

УДК 576.7.086.13:621.59:616-089.843

П. Мержічка^{1*}, М. Яндова^{1,2}, Б. Фуллер³, Ї. Грегор¹, Ш. Студена¹,
М. Ланська^{4,5}, Д. Вокуркова^{5,6}, К. Янковічова^{5,6}, І. Фаторова^{4,5},
Д. Брандейс¹, І. Гунька^{5,7}, А. Бенда⁸, Я. Сабо⁸, Л. Яноушек^{9,10}, М. Шпачек^{10,11}

Сучасний кріобанк як ключовий компонент клінічних програм трансплантації клітин та тканин

UDC 576.7.086.13:621.59:616-089.843

P. Měřička^{1*}, M. Jandová^{1,2}, B. Fuller³, J. Gregor¹, Š. Studená¹, M. Lánská^{4,5},
D. Vokurková^{5,6}, K. Jankovičová^{5,6}, I. Fátorová^{4,5}, D. Brandejs¹,
I. Guňka^{5,7}, A. Benda⁸, J. Sabó⁸, L. Janoušek^{9,10}, M. Špaček^{10,11}

The Modern Cryobank as Key Support for Clinical Cell and Tissue Transplantation Programmes

Реферат: У статті проаналізовано важливу роль сучасних кріобанків у розвитку кріотехнологій до початку проведення програм клінічної трансплантації клітин та тканин, а також у рутинній підтримці цих програм у рамках законодавчої бази, визначеної директивами Європейського Союзу. В якості прикладу представлені дві клінічні програми: програма трансплантації аутологічних та алогенних гемопоетичних клітин-попередників та Чеська національна програма трансплантації кріоконсервованої алогенної судинної тканини, що підтримується кріобанком Університетської лікарні м. Градець-Кралоуе, який входить до складу Банків тканин Європейського Союзу та зареєстрований під кодами CZ000425, CZ000426 і CZ000427. Представлено огляд дозвільних документів, які необхідно отримати перед початком проведення клінічних програм, продемонстровано високу якість технологій кріоконсервування та високий рівень безпеки персоналу кріобанку, а також підкреслено вирішальну роль кріобанку в програмах клінічних трансплантацій стовбурових клітин та судинної тканини.

Ключові слова: кріобанк, кріоконсервування, трансплантація, гемопоетичні клітини-попередниці, судинні трансплантати, зберігання в рідкому азоті, дефіцит кисню, бактеріальне забруднення, оцінка ризику.

Abstract: The authors review the essential role of modern cryobanks in the development of cryotechnology before the start of the clinical cell and tissue transplantation programme and in the routine support of these programmes within the legislative framework settled by the European Union directives. Two clinical programmes are presented as examples: the autologous and allogeneic haematopoietic progenitor cell (HPC) transplantation programme and the Czech national cryopreserved allogeneic vascular tissue (VT) transplantation programme supported by the cryobank of the University Hospital Hradec Králové, which is a part of the European Union Tissue Establishment registered under the codes CZ000425, CZ000426 and CZ000427. An overview of necessary approvals to be obtained before the start of clinical programmes is presented, the high quality of cryopreservation technology and high level of cryobank staff safety is demonstrated, and the crucial role of the cryobank in clinical HPC and VT transplantation programmes is highlighted.

Key words: cryobank, cryopreservation, transplantation, haematopoietic progenitor cells, vascular grafts, liquid nitrogen storage, oxygen deficiency, bacterial contamination, risk assessment

¹ Банк тканин Університетської лікарні, м. Градець-Кралоуе, Чеська Республіка

² Кафедра гістології та ембріології, Карлів університет, медичний факультет у м. Градець-Кралоуе, Чеська Республіка

³ Відділення хірургії та інтервенційних наук, Медична школа Університетського коледжу Лондона, Лондон, Велика Британія

⁴ 4-та кафедра внутрішньої медицини-гематології, Карлів університет, медичний факультет у м. Градець-Кралоуе, Чеська Республіка

⁵ Університетська лікарня м. Градець-Кралоуе, Чеська Республіка

⁶ Кафедра клінічної імунології та алергології, Карлів університет, медичний факультет у м. Градець-Кралоуе, Чеська Республіка

⁷ Кафедра хірургії, Карлів університет, медичний факультет у м. Градець-Кралоуе, Чеська Республіка

⁸ Центр методів візуалізації в BIOCEV, природничий факультет Карлового університету, м. Прага, Чеська Республіка

⁹ Відділення трансплантаційної хірургії, Інститут клінічної та експериментальної медицини, м. Прага, Чеська Республіка

¹⁰ Перший медичний факультет, Карлів університет, м. Прага, Чеська Республіка

¹¹ Друге хірургічне відділення — відділення серцево-судинної хірургії Загальної університетської лікарні, м. Прага, Чеська Республіка

*Автор, якому необхідно надсилати кореспонденцію:

вул. Сокольська, 581, м. Градець-Кралоуе, Чеська Республіка;
тел.: +42 049 583 4264
електронна пошта: pavel.mericka@fnhk.cz

Надійшла 14.10. 2023

Прийнята до друку 27.05.2024

© Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, 2024
© Publisher Publishing House 'Akademperiodyka' of the National Academy of Sciences of Ukraine, 2024

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>), which permits unrestricted reuse, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

¹ Tissue Bank University Hospital Hradec Králové, Czech Republic

² Department of Histology and Embryology, Charles University, Faculty of Medicine in Hradec Králové, Czech Republic

³ Division of Surgery & Interventional Sciences, UCL Medical School, London, United Kingdom

⁴ 4th Department of Internal Medicine – Haematology, Charles University, Faculty of Medicine in Hradec Králové, Czech Republic

⁵ University Hospital, Hradec Králové, Czech Republic

⁶ Department of Clinical Immunology and Allergology, Charles University, Faculty of Medicine in Hradec Králové, Czech Republic

⁷ Department of Surgery, Charles University, Faculty of Medicine in Hradec Králové, Czech Republic

⁸ Imaging Methods Core Facility at BIOCEV, Faculty of Science, Charles University, Prague, Czech Republic

⁹ Department of Transplantation Surgery, Institute of Clinical and Experimental Medicine, Prague, Czech Republic

¹⁰ 1st Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic

¹¹ 2nd Department of Surgery – Cardiovascular Surgery General University Hospital, Prague, Czech Republic

*To whom correspondence should be addressed:

581, Sokolská str., Hradec Králové Czech Republic
tel.: +42 049 583 4264
e-mail: pavel.mericka@fnhk.cz

Received October, 14, 2023

Accepted May, 27, 2024

Кріобанк — установа, в якій клітини та тканини зберігаються для дослідницьких, сільськогосподарських або клінічних цілей при криогенних температурах, тобто між -150°C та абсолютним нулем [16]. Кріобанки можуть бути частиною біобанків, в яких збирають та зберігають зразки клітин або тканин для досліджень та які здебільшого фінансуються за рахунок дослідницьких грантів [3, 12, 22]. Кріобанки дозволяють накопичувати генетичний матеріал тваринного або рослинного походження з метою збереження генетичного біорізноманіття [64] або поточної селекційної роботи [92]. Кріобанки, в яких обробляють і зберігають клітини та тканини для клінічного використання, часто є частиною банків клітин або тканин [58, 76, 105].

Кріобанки спочатку розвивалися на базі експериментальних кріолабораторій при університетських кафедрах низькотемпературної біології та фізики або продовжували діяльність відділень служби переливання крові. Ранній етап розвитку кріобанкінгу добре описаний у класичних монографіях, авторами яких є В. Luyet і М. Gehenio [67], А. Smith [99], Н. Meryman [71], М. Пушкар та А. Білоус [93], А. Білоус та В. Грищенко [10]. На цьому етапі для забезпечення потреб експериментальних кріобіологічних робіт було достатньо невеликих посудин Дьюара (рис. 1). Єдиним ризиком для здоров'я персоналу, пов'язаним з використанням рідкого азоту в експериментальних кріолабораторіях, які були розташовані в підземних приміщеннях без належної вентиляції або відповідних індикаторів рівня кисню в атмосфері, було обмороження.

Реального ризику виникнення кисневої недостатності не існувало, оскільки під час експериментів використовували лише невеликі об'єми криогенних рідин (рис. 2). Проблема ризику кисневої недостатності виникла тоді, коли у клінічній практиці для заморожування та зберігання великих об'ємів клітин та тканин, наприклад, гемопоетичних клітин-попередників (ГКП), потрібно було використовувати велику кількість криогенних рідин. Одним з можливих рішень стало розміщення великих резервних посудин Дьюара за межами приміщення кріобанку. У цьому випадку контейнери для зберігання біологічних матеріалів, що містили клітини для клінічного застосування, зазвичай закріплювали ланцюгами з нержавіючої сталі з замками, іноді їх захищали шкіряними чохлами, виготовленими за індивідуальним замовленням. В якості альтернативи контейнери для зберігання біологічних матеріалів використовували резервні посудини Дьюара з рідким азотом, які розміщували



Рис. 1. Малі посудини Дьюара (STS Říčany, Чехословаччина).

Fig. 1. Small Dewar vessels (STS Říčany, Czechoslovakia).

A cryobank is a facility that stores cells and tissues for research, agricultural or clinical purposes at cryogenic temperatures, *i. e.*, between -150°C and absolute zero [16]. Cryobanks can be part of biobanks that collect and store cell or tissue samples

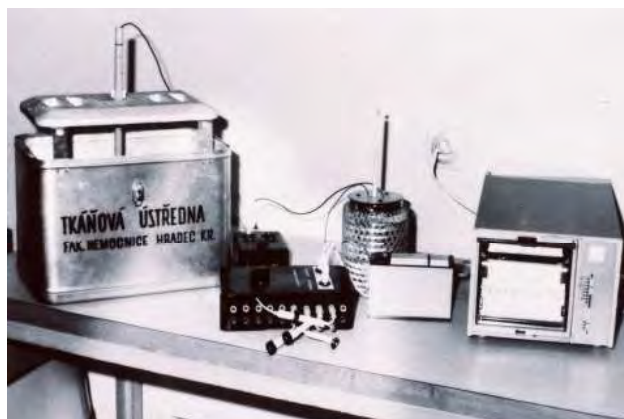


Рис. 2. Простий пристрій, який використовується для експериментального контрольованого заморожування в паровій фазі рідкого азоту, сконструйований др. Й. Хегером, Банк тканин Університетської лікарні м. Градець-Кралоуе.

Fig. 2. The simple device for experimental controlled freezing in the vapour phase of liquid nitrogen, designed by Dr. J. Heger, Tissue Bank of the University Hospital, Hradec Králové.



в тимчасових приміщеннях поблизу кріобанку (рис. 3). При цьому на ранньому етапі дослідники часто застосовували технічний рідкий азот.

Іншим альтернативним способом уникнути та/або знизити ризик кисневої недостатності було використання механічних морозильних камер з робочою температурою від -8 до -150°C та ава-



Рис. 3. Великий біологічний контейнер BK 200 A (Ferox Děčín, Чехословаччина), для зберігання кріоконсервованих ГКП (1) та невеликі резервні посудини Дьюара (STS Říčany) (2).

Fig. 3. Large biological container BK 200 A (Ferox Děčín, Czechoslovakia) used for storage of cryopreserved HPCs (1) and the small back-up Dewar vessels (STS Říčany) (2).

рійним резервним охолодженням на основі CO_2 або рідкого азоту (рис. 4). Цей спосіб був популярним у минулому, навіть для зберігання кріоконсервованих ГКП [13, 68, 103] допоки W. Rowe та A. Splettek не виявили його значні обмеження [97]. Даний спосіб й досі широко використовується як в біобанках, так і в Банках тканин, якщо відсутня необхідність у збереженні життєздатності клітин.

Спільною рисою Банків тканин та біобанків є використання кріогенних рідин. Хоча в минулому велися дискусії про можливість зберігання життєздатних клітин та тканин у рідкому гелії (при $-268,93^{\circ}\text{C}$), жодних практичних переваг цього методу порівняно зі зберіганням при температурі рідкого азоту продемонстровано не було. Зберігання при температурі рідкого азоту може повністю забезпечити клінічно прийнятну життєздатність та відновлення ГКП протягом 19 років [38, 100].

Біобанки та Банки тканин повинні дотримуватись етичних принципів, викладених у Європейській конвенції з біоетики [25] та Додатковому протоколі до неї [26]. При цьому Банки тканин зобов'язані дотримуватись спеціального закону, що регулює їхню діяльність. Подібні за-

for research and are mostly funded by research grants [3, 12, 22]. Many cryobanks store genetic material of animal or plant origin for biodiversity conservation purposes [64] or for routine breeding services [92]. The cryobanks that process and store cells and tissues for clinical use are often parts of cell or tissue banks [58, 76, 105].

Originally, cryobanks developed from experimental cryolaboratories of university departments of low-temperature biology and physics, or as an extension of activities of transfusion service departments. This early stage of cryobanking is well described in classic cryobiology monographs written by B. Luyet and M. Gehenio [67], A. Smith [99], H. Meryman [71], N. Pushkar and A. Belous [93] and A. Belous and V. Grischenko [10]. In this stage, small Dewar vessels (Fig. 1) were sufficient to cover the needs of experimental cryobiological work, and frost-bites were regarded as the only risk connected with the use of liquid nitrogen in experimental cryolaboratories, which were frequently located in underground premises without adequate ventilation or appropriate indications of atmospheric oxygen levels.

A real oxygen deficiency risk did not exist if only small quantities of cryogenic fluids were used during experiments (Fig. 2). The problem of oxygen deficiency risks emerged if the transfer of the



Рис. 4. Морозильна камера «Revco ULT» («Rheem Scientific», США) з резервною системою охолодження рідким азотом.

Fig. 4. Revco ULT freezer, (Rheem Scientific, USA) with emergency liquid nitrogen back up cooling system.

