

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА СИСТЕМНЫХ ЭФФЕКТОВ НЕКОТОРЫХ КРИОПРОТЕКТОРОВ

А. К. Мартусевич^{1,2,*}, А. А. Костяев³, Л. К. Ковалева⁴

¹Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Приволжский медицинский исследовательский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, пл. Минина, д. 10/1, г. Нижний Новгород, 603000, Россия

²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кировский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, ул. К. Маркса, д. 112, Киров, 610998, Россия

³Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства», ул. Красноармейская, д. 72, г. Киров, 610021, Россия

⁴Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, ул. им. Митрофана Седина, д. 4, г. Краснодар, 350063, Россия

Аннотация

Цель: экспериментальная оценка влияния некоторых наиболее распространенных криопротекторов на кристаллогенные свойства сыворотки крови мышей при внутрибрюшинном введении.

Материалы и методы. Эксперимент выполнен на 40 половозрелых белых линейных мышах, разделенных на 4 равные по численности группы. Животные контрольной (первой) группы получали однократную внутрибрюшинную инъекцию физиологического раствора (0,5 мл агента/животное), животные второй—четвертой групп — 3% раствор глицерина, диметилсульфоксид и тромбокриодмац (N, N-диметилацетамид) соответственно в аналогичном количестве.

Результаты. Показано, что при однократном внутрибрюшинном введении распространенные криопротекторы (растворы глицерина, диметилсульфоксида и тромбокриодмац) оказывают системное влияние на организм мышей, проявляющееся в изменении кристаллогенных свойств сыворотки крови. 3% раствор глицерина, диметилсульфоксид и тромбокриодмац разнонаправленно влияют на кристаллогенные свойства сыворотки крови мышей, а наиболее физиологичное действие оказывает диметилсульфоксид.

Выводы. Проведенные исследования свидетельствуют о наличии у криопротекторов системного действия. Оно было верифицировано по сдвигам кристаллогенных свойств сыворотки крови мышей, которым внутрибрюшинно вводили данные криопротекторы.

Ключевые слова: криоконсерванты, глицерин, диметилсульфоксид, системное действие, кристаллогенные свойства, сыворотка крови

Для цитирования: Мартусевич А.К., Костяев А.А., Ковалева Л.К. Экспериментальная оценка системных эффектов некоторых криопротекторов. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2019; 26(6): 117–126. <https://doi.org/10.25207/1608-6228-2019-26-6-117-126>

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 10.10.2019

Принята после доработки 11.11.2019

Опубликована 20.12.2019

EXPERIMENTAL EVALUATION OF CRYOPROTECTOR SYSTEMIC EFFECTS

Andrei K. Martusevich^{1,2,*}, Andrei A. Kostyaev³, Lida K. Kovaleva⁴

¹Privolzhsky Research Medical University,
10/1 Minin sq., Nizhny Novgorod, 603000, Russia

²Kirov State Medical University,
112 K. Marx str., Kirov, 610998, Russia

³Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion
under the Federal Medical Biological Agency,
72 Krasnoarmeyskaya str., Kirov, 610021, Russia

⁴Kuban State Medical University,
4 Mitrofana Sedina str., Krasnodar, 350063, Russia

Abstract

Aim. Experimental evaluation of the effect of some cryoprotectors on crystallogenic properties of mice blood serum at intraperitoneal administration.

Material and methods. The experiment was performed on 40 adult white line mice divided into 4 equal groups. Animals from the control (first) group received a single intraperitoneal injection of saline (0.5 ml agent/animal), animals of the second-fourth groups — 3 % solution of glycerin, dimethyl sulphoxide and trombocryodmac (N, N-dimethylacetamide), respectively, in the same quantity.

Results. It is shown that single intraperitoneal introduction of cryoprotectants (solutions of glycerin, dimethyl sulphoxide and trombocryodmac) has a systemic effect on the mouse organism, which is manifested through the changes of crystallogenic properties of blood serum. 3% solution of glycerin, dimethyl sulphoxide and trombocryodmac have multidirectional influence on crystallogenic properties of mouse blood serum. The most pronounced physiological effect was established for dimethyl sulphoxide.

Conclusion. Our studies demonstrate the presence of systemic effects in cryopreservative substances. It was confirmed by the changes of crystallogenic properties of mice blood serum under intraperitoneal administration of cryopreservatives.

