

KÖK HÜCRELERİN DONDURULMASI VE SAKLANMASI (KRYOPREZERVASYON)

Doç. Dr. Fevzi Altuntaş

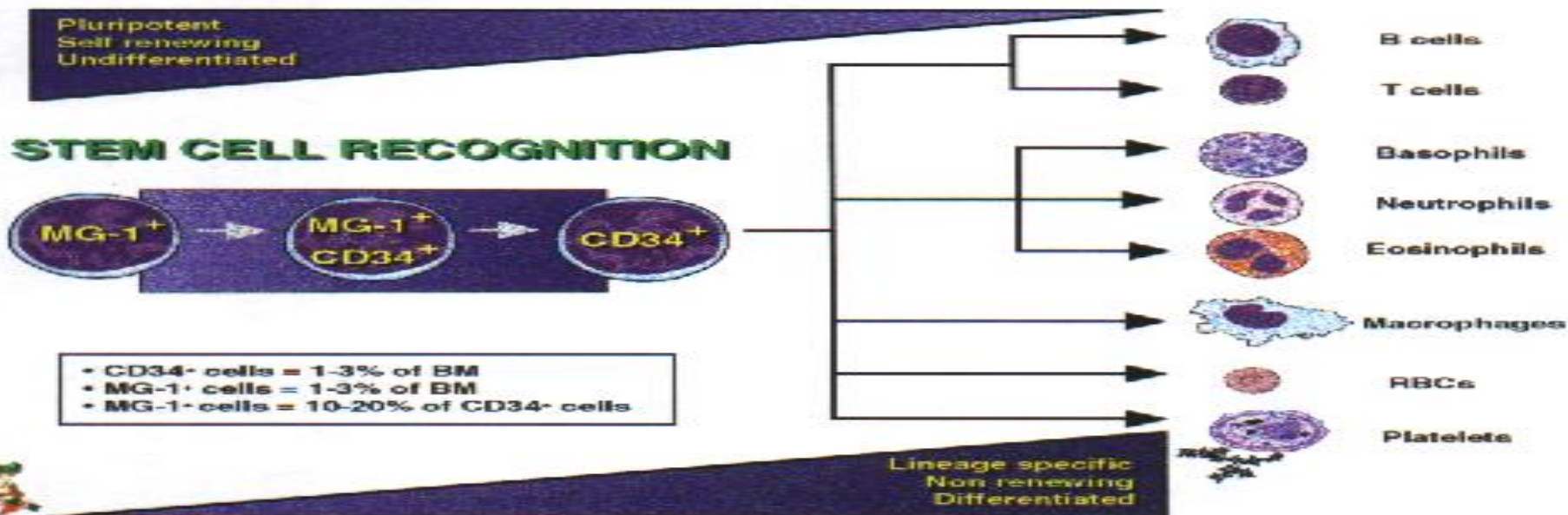
Ankara Onkoloji Eğitim ve Araştırma Hastanesi
Kök Hücre Nakli ve Aferez Ünitesi

I. Ulusal Hücrel Tedavi ve Rejeneratif Tıp Kongresi
Hücrel Tedavi Kursu, 5-8 Mart 2009 ,Nevşehir

Kök hücre

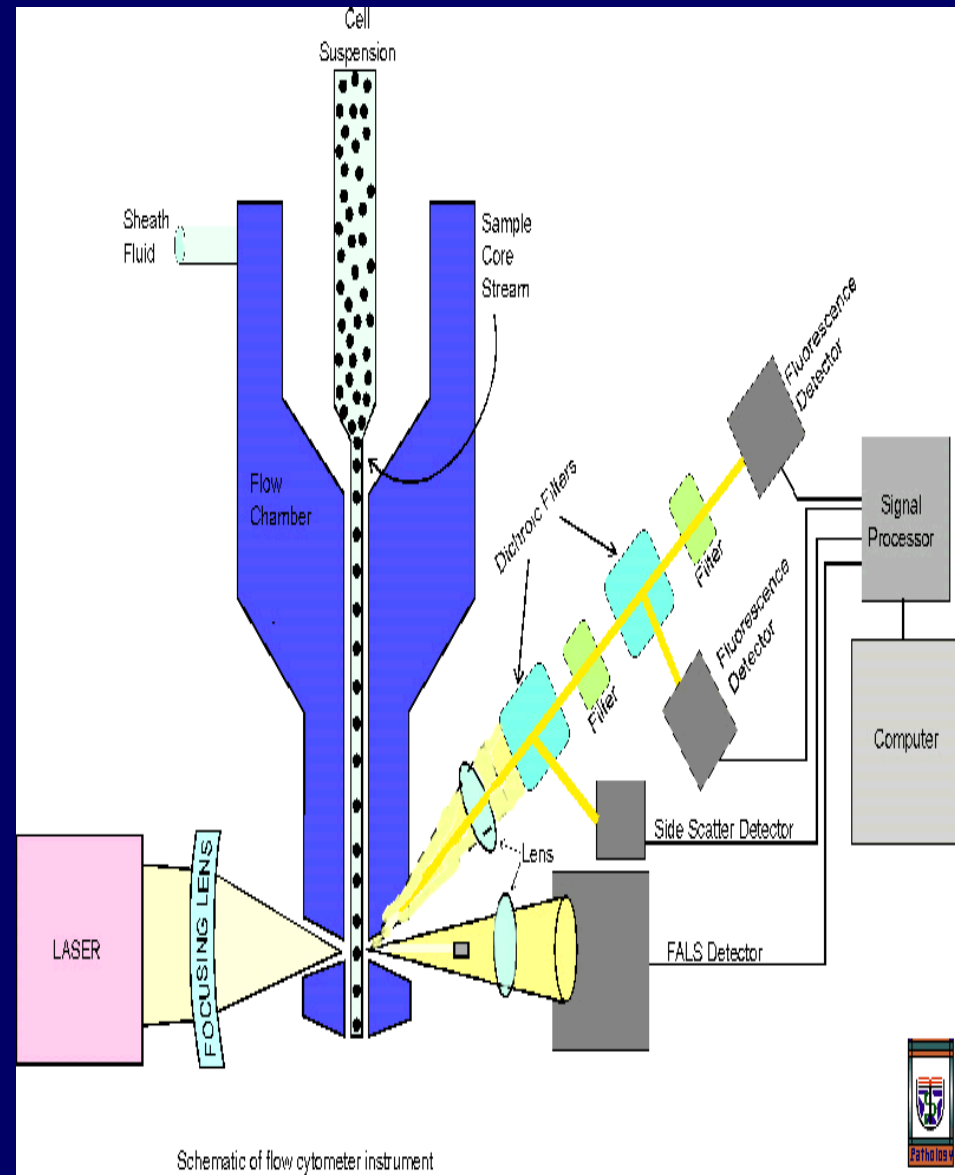
□ Pluripotent hematopoietik kök hücre:

- Bireyin yaşamı boyunca kemik iliği fonksiyonunu sürdürmeden sorumludur
- Kendini yenileme yeteneği vardır
- Herhangi kan hücre elamanını oluşturabilir:
 - RBC, Platelet, Granülosit, Lenfosit



Kök Hücre Tespiti: CD34

- Kök hücreler kendi hücrelerinin yüzeyinde belli bir protein eksprese etmektedirler:
 - CD34
- CD34+ hücreler bir akım sitometri kullanılarak ölçülebilir
 - Akım sitometri: En kısa zaman dilimi içinde kök hücreyi tespit etmek için indirekt bir teknik,
 - Birkaç saat alır



Hedef CD34 dozu

- Yüksek doz myeloablatif KT'den kurtarmak için gerekli minimum CD34+ hücre sayısı:
 - Otolog KHT
 - $> 2 \times 10^6$ CD34+ hücre/kg
 - En az 1×10^6 CD34+ hücre/kg
 - Allojeneik KHT
 - $> 5 \times 10^6$ CD34+ hücre/kg

CD34 Düzeyi önemi

- Sitopeniler ile ilişkili maliyet ve yan etkileri sınırlamak için çok hızlı (8-14 gün) nötrofil (>500) ve trombosit engraftmanı (>20,000) sağlanmalıdır:
 - Azalmış transfüzyon gereksinimi
 - Daha az sepsis atağı
 - Daha az antibiyotik kullanımı
 - Hastanede kalış süresinde kısalma

Kriyoprezervasyon

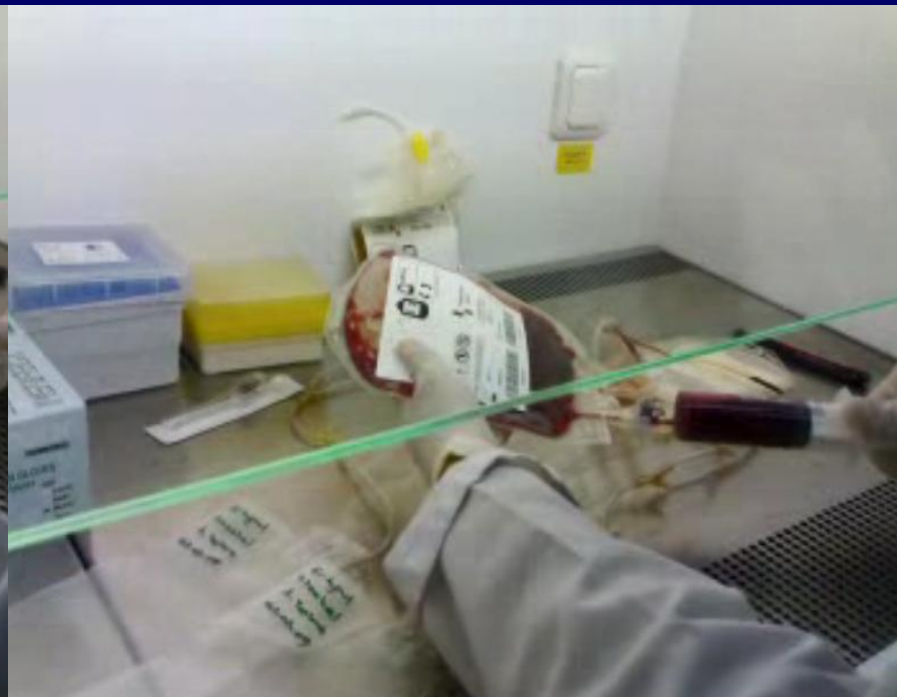
- Kök hücre tedavisi öncesi önemli bir basamak
- Evrensel olarak kullanılan basit bir kriyoprezervasyon yöntemi bulunmamakta
- Farklı transplant merkezleri farklı yöntemler kullanmakta
- Vericiden alıcıya kök hücre transferinin 72-96 saat içinde gerçekleştirilebileceği durumlarda, donma ısının üstünde başlangıç depolaması yapılarak, hücrelerin nakledilmesine yönelik çeşitli protokoller mevcut