кони було розроблено в США та Європейському Союзі (ЄС) протягом останніх двох десятиліть. У цій статті детально розглядається застосування вказаного Закону. З 2004 р., коли набула чинності Директива Європейського Парламенту та Ради Європи 2004/23/ЄС [36], Банки тканин у країнах-членках ЄС мають назву тканинних установ (ТУ) [88]. Ця директива зобов'язала країни-членкині ЄС призначити національний уповноважений орган, який повинен відповідати за акредитацію/ліцензування та постійний нагляд за ТУ.

Директива №2004/23/ЄС та дві Директиви Європейської Комісії (ЕК), які набули чинності двома роками пізніше, окреслили вимоги до ТУ. Директива ЕК №2006/17/ЄС [30] спрямована на забезпечення захисту прав донорів на основі принципу добровільності та безоплатності донорства, а також на встановлення високих стандартів до критеріїв відбору донорів, які перевіряються шляхом скринінгу на наявність ризику інфекційних захворювань та серологічного тестування.

Директива №2006/86/ЄС [31] встановила високі стандарти до обробки клітин та тканин за технологією «чистих приміщень» з метою запобігання вторинному забрудненню та забезпечення життєздатності й потенції клітин під час зберігання. Система документації та маркування повинна забезпечити можливість відстежувати весь шлях від донора до реципієнта, не порушуючи анонімності донора. Тканинні установи зобов'язані визначати параметри якості своєї продукції в специфікаціях на продукцію та використовувати письмово затверджені стандартні операційні процедури, які регулярно переглядаються і гарантують відповідність кожного продукту критеріям специфікації. На підставі результатів перевірки цієї відповідності уповноважена особа в ТУ здійснює видачу препаратів для клінічного застосування. Тканинні установи зобов'язані публікувати щорічні звіти, які складаються з узагальнених даних, що документують їхню діяльність з донорства, обробки, зберігання та доставки клітин та тканин.

Для відповідності правилам ЄС потрібно було поєднати кріотехнології для заморожування та зберігання клітин з технологією «чистих приміщень», необхідною для обробки клітин та тканин [80, 110, 111], що було б неможливо без реконструкції наявних або будівництва нових потужностей. В економічному дослідженні, опублікованому в 2016 р. [32], повідомлялося, що реінжиніринг застосованих технологій вимагає інвестицій в середньому мільйон євро

cryobiological research to clinical practice required the usage of large quantities of cryogenic fluids for freezing and storage of large volumes of cells and tissues, *e. g.*, haematopoietic progenitor cells (HPCs). One possible solution was to place large Dewar vessels outside the building. In this case, containers for biological storage, containing clinically applicable cells were usually secured by stainless steel chains with locks and were sometimes protected by individually tailored leather covers. Alternatively, the biological storage containers and liquid nitrogen back-up Dewar vessels were endorsed within provisional garage-like spaces in the vicinity of the tissue bank (Fig. 3). Many cryobiologists used technical-grade liquid nitrogen obtained from the nearest oxygen factory.

Another alternative way to avoid and/or to lower the oxygen deficiency risk was to use mechanical freezers operating at temperatures between -80°C and -150°C with emergency back-up cooling based on the use of CO_2 or liquid nitrogen (Fig. 4). This method was popular in the past, even for the storage of cryopreserved HPCs [13, 68, 103], until considerable limitations were identified by W. Rowe and A. Sutteck [97]. It is still widely used in both biobanks and tissue banks if preservation of cell viability is not required.

A common feature of tissue banks and biobanks is the use of cryogenic fluids. Although discussions about the possibility of storage of viable cells and tissues in liquid helium (at -268.93°C) were held in the past, no practical advantages of this method were demonstrated in comparison to storage at liquid nitrogen temperatures. Storage under these conditions can fully assure clinically acceptable HPC viability and recovery for up to 19 years [38, 100].

Both biobanks and tissue banks must follow the ethical principles outlined by the European Bioethics Convention [25] and its Additional Protocol [26]. However, the considerable difference is in the obligation of tissue banks to follow a specific law regulating cell and tissue banking that was formed in the USA and the European Union (EU) in the last two decades and is specified in detail in the following text. In EU member states, tissue banks have been called tissue establishments (TEs) [88] since 2004, when the European Parliament and Council Directive 2004/23/EC [36] came into force. This directive bound the EU member states to nominate the national competent authority responsible for accreditation or licensing and permanent supervision of TEs.

Directive No.2004/23/EC and the two European Commission (EC) directives that came into force two years later outlined strict rules to be followed by the TEs. The EC Directive No. 2006/17/EC [30] was aimed



на одну ТУ. Аналогічний рівень інвестицій був потрібний для реконструкції приміщень Банку тканин Університетської лікарні м. Градець-Кралоу, виконаної відповідно до стандартів Міжнародного товариства фармацевтичної інженерії [115]. Ліцензовані ТУ стали важливою частиною національної системи охорони здоров'я [88]. Вони фінансуються з державного бюджету або медичними страховими компаніями, які відшкодовують вартість кріобанкінгу або покривають витрати опосередковано через систему оплати діагностично пов'язаних груп [32].

З 2017 р. для полегшення відстеження та запобігання несанкціонованому розповсюдженню клітин та тканин для трансплантації тканинні установи реєструються в Європейському компендіумі ТУ. Відтоді кожен продукт повинен маркуватися єдиним європейським кодом (SEK), що складається з унікальної ідентифікаційної послідовності донора та коду клітинного або тканинного продукту [19, 98]. Перелік усіх ТУ, зареєстрованих в ЄС, з їхніми кодами та ступенем авторизації, а також перелік клітинних та тканинних продуктів доступні на Платформі кодування клітин та тканин [33]. У США подібні суворі правила запроваджені федеральним законом [39], а банки тканин знаходяться під наглядом Управління з продовольства та медикаментів (FDA).

Ліцензований кріобанк може бути частиною ліцензованої/акредитованої державної/приватної ТУ або існувати окремо як централізована служба в лікарні та/або як окрема державна/приватна установа. Він може спеціалізуватися на зберіганні одного типу клітин/тканин або бути мультитканинним банком [54, 76]. Форма діяльності кріобанку залежить від обсягу програми клінічної трансплантації.

У випадку кріоконсервування рідко використовуваних трансплантатів (судин або серцевих клапанів) для забезпечення всіх спеціалізованих центрів країни може бути достатньо централізованої моделі [41, 54, 111], тоді як в інших випадках, зокрема для програми гематологічної трансплантації [18,47], оптимальною є модель добре обладнаного кріобанку, що обслуговує кожен центр. Зростаючі вимоги до захисту даних пацієнтів (Загальний регламент про захист даних; GDPR) також свідчать на користь кріобанкінгу всередині лікарні, оскільки вся комунікація між клінічним відділенням та кріобанком може відбуватися через лікарняну інформаційну систему, що виключає необхідність передавати конфіденційні дані третій стороні.

Кріобанк повинен бути обладнаний достатньою кількістю сухих контейнерів для перемі-

to ensure the protection of donor rights based on the principle of voluntary and unpaid donations and on setting a high standard of donor eligibility criteria verified by donor screening for the risk of transmissible disease and by donor serological testing.

Directive No. 2006/86/EC [31] set a high standard for cell and tissue processing, requiring the use of clean-room technology to prevent secondary contamination and to ensure cell viability and potency during storage. The system of documentation and labelling must have assured the traceability of the way from the donor to the host without breaking the donor's anonymity. The TEs were obliged to define the quality parameters of their products in the product specifications and to use written validated and regularly revised standard operating procedures that guaranteed compliance of each product with the specification criteria. Based on verification of this compliance, the products for clinical application were released by the person responsible for the TE. Tissue Establishments were obliged to publish annual reports consisting of summarised data documenting their cell and tissue donation, processing, storage, and delivery activities.

To adhere to the EU rules, it was necessary to combine the cryotechnology used for freezing and storing cells with the clean-room technology necessary for cell and tissue processing [80, 110, 111], which was not possible without reconstructing existing facilities or building new ones. An economic study published in 2016 [32] reported that the re-engineering of applied technologies required an investment of one million euros per TE on average. A similar level of investment was necessary to reconstruct the premises of the Tissue Bank of the University Hospital Hradec Králové, performed according to the standards of the International Society for Pharmaceutical Engineering [115]. Licensed TEs became an important part of the national health care system [88]. They are funded either from the governmental budget or by health insurance companies that reimburse cryobanking procedures or cover costs indirectly via the diagnosis-related group payment system [32].

To facilitate traceability assurance and to prevent the unauthorised distribution of cells and tissues for transplantation, TEs have been registered in the European TE Compendium since 2017. Since then, each product must be labelled using a Single European code (SEC) consisting of a unique donation identification sequence and the cell or tissue product code [19, 98]. The list of registered EU TEs with their codes, the extent of their authorisation and the cell and tissue product list, including product codes, is available on the Cell and Tissue Coding Platform

щення кріоконсервованих продуктів всередині медичного закладу та/або для транспортування кріоконсервованих продуктів за межі закладу. Стандартним рішенням для транспортування на великі відстані є укладення договору з ліцензованою дистриб'юторською (кур'єрською) компанією.

У даній статті ми демонструємо важливу роль кріобанків у розвитку та поточному функціонуванні двох типів програм з трансплантації клітин та тканин:

- програма трансплантації аутологічних та аlogenних ГКП;
- програма трансплантації алогенної судинної тканини (СТ).

У подальшому буде розглянуто вплив клінічних потреб на структуру та технічну базу кріобанку.

РОЗВИТОК КРІОТЕХНОЛОГІЙ ЯК НЕОБХІДНА ПЕРЕДУМОВА ДЛЯ ЗАПОЧАТКУВАННЯ ПРОГРАМ КЛІНІЧНОЇ ТРАНСПЛАНТАЦІЇ КЛІТИН ТА ТКАНИН

Програми трансплантації аутологічних та алогенних гемопоетичних клітин-попередників

Кріоконсервування від самого початку було пов'язане з трансплантацією ГКП [11, 116, 125]. Докладний огляд чинних протоколів, що використовуються на даний час, був нещодавно опублікований J. Acker та співавт. [1]. У ранніх протоколах кріоконсервування використовували гліцерин 15%, зберігання при температурі сухого льоду (-79°C) [89] та швидке розморожування з подальшою дегліцеринізацією [89]. Коли температура сухого льоду була визнана непридатною для тривалого зберігання [91], було запроваджено кріогенне зберігання в рідкому азоті. Потреби в дегліцеринізації можна було уникнути, використовуючи більш ефективний, але токсичний кріопротектор диметилсульфоксид (ДМСО), відкритий у 1959 р. J. Lovelock та M. Bishop [66]. Через недоступність ДМСО фармацевтичної якості протягом тривалого часу [79] його впровадження в клінічну практику було повільним. Дослідження E. Agreman [4] показало, що навіть на початку 90-х років у багатьох центрах США для кріоконсервування кісткового мозку все ще використовували гліцерин. Натомість деякі автори повідомляли про успішне зберігання ГКП при -80°C , кріоконсервованих з використанням комбінації ДМСО та гідроксиетилкрохмалю (ГЕК), навіть після неконтрольованого заморожування [68, 103].

Зберігання ГКП при температурі -80°C в морозильній камері (рис. 4) також використову-

[33]. In the USA, similarly strict rules are enforced by federal law [39] and tissue banks are supervised by the Food and Drug Administration (FDA).

A licensed cryobank may be part of a licensed or accredited public or private TE or may exist separately as a centralised service inside a hospital and/or as a separate public or private institution. It may be specialised for the storage of one type of cell or tissue or serve as a multi-tissue bank [54, 76]. The best option depends on the size of the clinical transplantation programme.

In the case of cryopreservation of seldom used grafts, such as cryopreserved vessels or heart valves, a centralised model may be suitable for supplying all specialised centres in the country [41, 54, 111], while in other cases, such as in the haematological transplantation programme [18, 47], a model of one well-equipped cryobank supporting each centre seems to be optimal. The increasing requirements of patients' data protection (General Data Protection Regulation, GDPR) is also in favour of cryobanking inside the hospital, as all communication between the clinical department and the cryobank can occur through the hospital information system and there is no need to refer sensitive data to a third party.

A cryobank must be equipped with enough dry shippers for the transport of cryopreserved products inside the healthcare facility and/or for the distribution of cryopreserved products outside the facility. The standard solution for long-distance distribution is an agreement with a licensed distribution (courier) company.

In this paper we demonstrate the essential role of cryobanks in the development and current operations of two types of cell and tissue transplantation programmes:

- the autologous and allogeneic HPC transplantation programme;
- the programme of allogeneic vascular tissue (VT) transplantation.

Finally, we deal with the impact of clinical needs on the design and technical background of the cryobank.

DEVELOPMENT OF CRYOTECHNOLOGY AS AN ESSENTIAL PREREQUISITE FOR THE START OF CLINICAL CELL AND TISSUE TRANSPLANTATION PROGRAMMES

Autologous and allogeneic haematopoietic progenitor cells transplantation programmes.

Cryopreservation has been connected with HPC transplantation from the outset [11, 116, 125]. An extensive review of currently used protocols was recently published by J. Acker *et al.* [1]. Early cryopreservation protocols used 15% glycerol, storage at dry ice temperature (-79°C) [89] and rapid



валося в Університетській лікарні м. Градець-Кралоу до 1992 р., коли розпочалась програма регулярних трансплантацій. У той час перший автор цієї статті очолював дослідницьку групу, яка розробила стандартний протокол, заснований на кріоконсервуванні концентратів клітин-попередників периферичної крові (КППК) в 15%-му гліцерині, розведеному в модифікованому розчині ЦОЛІПК. Заморожування з контрольованою швидкістю проводили в контейнерах з нержавіючої сталі власної конструкції (рис. 5) [72] з подальшим нетривалим зберіганням (кілька місяців) за температури -80°C . Після швидкого розморожування та дегліцеринізації (рис. 6) концентрати КППК (рис. 7) у гіпотермічних умовах переноси-



Рис. 5. Контейнер з нержавіючої сталі, розроблений у співпраці з Науково-дослідним інститутом харчової та холодильної техніки в м. Градець-Кралоу, заповнений концентратом КППК та заморожений разом з контрольними зразками в морозильній камері програмованого морозильника «Кryo-10» (Planer Biomed, Велика Британія). Температуру вимірювали в контрольному контейнері, що містив 15% гліцерину, розведеного в розчині ЦОЛІПК.

