

AN OVERVIEW OF CRYOPROTECTANTS FOR STEM CELL PRESERVATION

Hoang Thanh Chi*

Center for Molecular Biomedicine, University of Medicine and Pharmacy at Ho Chi Minh city, Vietnam - 217 Hong Bang, Cho Lon ward, Ho Chi Minh city, Vietnam

Received: 22/01/2026

Revised: 12/02/2026; Accepted: 04/06/2026

ABSTRACT

Objectives: This review aims to analyze the mechanisms of cryoinjury, evaluate the functional roles of cryoprotective agents, and systematize emerging strategies to mitigate cryoprotective agents toxicity in stem cell preservation.

Methods: A comprehensive literature synthesis was conducted, focusing on ice crystallization kinetics, the mechanistic pathways of permeating and non-permeating cryoprotective agents, and current optimization protocols for cryopreservation.

Results: Cryopreservation induces cellular damage primarily through intracellular ice formation and osmotic shock. While traditional cryoprotective agents, particularly dimethyl sulfoxide, provide robust protection, their significant cytotoxicity remains a major challenge. Current advancements follow two parallel trajectories: (1) Optimizing traditional protocols by controlling osmotic kinetics, utilizing sugar buffers, and employing low-concentration cryoprotective agents cocktails at reduced exposure temperatures; (2) Developing next-generation biomaterials, including antifreeze proteins, synthetic ice blockers, and biocompatible solutes.

Conclusion: Optimizing cryoprotective agents is critical for maintaining the structural integrity and functional viability of stem cells. Future trends are shifting from high-toxicity single agents toward multi-component synergistic mixtures and biomimetic materials, ensuring maximal safety and efficacy for clinical cell-based therapies.

Keywords: Stem cells, cryopreservation, cryoprotective agents (CPAs), cytotoxicity, biomaterials.

*Corresponding author

Email: htchi@ump.edu.vn **Phone:** (+84) 901341085 **DOI:** 10.52163/yhc.v67iCD6.5325

TỔNG QUAN VỀ CHẤT BẢO VỆ ĐÔNG LẠNH TRONG QUÁ TRÌNH LƯU TRỮ TẾ BÀO GỐC

Hoàng Thành Chí*

Trung tâm Y Sinh học phân tử, Đại học Y Dược thành phố Hồ Chí Minh - 217 Hồng Bàng, phường Chợ Lớn, thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

Ngày nhận bài: 22/01/2026

Ngày chỉnh sửa: 12/02/2026; Ngày duyệt đăng: 04/06/2026

TÓM TẮT

Mục tiêu: Nghiên cứu tổng quan nhằm phân tích cơ chế tổn thương tế bào do bảo quản lạnh, đánh giá vai trò của các chất bảo vệ đông lạnh và hệ thống hóa các chiến lược giảm thiểu độc tính nhằm tối ưu hóa quy trình lưu trữ tế bào gốc.

Phương pháp: Tổng hợp và hệ thống hóa y văn về động học kết tinh, cơ chế hoạt động của các chất bảo vệ đông lạnh thẩm thấu và không thẩm thấu, cùng các phác đồ tối ưu hóa quy trình bảo quản hiện hành.

Kết quả: Quá trình đông lạnh gây tổn thương tế bào chủ yếu qua sự hình thành tinh thể đá và sốc thẩm thấu. Mặc dù dimethyl sulfoxide có hiệu quả bảo vệ cao nhưng độc tính hóa học đáng kể vẫn là rào cản lớn. Các chiến lược hiện nay tập trung vào 2 hướng: (1) Tối ưu hóa động học thẩm thấu thông qua hỗn hợp chất bảo vệ đông lạnh nồng độ thấp, bổ sung bộ đệm đường và kiểm soát nhiệt độ tiếp xúc; (2) Ứng dụng vật liệu sinh học thế hệ mới như protein chống đông, chất chẹn tinh thể tổng hợp và các chất hòa tan tương thích sinh học.

Kết luận: Tối ưu hóa chất bảo vệ đông lạnh là yếu tố then chốt để duy trì tính toàn vẹn của tế bào gốc. Xu hướng nghiên cứu đang dịch chuyển từ các hóa chất đơn lẻ độc tính cao sang phối hợp đa thành phần và vật liệu mô phỏng sinh học, nhằm đảm bảo an toàn và hiệu quả cho các liệu pháp tế bào lâm sàng.