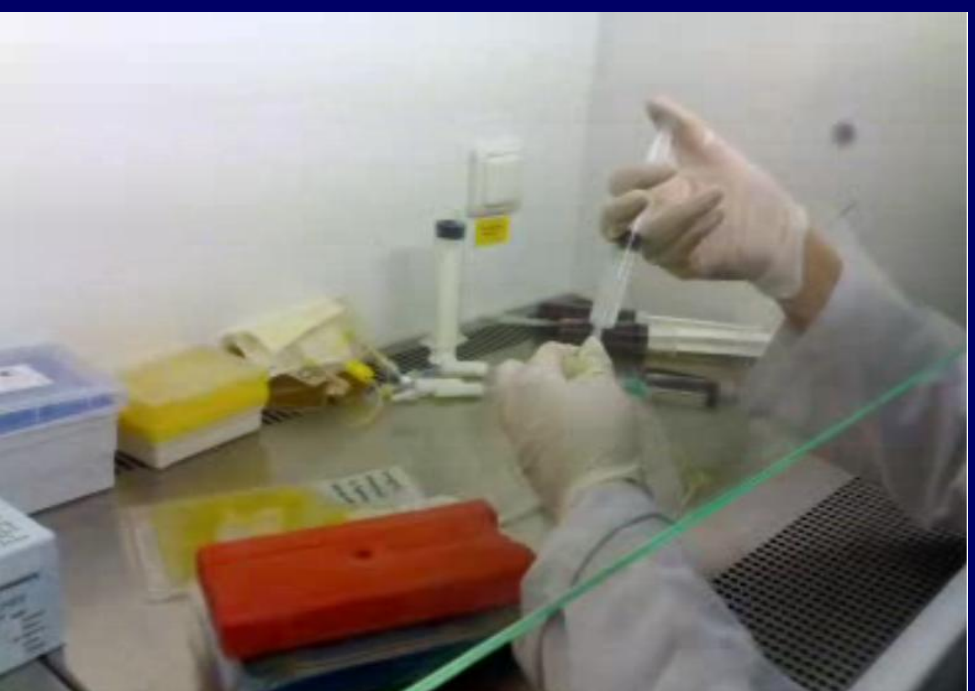
0°C derecenin üzerinde hücrelerin saklanması

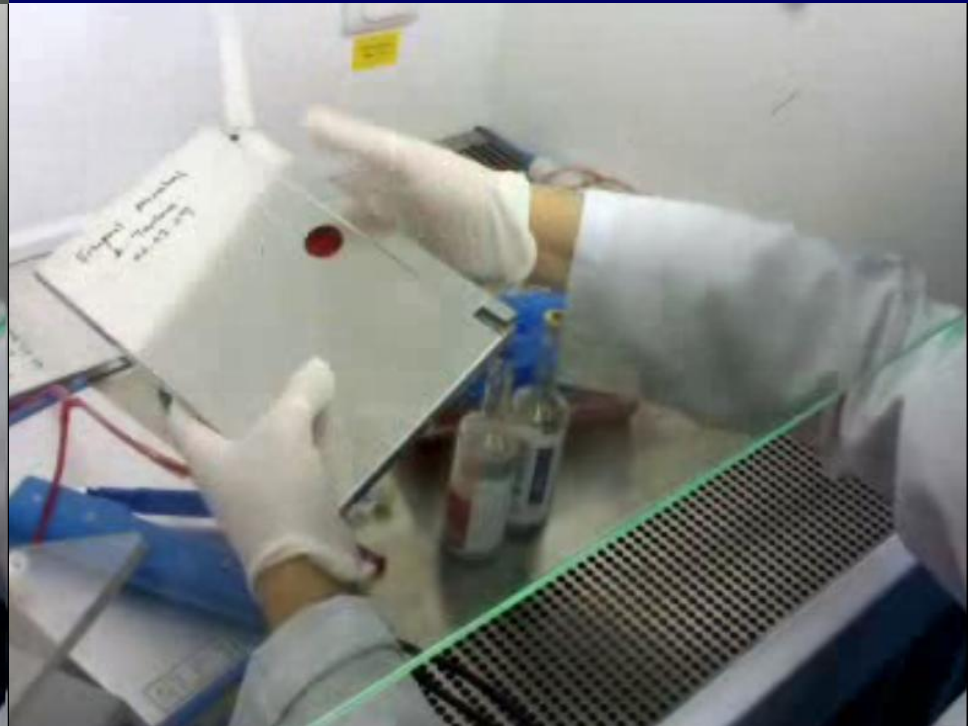
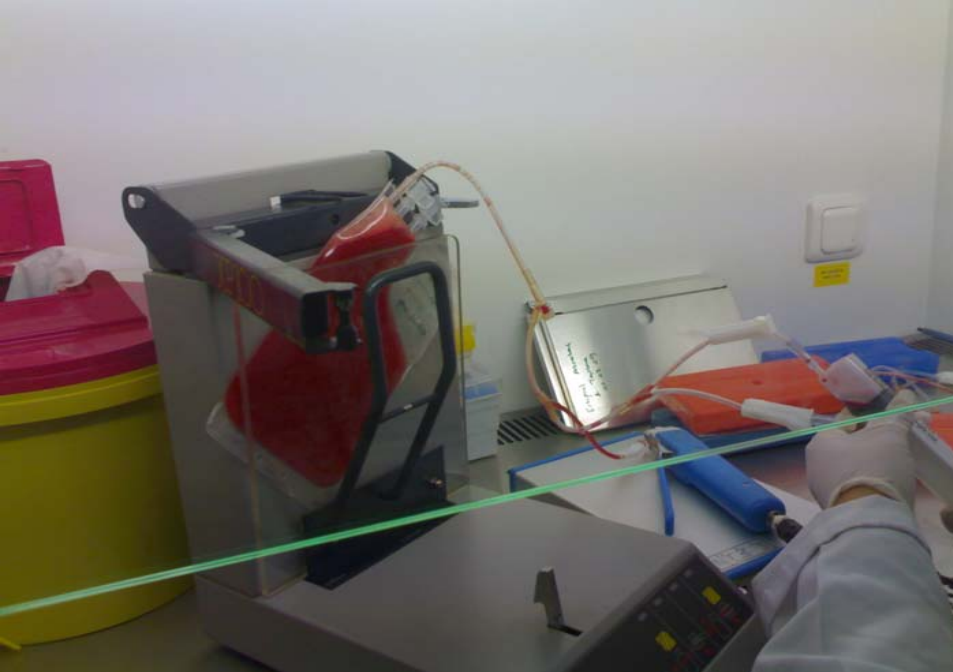
- ❑ Birçok pratik uygulamada 0°C' nin üzerinde hücrelerin saklanması yeterli olmamaktadır.
- ❑ Isı -79°C'nin altına inmedikçe metabolik saatin durdurulması imkansızdır.
- ❑ 0-20°C 'de Na-K pompası bozulmakta ve hücreler şişmeye başlamaktadır. Enzim aktiveleri bozulmakta ve az çözünen materyallerin presipite olması nedeniyle pH değişiklikleri oluşmaya başlamakta ve tüm bunlar hücre viabilitesini bozmaktadır.