Fig. 5. Stainless steel container designed in cooperation with the Research Institute of Food and Refrigeration Engineering in Hradec Králové filled with PBPC concentrate and frozen together with the control samples in the freezing chamber of the programmable freezer Kryo-10, (Planer Biomed, UK). Temperature was measured in the control container containing 15% glycerol diluted in the TsOLIPK solution.

ли в клінічне відділення та успішно застосовували для пацієнтів, які страждали на злоякісні лімфоми [13]. Початкові результати цих досліджень були представлені на міжнародних кріобіологічних нарадах, що проходили в м. Градець-Кралоу в 1989 та 1992 рр. (рис. 8, 9).

До початку програми регулярних трансплантацій дослідницька група вже встигла замінити гліцерин на 10% ДМСО, розведений в розчині ЦОЛІПК, металеві контейнери на стерильні од-



Рис. 6. Дегліцеринізація розмороженої суспензії КППК.
Fig. 6. Deglycerolization of the thawed PBPC suspension.

thawing followed by deglycerolisation [89]. When dry ice temperature was recognised as unsuitable for long-term storage [91], cryogenic storage in liquid nitrogen was soon introduced. The need for deglycerolisation could be avoided by using the more efficient but toxic cryoprotectant dimethylsulphoxide (DMSO) discovered in 1959 by J. Lovelock and M. Bishop [66]. As pharmaceutical grade DMSO was not available for a long time [79], it was introduced slowly to clinical practice. A survey by E. Areman [4] showed that even at the beginning of the 90s, glycerol was still used for bone marrow cryopreservation in many centres in the USA. On the contrary successful storage of HPCs at -80°C , cryopreserved by a combination of DMSO and hydro-



Рис. 7. Дегліцеринізована суспензія КППК, яка готова до інфузії.

Fig. 7. Deglycerolized PBPC suspension ready for infusion.

норазові поліетиленові пакети, розміщені в металевих касетах (рис. 10), а також запровадити зберігання в рідкому азоті (див. рис. 3 та 11, А). Впровадження зануреного зберігання вимагало заміни оригінальних поліетиленових пакетів (див. рис. 10, А) на пакети «Cryocyte» (Baxter, США) (рис. 11, В), які були більш стійкими



Рис. 8. Зліва проф. С.Д. Грін (Університетський коледж, м. Лондон, Велика Британія), проф. Б.П. Сандомирський (ІПКІК НАН України, м. Харків), справа проф. Н.П. Суббота (ІПКІК НАН України) на конференції «Теоретичні основи кріоконсервування» (1992 р.).

Fig. 8. On the left Prof. C.J. Green (University College, London, UK), Prof. B.P. Sandomirskyi (Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine NAS of Ukraine, Kharkiv), on the right Prof. N.P. Subbota (Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine NAS of Ukraine) during the conference 'Theoretical Basis of Cryopreservation' (1992).



Рис. 9. Зліва направо: акад. В.І. Грищенко, директор ІПКІК НАН України; Л. Вавра, Банк тканин Університетської лікарні м. Градець-Кралоу; М. Дворжак, міський голова м. Градець-Кралоу та проф. П. Мержічка, керівник Банку тканин Університетської лікарні м. Градець-Кралоу.

Fig. 9. From the left: academian V.I. Grischenko, Director of the Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine NAS of Ukraine, Kharkiv; ing. L. Vávra, Tissue Bank of the University Hospital, Hradec Králové; ing. M. Dvořák, the Mayor of the town Hradec Králové and P. Měřička, M.D., Head of the Tissue Bank of the University Hospital.

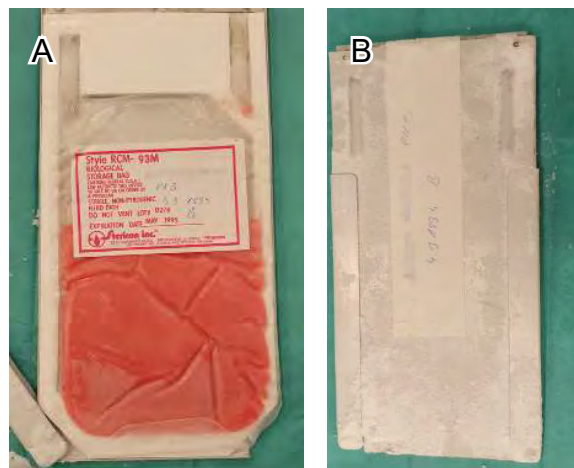


Рис. 10. Ємності для заморожування та зберігання зразків у рідкому азоті: поліетиленовий одноразовий контейнер «RCM-93» (Stericon, Inc., США), який використовували на початку програми трансплантації (А); металева касета ST 100 (Cryoson, Німеччина) (В).

Fig. 10. Containers for freezing and storing samples in liquid nitrogen: Plastic disposable bag RCM-93 (Stericon, Inc., USA) used at the beginning of the transplantation programme (A); metal cassette ST 100, (Cryoson, Germany) (B).



Рис. 11. Обладнання для зберігання кріоконсервованих зразків у рідкому азоті: касета з кріопакетом, яка виймається з рідкого азоту (А); одинарний кріопакет «Cryocyte» (Baxter, США) (В).

Fig. 11. Equipment for storage of cryopreserved samples in liquid nitrogen: Removal of the cassette with cryobag from the storage container (A), single cryobag Cryocyte (Baxter, USA) (B).



до температур рідкого азоту. Касети переносили в клінічне відділення за допомогою ізольованої полістирольної коробки з сіткою на дні в паровій фазі рідкого азоту. Швидке розморожування проводили на водяній бані при температурі 37°C біля ліжка пацієнта. У 1993 р. клінічне відділення трансплантації ГКП Університетської лікарні приєдналося до Європейської групи з трансплантації крові та кісткового мозку (EBMT) та отримало ідентифікаційний код центру.

Підтримка кріобанку була дуже важливою на початку програми трансплантації алогенних ГКП, оскільки кріоконсервування донорських ГКП часто було необхідним для вирішення питань, пов'язаних із узгодженням термінів забору ГКП у донора та підготовкою реципієнта до трансплантації [1, 65]. Перша успішна родинна алогенна трансплантація ГКП в Університетській лікарні м. Градець-Кралоу (1997 р.) була також виконана після кріоконсервування донорських ГКП. Після початку широкого міжнародного обміну неспорідненими алотрансплантатами КППК, який поступово замінив обмін неспорідненими алотрансплантатами кісткового мозку, М. Lioznov та співавт. [65] виявили ризик порушення відновлення та потенціалу КППК в алотрансплантатах, кріоконсервованих після тривалого транспортування; в подальшому кріоконсервування алогенних КППК обмежувалось окремими випадками або надзвичайними ситуаціями.

Суттєві зміни в технології кріогенного зберігання відбулися після того, як R. Tedder та A. Hawkins виявили ймовірність передачі інфекції гепатиту В під час зберігання кріоконсервованої крові в рідкому азоті [46, 113]. З того часу було розроблено кілька рекомендацій щодо запобігання перехресному забрудненню, зокрема, окреме зберігання зразків, отриманих від донорів з позитивними серологічними результатами, та використання для зберігання виключно парової фази рідкого азоту [14, 15, 34]. Для мінімізації різниці температур у паровій фазі рідкого азоту D. Pegg та його дослідницька група розробили вдосконалений контейнер з мідним тепловим шунтом [49], після чого нове покоління контейнерів, заснованих на цьому принципі, стало комерційно доступним.

Ризик перехресного забруднення під час зберігання також зменшився завдяки вдосконаленню методів пакування продуктів ГКП. У 1990-х роках використовували одинарні пакети без спеціального місця для маркування (рис. 11, В), але зараз доступні подвійні пакети з кишенею

xyethyl starch (HES), was reported by several authors, even after uncontrolled freezing [68,103].

HPC storage at -80°C (Fig. 4) was also used in the University Hospital Hradec Králové before 1992, when the regular transplantation programme was started. At that time, the first author of this paper led the research group that developed the standard protocol based on cryopreservation of peripheral blood progenitor cell (PBPC) concentrates in 15% glycerol diluted in the modified TsOLIPK solution. Controlled rate freezing was performed in stainless steel containers of their own design (Fig. 5) [72], followed by short storage (several months) at -80°C . After rapid thawing and deglycerolisation (Fig. 6), the PBPC concentrates (Fig. 7) were transferred to the clinical department under hypothermic conditions and successfully used in patients suffering from malignant lymphoma [13]. The initial results of this research were presented at international cryobiological meetings held in Hradec Králové in 1989 and 1992 (Fig. 8 and 9).

Before the start of the regular transplantation programme, the research group had already been able to replace glycerol with 10% DMSO diluted in TsOLIPK solution, metal containers with sterile disposable plastic bags housed in metal cassettes (Fig. 10), and to introduce liquid nitrogen storage (Fig. 3 and 11A). The introduction of submerged storage required the replacement of the original plastic bags (see Fig. 10A) with Cryocyte bags (Baxter, USA) (Fig. 11B), which were more resistant to liquid nitrogen temperatures. The cassettes were transferred to the clinical unit in the vapour phase of liquid nitrogen using an insulated polystyrene box with a grid at the bottom. Rapid thawing in a 37°C water bath was performed at the patient's bedside. The University Hospital clinical HPC transplantation unit joined the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) and received the Centre Identification Code in 1993.

The support of the cryobank was essential at the start of the allogeneic HPC transplantation programme, as cryopreservation of donor HPCs was frequently required to overcome difficulties with the harmonisation of the timing of HPC collection from the donor and the preparation of the recipient for transplantation [1, 65]. The first successful related allogeneic HPC transplantation at University Hospital Hradec Králové in 1997 was also performed after cryopreservation of the donor's HPCs. After the start of extensive international exchange of unrelated PBPC allografts that gradually replaced the exchange of unrelated bone marrow allografts, the risk of impaired PBPC recovery and potency in allografts cryopreserved after a long



для вставки етикетки з ідентифікаційною інформацією про продукт відповідно до стандартів ISBT 128 [27, 51, 102] (рис. 12, А). Зовнішній захист кріопакетів металевими касетами (див. рис. 10, В), що закривають всю поверхню, окрім невеликого віконця для огляду етикетки (рис. 12, В), також має важливе значення для збереження продукту від пошкодження під час маніпуляцій всередині контейнера.

Запровадження програми терапії химерними антигенними рецепторами Т-клітин (CAR-T), що довела свою ефективність у лікуванні злоякісних лімфом та деяких видів лейкозів, стало новим напрямком, який потребував підтримки добре оснащеного кріобанку. Зараз ця програма розширюється, включаючи лікування множинної мієломи (клінічні дослідження CARTITUDE), та вважається перспективною для лікування солідних пухлин. Програму CAR-T-терапії можна розпочати на основі попередньої акредитації JACIE/EBMT або після завершення процесу сертифікації, організованого виробником [42, 53, 62, 126]. У Чеській Республіці (ЧР) необхідна ліцензія на експорт зібраного або кріоконсервованого вихідного матеріалу. При зберіганні кінцевих дослідницьких продуктів CAR-T-терапії слід дотримуватись суворих правил щодо маніпуляцій з генетично модифікованими організмами (ГМО), а також необхідно отримати дозвіл від Міністерства охорони навколишнього середовища.

Програма трансплантації кріоконсервованої алогенної судинної тканини

Ідея клінічної алотрансплантації судинних трансплантатів була заснована на експериментальній роботі А. Carrel [20]. Артеріальні алотрансплантати, що зберігались в холоді, широко використовувалися для аорто-клубових реконструкцій протягом 50-х років минулого століття [28, 43, 106]. Однак їхнє використання було припинено на початку 60-х років через часте відторгнення трансплантатів, спричинене відсутністю імуносупресії [107, 108].

У 1980-х роках Е. Kieffer [57] відновив використання артеріальних алотрансплантатів, що зберігались в холоді, для лікування інфекцій аортальних протезів. Клінічне застосування алотрансплантатів розширюється з 1990-х років, коли у пацієнтів з критичною ішемією кінцівок було досягнуто проходність судин на рівні 50–60% під час дворічного спостереження. При триріч-

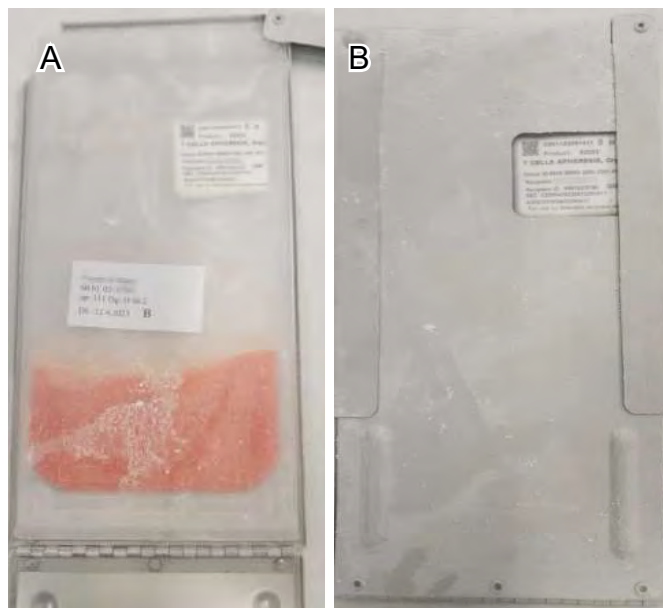


Рис. 12. Маркування та зберігання кріоконсервованих зразків: подвійний кріопакет «CryoMACS» (Mytényi, Німеччина) з суспензією донорських лімфоцитів, маркований відповідно до стандарту ISBT 128 (А); металева касета з віконцем ST 100 (Consarctic, Німеччина) для захисту кріоконтейнерів (В).

Fig. 12. Labeling and storage of cryopreserved samples: double cryobag CryoMACS (Mytényi, Germany) containing a suspension of donor lymphocytes and labeled according to the ISBT 128 standard (A); the metal cassette with a window ST 100 (Consarctic, Germany) used for protection of the cryobags (B).

history of transport was identified by M. Lioznov *et al.* [65] and subsequently, the cryopreservation of allogeneic HPCs was limited to individual cases or emergency situations.