Từ khóa: Tế bào gốc, bảo quản lạnh, chất bảo vệ đông lạnh (CPA), độc tính tế bào, vật liệu sinh học.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong lĩnh vực y học tái tạo, tế bào gốc trung mô (mesenchymal stem cells - MSC) đã trở thành tâm điểm nhờ khả năng biệt hóa đa dòng và nguồn gốc phân lập đa dạng từ tủy xương, dây rốn, nhau thai hoặc mô mỡ [1]. Hiệu quả điều trị của MSC được thực hiện chủ yếu thông qua cơ chế cận tiết [2]. Bằng cách giải phóng các cytokine và yếu tố tăng trưởng, MSC điều hòa vi môi trường tại chỗ, thúc đẩy tăng sinh mạch máu, giảm xơ hóa và đặc biệt là thực hiện chức năng điều hòa miễn dịch [2]. Các tác động này bao gồm ức chế sự kích hoạt tế bào T, điều hướng đại thực bào sang kiểu hình chống viêm M2, và hiệu chỉnh chức năng của tế bào B cũng như tế bào tua, mở ra triển vọng điều trị các bệnh lý viêm hệ thống và bệnh ghép chống chủ [1].

Tuy nhiên, việc chuyển đổi MSC thành các sản phẩm thương mại quy mô lớn đối mặt với những thách thức đáng kể về công tác bảo quản và tiêu chuẩn hóa tế bào sau đông lạnh [3]. Trong bối cảnh đó, kỹ thuật bảo quản lạnh sâu đóng vai trò là nền tảng thiết yếu, cho phép lưu trữ lâu dài trong nitơ lỏng (-196°C) để tạo ra các lô sản phẩm đồng nhất và sẵn có [3]. Ở nhiệt độ này, các phản ứng sinh hóa bị đình trệ, giúp bảo tồn tính toàn vẹn di

truyền và chức năng sinh học của tế bào. Dù mang lại lợi ích chiến lược cho việc xây dựng ngân hàng tế bào và sản xuất dược phẩm sinh học, quy trình đông lạnh và rã đông khắc nghiệt vẫn tiềm ẩn nguy cơ gây tổn thương tế bào, ảnh hưởng đến tỷ lệ sống sót và các chức năng thiết yếu.

Một vấn đề cốt lõi đang được tranh luận là liệu MSC sau rã đông có duy trì được hiệu lực trị liệu, đặc biệt là khả năng điều hòa miễn dịch, tương đương với tế bào tươi hay không. Các bằng chứng hiện tại cho thấy việc đánh giá đơn thuần dựa trên tỷ lệ sống sót không phản ánh đầy đủ tiềm năng chức năng thực tế của tế bào [1]. Do sự biến thiên nội tại giữa các mẫu được thu thập và lưu trữ, cũng như sự khác biệt trong quy trình sản xuất, việc thiết lập các thử nghiệm đánh giá chức năng chuyên sâu là yêu cầu bắt buộc để đảm bảo chất lượng và tính nhất quán của các liệu pháp tế bào trên lâm sàng [1], [3].

Chúng tôi tiến hành nghiên cứu tổng quan nhằm phân tích cơ chế tổn thương tế bào do bảo quản lạnh, đánh giá vai trò của các chất bảo vệ đông lạnh (cryoprotective agents - CPA) và hệ thống hóa các chiến lược giảm thiểu độc tính nhằm tối ưu hóa quy trình lưu trữ tế bào gốc.

*Tác giả liên hệ

Email: htchi@ump.edu.vn Điện thoại: (+84) 901341085 DOI: 10.52163/yhc.v67iCD6.5325

2. PHƯƠNG PHÁP TỔNG QUAN

2.1. Tiêu chuẩn chọn lựa tài liệu tham khảo

Nghiên cứu được thực hiện thông qua truy vấn các cơ sở dữ liệu quốc tế (PubMed, EMBASE, Web of Science, SCOPUS, Google Scholar) và nội địa. Các từ khóa chính bao gồm: cryoprotective agents (CPAs), stem cell cryopreservation, DMSO-free, vitrification, slow freezing, post-thaw viability, engraftment potential và các thuật ngữ tiếng Việt tương ứng.