Kriyoprezervasyon basamakları

- Ürün toplanması
 - Toplanan örnek santrifüjlenip hücreden zengin hale getirilebilir
- Kriyoprezervatif ajanların eklenmesi
 - DMSO ve donör plazması kullanılır:
 - Plazma; ürünü besleyici ortam, DMSO toksitesini azaltmakta, dilüsyon etkisi
 - Plazma+DMSO çözeltisi içindeki hücre konsantrasyonu yaklaşık $100-500 \times 10^6/L$
 - Daha yüksek konsantrasyon ürünün hastaya verilmesi sırasında süresinin uzamasına, buda DMSO toksik etkisi sebebiyle viabilite kaybına neden olur
- Kök hücrenin canlılığının değerlendirilmesi
- Soğutma ve dondurma işlemi
 - Kİ veya PK kök hücre ürünü öncelikle $+4\text{ C}^\circ$ 'de saklanır.
 - Daha sonra, hangi kapta saklanacağına karar verilince -80 C° veya -196 C° 'ye alınır.
- Dondurulmuş kök hücrenin canlılığının değerlendirilmesi
 - Myeloablatif tedavi öncesi, ürünün sağlamlığını garanti etmek amacıyla, Tripan mavisi (ışık mikroskopisi) / Akridin orange (Floresan mikroskopisi) veya Flow sitometri ile ürünün canlılığı yeniden değerlendirilir.
 - Canlılık en az % 75 ve üzeri olmalıdır
- Eritme işlemi
 - Kök hücre infüzyonu öncesi örnek hızlıca $37-40\text{ C}^\circ$ 'de çözülür







Kriyoprezervasyonda bilinmesi gereken noktalar

□ Dondurma işlemi

- Solüsyon etkileri
- Termal şok
- Faz geçiş zamanı etkileri
- Donma sonrası soğutma hızı
- Saklama-depolama

□ Çözme dönemi

- Rekrystalizasyon
- Dilüsyon şoku
- Torbaların patlaması

Solüsyon etkileri

- ❑ Serum fizyolojik yavaş yavaş soğutulmaya başladığında, ekstrasellüler alanda ilk buz çekirdeği oluşmakta ve soğuma devam ettikçe yeni su kütleleri kristalizasyona katılmaktadır.
- ❑ Bu arada tuz molekülleri ise hala sıvı fazdadır.
- ❑ Başlangıçta 0.15M olan NaCl konsantrasyonu suyun kristallemeye başladığı dönemlerde 5.2M kadar yükselmekte ve konsantrasyon, ısı tekrar 21.1°C' nin üstüne çıkana kadar bu değerlerde kalmaktadır.

Termal Şok

- ❑ SF soğutulmaya başladığında oluşan buz çekirdeği geniŐlerken, çevresine soğudukça ısı yaymakta ve henüz donmaya baŐlamamıŐ hücreselerde termal hasara yol açmaktadır.

Solüsyon etkileri + Termal Şok

- ❑ Donma esnasındaki görülen bu iki olumsuz etki, yavaş soğutmada belirginleşmektedir.
- ❑ Bu olumsuzluklardan kaçmak için SF hızla soğutulur ise ($20^{\circ}\text{C}/\text{dakika}$) hücre içinde kristal formasyonu oluşmakta ve hücre yine lize olmaktadır.

Sonuç

- Hücrelerin hızlıca dondurulması ve fizyolojik tuzlu su içinde çözünmesi hücreler içinde buz kristalleri oluşturarak hücre membranlarının hasar görmesine neden olabilmekte
 - Buz kristalleri hücre bariyerlerini bozarak, hücrelerin ve hücre organellerinin parçalanmasına neden olabilmekte
- Yavaş dondurma ekstrasellüler buz kristali oluşumuna, osmotik dehidratasyona neden olarak hücre hasarı meydana getirebilmekte
- Bu nedenlerle hücrelere çeşitli kriyoprotektanların eklenmesi zorunluluğu vardır.

Çözüm

- ❑ Su molekülerini bağlayarak, su kristalizasyonunu yavaşlatmak ve solütlerle eş zamanlı donmasını sağlamak
- ❑ Bu amaçla gliserol veya DMSO gibi kolligatif ajanlar kullanmak
- ❑ Penetran bir kryoprotektif ajan, donma işlemi esnasında hücre içine geçerek internal kristalizasyonun önüne geçecektir.

KÖK HÜCRE KRİYOPREZERVASYONU

Kriyoprotektif ajanlar iki tiptir.

1- İntrasellüler ajanlar

- Gliserol
- Dimetilsulfoksid (DMSO)

2- Ekstrasellüler ajan

- HES (Hidroksietil starch)

Kriyoprotektan ajanlar

- ❑ Bugün kullanılan kriyoprotektif ajanlar içinde en penetran olan dimethyl sulfoxide (DMSO).
- ❑ Polivinilpirolidone (PVP) ve hidrosietilstarch'ın hemen hiç penetrasyon özelliği yok.

Kriyoprotektan ajanlar

- Ancak bu ajanların penetrasyon özelliği hücreler dondurulduktan sonra çözünürken bir dilüsyon şokuna neden olabilmektedir.
- Bu nedenle tek bir kryoprotektif ajanın kullanılmasından çok, birden fazla kryoprotektanın uygun karışımları daha iyi sonuçlar verir.

Kriyoprotektan ajanlar- DMSO

- Tek başına kullanıldığında en ideal kriyoprotektan ajan
- Berrak, renksiz, organik sıvıdır ve suya yüksek afinite gösterir.
- Suda yüksek derecede çözünürlük gösterebildiği ve hücre membranlarını geçebildiği için, hem hücre içi hem de hücre dışında osmolaliteyi yükselterek membran boyunca yerleşen tuz gradientini dengeye getirir.
- Hız kontrollü dondurma işleminde, hücre içinde bulunan neredeyse tüm serbest su hücre dışına çıkararak intrasellüler buz kristali oluşumu önlenir.