Keywords: cryoprotectors, glycerin, dimethyl sulphoxide, systemic effect, crystallogenic properties, blood serum

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

For citation: Martusevich A.K., Kostyaev A.A., Kovaleva L.K. Experimental evaluation of cryoprotector systemic effects. *Kubanskii Nauchnyi Meditsinskii Vestnik*. 2019; 26(6): 117–126. (In Russ., English abstract). <https://doi.org/10.25207/1608-6228-2019-26-6-117-126>

Submitted 10.10.2019

Revised 11.11.2019

Published 20.12.2019

Введение

Максимально длительное сохранение крови как наиболее ценного биологического ресурса является одной из основных задач современной гематологии и трансфузиологии [1]. При этом наиболее значимым критерием адекватности консервации служит сохранность ее физиологических характеристик и физико-химических свойств [1–4]. Распространенным вариантом методики длительного хранения крови является ее нахождение в условиях низких (околонулевых) и очень низких (-80°C ; -196°C и др.) температур, однако для обеспечения сохранности биообъекта при замораживании необходимо введение в него соединений с криопротекторными свойствами [2, 3, 5]. В многочисленных отечественных и зарубежных исследованиях показано, что они оказывают неодинаковое действие на параметры плазмы и форменные элементы крови [2, 4, 6–8]. Это позволяет говорить о возможности индивидуализации подбора криоконсервирующих агентов на основании предварительного анализа биологической жидкости реципиента [2, 8].

С другой стороны, в профильной литературе остается абсолютно нераскрытым вопрос о наличии и характере системного влияния криопротекторов, попадающих с переливаемой кровью или ее компонентами в организм реципиента. В связи с этим **целью данного исследования** послужила экспериментальная оценка влияния некоторых наиболее распространенных криопротекторов на кристаллогенные свойства сыворотки крови мышей при внутрибрюшинном введении.

Материалы и методы

Эксперименты выполнены на 40 половозрелых белых линейных мышах, разделенных на 4 равных по численности группы. Мыши всех групп получали однократные внутрибрюшинные инъекции (0,5 мл агента/животное). Животные контрольной (первой) группы получали инъекцию физиологического раствора, животные второй—четвертой групп — 3% раствор глицерина, диметилсульфоксид и тромбокриодмац (N, N-диметилацета-

мид) соответственно. Структурные формулы соединений представлены на рисунке 1.

У животных основных групп забирали образцы крови в процессе декапитации через 30 минут после проведения инъекции. Для получения сыворотки крови производили центрифугирование всех образцов при 1500 об./мин в течение 15 мин. Затем сыворотку крови в объеме 100 мкл наносили на предметное стекло и приготавливали микропрепараты высушенной биологической жидкости в соответствии с методом кристаллоскопии, позволяющим оценивать собственную кристаллогенную активность биосреды [8–11].

Высушенные микропрепараты оценивали морфологически (путем описания особенностей структуризации высушенного образца биологической жидкости) и визуаметрически (с применением собственной системы параметров) [9, 11]. Для кристаллоскопического теста основными визуаметрическими показателями, оцениваемыми в балльной шкале, служили кристаллизуемость (отражает количественную сторону кристаллизации — плотность кристаллических элементов в фации), индекс структурности (характеризует сложность структуропостроения), степень деструкции фации (представляет собой индикатор качественной стороны процесса — правильности образования структур) и выраженность краевой зоны микропрепарата.

При критериальном анализе тезиграмм вместо кристаллизуемости использовали тезиграфический индекс (указывает на направленность и выраженность иницирующего эффекта биологической жидкости в отношении базисного вещества), а вместо индекса структурности — кристалличность (аналогична первому по своему значению) с сохранением остальных критериев. В качестве базисного вещества в тезиграфическом тесте применяли 0,9% раствор хлорида натрия.

Полученные данные были обработаны статистически в программном пакете Statistica 10.0 for Windows. Нормальность распределения значений параметров оценивали с использованием критерия Шапиро — Уилка. С учетом характера

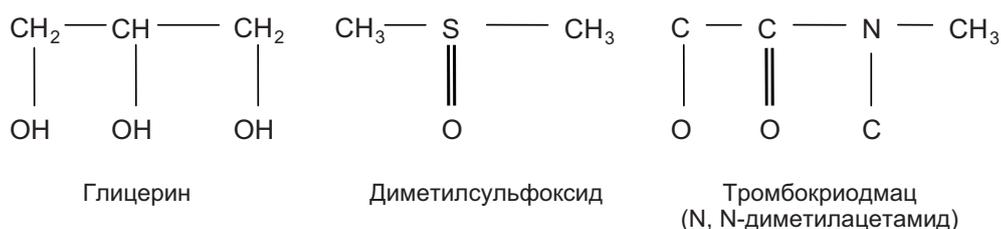


Рис. 1. Структурные формулы изучаемых криоконсервантов.
Fig. 1. Structural formulas of the studied cryopreservatives.

распределения признака для оценки статистической значимости различий применяли *H*-критерий Краскела — Уоллеса.

Результаты и обсуждение

Уже на основании применения некритериального (морфологического) подхода установлено, что все изучаемые соединения при внутрибрюшинном введении обладают способностью модифицировать кристаллогенные свойства сыворотки крови мышей по сравнению с введением физиологического раствора (рис. 2). Следует подчеркнуть, что данная тенденция реализуется как в отношении собственной, так и инициированной кристаллизации биосреды.

Оценка результатов кристаллоскопии продемонстрировала, что наиболее выраженное смещение характера структуризации биологической жидкости животных, указывающее на сдвиги кристаллостаза крови, имеет место при введении 3% раствора глицерина. В этом случае наблюдали появление значительных признаков деструкции фации с формированием многочисленных «растрескиваний» образца, распространяющихся по всей площади последнего, и, следовательно, отдельностей неправильной формы.

