека после замораживания-отогрева в зависимости от концентрации компонентов, входящих в состав криозащитных растворов – ОЭГ, сахарозы, хлористого натрия. В качестве параметра оптимизации (сохранность эритроцитов после замораживания-отогрева) выбран показатель их осмотической хрупкости в 0,9%-м растворе хлористого натрия (Y_1). Независимыми факторами были выбраны: X_1 – концентрация ОЭГ; X_2 – сахарозы; X_3 – хлористого натрия. Полученная математическая модель адекватно описывает изучаемый процесс при доверительной вероятности 95%. Расчет данных эксперимента позволил получить адекватное уравнение регрессии со значимыми коэффициентами:

$$Y_1 = 17,6 - 1,5X_1 + 0,3X_2 + 0,76X_1X_2 - 0,4X_1X_3 + 0,5X_1X_2X_3.$$

Анализ полученного уравнения регрессии показал, что увеличение сохранности эритроцитов по параметру оптимизации Y_1 может быть получено при снижении концентрации криопротектора и увеличении концентрации сахарозы в криозащитной среде. Отсутствие в уравнении фактора X_3 свидетельствует о его незначительном влиянии в исследуемом диапазоне изменений на параметр оптимизации.

Таким образом, данный подход позволил исследовать эффективность криозащитных сред в зависимости от концентрации компонентов и определить интервалы оптимально сочетающихся концентраций веществ.

The research aim was optimization of cryoprotective medium composition for human erythrocytes freezing, containing oxyethylated glycerol (OEG) as cryoprotectant by means of a complete three-factor experiment. Survival level of human erythrocytes after freeze-thawing was estimated depending on concentration components, comprised of OEG, sucrose, NaCl cryoprotective solutions. As optimization parameter (erythrocytes survival after freeze-thawing) the index of their osmotic fragility in 0.9% NaCl solution (Y_1) was selected. The independent factors such as OEG concentration X_1 , sucrose X_2 , NaCl X_3 were selected. Obtained mathematical model equally describes the studied process with 95% confidence coefficient. The experimental data calculation enabled to obtain the regression equation with significant coefficients,

$$Y_1 = 17,6 - 1,5X_1 + 0,3X_2 + 0,76X_1X_2 - 0,4X_1X_3 + 0,5X_1X_2X_3.$$

Analysis of obtained regression equation showed that the increasing of erythrocyte survival for Y_1 optimization parameter could be obtained at the reduction of cryoprotectant concentration and the increasing of sucrose one in cryoprotective medium. Absence of X_3 factor in the equation testifies to its insignificant effect in the researched range of changes on optimization parameter.

Thus, this approach enabled to study the efficiency of cryoprotective media depending on concentration of components and determine intervals of optimally combining concentrations of substances.