A substantial change in cryogenic storage technology was triggered by R. Tedder and A. Hawkins finding that hepatitis B infection transmission was possible via the liquid nitrogen-submerged storage of cryopreserved blood products [46, 113]. Since that time, several recommendations have been made to prevent cross-contamination, such as separate storage of samples originating from donors with positive serological findings and exclusive use of the liquid nitrogen vapour phase for storage [14, 15, 34]. To minimise temperature differences in the liquid nitrogen vapour phase, the improved container with a copper heat shunt was designed by the research group of David Pegg [49], and a new generation of containers based on this principle became commercially available.

The risk of cross-contamination during storage was also reduced by improvements in the packaging of HPC products. In the 1990s, single bags with no special space for labelling were used (Fig. 11B), but now, double bagging with a pocket



ному спостереженні частота збереження кінцівки була значно вищою (близько 75%), незважаючи на тромбоз реконструкції [96, 104].

Показник прохідності артеріальних трансплантатів, які використовували для заміщення в аорто-клубовій ділянці, був вищим. У випадку таких реконструкцій необхідно було враховувати розвиток відомих дегенерацій трансплантата при хронічному відторгненні з часом (дилатація, псевдоаневризма, аневризма), необхідність ретельного спостереження за пацієнтами та відповідне хірургічне лікування цих ускладнень. Добре відомо, що трансплантація СТ індукує їхнє відторгнення [112]. Хоча лікування імуносупресивними препаратами не є загальноприйнятим, їхнє застосування може покращувати клінічні результати за рахунок зниження частоти середньотривалих ускладнень.

У 1990-х роках D. Pegg та його дослідницька група змогли визначити механізми пошкодження артеріальної стінки при заморожуванні [50, 90], що сприяло розробці покращених протоколів заморожування та відтавання, які були переглянуті E. Müller-Schweinitzer у 2009 р. [85]. Згодом свіжовиділені або кріоконсервовані трансплантати знову почали використовувати в багатьох центрах судинної хірургії [45, 114, 117, 120, 121]. Зростаюча клінічна потреба спонукала до створення банків СТ, часто шляхом розширення діяльності діючих банків серцевих клапанів [41, 54, 118].

Провідні хірурги Університетської лікарні м. Градець-Кралове цікавилися трансплантацією СТ з початку її розвитку [8], а експерименти, спрямовані на зниження імуногенності судинного трансплантата шляхом дублення в формальдегіді, проводив R. Klen, засновник Банку тканин Університетської лікарні [58, 59]. Після 1990 р. дослідження були відновлені з проведенням експериментів на собаках. Після того, як було продемонстровано, що гіпотермічне зберігання судинних трансплантатів у фізіологічному розчині призводить до швидкої втрати ендотелію та набряку судинної стінки [37, 87], розробили перші протоколи кріоконсервування для клінічного застосування. Банк тканин, який пройшов комплексну реконструкцію на початку тисячоліття, в 2004 та 2011 рр. отримав необхідні дозволи (табл. 1) та був підготовлений для забезпечення нових клінічних потреб. Це відбулося після запровадження групою празьких дослідників ефективного протоколу імуносупресії [69, 70]. Проте свіжовиділені трансплантати були єдиним варіантом, поки у Другому відділенні хірургії Загальної університетсь-

for inserting a label with product identification information according to ISBT 128 standards [27, 51 102] is available (Fig. 12A). External protection of cryobags with metal cassettes (see Fig. 10B) covering the whole surface apart from the small window for inspection of the label (Fig. 12B) is also crucial for preventing damage to the product during manipulations inside the container.

The new field requiring the support of the well-equipped cryobank was the beginning of the chimeric antigen receptor T-cell (CAR-T) therapy programme that proved to be efficient in the treatment of malignant lymphomas and certain types of leukaemia [2, 24, 86, 62]. It is now expanding to include the treatment of multiple myeloma (clinical studies CARTITUDE) and seems to be promising for the treatment of solid tumours in the future. The CAR-T therapy programme can be started based on previous JACIE/EBMT accreditation or after completion of the certification process organised by the manufacturer [42, 53, 62, 126]. In the Czech Republic, an export licence is required for collected or cryopreserved starting material. In the storage of final investigational CAR-T therapy products, strict rules for manipulation of genetically modified organisms (GMOs) are followed, and approval must be obtained from the Ministry of the Environment.

Cryopreserved allogeneic vascular tissue transplantation programme.

The idea of the clinical allotransplantation of vascular grafts was based on the experimental work of A. Carrel [20]. Cold-stored arterial allografts were used extensively for aorto-iliac reconstructions during the 50s of the last century [28, 43, 106]. Their use was terminated in the early 60s, however, due to frequent graft rejection caused by the unavailability of immunosuppression [107, 108].

In the 1980s, E. Kieffer [57] reintroduced the use of cold-stored arterial allografts for the management of aortic prosthetic graft infections. The clinical use of allografts has been expanding since the 1990s, with 50–60% two-year patency rates achieved in patients with critical limb ischaemia. At the same time, the rate of limb preservation was considerably higher, reaching about 75%, despite thrombosis of the reconstruction at the three-year follow-up [96, 104].

The patency rate for arterial grafts used for replacement in the aorto-iliac region was higher. In the case of these reconstructions, it was necessary to deal with the development of known degeneration of the graft during chronic rejection (dilatation, pseudoaneurysm, aneurysm) over time, with



Таблиця 1. Перелік дозволів, отриманих Банком тканин Університетської лікарні м. Градець-Кралоуе
Table 1. Overview of authorization types obtained by the Tissue Bank of the University Hospital Hradec Králové

Рік Year	Тип дозволу Type of authorization	Надано Granted by	Зареєстровано в Registered at	Реєстраційний код Registration code
2004	Національна ліцензія для багатотканинного банку National Multitissue Bank licence	Міністерство охорони здоров'я ЧР Ministry of Health of the Czech Republic	Міністерство охорони здоров'я ЧР Ministry of Health of the Czech Republic	MTB 06
2011	Ліцензія Національної тканинної установи National Tissue Establishment licence	Державна служба з контролю за наркотиками State Institute for Drug Control (SUKL)	Міністерство охорони здоров'я ЧР Ministry of Health of the Czech Republic	MTB 06
2017	Ліцензія Національної тканинної установи National Tissue Establishment licence	Державна служба з контролю за наркотиками State Institute for Drug Control (SUKL)	Європейська комісія European Commission	CZ00425 CZ00426 CZ00427
2021–2023	Ліцензії на експорт вихідних матеріалів для CAR-T терапії CAR-T therapy starting material export licences	Міністерство охорони здоров'я ЧР Ministry of Health of the Czech Republic	Міністерство охорони здоров'я ЧР Ministry of Health of the Czech Republic	-
2022	Дозвіл на маніпуляції з ГМО GMO manipulation approval	Міністерство навколишнього середовища ЧР Ministry of Environment of the Czech Republic	Міністерство навколишнього середовища ЧР Ministry of Environment of the Czech Republic	-

кої лікарні в м. Прага не була проведена перша трансплантація артеріального алотрансплантата, кріоконсервованого в Банку тканин Університетської лікарні м. Градець-Кралоуе. Вже через рік розпочалася загальнонаціональна програма судинної трансплантації [110, 111].

Дозволи, необхідні для початку програм клінічної трансплантації

Однією з передумов для початку проведення програм клінічної трансплантації є отримання необхідних дозволів [80]. У табл. 1 наведено узагальнений перелік типів дозволів та реєстраційних кодів для Банків тканин та тканинних установ, наданих національними та міжнародними компетентними органами, які були необхідні для проведення програм клінічної трансплантації, що підтримуються ТУ Університетської лікарні в м. Градець-Кралоуе.

Наразі тканинна установа є власником трьох реєстраційних кодів Європейського Союзу: CZ000425 для репродуктивних тканин, CZ000426 для кровотворних тканин, донорських лімфоцитів та вихідного матеріалу для виробництва продуктів CAR-T терапії і CZ000427 для твердих тканин, таких як артерії та вени. Перелік дозвільних документів регулярно оновлюється національним уповноваженим органом, чинні версії доступні на веб-сайті Європейського комітету ТУ.

a need for precise follow-up of patients and appropriate surgical management of these complications. It is well known that vascular graft transplantation induces rejection [112]. Although treatment with immunosuppressive drugs is not widely accepted, their use results in improved clinical outcomes in terms of reduced mid- and long-term complication rates.

In the 1990s, the research group of D Pegg explained the mechanisms of freezing damage to the arterial wall [50, 90], which led to the design of improved freezing and thawing protocols reviewed by E. Mueller-Schweinitzer in 2009 [85]. Subsequently, fresh or cryopreserved grafts began to be used once again in many vascular surgery centres [45, 114, 117, 120, 121]. Increasing clinical need prompted the creation of VT banks, often by expanding the activities of existing heart valve banks [41, 54, 118].

The leading surgeons at the University Hospital Hradec Králové have been interested in VG transplantation since its beginning [8], and experiments aimed at lowering the vascular graft immunogenicity through formaldehyde-tanning were carried out by Rudolf Klen, the founder of the Tissue bank [58, 59]. The research was restarted with an experimental study on dogs after 1990. When it was demonstrated that hypothermic storage of vascular grafts in physiological saline led to rapid endothelium loss and oedema of the vascular wall



Крім дозволів, наданих компетентними органами, кріобанк був сертифікований компанією «Novartis European Ltd» — для кріоконсервування вихідного матеріалу та зареєстрованого препарату «Kymriah» для CAR-T терапії, компанією «Kite-Pharma EUBV» — для зберігання зареєстрованих препаратів «Yescarta» та «Tecartus», а також компанією «Janssen Cilag Int NV» — для зберігання досліджуваних препаратів, випробуваних у рамках клінічних досліджень CARTITUDE-5 і CARTITUDE-6. (Наразі тканинна установа, у тому числі кріобанк, завершила процес акредитації JACIE/EBMT у 2024 р.)

СУЧАСНА РОЛЬ КРІОБАНКУ В ПІДТРИМЦІ ПРОГРАМ ТРАНСПЛАНТАЦІЇ

Програми трансплантації аутологічних та алогенних гемопоетичних клітин-попередників

Програми трансплантації аутологічних ГКП ґрунтуються на безперервній співпраці між установами збору та обробки ГКП, у тому числі кріобанки, та відділеннями клінічної трансплантації. Продукт лейкоферезу — концентрат мобілізованих клітин-попередників периферичної крові з концентрацією лейкоцитів, що не перевищує 400×10^9 клітин/л, відправляють до центру обробки в гіпотермічних умовах для кріоконсервування протягом 24 годин. На даний час аутологічна трансплантація ГКП використовується переважно для пацієнтів, які страждають на множинну мієлому [1, 7, 94] та злоякісні лімфоми [1, 5, 56, 122], в той час як показання, що існували раніше, такі як лейкемія або солідні пухлини (наприклад, карцинома молочної залози), згодом були скасовані. Місткість кріобанку може бути обмежувальним фактором для обсягу програм аутологічної трансплантації в конкретному відділенні, особливо якщо потрібне багаторічне зберігання [18, 61].

Алогенна трансплантація ГКП використовується для лікування різних типів лейкозів, недостатності кісткового мозку та дефектів клітинного імунітету, переважно вроджених. Відділення трансплантації співпрацюють через національні або міжнародні реєстри донорів із залученням закладів зі збору донорських матеріалів, які можуть доставляти HLA-сумісні трансплантати і у більшості випадків значно віддалені один від одного. Продукти лейкоферезу транспортуються в гіпотермічних умовах уповноваженими кур'єрськими компаніями та мають бути використані протягом 48 годин. Рекомендована концентрація лейкоцитів становить 200×10^9 клітин/л. Програми алогенної

[37, 87], the first clinically applicable cryopreservation protocols were designed. The tissue bank, which underwent complex reconstruction at the beginning of the millennium, received the necessary authorisations in 2004 and 2011 (Table 1) and was prepared to cover emerging clinical needs. This occurred after a group of Prague authors introduced an efficient immunosuppression protocol [69, 70]. Nevertheless, fresh grafts were the only option until the first transplantation of an arterial allograft cryopreserved at the tissue bank of the University Hospital Hradec Králové was performed at the Second Department of Surgery General University Hospital in Prague. One year later, the national programme of vascular transplantation began [110, 111].

Authorisations necessary for the start of clinical transplantation programmes

Another prerequisite for beginning a clinical transplantation programme is obtaining the necessary authorisation [80]. A summary of authorisation types and tissue bank/TE registration codes granted by national and international competent authorities that were necessary for beginning the clinical transplantation programmes supported by the TE University Hospital Hradec Králové, is presented in Table 1.

Currently, the TE is a holder of three European Union TE registration codes: CZ000425 for reproductive tissues, CZ000426 for haematopoietic tissues, donor lymphocytes and starting material for CAR-T therapy product manufacture, and CZ000427 for solid tissues such as arteries and veins. The extent of authorisation required is regularly updated by the national competent authority, and valid versions are accessible on the European TE Compendium website.

Besides authorisations granted by the competent authorities, the cryobank was certified by Novartis European Ltd. for cryopreservation of starting material and of final registered CAR-T therapy product Kymriah, by Kite-Pharma EUBV for storage of final registered products Yescarta and Tecartus, and by Janssen Cilag Int. NV for storage of investigational products tested in the framework of clinical trials CARTITUDE-5 and CARTITUDE-6. The TE including the cryobank is now completed the JACIE /EBMT accreditation process in 2024.

CURRENT ROLE OF THE CRYOBANK IN THE SUPPORT OF TRANSPLANTATION PROGRAMMES

Autologous and allogeneic haematopoietic progenitor cells transplantation programme



трансплантації ГКП вимагають співпраці з центром обробки та/або кріобанком у наступних випадках.