Кроме того, в микропрепарате присутствовали единичные кристаллические элементы, также имевшие выраженные признаки разрушения. Несмотря на это, краевая зона фации была сопоставима по диаметру с характерной для мышей контрольной группы, получивших инъекцию физиологического раствора.

Более приближенной к физиологическому «паттерну» кристаллизации была морфоструктура образцов сыворотки крови мышей, которым внутрибрюшинно вводили тромбокриодмац (ТКД). В них обнаруживали правильное формирование отдельных зон, причем в краевой зоне отмечали образование «разломов» умеренной длины с относительно небольшой степенью хаотизации по направлению. Диаметр краевой зоны был сопоставим с обнаруженным у животных контрольной группы и мышей, получивших инъекцию 3% раствора глицерина. Анализ морфологии центральной зоны микропрепаратов сыворотки крови мышей при внутрибрюшинном действии ТКД позволил установить, что в этом случае имеет место формирование преимущественно одиночно-кристаллических элементов с умеренной выраженностью признаков деструкции.

Максимально оптимальное структуропостроение фаций биологической жидкости регистрировали у животных, которым системно вводили диметилсульфоксид (ДМСО).

При применении данного соединения в кристаллограммах сыворотки крови наблюдали формирование равномерно распределенных «разломов» идентичной длины и направленности, умеренную тенденцию к активации кристаллизации в центральной зоне с минимальными признаками разрушения структурных элементов образца. Единственным выявленным в этом случае отклонением следует признать небольшое уменьшение размера краевой зоны.

Оценка характера сокристаллизации с базисным веществом (изотонический раствор хлорида натрия) сыворотки крови мышей выделенных групп позволила в целом подтвердить тенденции, указанные выше для кристаллоскопического теста. В качестве дифференцирующей особенности в тезиграфии следует выделить основную морфотип, формирующий центральную зону микропрепарата. Так, если в фации мышей контрольной группы подавляющее большинство кристаллических структур — одиночные и мелкие дендритные элементы, то при введении 3% раствора глицерина центральную зону полностью покрывают структуры типа «хвощ» и «папоротник» с низким уровнем деструкции, а при системном применении ТКД — единичные мелкие дендриты с относительно выраженными признаками разрушения.

В отношении краевой зоны максимальную физиологичность по диаметру и особенностям строения демонстрирует введение ДМСО (достаточно широкая зона, содержащая регулярные разломы оптимальной глубины), тогда как применение ТКД и особенно глицерина существенно нарушает эти закономерности. В частности, при использовании 3% раствора глицерина наблюдали уменьшение размеров краевой зоны в сочетании с практически полным исчезновением разломов.

Согласно принятому алгоритму оценки результатов собственной и инициированной кристаллизации образцов сыворотки крови мышей на втором этапе исследования проводили их критериальное описание (рис. 3 и 4). Выявлено, что в кристаллоскопическом тесте все изученные соединения способствовали повышению индекса структурности и кристаллизруемости, но этот эффект существенно варьировал по выраженности (рис. 3). Наибольшим стимулирующим действием на кристаллогенные свойства биосреды обладал 3% раствор глицерина, что в первую очередь реализовывалось за счет существенного усложнения формируемых структурных элементов фации. Так, при внутрибрюшинном введении данного соединения наблюдали рост индекса структурности в 2,2 раза, тогда как при исполь-