Kriyoprotektan ajanlar- DMSO

- %5-10 DMSO etkin koruma sağlayabildiği gösterilmiştir
- En çok tercih edilen konsantrasyonu %10 dur.
 - %10 DMSO ile hücrelerin +4°C'de 24 saat, 37°C'de 1 saatten fazla temasta kalmaması gereklidir.
 - Çünkü DMSO CFU-GM üzerine direkt toksik etki oluşturabilmekte
- Saf verilmemelidir. Yakıcı özelliği var.
- Gerek viabilite, gerek CFU, gerek yakıcı özelliği gerekse donma-çözünme sırasında hasardan hücreyi koruyabilmek için plazma/HES ile karışım şeklinde verilmelidir.
- Bugün için kabul edilen en ideal karışım DMSO ve HES karışımıdır.
 - Bu karışımın ayrıca hastaya infüzyon sonrası DMSO'ya bağlı yan etkileri azaltıcı etkisi de söz konusudur.

Kriyoprotektan ajanlar

- 1983'e kadar kriyoprezervasyonda kullanılan altın standart %10 DMSO ve %20 otolog plazma karışımı idi.
- Intrasellüler ve ekstrasellüler kriyoprotektanların beraber kullanımını gündeme girdi (DMSO+HES)
 - Stiff et al. Cryobiology 1983:20:17-24.

Kriyoprotektan ajanlar

- %5 DMSO ve %6 HES'in beraber kullanılması halinde hücre engraftmanının %10 DMSO'ye göre daha iyi olduğu Seattle grubu tarafından rapor edilmiştir.
 - CFU? Viabilite? Neyi etkiliyor????
 - Ancak Engraftmanda CFU yapıcı özelliğın daha önemli olduğu bildirilmekte, viabilitenin o kadar önemli olmadığı ifade edilmekte
 - 7th Annual meeting of ISHAGE, June 14-17, 2001; Qabec City, Canada

Kriyoprotektan ajanlar

- Kang ve ark. aynı kombinasyonun daha iyi hücre canlılığı ve recovery'sini sağladığını rapor etmişlerdir.
 - Blood.2002:99:850-5
- Hatta HES varlığında DMSO oranının %3,5'a çekilebileceği, bu kombinasyonda tekrarlanan dondurma ve çözmelerden sonra dahi hücrelerin proliferatif etkilerini devam ettirebildikleri gösterilmiştir.
 - Halle P et al. Transfusion.2001:41:667-73

Kriyoprotektan ajanlar

- Bugünkü veriler dondurmada en iyi kombinasyonun DMSO + HES karışımı olduğunu göstermektedir.
- Bu karışımın ayrıca hastaya infüzyon sonrası DMSO'ya bağlı yan etkileri azaltıcı etkisi de söz konusudur.

Kriyoprotektan ajanlar

- DMSO toksitesinin azaltılması için dikkat edilmesi gereken bir noktada DMSO'nun direkt olarak hücre süspansiyonu üzerine konmaması gerektiğidir.
- Bu nedenle DMSO, otolog plazma, HES ve ilave edilmesi düşünülen diğer sıvılar bir yerde hazırlanıp, bu karışımdan oluşan kriyoprotektan solüsyon hücre süspansiyonun üzerine yavaşça katılır.
- Ayrıca kriyoprezervasyon esnasında oda sıcaklığında hücrelerin DMSO ile ilişkisinden doğabilecek hasarı azaltmak için, işlemde kullanılacak kriyoprotektan solüsyonun, torbanın, transfer borularının önceden soğutulması ve karışım hazırlanırken de, karışım hazırlandıktan sonra da yerleştirilecekleri alüminyum plaklarda soğutma işlemine devam edilmesi yararlı olmaktadır (+4 C air flow veya buz kalıbları üzerinde)