1. У надзвичайних ситуаціях, коли неможлива координація збору донорських ГКП та підготовка реципієнта протягом 48 годин. Такі ситуації виникали в період пандемії COVID-19 [1, 29, 83]. Терміни зберігання зазвичай обмежувалися кількома днями, потрібними для тестування потенційного реципієнта на негативний результат тесту на COVID-19, та отриманням результатів лабораторних досліджень, необхідних для випуску трансплантата до клінічного застосування. З цієї причини не виникало потреби у збільшенні потужностей кріобанку. У такій надзвичайній ситуації технологічний рівень кріобанку та гнучкість його управління мали вирішальне значення для забезпечення сталості програми аlogenної трансплантації.

2. У разі запланованого застосування донорських лімфоцитів (ДЛ) під час посттрансплантаційного лікування для стимуляції ефекту «трансплантат проти лейкемії» [77]. Кріоконсервування ДЛ висуває додаткові вимоги до місткості кріобанку, якщо воно проводиться регулярно, наприклад, при зберіганні трьох або більше пакетів з кожного збору. Єдиним винятком є алотрансплантація пуповинної крові, яка завжди вимагає співпраці з банком пуповинної крові.

На рис. 13 показана щорічна кількість аутологічних та аlogenних трансплантацій, виконаних за останнє десятиліття в Університетській лікарні м. Градець-Кралове, а на рис. 14 та 15 — кількість переданих для клінічного застосування аутологічних та аlogenних одиниць ГКП та ДЛ, необхідних для підтримки цієї програми.

Глобальному обміну HLA-сумісними алотрансплантатами ГКП сприяє процес акредитації JACIE/EBMT, що базується на перевірці відповідності загальним стандартам планів управління якістю, внутрішніх документів, практик збору та обробки, клінічної практики, за допомогою проведення міжнародного аудиту на місці. Прийняття стандартів JACIE

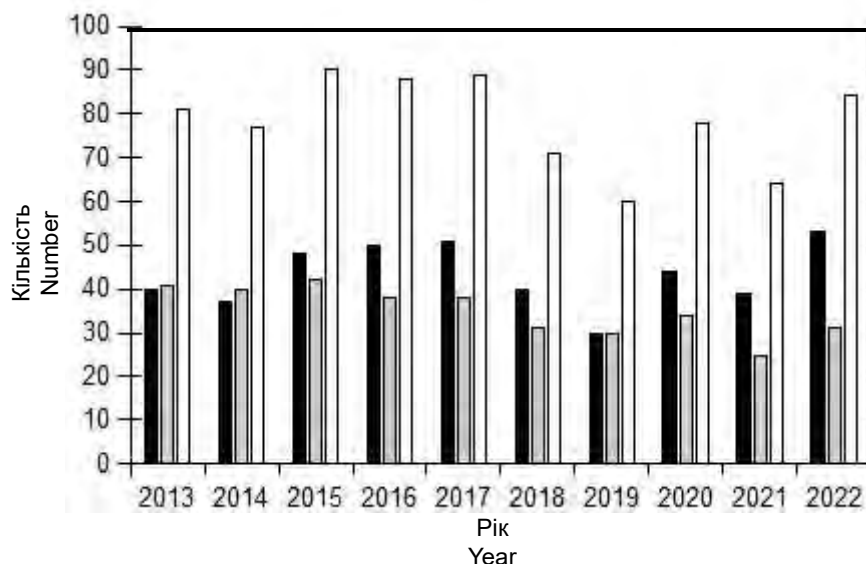


Рис. 13. Щорічна кількість аутологічних та аlogenних трансплантацій. ■ — аутологічні ГКП, ■ — алогенні ГКП, □ — сума.

Fig. 13. Annual number of autologous and allogeneic transplantations. ■ — autologous HPC, ■ — allogeneic HPC, □ — total.

Autologous HPC transplantation programmes are based on seamless cooperation between HPC Collection Facilities, Processing Facilities including cryobanks, and Clinical Transplantation Units. The leukapheresis product, the concentrate of mobilised peripheral blood progenitor cells with white blood cell (WBC) concentrations not exceeding 400×10^9 cells/L, is sent to the Processing Facility at hypothermic conditions to be cryopreserved within 24 hours. At present, autologous HPC transplantation is used predominantly for patients suffering from multiple myeloma [1, 7, 94] and malignant lymphoma [1, 5, 56, 122], while indications existing in the past, such as leukaemia or solid tumours (*e. g.*, breast carcinoma), were subsequently abandoned. The capacity of the cryobank may be a limiting factor for the extent of autologous transplantation programmes within a particular unit, especially if storage for years is required [18, 61].

Allogeneic HPC transplantation is used for treatment of different types of leukaemia, bone marrow failure and cellular immunity defects, mostly inborn. Transplantation units cooperate via national or international donor registers with frequently distant Collection Facilities that can deliver HLA-compatible grafts. Leukapheresis products are transported under hypothermic conditions by authorised courier companies and must be used within 48 hours. The recommended WBC concentration is 200×10^9 cells/L. Allogeneic HPC transplantation programmes require cooperation with the Processing Facility and/or the cryobank in two cases.



повинно привести до зменшення кількості застосованих методів. Однак нещодавно у європейському дослідженні було виявлено значне розмаїття протоколів обробки [47].

У сучасних протоколах кріоконсервування аутологічних алогенних ГКП та ДЛ використовують переважно ДМСО у кінцевій концентрації 5–10% з різними домішками, найчастіше з сироватковим альбуміном людини (HSA). Розведення виконують з такими кристалідами розчинами, як фізіологічний розчин або плазмоліт або розчинами, що містять полісахариди (декстран або ГЕК), які відомі як позаклітинні кріопротектори [1, 11, 103]. Контрольоване заморожування проводили у подвійних пакетах [102], маркованих відповідно до стандарту ISBT 128 [27, 51], зберігали у фазі парів рідкого азоту при температурі нижче -140°C відповідно до рекомендацій Європейського директорату з якості лікарських засобів та охорони здоров'я (EDQM) [35]. Одночасно заморожують достатню кількість контрольних зразків для забезпечення належної життєздатності ГКП та повторного тестування активності після тривалого зберігання.

Довгострокове зберігання зазвичай потрібне при множинній мієломі, оскільки збирається доза клітин, достатня для більш ніж однієї трансплантації, а решту клітин зберігають для використання в другій (тандемній) або третій запланованій трансплантації або для проведення рятівної терапії на випадок рецидиву після багатьох років ремісії [61]. У 2017 р. наше дослідження 156 пацієнтів [73] показало, що менше ніж у 50% випадків кріоконсервовані клітини зберігалися до 5 років, а у 90% випадків — до 15 років (табл. 2). Ситуація зі збе-

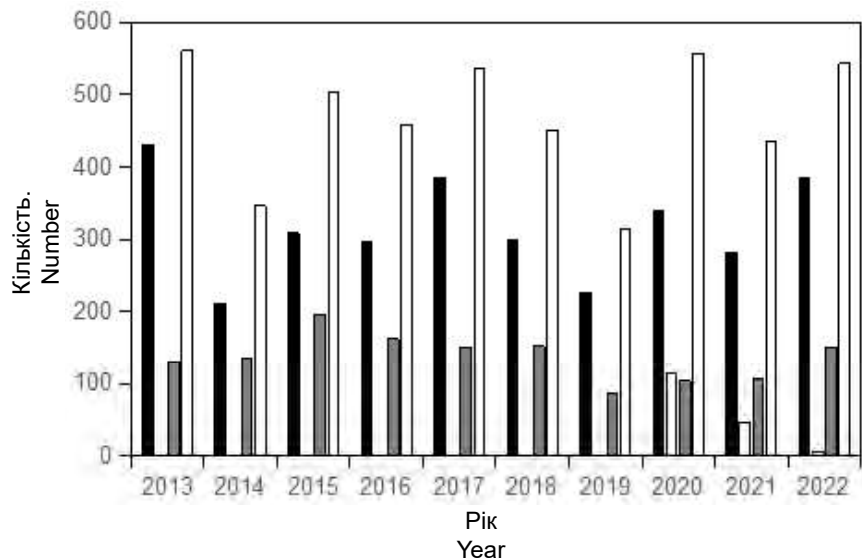


Рис. 14. Щорічна кількість одиниць кріоконсервованих ГКП і донорських лімфоцитів, прийнятих на зберігання. ■ — аутологічні ГКП, ■ — алогенні ГКП, ■ — донорські лімфоцити, □ — сума.

Fig. 14. Annual number of cryopreserved HPC units and donor lymphocyte units admitted for storage. ■ – autologous HPC, ■ – allogeneic HPC, ■ – donor lymphocytes, □ – total.

1. In extraordinary situations when coordination of the donor HPC collection and preparation of the recipient within 48 hours is not possible. Such situations occurred during the COVID-19 pandemic period [1, 29, 83]. The storage times were usually limited to several days, necessary for testing the potential recipient for COVID-19 negativity and for obtaining the results of laboratory tests needed for a release of the graft for clinical application. For this reason, enlarging the cryobank capacity was

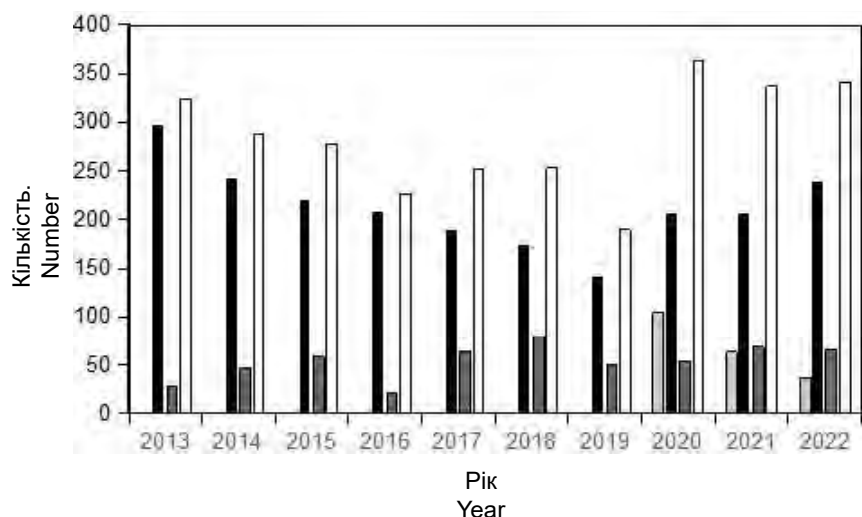


Рис. 15. Щорічна кількість одиниць кріоконсервованих ГКП і донорських лімфоцитів, переданих для клінічного застосування. ■ — аутологічні ГКП, ■ — алогенні ГКП, ■ — донорські лімфоцити, □ — сума.

Fig. 15. Annual number of cryopreserved HPC units and donor lymphocyte units delivered for clinical application. ■ – autologous HPC, ■ – allogeneic HPC, ■ – donor lymphocytes, □ – total.



ріганням одиниць ДЛ, які використовували для 80 реципієнтів, була іншою: майже у 90% реципієнтів вони зберігалися до 5 років (табл. 3).

Висока частка одиниць, що зберігаються протягом тривалого часу, також описана іншими авторами разом з рекомендаціями щодо утилізації непридатних одиниць [18, 61]. Багато з

not necessary. In this emergency, the technological level of the cryobank and the flexibility of its staff to manage it were critical for the sustainability of the allogeneic transplantation programme.

2. If application of donor lymphocytes (DL) is planned during post-transplantation care to stimulate the graft versus leukaemia effect [77]. The DL cryopreservation puts additional requirements on the

Таблиця 2. Терміни зберігання аутологічних гемопоетичних клітин-попередниць
Table 2. Storage times of autologous haematopoietic progenitor cells

Кількість Frequency	Термін зберігання, місяці Time of storage, months				
	1–12	13–60	61–120	121–180	> 180
Кількість пацієнтів Frequency of patients	25	65	28	25	13
Відносна кількість пацієнтів, % Relative frequency of patients, %	16,0	41,7	17,9	16,0	8,3
Сукупна відносна кількість пацієнтів, % Cumulative relative frequency of patients, %	16,0	57,7	75,6	91,6	100

вказаних причин є досить рідкісними [18], наприклад, втрата цілісності кріобанку, втрата етикеток або неможливість прочитати маркування на етикетках, забруднення кріоконсервованої суспензії або низька життєздатність клітин після розморожування. Основним показанням для утилізації аутологічних одиниць ГКП є смерть пацієнта [18]. Це підтверджується причинами, з якими ми зіткнулися в нашому закладі у 2022 р. (табл. 4). Незважаючи на відносно високу щорічну кількість утилізованих одиниць, загальна кількість одиниць, що зберігаються, зростає

cryobank capacity if it is practiced routinely, *e. g.*, if three or more bags are stored from each collection. The only exception is cord blood allotransplantation, which always requires cooperation with the cord blood bank.

The number of autologous and allogeneic transplantations performed in the last decade at the University Hospital Hradec Králové is presented in Figure 13, and the number of processed and delivered autologous and allogeneic HPC and DL units necessary to support this programme are shown in Figures 14 and 15.

Таблиця 3. Термін зберігання донорських лімфоцитів
Table 3. Donor lymphocytes storage times

Кількість Frequency	Термін зберігання, місяці Time of storage, months			
	1–12	13–60	61–120	121–180
Кількість пацієнтів Frequency of patients	25	46	8	1
Відносна кількість пацієнтів, % Relative frequency of patients, %	31,3	57,5	10	1,3
Сукупна відносна кількість пацієнтів, % Cumulative relative frequency of patients, %	31,3	88,8	98,8	100



Таблиця 4. Причини утилізації трансплантатів гемопоетичних клітин-попередниць та донорських лімфоцитів у 2022 р.

Table 4. Reasons for haematopoietic progenitor cells and donor lymphocytes graft disposal in 2022

Причина утилізації Reason for disposal	Кількість одиниць аутологічних КППК Number of autologous PBPC units	Кількість одиниць ДЛ Number of DL units	Загальна кількість одиниць Total number of units
Смерть пацієнта Death of the patient	53	32	85
Низька життєздатність після відігрівання після тривалого зберігання Low post-thaw viability after long term storage	7 *	0	7 *
Втрата цілісності кріопакета або нерозбір- ливість етикетки Loss of cryobag integrity or label illegibility	0	0	0
Зміна плану лікування Change of the therapeutic plan	0	10	10
Всього Total	60	42	102

Примітка: * — у двох пацієнтів після 11 та 20 років зберігання.