Tiêu chí lựa chọn nghiên cứu:

- Đánh giá hiệu quả bảo vệ và độc tính của CPAs (thẩm thấu/không thẩm thấu) trên các dòng tế bào gốc (HSC, MSC).
- Mô tả chi tiết quy trình đông lạnh/rã đông, nồng độ chất bảo quản và các chỉ số chất lượng tế bào (tỷ lệ sống, tăng sinh, biệt hóa, khả năng làm tổ).
- Ưu tiên các thử nghiệm lâm sàng, nghiên cứu in vivo/ in vitro và các phân tích tổng hợp trên các tạp chí uy tín thuộc lĩnh vực y học tái tạo và huyết học.

2.2. Tiêu chuẩn loại trừ tài liệu tham khảo

Loại trừ các bài viết không có dữ liệu nguyên gốc, thư biên tập, ý kiến chuyên gia, các báo cáo hội nghị tóm tắt, hoặc các nghiên cứu thiếu chi tiết về công thức chất bảo vệ đông và quy trình xử lý mẫu.

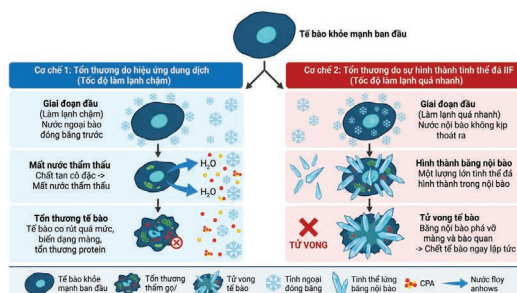
3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Cơ chế tổn thương tế bào và nguyên lý bảo vệ

Như đã biết thì tế bào người đã tiến hóa để duy trì chức năng trong một dải nhiệt độ sinh lý rất hẹp, nhưng các nghiên cứu trước đó đã chỉ ra rằng nhiệt độ âm (lạnh sâu) không mang độc tính nội tại mà chính sự chuyển đổi trạng thái không kiểm soát giữa pha lỏng và pha rắn mới là tác nhân gây tổn thương tế bào trong quá trình bảo quản. Do đó, chìa khóa của bảo quản lạnh sâu nằm ở việc điều tiết động học làm lạnh và rã đông để giảm thiểu các sai lỗi sinh học trong giai đoạn chuyển tiếp. Theo giả thuyết hai yếu tố (two-factor hypothesis) của Mazur P [4], tế bào chịu tác động bởi hai cơ chế tổn thương độc lập:

Thứ nhất, tổn thương do hiệu ứng dung dịch thường xảy ra ở tốc độ làm lạnh chậm. Khi nước ngoại bào kết tinh, nồng độ chất tan tăng đột ngột tạo ra áp suất thẩm thấu cực lớn, kéo nước nội bào thoát ra ngoài gây co rút tế bào, biến dạng màng và biến tính protein.

Thứ hai, tổn thương do hình thành tinh thể đá nội bào (intracellular ice crystals - IIC) chiếm ưu thế khi tốc độ làm lạnh quá nhanh. Trong giả thuyết này, nước nội bào không kịp thoát ra ngoài, dẫn đến sự kết tinh trực tiếp bên trong tế bào, phá vỡ cấu trúc màng và các bào quan, gây chết tế bào tức thì hoặc sau rã đông. Do đó, việc xác định tốc độ làm lạnh tối ưu là điều kiện tiên quyết để cân bằng giữa rủi ro sốc thẩm thấu và sự hình thành tinh thể đá nội bào.