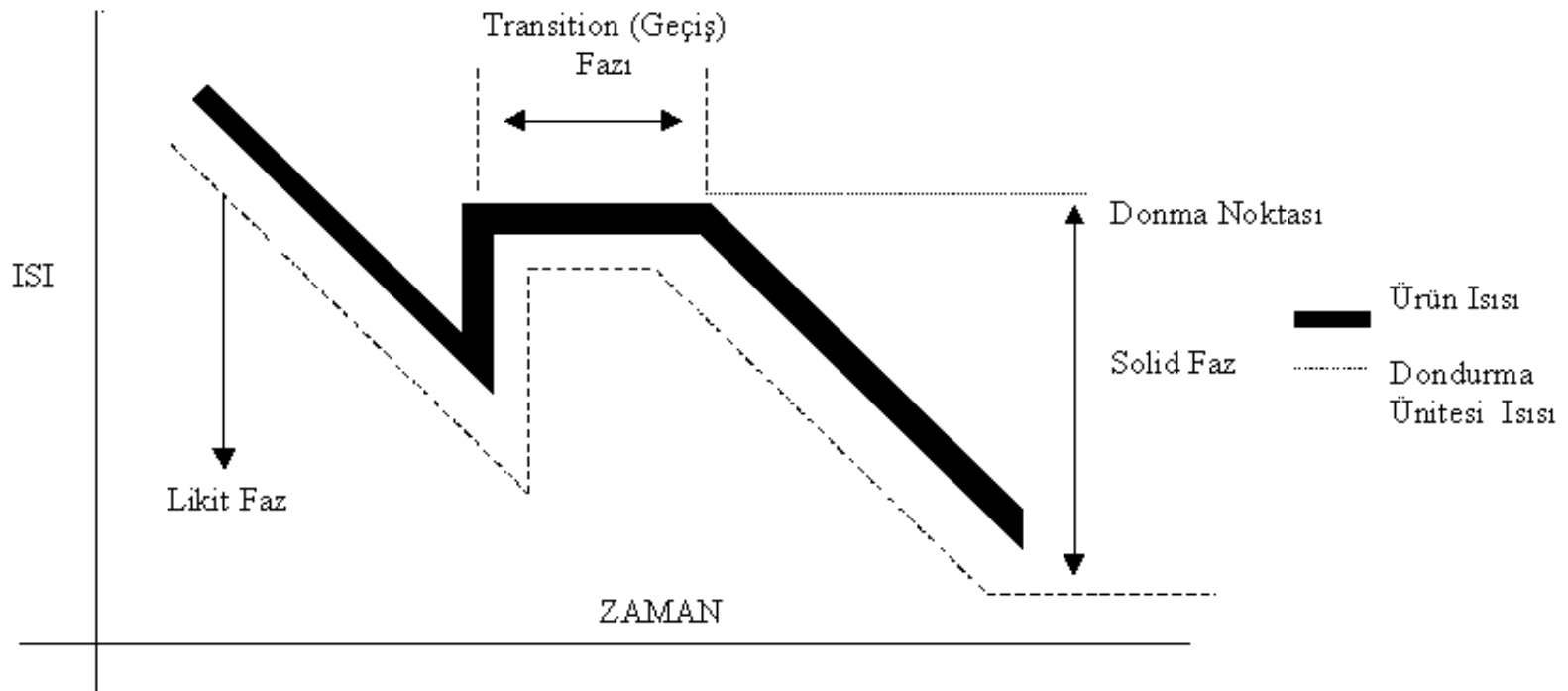
Yardımcı kryoprotektan ajanlar

- Dondurma işlemi sırasında dondurulacak ürünün içine makro molekülerin konması gerek donma, gerekse çözünme esnasında hücreleri korumaktadır.
 - İdeal makro molekül kaynağı otolog insan plazması.
 - Tavsiye edilen oranlar ise %10-40 arasındadır.
 - Bu amaçla albümin de kullanılabilir (10%).
- Hazırlanan üründe eritrosit ve eritrosit lizat varlığının ise CFU üzerine olumlu etkileri rapor edilmektedir.
 - Bu açıdan ürünün eritrositlerle bulaşık olması ürün kalitesi açısından sakınca yaratmayacağı gibi bazı avantajlara da neden olabilmektedir.
- Trehaloz, taurin gibi membran stabilizatörlerinin, askorbik asit, alfa tokoferol asetat ve katalaz gibi antioksidanların kryoprotektif solüsyonlara ilavesi ile daha iyi sonuçlar alınabileceği rapor edilmektedir.

Soğutma Hızı

- ❑ Bugünkü bilgilerimiz soğutmanın kryoprotektan varlığında dakikada 1°C olması gerektiğine dikkati çekmektedir.
- ❑ Ancak;
Su, sıvı durumundan katı duruma geçerken ısı yayar. Eğer dondurma sırasında buna dikkat edilmez ise geçiş fazında bir uzama meydana gelir ki, bunun hücre canlılığı üzerine çok olumsuz etkileri olur.
- ❑ Bu dönemde yapılması gereken ısıtma hızını arttırmaktır.
 - Donma işleminin başladığı andan, tam donmanın tamamlandığı ana kadar olan bu kritik period ile hücre hasarı arasında direk korelasyon gösterilmiştir.
 - ❑ Bu nedenle ürün ısısı -20°C 'ye ulaşana kadar $15-20^{\circ}\text{C/dk}$ 'da hızlı bir soğutma işlemine tabi tutulur.

Faz geçiş zamanı: Özellikle yüksek volümlü ürünlerin dondurulmasında sđrasında önemlidir. Donma düzeninde bu platonun kısa tutulması önemlidir



Geçiş fazı (Donma) sonrası soğutma ısısı

- Bu dönemde olan soğutmanın dakikada 5°C ' den daha yavaş olması önerilmektedir. İdeal 1- $3^{\circ}\text{C}/\text{dk}$ ' dır.
- -80°C 'ye ulaşıldıktan sonra ürün daha düşük ısılara, örneğin sıvı azot veya azot buharı içine direkt olarak kaldırılabilir.

Saklama-Depolama

- Amaç, kök hücreleri maksimum canlılık oranı ve fonksiyonel kapasite ile tekrar resüsite edebilecek şekilde dondurarak saklamaktır.
- Bu döneme kadar ürün kayıpsız hazırlanmış ise bundan sonra hücresel bir hasar oluşması -80°C 'nin üzerinde beklenmez.
- Kritik değer olan -79°C 'nin altında saklanması halinde 5 sene kadar ürünün saklanabileceği rapor edilmektedir.
 - Valeri CR, Pivacek LE: Transfusion 36:303-308:1996 ve Galme A et al; Transfusion 36:794-797:1996.

Dondurma işlemi ve yöntemleri

- -80 °C'de saklanan ürünler istenildiği takdirde 24 saat sonra direk azot buhar fazına (-150 C) veya sıvı azot (-196C) içine transfer edilebilir.
- Bu durumda da programlı dondurucuya gerek kalmadan azot gazında saklama imkanı oluşur ki bu yöntem bu gün dünyada en sık kullanılan kriyoprezervasyon yöntemidir.
- **Bu yöntemde dikkat edilmesi gereken nokta -80 °C'lik dondurucu ile azot tanklarının aynı mekan içinde olması yani transferin en kısa sürede yapılmasıdır.**
 - **Isı -79C altına düşerse hücre kaybı olacaktır**

KÖK HÜCRE KRİYOPREZERVASYONU

- Kök hücreleri için en uygun ısı nedir?
- -80 °C ile -196 °C arasındır.
- -80 °C'nin üzerinde (deep freeze) 5 sene kadar saklanabileceği,
- -150 °C'nin üzerinde (sıvı nitrojen buhar fazı) 10-15 yıl kadar
- -196 °C 'de (sıvı nitrojen) sonsuza dek saklanabileceği düşünülmektedir

Valeri , Transfusion 1996; 36:303-308

Galme, Transfusion 1996;36:794-797

Dondurma ve Eritme İşleminde Dikkat Edilmesi Gereken Noktalar

İşlem Öncesi Hücre Konsantrasyonu

- Periferik kaynaklı kök hücre için;
<math> < 1 \times 10^8 / \text{ml}</math>
- Kemik iliği kaynaklı kök hücre için;
<math> < 5 \times 10^7 / \text{ml}</math>

Soğutma işlemi

- ❑ Bugün dondurmada kullanılan programlı-otomatik ve mekanik olmak üzere iki yöntem vardır.
- ❑ Her iki yöntemde de önerilen optimal donmanın sağlanması için torbalara konan ürünün 100ml'den fazla olmaması ve kalınlığının 5mm'yi geçmemesidir.