Note: * – In two patients after 11 and 20 years of storage .

(рис. 16), та час від часу виникає потреба у збільшенні місткості кріобанку.

Значні розбіжності існують і в панелі контрольних тестів, що проводяться перед випуском кріоконсервованих ГКП для клінічного застосування, і у тестах, що виконуються при інфузії ГКП. Деякі центри оцінюють лише вміст CD34⁺-клітин при лейкофerezі та не повторюють його після кріоконсервування. Вони покладаються на результати Н. Yang, який описав сильну кореляцію між вмістом CD34⁺-клітин та вмістом мієломобластів (CFU-GM) [127], та на попередню валідацію процедур їхнього кріоконсервування. В цих центрах, ймовірно, не враховують застереження М. Watts [123] та D. Morgenstern [84], що в окремих випадках при затримці приживлення такої кореляції може не існувати. Можливим поясненням цього може бути те, що кріоконсервування індукує відстрочену загибель клітин, описану J.M. Baust [9], яку не визнавали в минулому.

Наша система тестування життєздатності КПК базується на поєднанні тестів на цілісність мембран ядровміс-

The global exchange of HLA-matched HPC allografts is facilitated by the JACIE/EBMT accreditation process based on the verification of compliance of quality management plans, internal documents, collection and processing practices, and clinical practice with common standards by on-site international audit. Accepting JACIE standards should lead to decreased diversity of applied methods; nevertheless, considerable diversity in processing protocols was recently identified in a European study [47].

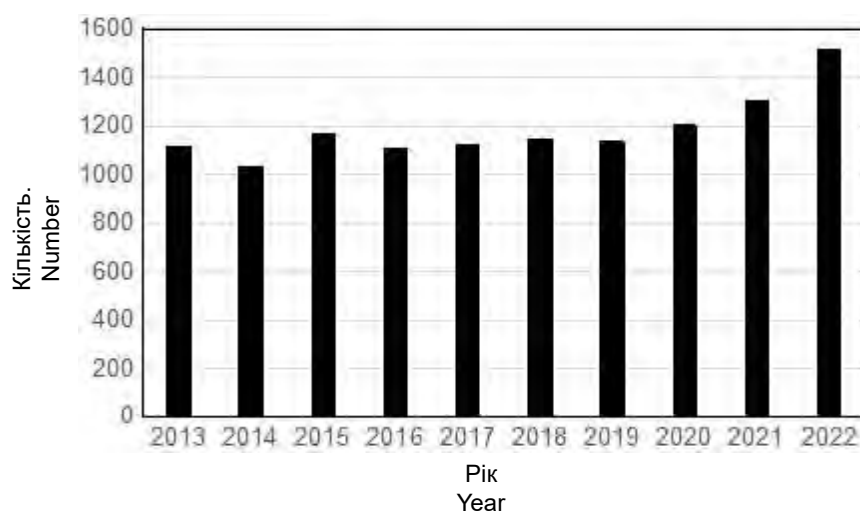


Рис. 16. Загальна кількість кріоконсервованих одиниць ГКП та донорських лімфоцитів, що залишилися у сховищі на кінець року.

Fig. 16. Total number of cryopreserved HPC and donor lymphocytes units remaining in the stock at the end of the year.



них (ЯК) і мононуклеарних клітин (МНК) за допомогою проточної цитометрії та на клітинну активність за здатністю CFU-GM до колонієутворення [1]. Перші тести на життєздатність та активність проводять на зразках з пакета для збору, а другі — на розморожених контрольних зразках з кожного пакета, щоб продемонструвати відповідність кріоконсервованого продукту ГКП критеріям його специфікації та оцінити необхідну дозу для трансплантації ГКП. Третій тест на життєздатність та активність виконують під час інфузії препарату, а результати якомога швидше передають у відділення клінічної трансплантології. У разі введення неоптимальної дози ГКП можуть бути вжиті коригувальні заходи. Четвертий тест проводять у разі перевищення терміну придатності препарату. Така практика усуває ризик інфузії трансплантата з порушеною життєздатністю або активністю клітин (табл. 5), оскільки можна зробити новий забір ГКП, якщо доцільно.

Current cryopreservation protocols for autologous allogeneic HPCs and DL use mostly DMSO in a final concentration of 5–10% with different additives, most often human serum albumin (HSA). Dilution is performed with crystalloid solutions such as physiological saline or PlasmaLyte, or with solutions containing polysaccharides, such as dextran or HES, which are known as extracellular cryoprotectants [1, 11, 103]. Controlled freezing in double bags [102] labelled according to the ISBT 128 standard [27, 51] and storage in the liquid nitrogen vapour phase at temperatures below -140°C as recommended by the European Directorate for the Quality of Medicines and Healthcare (EDQM) guidelines [35]. Enough control samples are frozen simultaneously to ensure proper HPC viability and potency retesting after long-term storage.

Long-term storage is usually required in multiple myeloma, as a cell dose sufficient for more than a single transplantation is collected, and the remaining cells are stored for use in the second

Таблиця 5. Медіанні значення життєздатності та відновлення аутологічних та неспоріднених алогенних гемопоетичних клітин-попередниць після відігрівання

Table 5. Median values of autologous and unrelated allogeneic haematopoietic progenitor cells post-thaw viability and recovery

Група клітин Cells group	Життєздатність ЯК, % NC viability, %	Відновлення ЯК, % NC recovery, %	Життєздатність МНК, % MNC viability, %	Відновлення МНК, % MNC recovery, %	Відновлення CD34 ⁺ -клітин, % CD34 ⁺ -cell recovery, %	Відновлення CFU-GM, % CFU-GM recovery, %
Аутологічна Autologous	85,0	72,2	97,0	93,08	95,5	71,90
Алогенна Allogeneic	90,0	80,70	98,0	100,06	97,43	60,26

У табл. 5 та на рис. 17–19 показано високу життєздатність клітин після розморожування, що перевищує 50%-у межу EBMT, допустиму для ЯК [21], а також високе відновлення життєздатних клітин після розморожування та їхню активність як в аутологічній, так і в неспорідненій алогенній групі. Відновлення життєздатності CFU-GM в алогенній групі показало більш різке зниження (медіана 60,26%) клітинного потенціалу (табл. 5, рис. 19), що можна пояснити затримкою обробки (зазвичай більш ніж на 24 години) через необхідність транспортування ГКП, зібраних у віддалених пунктах збору.

Стандарти JACIE/EBMT [40] вимагають транспортування кріоконсервованих одиниць в сухому контейнері. З самого початку програми трансплантації розморожування проводилось

(tandem) or the third planned transplantation or for salvage therapy in case relapse occurs after many years of remission [61]. Our study of 156 patients in 2017 [73] showed that less than 50% had cryopreserved units stored for up to 5 years and 90% for up to 15 years (Table 2). The situation in storage of DL units performed in 80 recipients was different, where nearly 90% of recipients had units stored for up to 5 years (Table 3).

A high proportion of long-term stored units has also been described by other authors, together with recommendations justifying the disposal of unusable units [18, 61]. As many of the recommended reasons are rare [18], such as loss of cryobag integrity, loss illegibility of labels, contamination of cryopreserved suspension or poor post-thaw cell viability, the most common indication



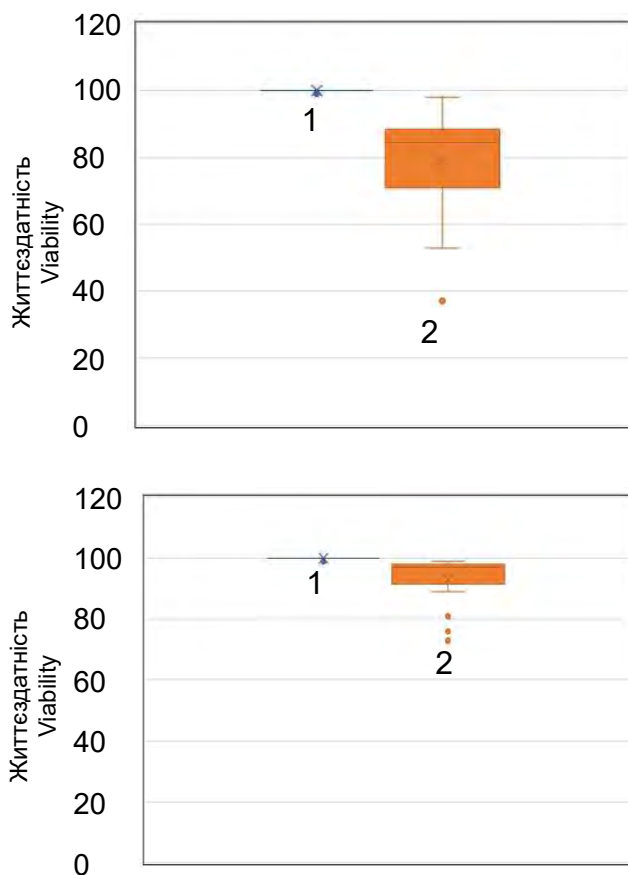


Рис. 17. Життєздатність аутологічних ЯК (А) та МНК (В) до заморожування (1) та після відігрівання (2); група з 30 пацієнтів.

Fig. 17. Viability of autologous NC (A) and MNC (B): 1 – pre-freeze, 2 – post-thaw; group of 30 patients.

персоналом центру обробки біля ліжка пацієнта, що було рекомендовано протягом багатьох років [101]. Альтернативно розморожування може виконуватись в центрі обробки, а далі препарат транспортується в гіпотермічних умовах. Ми обираємо цей варіант у рідкісних випадках для зниження концентрації ДМСО в трансплантаті після розморожування для пацієнтів з високим ризиком, наприклад, при первинному або вторинному амілоїдозі [52].

На рис. 20 показано коливання температури під час транспортування чотирьох пакетів з ГКП та їх короткочасного зберігання у відділеннях. При вилученні кожного пакета з сухого контейнера температура підвищується, проте вона постійно залишається нижчою за -150°C . Межа ЕВМТ для застосованих життєздатних доз CD34^{+} -клітин становить 2×10^6 клітин/кг при аутологічній трансплантації та 4×10^6 клітин/кг маси пацієнта при алогенній трансплантації [21].

Якщо для досягнення зазначених доз CD34^{+} -клітин необхідно ввести об'єм, що містить

for the disposal of autologous HPC units is the patient's death [18]. The overview of reasons encountered in our facility in 2022 (Table 4) reflects this. Despite the relatively high annual number of disposed units, the total number of stored units is increasing (Fig. 16) and enlarging the cryobank storage capacity is necessary from time to time.

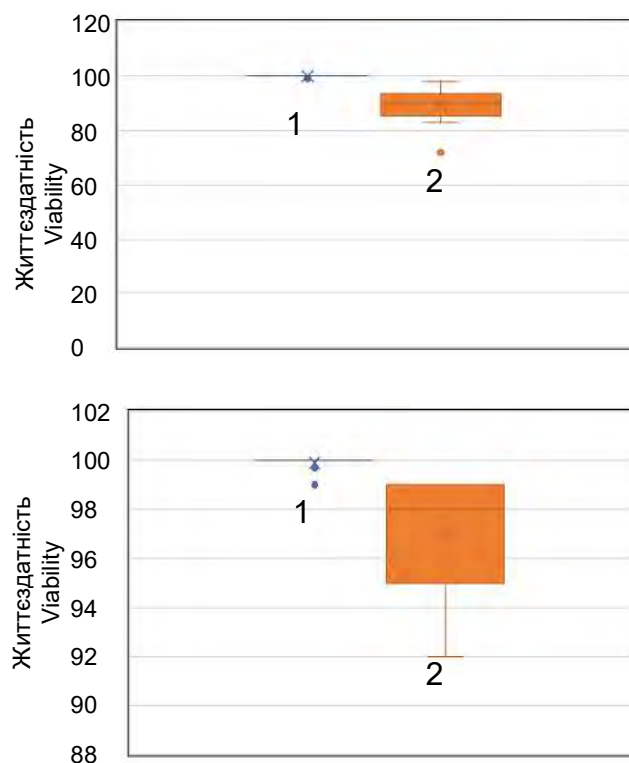


Рис. 18. Життєздатність алогенних ЯК (А) та МНК (В) до заморожування (1) та після відігрівання (2); група з 14 пацієнтів.

Fig. 18. Viability of allogeneic NC (A) and MNC (B): 1 – pre-freeze, 2 – post-thaw; group of 14 patients.

Considerable diversity also exists in the panel of control tests performed before the release of cryopreserved HPC products for clinical application and in tests performed at HPC infusion. Some centres still perform only an assessment of CD34^{+} -cell content at leukaphereses and do not repeat them after cryopreservation. They rely on results published by Yang, who described a strong correlation between CD34^{+} -cell content and CFU-GM content [127], and on previous validation of their cryopreservation procedures. They apparently do not consider the warnings published by M. Watts [123], and D. Morgenstern [84] that in individual cases, resulting in delayed engraftments, such a correlation may not exist. A possible explanation



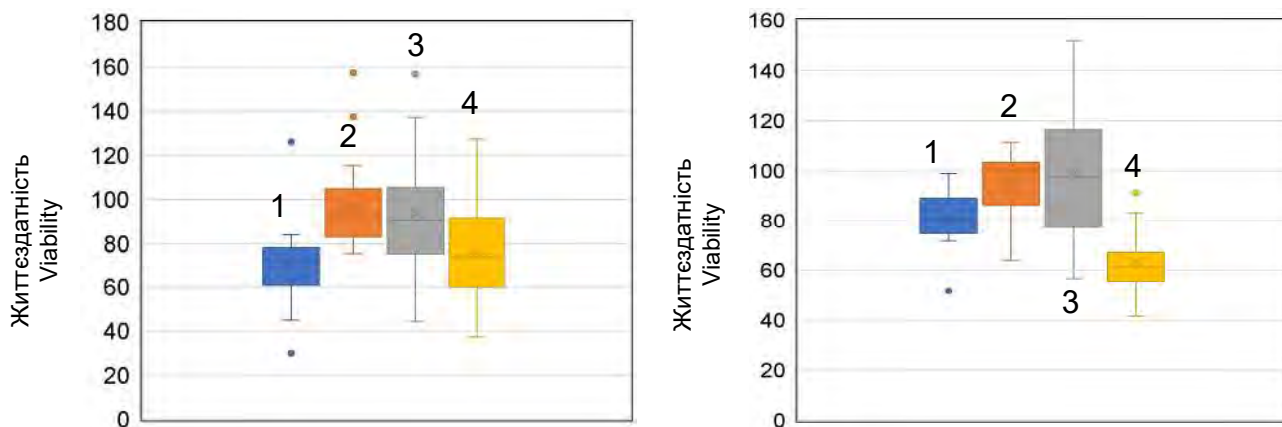


Рис. 19. Відновлення життєздатності аутологічних (А) та алогенних (В) ГКП після відігрівання: 1 — ЯК, 2 — МНК, 3 — CD34⁺, 4 — CFU-GM.