Hình 1. Hai cơ chế chính trong tổn thương tế bào do lạnh

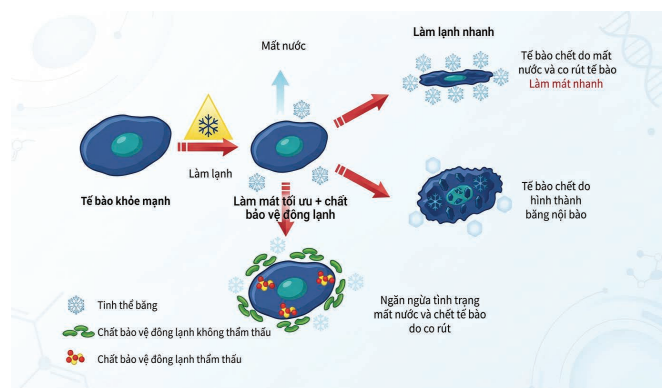
Bên cạnh tốc độ làm lạnh tối ưu, hiệu quả của quá trình bảo quản lạnh còn phụ thuộc chặt chẽ vào động học rã đông, đặc tính của các CPA và trạng thái sinh lý tế bào. Quá trình hâm nóng cần được thực hiện nhanh chóng để ngăn chặn hiện tượng tái kết tinh - sự hội tụ của các tinh thể băng nhỏ thành các khối tinh thể lớn gây phá hủy cấu trúc bào quan và màng tế bào. Song song đó, việc sử dụng CPA như dimethyl sulfoxide (DMSO) đóng vai trò thiết yếu trong việc ổn định áp suất thẩm thấu và duy trì thể tích tế bào thông qua khả năng thay thế nước nội bào. Cơ chế bảo vệ của CPA là dựa trên việc liên kết hydro với phân tử nước để ức chế sự hình thành băng và giảm nồng độ điện giải. Tuy nhiên, độc tính hóa học của các CPA thẩm thấu truyền thống vẫn là rào cản lớn, thúc đẩy các nghiên cứu tìm kiếm các giải pháp thay thế an toàn hơn.

Cuối cùng, tình trạng sinh lý của tế bào tại thời điểm bảo quản là yếu tố quyết định đến khả năng phục hồi sau rã đông. Các tế bào đang trong chu kỳ phân chia mạnh, đang biệt hóa hoặc chịu tác động của stress oxy hóa thường có độ nhạy cảm cao hơn với các tổn thương vật lý và hóa học. Do đó, việc tối ưu hóa quy trình bảo quản lạnh đòi hỏi một cách tiếp cận toàn diện, kết hợp giữa kiểm soát động học nhiệt độ, hiệu chỉnh nồng độ các CPA và đánh giá nghiêm ngặt trạng thái sinh học của tế bào đầu vào.

3.2. Phân loại các CPA

3.2.1. Vai trò của các CPA

CPA là các hợp chất thiết yếu giúp giảm thiểu tổn thương tế bào trong chu kỳ nhiệt thông qua nhiều cơ chế hiệp đồng. Bằng cách hạ điểm đóng băng và ức chế động học kết tinh, CPA hạn chế các tác động cơ học và biến đổi thẩm thấu gây phá hủy cấu trúc tế bào. Ngoài ra, CPA làm giảm nồng độ chất tan độc hại trong pha lỏng còn lại, đồng thời điều tiết quá trình mất nước nội bào để ngăn chặn sự hình thành các IIF - tác nhân chính gây tử vong tế bào (hình 2).

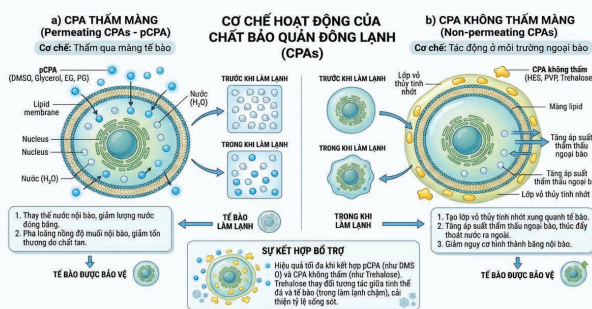


Hình 2. Cơ chế tổn thương tế bào trong quá trình đông lạnh và vai trò của các CPA

Sự thiếu hụt CPA dẫn đến tỷ lệ sống sót sau rã đông cực thấp (dưới 2%), khẳng định vai trò không thể thay thế của chúng trong y học tái tạo. Một CPA lý tưởng cần đáp ứng các tiêu chí: độ hòa tan cao trong nước ở nhiệt độ thấp, khả năng xuyên màng tối ưu và độc tính tế bào tối thiểu. Việc lựa chọn hệ thống CPA phù hợp là yếu tố quyết định để bảo tồn tính toàn vẹn và phục hồi chức năng sinh học của tế bào gốc sau bảo quản lạnh.

