



СОЮЗ СОВЕТСКИХ
СОЦИАЛИСТИЧЕСКИХ
РЕСПУБЛИК

ДЛЯ СЛУЖЕБНОГО ПОЛЬЗОВАНИЯ ЭКЗ № 000191

(19) **SU** (11) **1481926** **A1**

(51)4 A 01 N 1/02

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ
ПО ИЗОБРЕТЕНИЯМ И ОТКРЫТИЯМ
ПРИ ГНТ СССР

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ

(21) 4301293/28-14, 4301294/14

(22) 26.08.87

(71) Институт проблем криобиологии
и криомедицины АН УССР и Казанский
химико-технологический институт

(72) А.А.Цуцаева, А.Н.Гольцев,
Т.Г.Дубрава, Ю.В.Перухин, Ю.В.Коно-
нов, В.П.Архиреев и В.Ф.Иванисенко

(53) 615.475(088.8)

(56) Цуцаева А.А. Криоконсервирова-
ние клеточных суспензий. Киев, Нау-
кова думка, 1983, с. 122-123.

(54) СРЕДА ДЛЯ КРИОКОНСЕРВИРОВАНИЯ
КОСТНОГО МОЗГА

(57) Изобретение относится к медици-
не, в частности к криоконсервирова-
нию костного мозга. С целью повыше-
ния сохранности кроветворных клеток
костного мозга предложена среда, со-
держащая (мас.%) в качестве
криопротектора полиэтиленоксид-400 -
7,0-9,0; антиоксидант-378 - 0,5 -
2,0; гемодез или реополиглюкин - ос-
тальное. Среда обеспечивает сохран-
ность кроветворных клеток костного
мозга 74,7-76,8%.

Изобретение относится к медицине
и может быть использовано для низко-
температурного консервирования крове-
творных клеток костного мозга с це-
лью их последующей трансплантации.

Цель изобретения - повышение сох-
ранности кроветворных клеток костно-
го мозга.

Пример 1. Костный мозг вымы-
вали из бедренных костей гемодезом,
ресуспендировали и этим же раствором
доводили до концентрации $1-2 \cdot 10^7$ кл/мл.
В суспензию вносили антиоксидант-378
(АО-378) в концентрации 1% и экспо-
нировали при комнатной температуре
5 мин, после чего звели криопротектор
полиэтиленоксид-400 (ПЭО-400) в кон-
центрации 7% и опять экспонировали
при 4°C в течение 5 мин. Ампулы с
суспензией замораживали от 0 до
-20°C со скоростью 1°/мин, затем по-
гружали в жидкий азот (-196°C). Раз-
мораживали на водяной бане при 40°C.
19-89

После оттаивания суспензию разбавля-
ли раствором гемодеза до concentra-
ции $5 \cdot 10^5$ кл/мл. Количество стволо-
вых кроветворных клеток ($КОЭ_c$) в су-
спензии криоконсервированного и на-
тивного (контроль) костного мозга
определяли методом Тила и Мак Калло-
ха. Сохранность $КОЭ_c$ относительно
контроля составила 76,8%.

Количество клеток-предшественни-
ков грануломоноцитопоза ($КОЭ_g$) в
суспензиях нативного и криоконсер-
вированного костного мозга опреде-
ляли методом культивирования в ага-
ре, сохранность $КОЭ_g$ относительно
контроля составила 74,7%.

При содержании ПЭО-400 9,0% сох-
ранность $КОЭ_c$ составляла 74,9%,
а $КОЭ_g$ - 70,6%.

При содержании АО-378 0,5% сохран-
ность $КОЭ_c$ составляет 66,3%, а $КОЭ_g$ -
67,2%, при содержании АО-378 2,0%

(19) **SU** (11) **1481926** **A1**

сохранность КОЕ_с составляет 67,7%,
а КОЕ_к - 65,4%.

Пример 2. Костный мозг вымывали из бедренных костей реополн-
глюкином, ресуспендировали в нем же
доводили до концентрации 1-2 $\times 10^6$ кл/мл. В суспензию вводили
антиоксидант-378 (АО-378) в концент-
рации 1% и экспонировали при комнат-
ной температуре в течение 5 мин, после
чего добавляли по каплям криопротектор ПЗО-400 до 7%-ной концентра-
ции и экспонировали при 4°C в течение
5 мин. Ампулы с суспензией заморажи-
вали от 0 до -20°C со скоростью
1°C/мин, затем погружали в жидкий
азот (-196°C). Размораживали на во-
дяной бане при 40°C. После оттаива-
ния суспензию разбавляли реополн-
глюкином до концентрации 5 $\cdot 10^5$ кл/мл
и вводили по 1 $\cdot 10^6$ в 0,2 мл среды
мышам-реципиентам. Содержание ство-
ловых кроветворных клеток (КОЕ_с)
в суспензии определяли методом Тила
и Мак Каллоха. Контролем служило
количество колоний, сформированных
пацинтым КОЕ_с.

При содержании ПЗО-400 9,0% сох-
ранность КОЕ_с составляет 77,0%, а
КОЕ_к - 72,8%.

При содержании АО-378 0,5 сохрани-
мость КОЕ_с составляет 65,9%, а
КОЕ_к - 63,3%, при содержании АО-378
2,0% сохранность КОЕ_с составляет
70,7%, а КОЕ_к - 61,7%.

Преимуществом предлагаемой среды
является то, что она обеспечивает
более высокий процент - на 15-16%
сохранности кроветворных клеток
костного мозга с улучшением показа-
телей гемодинамики у больного, ко-
торому пересажен костный мозг, крио-
консервирование которого проводят
в предлагаемой среде.

Формула изобретения

Среда для криоконсервирования
костного мозга, включающая поли-
этиленоксид-400, отличаю-
щаяся тем, что, с целью повыше-
ния сохранности кроветворных клеток
костного мозга, она дополнительно
содержит антиоксидант-378, гемодез
или реополн-глюкин при следующем
соотношении компонентов, мас. %:

| | |
|--------------------------------|------------|
| Полиэтиленоксид-400 | 7,0-9,0 |
| Антиоксидант-378 | 0,5-2,0 |
| Гемодез или реополн- глюкин | Остальное. |

Составитель В.Фролова

Редактор Н. Козлова

Техред М.Дидык

Корректор С.Шекмар

Заказ 819/ДСИ

Тираж 344

Подлинное

ВНИИИ Государственного комитета по изобретениям и открытиям при ГКНТ СССР
113035, Москва, Ж-35, Раушская наб., д. 4/5

Производственно-издательский комбинат "Патент", г.Ужгород, ул. Гагарина, 101