Fig. 19. Post thaw autologous (A) and unrelated allogeneic (B) viable HPC recovery: 1 – NC, 2 – MNC, 3 – CD34⁺, 4 – CFU-GM.

понад 1 г ДМСО на 1 кг маси тіла пацієнта, трансплантацію слід розділити на дві або більше діб [35, 48, 81]. Така ситуація частіше виникає при алогенних трансплантаціях, тоді як при більшості аутологічних трансплантацій добова доза ДМСО набагато нижча за межу EDQM [35]. У системі JACIE існує правило постійного моніторингу застосованих доз ГКП та досягнутого часу приживлення нейтрофілів й тромбоцитів [82], а також щоквартальної оцінки їхньої відповідності рекомендаціям EBMT [21]. Звіт про клінічні результати надсилається до офісу EBMT один раз на рік.

may be that cryopreservation induced the delayed onset cell death described by J.M. Baust [9], which was not recognised in the past.

Our system of viability testing of HPCs is based on a combination of nucleated (NC) and mononuclear cell (MNC) membrane integrity tests using flow cytometry and cell potency tests using CFU-GM colony-forming assays [1]. The first viability and potency tests are performed from the collection bag and the second from thawed control samples from each bag to demonstrate the compliance of the cryopreserved HPC product with its specification criteria and to estimate the necessary HPC transplantation dose. The third viability and potency

tests are performed at infusion of the product, and the results are referred to the Clinical Transplantation Unit as soon as possible. Corrective action can be taken in the case of infusion of a suboptimal HPC dose. The fourth tests are performed if the product's shelf life is exceeded. This practice eliminates the risk of infusion of the graft with impaired cell viability or potency (Table 5), as the new HPC collection can be made, if feasible.

Table 5 and Figures 17, 18 and 19 show high post-thaw cell viability above the EBMT limit of 50%

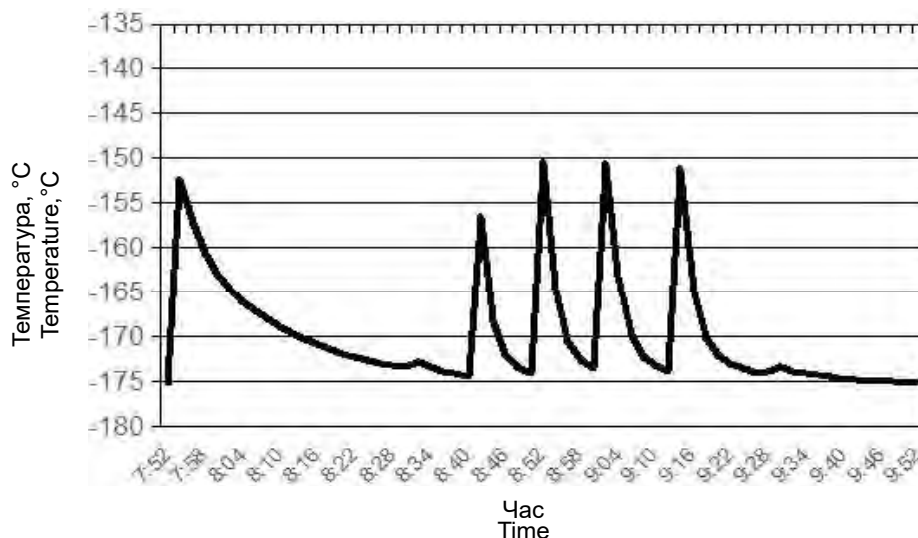


Рис. 20. Температурні коливання під час транспортування криоконсервованих ГКП до клінічного відділення.

Fig. 20. Temperature fluctuations during transportation of cryopreserved HCPs to the clinical department.



Програма трансплантації кріоконсервованих алогенних судинних трансплантатів

В усьому світі кріоконсервовані судинні трансплантати можна отримати в кріотехнологічних компаніях або некомерційних Банках тканин, таких як Європейський банк гомотрансплантатів у Брюсселі [41, 54]. В якості альтернативи використовуються децелюляризовані судинні алотрансплантати або ксеногенні протези [23].

Чеська програма трансплантації кріоконсервованих алогенних СТ була розпочата в 2014 р. після накопичення достатнього запасу різних типів судинних трансплантатів (великі підшкірні вени, біфуркації аорти, клубово-стеговні артеріальні трансплантати). Вони були зібрані від померлих донорів з різними групами крові після перевірки відсутності потенційного донора в Національному реєстрі осіб, які відмовилися від посмертного донорства органів та тканин, та після інформування сім'ї донора (гнучкий варіант передбачуваної згоди). На рис. 21 показано масштаби програми трансплантації в Чеській республіці, зокрема кількість трансплантацій свіжовиділених та кріоконсервованих трансплантатів у 2010–2020 рр. Протягом цього періоду усього було виконано 501 алотрансплантацію. Основними показаннями є критична ішемія нижніх кінцівок у пацієнтів з відсутністю аутологічних каналів, поганим відтоком крові та ішемічною гангrenoю, а також інфікування судинного протеза [60]. Розподіл трансплантатів здійснюється відповідно до критеріїв терміновості у Листі очікування на трансплантацію судинного алотрансплантата.

1) Ургентний — процедура з порятунку життя:

- кровотеча з судинного анастомозу (інфекція, викликана вірулентним збудником);
- дефект м'яких тканин над судинним анастомозом/видимий судинний трансплантат;
- інфекція судинного трансплантата — пацієнт з підвищеними маркерами інфекції на фоні антибіотикотерапії.

2) Ургентний — процедура з порятунку кінцівок:

- критична ішемія кінцівки (біль у спокої);
- критична ішемія кінцівки (дефект м'яких тканин).

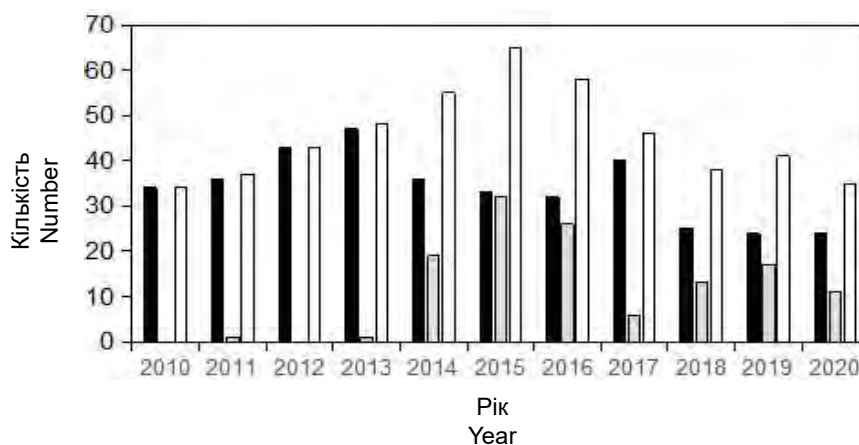


Рис. 21. Щорічна кількість судинних алотрансплантацій у Чеській Республіці за період 2010–2020 рр. ■ — свіжовиділені трансплантати, ■ — кріоконсервовані трансплантати, □ — сума.

Fig. 21. Annual number of vascular allotransplantations in the Czech Republic 2010–2020. ■ – fresh grafts, ■ – cryopreserved grafts, □ – grafts total.

valid for nucleated cells (NC) [21] as well as high post-thaw viable cell recovery and potency in both autologous and unrelated allogeneic groups. In the allogeneic group, the CFU-GM recovery showed a steeper decline (median 60.26%) in cell potency (Table 5, Fig. 19), which can be explained by delayed processing (usually after more than 24 hours) due to the transport of HPCs collected at remote Collection Facilities.

The JACIE/EBMT standards [40] require that cryopreserved units be transported in a dry shipper. Thawing at the patient's bedside, performed by the processing facility staff, has been recommended for many years [101] and has been practiced by us since the beginning of the transplantation programme. Alternatively, thawing can be performed at the Processing Facility and the product may be transported under hypothermic conditions. We select this option in rare cases of post-thaw DMSO reduction in high-risk patients, *e. g.*, in cases of primary or secondary amyloidosis [52].

Figure 20 shows the temperature records of the transport of four HPC bags and of short-term storage in the wards. The temperature increases at the removal of each bag from the dry shipper; nevertheless, it remains continuously below -150°C . The EBMT limit for applied viable CD34^{+} -cell doses is 2×10^6 cells/kg in autologous transplantation and 4×10^6 cells/kg of the patient's weight in allogeneic transplantation [21].

If the volume containing more than 1 g DMSO per kg of the patient's body weight should be infused to achieve these CD34^{+} -cell doses, the transplantation must be divided over two or more days [35, 48, 81]. Such a situation is more likely to occur in allogeneic transplantations, while in most autologous

3) Неургентний:

- інфекція судинного трансплантата, спричинена збудниками з низькою вірулентністю;
- хронічне ішемічне ураження м'яких тканин (захворювання периферичних артерій);
- імплантація судинного доступу.

Забір судин здійснюють судинні хірурги у мультиорганних донорів, переважно з мертвим мозком, в операційних залах уповноважених центрів трансплантації органів та судин, потім трансплантати перевозять до ТУ машинами швидкої допомоги з подальшим зануренням у розчин для консервування органів з додаванням гентаміцину. Обробка в чистих приміщеннях ТУ починається з дезінфекції за методом J. van Kats [118] протягом 24 годин після забору. Наша система забору трансплантатів відрізняється від роповсюдженої практики, коли судини забирають в приміщеннях для розтину після тривалої холодової ішемії [54], та демонструє низький рівень відбраковування трансплантатів (13% у 2023 р.). У 2023 р. для клінічного застосування через бактеріальне забруднення не було видано 5 трансплантатів із 39 зібраних та кріоконсервованих (табл. 6).

У сучасних протоколах кріоконсервування використовують переважно ДМСО, розведений у середовищі для культивування тканин, лактаті Рінгера, фізіологічному розчині або плазмаліті. Ми надаємо перевагу комбінації з позаклітинним кріопротектором (рис. 22, А) та використовуємо 10%-й розчин ДМСО, розведений у 10%-му розчині ГЕК з додаванням HSA [110]. Використовується окремий контейнер «Kryo-CE 10K» (Taylor-Wharton, Німеччина), розрахований для зберігання 88 пакетів з кріоконсервованими судинами виключно у фазі парів рідкого азоту (рис. 22, В). Трансплантати відпускаються для клінічного застосування відповідальною особою ТУ після перевірки історії хвороби донора, оцінки результатів серологічних, мікробіологічних тестів до і після обробки, а також протоколу розтину. Відпущені трансплантати остаточно маркуються за допомогою SEC, їхні параметри в анонімній формі вносять у таблицю, спільну для всіх центрів, що беруть участь у проєкті. Одночасно всі дані про донорство, забір, обробку та розподіл тканин передають до Відділу моніторингу тканин Координаційного центру трансплантації за допомогою програмного забезпечення TISSIS.

Трансплантати можуть доставлятися тільки в уповноважені клінічні центри трансплантації для імплантації пацієнтам, які раніше були внесені до Листа очікування на судинну трансплантацію. Транспортування здійснюється в су-



Рис. 22. Технологічна операція зі зберігання кріоконсервованих трансплантатів: велика підшкірна вена в кріоконсервуючому розчині, запаяна в подвійний поліетиленовий пакет для заморожування «EVA» (Maco Biotech, Франція) (А); робота з металевими касетами для захисту пакетів з трансплантатами, які зберігаються в малому контейнері «KryoCE10K» (Taylor-Wharton, Німеччина) (В).

Fig. 22. Technological operation for storage of cryopreserved transplants: a large subcutaneous vein in cryopreservative solution, sealed in a double polyethylene bag for freezing «EVA» (Maco Biotech, France) (A); the work with metal cassettes for protecting packages with transplants stored in a small KryoCE10K container (Taylor-Wharton, Germany) (B).

transplantations, the daily DMSO dose is far below the EDQM limit [35]. It is a rule in the JACIE system that the applied HPC doses and achieved engraftment times in neutrophils and platelets are continuously monitored [82] and that their compliance with EBMT recommendations [21] is evaluated quarterly. Once a year, a summary of clinical results is reported to the EBMT office.

Cryopreserved allogeneic vascular grafts vascular tissue transplantation programme

Cryopreserved vascular grafts are available worldwide from cryotechnology companies or from non-profit tissue banks, such as the European Homograft Bank in Brussels [41, 54]. Alternatively,



хому контейнері машиною швидкої допомоги компанії, що має ліцензію ТУ. Повільне розморожування за загальноприйнятим протоколом (дві години в холодильнику для уникнення ризиків судин) здійснює персонал Центру трансплантації. Після розморожування операційна медсестра виймає трансплантат з кріопакета та поміщає його в попередньо охолоджену розчину для консервування органів до моменту імплантації. Реципієнт отримує імуносупресію відповідно до загальноприйнятого протоколу низькодозової імуносупресивної терапії із застосування препарату такролімус («Програф»/«Адваграф» (Astellas Pharma, Японія)).