3.2.2. Phân loại các CPA

Dựa trên khả năng di xuyên qua màng tế bào, các CPA được phân loại thành 2 nhóm chính: CPA thấm màng và CPA không thấm màng (hình 3).



Hình 3. Phân loại các CPA dựa theo cơ chế hoạt động

Các CPA thấm màng như DMSO, glycerol, ethylene glycol sở hữu cấu trúc phân tử nhỏ và không mang điện, cho phép khuếch tán dễ dàng vào không gian nội bào. Tại đây, chúng thay thế nước và pha loãng nồng độ điện giải, giúp giảm thiểu tổn thương do hiệu ứng dung dịch và hạn chế lượng nước đóng băng nội bào. Ngược lại, các CPA không thấm màng (như trehalose, hydroxyethyl starch) là các đại phân tử chỉ hoạt động tại môi trường ngoại bào. Chúng tạo ra lớp vỏ thủy tinh nhớt và thiết lập áp suất thẩm thấu cao, thúc đẩy quá trình thoát nước chủ động để ngăn chặn sự hình thành IIF.

Trong thực tiễn, việc phối hợp 2 nhóm này giúp tối ưu hóa hiệu quả bảo vệ. Đặc biệt, trehalose đã được chứng minh có khả năng hiệu chỉnh tương tác giữa tinh thể đá và bề mặt tế bào, giúp cải thiện đáng kể tỷ lệ sống sót sau rã đông trong các phác đồ làm lạnh chậm.

3.2.3. Cơ chế hoạt động của CPA

Các CPA hoạt động dựa trên nguyên lý tập hợp, tức là các tính chất của dung dịch phụ thuộc vào tổng số lượng phân tử hòa tan chứ không phải bản chất hóa học của chúng. Khi một chất tan được thêm vào dung môi (ví dụ: nước), số lượng các phân tử hoặc ion trong dung dịch tăng lên, dẫn đến các thay đổi về tính chất vật lý của dung dịch. Cụ thể, dung dịch sẽ có điểm đóng băng thấp hơn và điểm sôi cao hơn so với dung môi tinh khiết. Điều này là do sự hiện diện của các phân tử chất tan làm cản trở quá trình hình thành mạng tinh thể (đóng băng) hoặc bay hơi (sôi) của dung môi. Ví dụ, khi thêm muối vào nước, điểm đóng băng của nước sẽ giảm xuống. Trong bảo quản lạnh tế bào, các CPA hoạt động dựa trên nguyên lý này để giảm thiểu tổn thương do băng giá gây ra cho tế bào.

Trong điều kiện làm lạnh sâu, phần nước trong môi trường ngoại bào bắt đầu kết tinh, dẫn đến sự cô đặc của các chất hòa tan còn lại. Điều này làm tăng áp suất thẩm thấu và nồng độ ion muối, có thể gây độc cho tế bào [4]. Việc bổ sung CPA giúp thay thế một phần các ion muối bằng các phân tử có độc tính thấp hơn, từ đó giảm thiểu tổn thương do stress thẩm thấu và độc tính ion.

Bên cạnh đó, CPA còn có khả năng giảm lượng nước có thể kết tinh, nhờ đó hạn chế sự hình thành băng nội bào IIF, yếu tố chính gây phá vỡ màng tế bào và tổn thương bào quan [4]. Đặc biệt, một số CPA như DMSO còn có thể tương tác trực tiếp với màng lipid, giúp ổn định cấu trúc

màng và bảo vệ tế bào khỏi các biến đổi vật lý trong quá trình hạ nhiệt độ [5].

Như vậy, thông qua nhiều cơ chế phối hợp, CPA góp phần bảo vệ tế bào khỏi các tác nhân gây hại trong quá trình đông lạnh và rã đông.