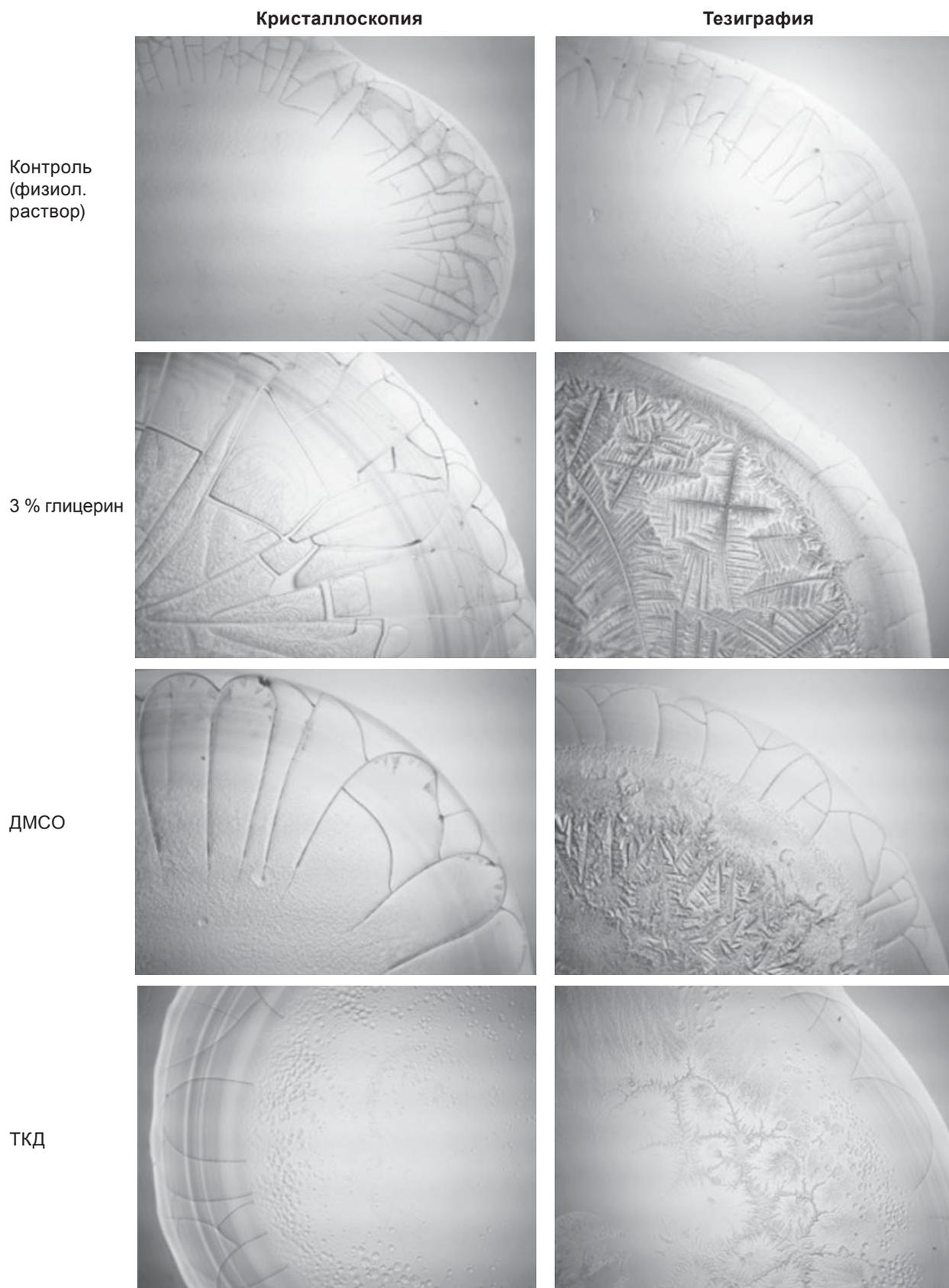


Рис. 2. Кристаллоскопическая картина сыворотки крови мышей после внутрибрюшинного введения криопротекторов (ДМСО — диметилсульфоксид, ТКД — тромбокриодмац).
Fig. 2. Crystalloscopic picture of the blood serum of mice after intraperitoneal administration of cryoprotectants (ДМСО — dimethyl sulphoxide, ТКД — trombocryodmac).