Dondurma işlemi ve yöntemleri

- ❑ Umblikal kord, kemik iliği ve periferik kök hücreler için hız kontrollü dondurma standart yöntem olarak düşünülmektedir.
- ❑ Çeşitli çalışmalarda, mekanik dondurmaya göre daha üstün bulunmuştur.
- ❑ Ucuz bir yöntem olmakla birlikte, zaman alıcı ve deneyimli personel gerektiren bir yöntem olması dezavantajları arasında sayılabilir.

Lewis JP, et al. The effect of cooling regimens on the transplantation potential of marrow. *Transfusion*; 7: 17–32.

Meryman HT, et al. Freezing injury from solution effects" and its prevention by natural or artificial cryoprotection. *Cryobiology*; 14: 287–302.

Ketheesan N, et al. Effect of cryopreservation on the immunogenicity of umbilical cord blood cells. *Transfus Apher Sci*; 30: 47–54.

Almici C, et al. Uncontrolled-rate freezing of peripheral blood progenitor cells allows successful engraftment by sparing primitive and committed hematopoietic progenitors. *Haematologica*; 88: 1390–1395.

Soğutma işlemi



- ❑ **Mekanik dondurma:**
- ❑ Ürün -20°C 'ye kadar, soğutulmuş alüminyum plakalar vasıtasıyla monolayer haline getirilir.
- ❑ Köpük içinde veya gazlı beze sarılarak direk -80°C 'ye kaldırılır.
- ❑ Böylece ortalama $1-2^{\circ}\text{C}/\text{dk}$ 'lık bir soğutma hızı sağlanır
- ❑ Bu yöntemde, faz geçiş zamanının umulandan kısa olduğu saptanmıştır.
- ❑ Mekanik dondurma yönteminin etkilerini araştıran iki klinik çalışmada hücre kaybının yüksek olduğu bulunmakla birlikte, nötrofil ve trombosit engrafmanında uzama tespit edilmemiştir.

Lewis JP, et al. The effect of cooling regimens on the transplantation potential of marrow. *Transfusion*; 7: 17–32.

Meryman HT, et al. Freezing injury from solution effects" and its prevention by natural or artificial cryoprotection. *Cryobiology*; 14: 287–302.

Ketheesan N, et al. Effect of cryopreservation on the immunogenicity of umbilical cord blood cells. *Transfus Apher Sci*; 30: 47–54.

Almici C, et al. Uncontrolled-rate freezing of peripheral blood progenitor cells allows successful engraftment by sparing primitive and committed hematopoietic progenitors. *Haematologica*; 88: 1390–1395.

Soğutma işlemi

- Programlı-otomatize yöntem:
- Bu yöntemde ürün 4°C'ye soğutulmuş alüminyum plakalar arasında programlı soğutucuya yerleştirilir.
- 4° ile -10°C arasında 1°C/dk soğutma programlanır.
- -10°C'den sonra faz geçiş döneminde ise önerilen soğutma hızı, soğutma haznesinin ısısı -50°C ye ulaşana dek 25°C/dk, sonra ürün ısısı -20°C'ye gelene dek 15°C/dk'lık bir soğutma yapılmasıdır.
- Geçiş zamanı sonrası makine dakikada 1°C soğutmaya programlanarak ürün -80°C'ye kadar soğutulur ve azot tankına kaldırılır.





Dondurma işlemi ve yöntemleri

- Hız kontrollü ve kontrolsüz dondurmayı karşılaştıran randomize bir çalışmada, Perez-Oteya ve ark,
- viabilite testi açısından her iki yöntemin birbirine benzer olduğunu, yalnızca kontrolsüz dondurma yönteminde CFU-GM klonalitesinde azalma meydana geldiğini göstermişlerdir.
- Montanelli ve ark. tarafından yapılan klinik çalışmada ise kontrollü dondurma ile yapılan periferik kök hücre naklinde engrafman sürelerinin kontrolsüz dondurma ile yapılanlara göre daha uzun olduğu tesbit edilmiştir.