3.2.4. Tác dụng phụ và độc tính của CPA

Hiện nay, độc tính của CPA chính là rào cản lớn nhất trong công nghệ bảo quản lạnh sâu [6]. Độc tính này được phân loại thành 2 nhóm: độc tính đặc hiệu, phát sinh từ các sản phẩm chuyển hóa riêng biệt (như sự hình thành axit glycolic từ ethylene glycol gây toan chuyển hóa); và độc tính không đặc hiệu, do các liên kết hydro mạnh của CPA làm biến tính cấu trúc protein ở nồng độ cao. Trên lâm sàng, việc truyền tế bào chứa DMSO có thể gây ra các phản ứng hệ thống nghiêm trọng như rối loạn nhịp tim và chức năng tim mạch. Ở cấp độ tế bào, DMSO tiềm ẩn nguy cơ kích hoạt apoptosis và làm sai lệch biểu hiện gen.

Tổn thương tế bào không chỉ xuất phát từ bản chất hóa học mà còn do các sai sót trong quy trình thao tác. Nồng độ CPA cao kết hợp với nhiệt độ tiếp xúc lớn sẽ trực tiếp phá hủy màng tế bào và cấu trúc protein. Đặc biệt, sự thay đổi đột ngột nồng độ CPA trong các bước nạp hoặc rửa trôi hóa chất gây ra sốc thẩm thấu, tạo áp lực cơ học làm vỡ màng tế bào [7]. Ngoài ra, sự mất cân bằng nồng độ CPA giữa nội và ngoại bào hoặc phân bố không đồng nhất trong mẫu cũng làm sụt giảm nghiêm trọng tỷ lệ sống sót của quần thể tế bào.

Để tối ưu hóa sự cân bằng giữa hiệu quả bảo vệ và độc tính, các phác đồ tăng tải dần đã được phát triển. Thay vì tiếp xúc đơn liều, CPA được bổ sung theo nồng độ tăng dần đồng bộ với quá trình hạ nhiệt. Chiến lược này giúp tế bào đạt trạng thái cân bằng thẩm thấu một cách ổn định, triệt tiêu stress cơ học và giảm thiểu độc tính hóa học do nhiệt độ thấp làm chậm các phản ứng sinh hóa. Tựu trung lại, việc tinh chỉnh loại CPA, nồng độ và quy trình nạp/rửa là điều kiện tiên quyết để bảo tồn tối đa chức năng sinh lý của tế bào gốc trong các ứng dụng y sinh hiện đại.

3.2.5. Chiến lược sử dụng CPA hiệu quả

Để vượt qua rào cản độc tính của các CPA truyền thống, giới nghiên cứu hiện đang triển khai hai chiến lược song song là tối ưu hóa quy trình xử lý và phát triển các vật liệu sinh học thay thế thế hệ mới (hình 4).



Hình 4. Các chiến lược sử dụng CPA hiệu quả

Trong hướng tiếp cận thứ nhất, mục tiêu cốt lõi là điều tiết động học thẩm thấu nhằm giảm thiểu sốc nhiệt và bảo

tồn tính toàn vẹn di truyền của tế bào. Việc bổ sung hoặc loại bỏ CPAs theo nồng độ bậc thang cho phép màng tế bào thích nghi dần với sự thay đổi áp suất, từ đó triệt tiêu nguy cơ biến dạng hoặc vỡ màng [8]. Đồng thời, việc sử dụng các bộ đệm thẩm thấu như sucrose hoặc dextran giúp kiểm soát dòng chảy của nước, ngăn chặn hiện tượng trương nở quá mức trong pha rã đông. Hiệu quả bảo vệ còn được tăng cường thông qua việc sử dụng các hỗn hợp CPA nồng độ thấp, phối hợp nhiều loại chất có cơ chế khác nhau như DMSO, ethylene glycol và trehalose để tạo ra tác động cộng hưởng trong khi pha loãng độc tính đơn lẻ [9]. Ngoài ra, việc thực hiện các thao tác nạp và rửa CPA ở 4°C giúp làm chậm các phản ứng chuyển hóa, hạn chế tối đa tổn thương hóa học.