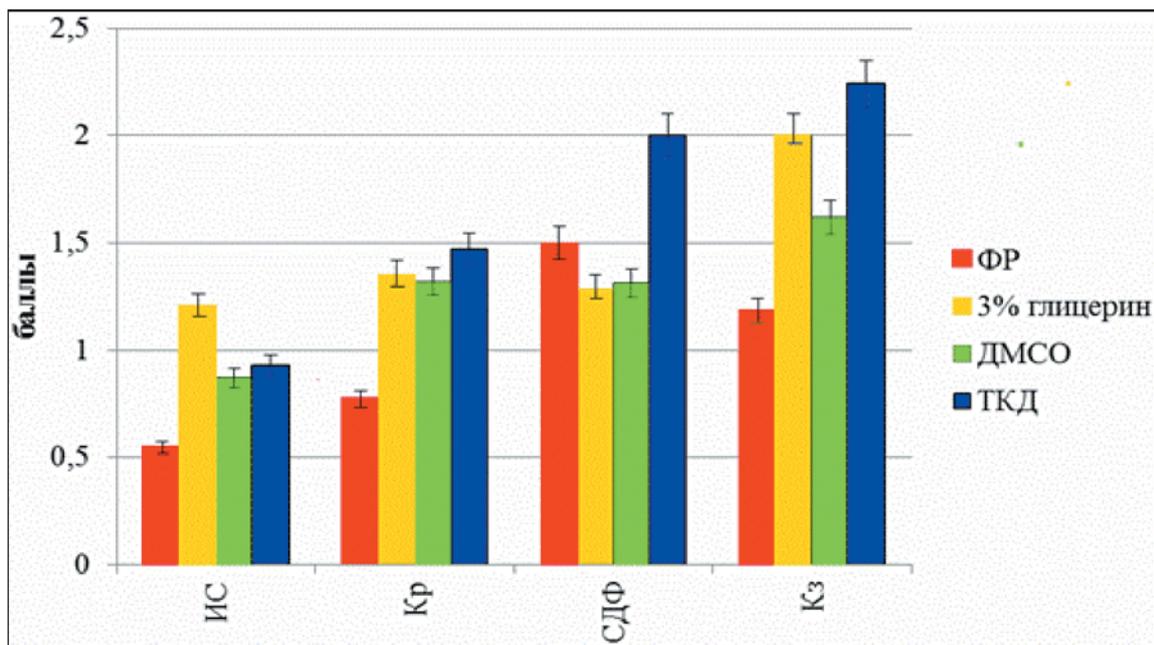


Рис. 3. Результат параметрической оценки кристаллоскопических фаций сыворотки крови мышей после введения соединений-криопротекторов (Кр — кристаллизуемость, ИС — индекс структурности, СДФ — степень деструкции фации, Кз — выраженность краевой зоны фации, ФР — физиологический раствор, ДМСО — диметилсульфоксид, ТКД — тромбокриодмац).

Fig. 3. The result of a parametric assessment of the crystalloscopic facies of the blood serum of mice after administration of cryoprotectant compounds (Кр — crystallizability, ИС — structural index, СДФ — degree of degradation of facies, Кз — severity of the marginal zone of facies, ФР — physiological saline, ДМСО — dimethyl sulphoxide, ТКД — trombocryodmac).

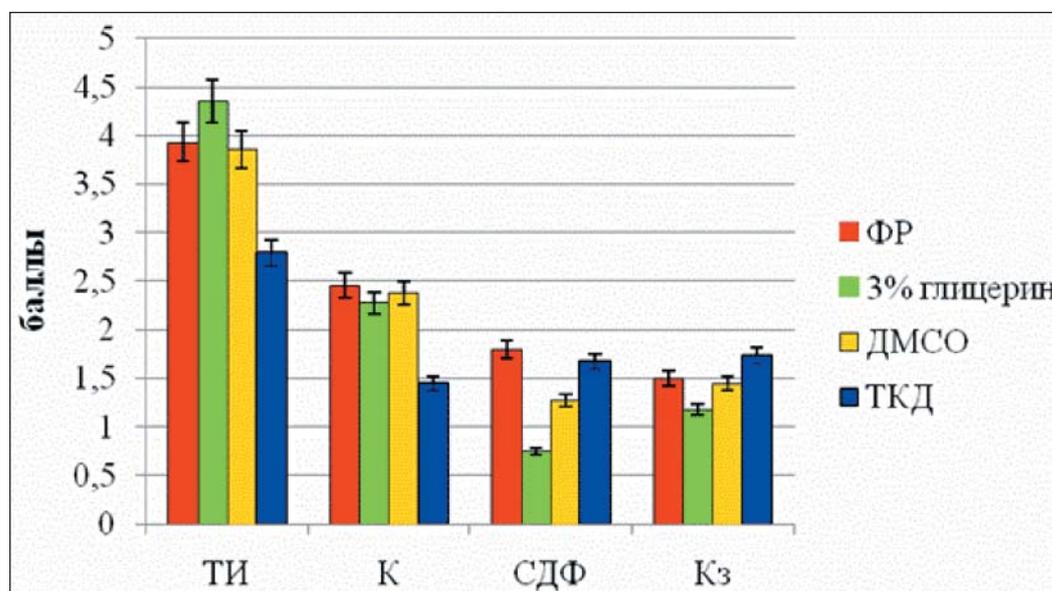


Рис. 4. Результат параметрической оценки теzigрафических фаций сыворотки крови мышей после введения соединений-криопротекторов (ТИ — теzigрафический индекс, К — кристалличность, СДФ — степень деструкции фации, Кз — выраженность краевой зоны образца, ФР — физиологический раствор, ДМСО — диметилсульфоксид, ТКД — тромбокриодмац).

Fig. 4. The result of the parametric evaluation of tezigraphic facies of the blood serum of mice after the introduction of cryoprotectant compounds (ТИ — tezigraphic index, К — crystallinity, СДФ — degree of degradation of facies, Кз — severity of the marginal zone of the sample, ФР — physiological saline, ДМСО — dimethyl sulphoxide, ТКД — trombocryodmac).

зовании ДМСО и ТКД — лишь в 1,6 и 1,7 раза соответственно ($p < 0,05$ по сравнению с фациями животных контрольной группы). При этом подобная вариабельность в меньшей степени касается количественной стороны процесса: прирост кристаллизруемости отмечали практически идентичным для всех изучаемых агентов. Интересно, что в условиях *in vitro* при добавлении в кровь спиртов, в частности глицерина, обнаруживается противоположное действие на кристаллогенные свойства биологической жидкости, проявляющееся в угнетении последних [8, 11]. Подобная тенденция может быть обусловлена быстрой биотрансформацией глицерина в печени при его попадании в системный кровоток с образованием прокристаллогенных соединений. Следует подчеркнуть, что данный эффект не сопровождается негативными сдвигами физико-химического гомеостаза сыворотки крови, на что косвенно указывает снижение степени деструкции фации в образцах биосреды мышей данной группы (-15% ; $p < 0,05$ по отношению к животным контрольной группы).