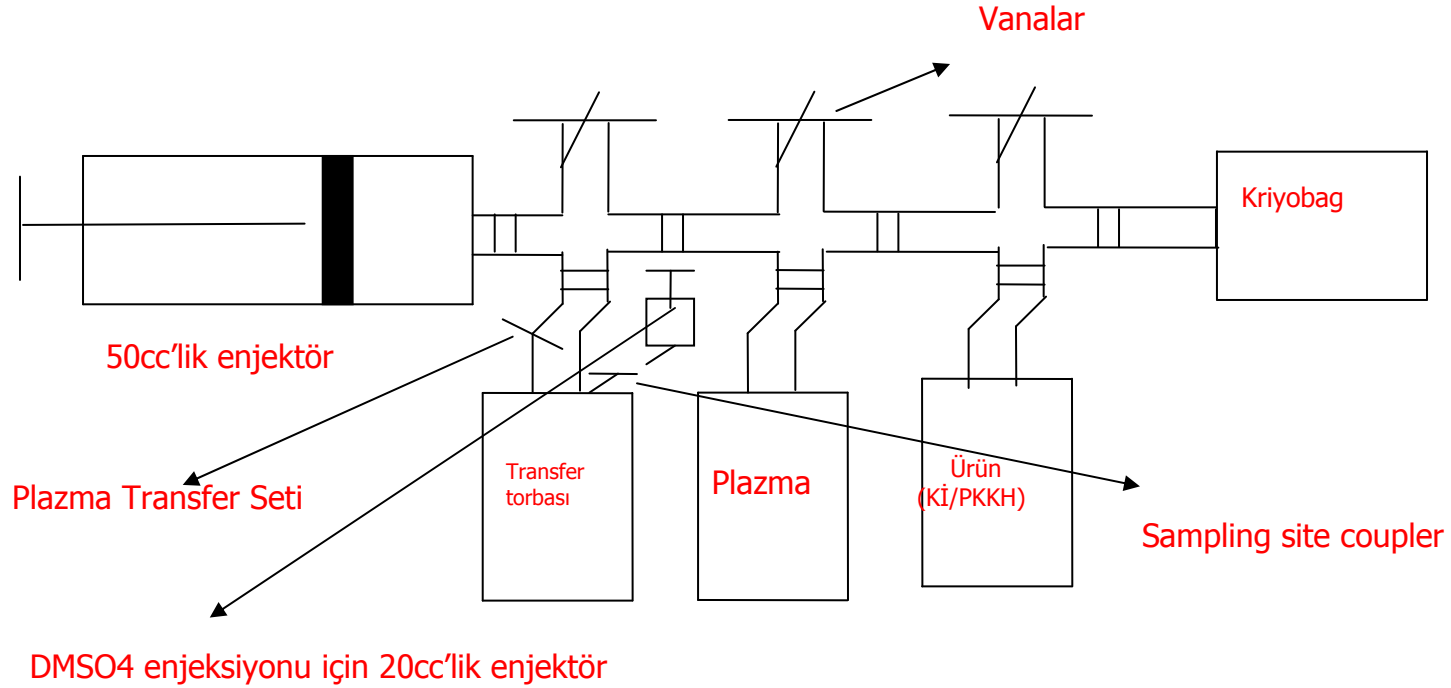
Mekanik dondurma yönteminin programlı dondurma yöntemine üstünlükleri

- ❑ Hız kontrollü dondurma yöntemine göre çok ucuz
- ❑ İşlem daha az zaman almakta
- ❑ Ek ekipmana ve azot üretim sistemine gereksinim göstermemekte
- ❑ 5 seneye varan sürelerde; viabilite ve CFU-GM oluşturma kapasitesi açısından hız kontrollü dondurmaya göre farksız sonuçları mevcut
- ❑ DMSO toksisitesi daha az
- ❑ Viral veya bakteriyel bulaş tanımlanmamış

Mekanik dondurma yönteminin programlı dondurma yöntemine göre dezavantajları

- Ürün kalitesinin hız kontrollü-programlı donduruculara göre 5 senenin üzerinde saklanması halinde ne olacağı henüz bilinmiyor.
- Farklı dondurma programlarına gidebilme şansı yok.
- Mekanik arıza problemleri söz konusu

Dondurma işlemi ve yöntemleri



Kİ : Kemik İliği

PKKH : Periferik kan kök hücre

Saklama

- Dondurma işlemi sırasında kullanılan torbaların polyolefin, teflon-kapton veya pür teflon olması ürün kalitesini etkilemektedir.
- **Ancak 12 ayın altında ki bir sürede ve -80 °C' de hücreler saklanacaksa klasik polivinilklorid (PVC) kan torbaları ile de kriyoprezervasyon yapabilmek mümkündür.**
- Eğer dondurulmaya hazır hale getirilen torbalardan küçük örnekler saklanmak isteniyorsa, bu amaçla sette bulunan 2 ml'lik cryotüpler kullanılabilir ve bu tüpler cryobaglerle aynı ortamda saklanır
- Dondurma işlemi sırasında test için polyetilen kryotüplere örnek alınmasının (ürün canlılığını, CFU-GM test etmek için) pratik bir yararı olmadığı ve tüplerde ürün kalitesinin çok bozulduğu gösterilmiştir.
- Gorin NC: Cryopreservation and storage of stem cells. Areman EM, Deeg HJ, Sacher RA (eds). Bone marrow and stem cell processing. FA Davis company, Philadelphia, 292-308:1992.

Saklama

- ❑ Eğer ürün azot tankında saklanması söz konusu ise koruyucu kılıfının da bulunması faydalıdır.
- ❑ Saklama ortamı için en uygun ortam, azot buhar fazı olup, teorik olarak ürünün sonsuza kadar saklanabileceği kabul edilir.

Saklama

- ❑ -80, -135°C'lik soğutma kapasitesine ulaşan mekanik dondurucular kurulum ve maliyet açısından daha uygundur.
- ❑ Mekanik dondurucularda saklanacak ürünlerin ayrı ayrı paketler halinde yatay saklanması önerilmektedir.

SONUÇ

- Günümüzde kullanılan kök hücre saklama uygulamalarının çoğu “ampirik kriyoprezervasyon” olarak tanımlanabilir.
- En uygun kriyoprezervasyon yöntemini belirlemek amacı ile, gerek kullanılan solüsyon, gerekse dondurma hızı ile ilgili çalışmalara devam edilmektedir.
- Ayrıca, dondurma ve saklama esnasında meydana gelen hasarı en aza indirmek için, hücre stabilizasyonunu sağlama amacıyla, hasara ait spesifik moleküler mekanizmaları belirleyerek, buna karşı önlem almak diğer bir yaklaşımdır.
- Optimal kriyoprezervasyonu sağlamak için, bugün elimizde bulunan ajanlardan daha iyi, moleküler yapısı ve donma özellikleri iyi tanımlanmış, yeni jenerasyon kriyoprotektif ajanların geliştirilmesi gerekmektedir.

Ankara Onkoloji Hastanesi Aferez Ünitesi