Song song với việc tinh chỉnh quy trình, hướng phát triển vật liệu sinh học thế hệ mới đang mở ra những giải pháp an toàn hơn thông qua các hợp chất mô phỏng tự nhiên. Các protein chống đông sinh học có khả năng liên kết trực tiếp và ức chế sự tăng trưởng của tinh thể đá, trong khi các chất chẹn tinh thể tổng hợp như polyglycerol hay polyvinyl alcohol giúp ngăn chặn hiện tượng tái kết tinh ngay cả ở nồng độ cực thấp [10]. Bên cạnh đó, các chất hòa tan tương thích như hydroxyectoine và L-proline đóng vai trò then chốt trong việc ổn định cấu trúc đại phân tử và duy trì áp suất thẩm thấu nội bào dưới tác động của stress nhiệt. Việc tích hợp các hợp chất này không chỉ bảo vệ cấu trúc tế bào mà còn cho phép giảm thiểu nồng độ các CPA truyền thống, tạo tiền đề cho việc hoàn thiện kỹ thuật thủy tinh hóa và nâng cao hiệu suất cho các liệu pháp tế bào lâm sàng trong tương lai.

4. KẾT LUẬN

Bảo quản lạnh sâu là khâu thiết yếu trong chuỗi cung ứng liệu pháp tế bào, song luôn đối mặt với thách thức từ tổn thương vật lý và sốc thẩm thấu. Mặc dù DMSO thể hiện hiệu quả bảo vệ vượt trội, độc tính hóa học của nó thúc đẩy sự ra đời của 2 chiến lược đột phá: tối ưu hóa quy trình thông qua kiểm soát động học thẩm thấu, hạ nhiệt độ tiếp xúc và sử dụng bộ đệm đường; đồng thời ứng dụng các vật liệu sinh học thế hệ mới như protein chống đông, chất chẹn tinh thể tổng hợp và các chất hòa tan tương thích. Xu hướng này đánh dấu sự dịch chuyển sang các hệ thống phối hợp đa chất và vật liệu mô phỏng sinh học,

nhằm bảo tồn tối đa tính toàn vẹn chức năng của tế bào gốc, đảm bảo an toàn và hiệu quả cho các ứng dụng lâm sàng tương lai.

5. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Hansen S.B et al. Optimizing an immunomodulatory potency assay for mesenchymal stromal cell. *Frontiers in Immunology*, 2022, 13: 1085312. doi: 10.3389/fimmu.2022.1085312.
- [2] Spees J.L et al. Mechanisms of mesenchymal stem/stromal cell function. *Stem Cell Res Ther*, 2016, 7 (1): 125. doi: 10.1186/s13287-016-0363-7.
- [3] Crow D. Could iPSCs enable “off-the-shelf” cell therapy? *Cell*, 2019, 177 (7): 1667-1669. doi: 10.1016/j.cell.2019.05.043.
- [4] Mazur P. Kinetics of water loss from cells at subzero temperatures and the likelihood of intracellular freezing. *The Journal of General Physiology*, 1963, 47 (2): 347-369. doi: 10.1085/jgp.47.2.347.
- [5] Talsma H et al. The cryopreservation of liposomes: A differential scanning calorimetry study of the thermal behavior of a liposome dispersion containing mannitol during freezing/thawing. *Pharmaceutical Research*, 1991, 8 (8): 1021-6. doi: 10.1023/a:1015857008057.
- [6] Best B.P. Cryoprotectant toxicity: facts, issues, and questions. *Rejuvenation Research*, 2015, 18 (5): 422-436. doi: 10.1089/rej.2014.1656.
- [7] Gao D et al. Mechanisms of cryoinjury in living cells. *ILAR Journal*, 2000, 41 (4): 187-196. doi: 10.1093/ilar.41.4.187.
- [8] Levin R.L et al. An optimum method for the introduction or removal of permeable cryoprotectants: isolated cells. *Cryobiology*, 1981, 18 (1): 32-48. doi: 10.1016/0011-2240(81)90004-3.
- [9] Fahy G. Metal. Cryopreservation of organs by vitrification: perspectives and recent advances. *Cryobiology*, 2004, 48 (2): 157-78. doi: 10.1016/j.cryobiol.2004.02.002.
- [10] Nickell P.K et al. Antifreeze proteins in the primary urine of larvae of the beetle *Dendroides canadensis*. *The Journal of Experimental Biology*, 2013, 216 (9): 1695-1703. doi: 10.1242/jeb.082461.