Аналогичная динамика наблюдается и при внутрибрюшинном введении ДМСО (снижение степени деструкции фации на 18% ; $p < 0,05$), что также свидетельствует о стабилизирующем влиянии данного криопротектора на кристаллогенную активность биосреды. Напротив, применение ТКД, способствуя лишь умеренной активации кристаллогенеза, обуславливает существенное повышение степени деструкции фации (на 33% ; $p < 0,05$ по сравнению с животными, получившими инъекцию физиологического раствора). Это может указывать на формирование в организме при биотрансформации соединения токсичных метаболитов [12].

Оценка действия рассматриваемых криоконсервантов на белковый компонент биожидкости позволила установить, что все воздействия приводят к расширению краевой зоны микропрепаратов, а в наибольшей степени — введение глицерина и ТКД. Лишь ДМСО сохраняет физиологическое соотношение «белки : минеральные соединения».

Указанные тенденции в целом реализуются и в результатах тезиграфического теста (рис. 4). Так, максимальным среди рассмотренных криопротекторов инициаторным потенциалом обладает 3% раствор глицерина, при действии которого сыворотка крови мышей обнаруживает инициаторные свойства, существенно превышающие аналогичные у животных, получивших физиологический раствор. Напротив, введение ДМСО не сопровождается значимыми сдвигами

инициаторного потенциала биологической жидкости, а внутрибрюшинная инъекция ТКД способствует снижению иницирующей активности биосреды вплоть до умеренного ингибирования. При этом по сложности формируемых элементов тезиграммы мышей, у которых использовали глицерин и ДМСО, практически не отличались от фаций животных контрольной группы. В то же время применение ТКД обеспечивает упрощение структур образца сыворотки крови. В целом системное действие глицерина связано с активацией кристаллизации физиологического раствора, ДМСО — с сохранностью физиологического уровня иницирующих свойств, а ТКД — с их угнетением.

Оценка степени деструкции фации свидетельствует об ее умеренном снижении при введении глицерина и ДМСО (на 58 и 30% относительно контрольной группы соответственно; $p < 0,05$ для обоих случаев), а ТКД не оказывает значимого влияния на данный параметр.

Характеризуя состояние краевой белковой зоны тезиграмм сыворотки крови мышей рассматриваемых групп, следует отметить, что ДМСО и ТКД не оказывают существенного влияния на нее, тогда как введение 3% раствора глицерина способствует умеренному сужению краевой зоны.

Закключение

1. Показано, что при однократном внутрибрюшинном введении распространенные криопротекторы (растворы глицерина, диметилсульфоксида и тромбокриодмац) оказывают системное влияние на организм мышей, проявляющееся в изменении кристаллогенных свойств сыворотки крови.

2. 3% раствор глицерина, ДМСО и ТКД разнонаправленно влияют на кристаллогенные свойства сыворотки крови мышей, способствуя повышению кристаллизруемости образцов биосреды в $2,2$; $1,6$ и $1,7$ раза и индекса структурности на 75 , 71 и 91% соответственно.

3. Наиболее физиологичное действие на кристаллогенные и иницирующие свойства сыворотки крови при системном введении оказывает ДМСО.

Источник финансирования

Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

Funding

The authors declare that no funding was received during the research.

Соответствие принципам этики

Содержание и уход за животными осуществлялся в соответствии со статьей 11-й Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации «Международные рекомендации по проведению биомедицинских исследований с использованием животных», приказом Министерства здравоохранения и социального развития РФ от 23 августа 2010 г. № 708н «Об утверждении Правил лабораторной практики» и соблюдении норм «Европейской конвенции по защите позвоночных животных», которые используются в экспериментальных и других научных целях.

Compliance with ethical principles

The keeping and care of animals was carried out in accordance with Article 11 of the Declaration of Helsinki of the World Medical Association “International Recommendations for Biomedical Research Using Animals”, by order of the Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation from August 23, 2010 No. 708 “On approval of the Laboratory Rules practice” and compliance with the norms of the “European Convention for the Protection of Vertebrate Animals”, which are used for experimental and other scientific purposes.

Список литературы

1. Bizjak D.A., Jungen P., Bloch W., Grau M. Cryopreservation of red blood cells: Effect on rheologic properties and associated metabolic and nitric oxide related parameters. *Cryobiology*. 2018; 84: 59–68. DOI: 10.1016/j.cryobiol.2018.08.001
2. Костяев А.А., Мартусевич А.К., Андреев А.А. Токсичность криопротекторов и криоконсервантов на их основе для компонентов крови и костного мозга (обзорная статья). *Научное обозрение. Медицинские науки*. 2016; 6: 54–74.
3. Ladeira C., Koppen G., Scavone F., Giovannelli L. The comet assay for human biomonitoring: Effect of cryopreservation on DNA damage in different blood cell preparations. *Mutat. Res.* 2019; 843: 11–17. DOI: 10.1016/j.mrgentox.2019.02.002
4. Liu J., Ding W., Zhou X., Kang Y., Zou L., Li C., Zhu X., Gao D. Deglycerolization of red blood cells: A new dilution-filtration system. *Cryobiology*. 2018; 81: 160–167. DOI: 10.1016/j.cryobiol.2018.01.006
5. Зайцева О.О., Полежаева Т.В., Сведенцов Е.П., Соломина О.Н., Утемов С.В. Эффективность применения оригинальных криофилактиков для сохранности лейкоцитов при -40°C. *Журнал стресс-физиологии и биохимии*. 2011; 7(4): 197–206.
6. Lynch A.L., Slaater N.K. Mediated trehalose unloading for reduced erythrocyte osmotic fragility and phosphatidylserine translocation. *Cryo. Letters*. 2011; 32(5): 415–424.
7. Alshalani A., Acker J.P. Red blood cell membrane water permeability increases with length of ex vivo storage. *Cryobiology*. 2017; 76: 51–58. DOI: 10.1016/j.cryobiol.2017.04.009
8. Костяев А.А., Мартусевич А.К. Зависимость кристаллогенных свойств плазмы донорской крови от температуры замораживания и вида криопротектора. *Медицина экстремальных ситуаций*. 2013; 1: 91–96.
9. Мартусевич А.К., Ковалева Л.К., Соловьева А.Г. Кристаллогенные свойства сыворотки крови крыс при моделировании термической травмы. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2019; 26(3): 81–89. DOI: 10.25207/1608-6228-2019-26-3-81-89
10. Мартусевич А.К., Воробьев А.В., Гришина А.А., Русских А.П. Физиология и патология кристаллостаза: общая парадигма и перспективы изучения. *Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского*. 2010; 1; 135–139.
11. Костяев А.А., Мартусевич А.К. Влияние криоконсервантов с различным сроком хранения на кристаллогенные свойства плазмы крови. *Проблемы криобиологии*. 2012; 22(3): 249.
12. Сведенцов Е. П. *Криоконсерванты для живых клеток*. Сыктывкар: Коми науч. центр УрО РАН; 2010. 79 с.

References

1. Bizjak D.A., Jungen P., Bloch W., Grau M. Cryopreservation of red blood cells: Effect on rheologic properties and associated metabolic and nitric oxide related parameters. *Cryobiology*. 2018; 84: 59–68. DOI: 10.1016/j.cryobiol.2018.08.001
2. Kostyaev A.A., Martusevich A.K., Andreev A.A. Toxicity of cryoprotectants and cryoconservants on their basis for blood components and bone marrow (review article). *Nauchnoe Obozrenie. Meditsinskie Nauki*. 2016; 6: 54–74 (In Russ., English abstract).
3. Ladeira C., Koppen G., Scavone F., Giovannelli L. The comet assay for human biomonitoring: Effect of cryopreservation on DNA damage in different blood cell preparations. *Mutat. Res.* 2019; 843: 11–17. DOI: 10.1016/j.mrgentox.2019.02.002
4. Liu J., Ding W., Zhou X., Kang Y., Zou L., Li C., Zhu X., Gao D. Deglycerolization of red blood cells: A new dilution-filtration system. *Cryobiology*. 2018; 81: 160–167. DOI: 10.1016/j.cryobiol.2018.01.006

- Zaitseva O.O., Polezhaeva T.V., Svedentsov E.P., Solomina O.N., Utemov S.V. Efficiency of application original preservatives for conservation leukocytes at -40°C. *Zhurnal Stress-Fiziologii i Biokhimii*. 2011; 7(4): 197–206 (In Russ., English abstract).
- Lynch A.L., Slaater N.K. Mediated trehalose un-loading for reduced erythrocyte osmotic fragility and phosphatidylserine translocation. *Cryo. Letters*. 2011; 32(5): 415–424.
- Alshalani A., Acker J.P. Red blood cell membrane water permeability increases with length of ex vivo storage. *Cryobiology*. 2017; 76: 51–58. DOI: 10.1016/j.cryobiol.2017.04.009
- Kostyaev A.A., Martusevich A.K. Crystal-growth properties of donor blood plasma in relation to freezing temperature and the kind of cryoprotectant used. *Meditsina Ekstremal'nykh Situatsii*. 2013; 1: 91–96 (In Russ.).
- Martusevich A.K., Kovaleva L.K., Solovyeva A.G. Crystallogenic properties of the blood serum of rats under modeling a thermal injury. *Kubanskii Nauchnyi Meditsinskii Vestnik*. 2019; 26(3): 81–89 (In Russ., English abstract). DOI: 10.25207/1608-6228-2019-26-3-81-89
- Martusevich A.K., Vorobev A.V., Grishina A.A., Russkiikh A.P. Physiology and pathology of crystallosthesis: a general paradigm and prospects for studying. *Vestnik Nizhegorodskogo Universiteta im N.I. Lobachevskogo*. 2010; 1: 135–139 (In Russ.).
- Kostyaev A.A., Martusevich A.K. The effect of cryopreservatives with different shelf life on the crystallogenic properties of blood plasma. *Problemy Kriobiologii*. 2012; 22(3): 249 (In Russ., English abstract).
- Сведенцов Е.П. *Криоконсерванты для живых клеток*. Сыктывкар: Коми науч. центр УрО РАН; 2010. 79 с.

Вклад авторов

Мартусевич А.К.

Разработка концепции — формирование идеи; формулировка и развитие ключевых целей и задач.

Проведение исследования — анализ и интерпретация полученных данных.

Подготовка и редактирование текста — составление черновика рукописи и его критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания; участие в научном дизайне.

Утверждение окончательного варианта статьи — принятие ответственности за все аспекты работы, целостность всех частей статьи и ее окончательный вариант.

Статистическая обработка результатов исследования.

Костяев А.А.

Разработка концепции — формирование идеи; формулировка и развитие ключевых целей и задач.

Проведение исследования — проведение экспериментов и сбор данных.

Подготовка и редактирование текста — критический пересмотр черновика рукописи с внесением ценного интеллектуального содержания.

Утверждение окончательного варианта статьи — принятие ответственности за все аспекты работы, целостность всех частей статьи и ее окончательный вариант.

Ресурсное обеспечение исследования — предоставление реагентов, материалов, лабораторных образцов, животных для анализа.

Ковалева Л.К.

Разработка концепции — формулировка и развитие ключевых целей и задач.

Проведение исследования — проведение экспериментов и сбор данных; анализ и интерпретация полученных данных.

Подготовка и редактирование текста — критический пересмотр черновика рукописи с внесением ценного интеллектуального содержания.

Утверждение окончательного варианта статьи — принятие ответственности за все аспекты работы, целостность всех частей статьи и ее окончательный вариант.

Ресурсное обеспечение исследования — предоставление реагентов, материалов, измерительных приборов для анализа.

Authors' contribution

Martusevich A.K.

Conceptualisation — concept formation; formulation and development of key goals and objectives.

Conducting research — data analysis and interpretation.

Text preparation and editing — compilation of a draft manuscript, its critical review with the introduction of valuable intellectual content; participation in scientific design.

The approval of the final version of the article — the acceptance of responsibility for all aspects of the work, the integrity of all parts of the article and its final version.

Kostyaev A.A.

Conceptualisation — concept formation; formulation and development of key goals and objectives.

Conducting research — conducting experiments and data collection.

Text preparation and editing — critical review of a draft manuscript with the introduction of valuable intellectual content.

The approval of the final version of the article — the acceptance of responsibility for all aspects of the work, the integrity of all parts of the article and its final version.

Resource support of the research — the provision of reagents, materials, laboratory samples, and animals for the research.

Kovaleva L. K.

Conceptualisation — formulation and development of key goals and objectives.

Conducting research — conducting experiments and data collection, analysis and interpretation.

Text preparation and editing — critical review of a draft manuscript with the introduction of valuable intellectual content.

The approval of the final version of the article — the acceptance of responsibility for all aspects of the work, the integrity of all parts of the article and its final version.

Resource support of the research — the provision of reagents, materials, and instrumentation for the research.

Сведения об авторах / Information about the authors

Мартусевич Андрей Кимович* — доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник, руководитель лаборатории медицинской биофизики университетской клиники федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Приволжский исследовательский медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Нижний Новгород; заведующий лабораторией биокристалломики и свободнорадикальной медицины федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кировский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Киров.

ORCID ID 0000-0002-0818-5316

Контактная информация: Мартусевич Андрей Кимович; тел.: +7 (909) 144-91-82; e-mail: cryst-mart@yandex.ru;

Верхневолжская наб., д. 18/1, г. Нижний Новгород, 603155, Россия.

Костяев Андрей Александрович — доктор медицинских наук, доцент, старший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий федерального государственного бюджетного учреждения науки «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови» Федерального медико-биологического агентства Российской Федерации.

Ковалева Лида Константиновна — кандидат биологических наук, ассистент кафедры гистологии с эмбриологией федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

ORCID ID 0000-0001-5515-6641

Andrey K. Martusevich* — Dr. Sci. (Biol.), Leading Researcher, Head of the Laboratory of Medical Biophysics, University Hospital, Volga Research Medical University, Nizhny Novgorod; Head of the Laboratory of Biocrystallography and Free Radical Medicine, Kirov State Medical University, Kirov.

ORCID ID 0000-0002-0818-5316

Corresponding author: Andrew K. Martusevich; tel.: +7 (909) 144-91-82; e-mail: cryst-mart@yandex.ru;

18/1, Verhnevolzhskaya emb., Nizhny Novgorod, 603155, Russia.

Andrei A. Kostyaev — Dr. Sci. (Med.), Ass. Prof., Senior Researcher, Laboratory of Cell Technologies, Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion.

Lida K. Kovaleva — Cand. Sci. (Med.), Research Assistant, Department of Histology with Embryology, Kuban State Medical University.

ORCID ID 0000-0001-5515-6641

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author