1. Для трансплантатів, імплантованих з приводу критичної ішемії нижніх кінцівок, імуносупресію призначають з першої доби після операції. Пацієнтам з інфекцією, які отримують антибіотикотерапію, імуносупресію призначають на сьому добу після операції.

2. Монотерапія препаратом такролімус з цільовою концентрацією у плазмі крові 4–7 нг/мл.

3. Протягом першого року лікування рівні імуносупресії та функції нирок досліджуються з інтервалом 3 місяці, у подальшому з інтервалом 6 місяців.

4. За відсутності клінічних ознак відторгнення трансплантата або за даними комп'ютерної томографії дозу знижують до 0,5 мг на добу через 24 місяці (при мінімальних концентраціях у плазмі крові).

5. Для пацієнтів, які не в змозі контролювати рівень препарату «Програф», альтернативою є «Сандіmun» (циклоспорин А) фірми «Novartis» (Швейцарія) у дозі 2 x 25 мг.

6. Пацієнтам з прогресуючими захворюваннями нирок імуносупресію призначають індивідуально.

На рис. 23 показана щорічна кількість кріоконсервованих трансплантатів та кількість трансплантатів, доставлених для клінічного застосування у 2013–2022 рр., на рис. 24 — кількість трансплантатів, що залишилися у сховищі. Вочевидь, що у 2021 та 2022 рр. на ці показники вплинула пандемія COVID-19. У табл. 6 наведено дані за 2023 р., які свідчать про повернення до допандемічного рівня.

Рутинне тестування життєздатності клітин судинної стінки кріоконсервованих трансплантатів після відігрівання не проводили. З метою валідації було проведено тестування шести кріоконсервованих великих підшкірних вен модифікованим методом S. Johnson і P. Rabinovich [55], який базується на забарвленні *in situ*

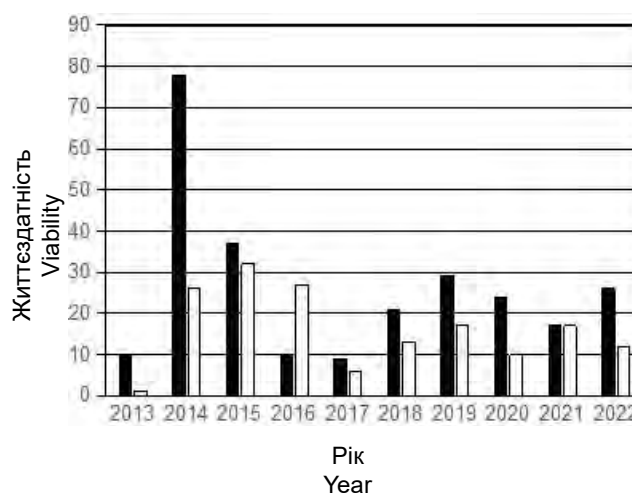


Рис. 23. Щорічне використання кріоконсервованих судинних трансплантатів. ■ — СТ прийняті на зберігання, □ — відпущені СТ.

Fig. 23. Annual number of cryopreserved VT units used. ■ – VT admitted for storage, □ – VT delivered.

decellularised vascular allografts or xenogeneic prostheses are used [23].

The Czech programme of transplantation of cryopreserved allogeneic VT was started in 2014 after the accumulation of a sufficient stock of different types of vascular grafts (great saphenous veins, aortic bifurcations, iliofemoral arterial grafts). They were collected from deceased donors with different blood groups after checking that the potential donor was not included in the National Register of Persons Rejecting Postmortem Organ and Tissue Donation and providing information to the donor's family (a soft variant of presumed consent). The size of the transplantation programme is shown in Figure 21, along with the number of the propor-

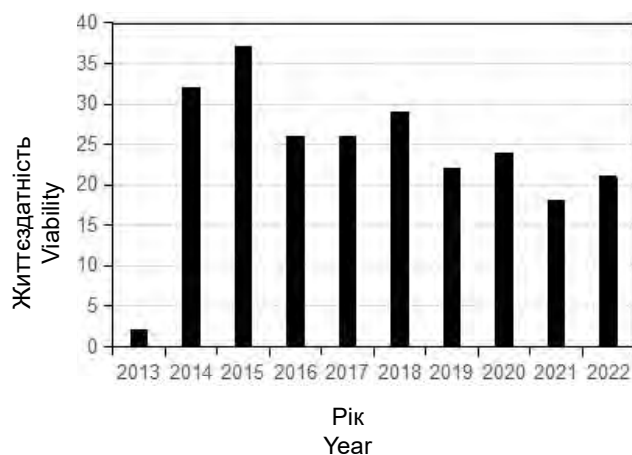


Рис. 24. Щорічне використання кріоконсервованих СТ, що залишилися у сховищі на кінець року.

Fig. 24. Annual number of cryopreserved VT units remaining in the stock at the end of the year.



Таблиця 6. Типи судинних трансплантатів, які були кріоконсервовані і видані для клінічного застосування в 2023 р.
Table 6. Types of vascular grafts cryopreserved and delivered for clinical application in 2023

Тип трансплантата Type of graft	Кріоконсервовані трансплантати Cryopreserved grafts	Видані трансплантати Delivered grafts
Біфуркація аорти Aortic bifurcation	8	3
Грудний відділ аорти Thoracic aorta	1	0
Трансплантат клубово-стегнової артерії Iliofemoral arterial graft	6	2
Нижня порожниста вена Vena cava inferior	1	0
Трансплантат клубово-стегнової вени Iliofemoral venous graft	0	1
Велика підшкірна вена Great saphenous vein	23	16
Всього Total	39	22

флуоресцентними вітальними барвниками та застосуванні конфокальної мікроскопії [78]. За результатами п'ятирічного дослідження кріостійкості судин, які відігривали повільно (у холодильнику протягом двох годин) та швидко (на водяній бані при 37°C), було показано збереженість високої життєздатності клітин (табл. 7, рис. 25), що дає впевненість у правильності стандартного протоколу повільного розморожування. Життєздатність оцінювали на поперечних зрізах розморожених венозних алотрансплантатів [78].

Після виписки пацієнта з лікарні звіти про клінічні результати надсилають назад до ТУ. Довгострокові клінічні ефекти оцінює робоча група Чеського товариства серцево-судинної хірургії з питань заміни СТ, яка також здійснює нагляд за всім проєктом.

tions of transplanted fresh and cryopreserved grafts in 2010–2020. A total of 501 allotransplantations were performed during this period. The main indications are critical low limb ischaemia in patients who lack autologous conduits, poor outflow tract and ischaemic gangrene, and presenting with infection of the vascular prosthesis [60]. The allocation of the grafts is managed according to urgency criteria on the Waiting list for vascular allograft transplantation.

1) Urgent – life saving procedure:

- Bleeding from vascular anastomosis (infection caused by virulent pathogen);

- Soft tissue defect above vascular anastomosis/visible vascular graft;

- Vascular graft infection – patient with elevated infection markers on antibiotic therapy.

2) Urgent – limb saving procedure:

- Critical limb ischemia (rest pain);

Таблиця 7. Життєздатність клітин стінки судин після відігривання

Table 7. Post-thaw viability of cells of the vessel wall

Показники Indicators	Життєздатність клітин за умов повільного відігривання, % Cell viability (slow thawing), %	Життєздатність клітин за умов швидкого відігривання, % Cell viability (rapid thawing), %
Середнє значення Mean	87,70	85,50
Стандартне відхилення SD	11,30	16,7
Медіана Median	91,03	94,0



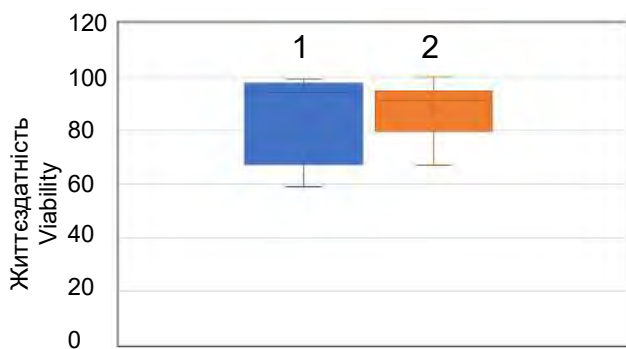


Рис. 25. Життєздатність клітин стінки судини після відігрівання через 5 років зберігання. 1 — швидке відігрівання, 2 — повільне відігрівання.

Fig. 25. Post-thaw viability of cells of the vessel wall after 5 years of storage. 1 – rapid thawing, 2 – slow thawing.

ВПЛИВ КЛІНІЧНИХ ПОТРЕБ НА СТРУКТУРУ ТА ТЕХНІЧНУ БАЗУ КРІОБАНКУ

Розмір і специфічні вимоги до програм клінічних трансплантацій є критичними параметрами для проектування приміщення кріобанку, вибору відповідного обладнання та розподільників рідкого азоту. Структура кріобанку повинна гарантувати безпеку персоналу кріобанку та стабільність параметрів навколишнього середовища. Ми демонструємо вирішення цих питань на прикладі кріобанку Університетської лікарні м. Градець-Кралове.

Структура кріобанку та його забезпечення якісним рідким азотом

Приміщення кріобанку [74] розташоване на першому поверсі, воно відокремлене від клінічних відділень та доступне через персональний коридор і технічний вхід (рис. 26), який може використовуватися для завантаження та розвантаження великогабаритного і важкого технічного обладнання. Цей вхід також може бути використаний для аварійної вентиляції у випадку масивного витоку рідкого азоту всередині кріобанку.

Розташований поруч вертикальний резервуар VT 11 (Chart Ferox, ЧР) використовується для зберігання 10 т рідкого азоту та з'єднаний з кріобанком ізолюваним трубопроводом (рис. 27). Телеметричний нагляд за ним здійснює постачальник, який має сертифікат на виробництво медичних газів. Трубопровід заповнюється рідким азотом лише тоді, коли здійснюється його перекачування, зазвичай двічі на тиждень. Мінімальна маса залишку рідкого азоту встановлена на рівні 1 т, а дозаправка зазвичай виконується з інтервалом в один місяць. Постійне збільшення споживання рідкого азоту показано на рис. 28.



Рис. 26. Технічний вхід до кріобанку.

Fig. 26. The technical entrance of the cryobank.

- Critical limb ischemia (soft tissue defect).
- 3) Normal:
 - Vascular graft infection caused by pathogens with low virulence;
 - Chronic ischemic defect of soft tissues (PAD);
 - Vascular access implantation.

The vessels are collected by vascular surgeons from multi-organ, mostly brain-dead donors in the operating rooms of authorised Organ or Vascular Transplantation Centres and transferred to the TE by ambulance, immersed in organ preservation solution with the addition of gentamycin. Processing in the clean rooms of the TE begins with decontamination according to the J. van Kats method [118] within 24 hours of the harvest. Our system of graft collection differs from the practice of many authors, who collect vessels in autopsy rooms after a long cold ischaemia time [54] and shows a low graft discard rate (13% in 2023). In 2023, of the



Рис. 27. З'єднання кріобанку з резервуаром для зберігання рідкого азоту за допомогою ізолюваного трубопроводу.

Fig. 27. Connection of the cryobank with the liquid nitrogen storage tank by the insulated pipeline.



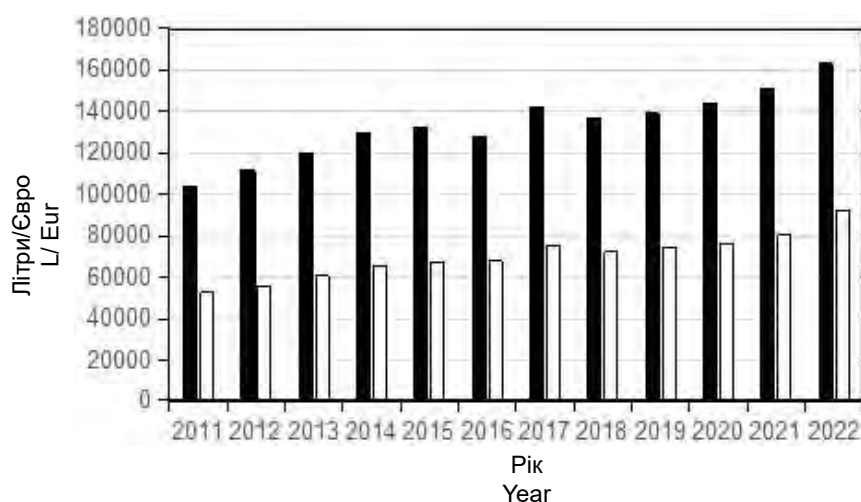


Рис. 28. Щорічне споживання рідкого азоту: ■ — кількість, літри, □ — вартість, євро.

Fig. 28. Annual liquid nitrogen consumption: ■ – quantity of liquid nitrogen, litres, □ – cost of liquid nitrogen, euro.

Простір самого кріобанку (рис. 29) знаходиться під постійним відеоспостереженням. Інформація про внутрішню температуру, рівень рідкого азоту та щоденне використання рідкого азоту, що відображаються на дисплеї, записуються вручну один раз на добу в журнали даних, розміщені у верхній частині кожного контейнера. Приміщення кріобанку відокремлене від суміжних приміщень дверима з контролем доступу за допомогою персональних електрон-

39 collected and cryopreserved grafts, only 5 were not released for clinical application due to bacterial contamination (Table 6). Current cryopreservation protocols use mostly DMSO diluted in tissue culture media, Ringer's lactate, physiological saline solution or PlasmaLyte. We prefer a combination with extracellular cryoprotectant (Fig. 22A) and use 10% DMSO solution diluted in 10% HES solution with the addition of HSA [110]. A separate Kryo-CE 10K container (Taylor-Wharton, Germany) designed for storage of 88 bags with cryopreserved vessels in the liquid nitrogen vapour phase is used exclusively (Fig. 22B). The grafts are released for clinical application by the responsible person of the TE after checking the donor's clinical history and evaluating the results of serological tests and microbiological tests before and after processing, as well as of the autopsy protocol. The released grafts are finally labelled using the SEC, and their parameters in anonymised form are included in the table shared by all centres participating in the project. Simultaneously, all



Рис. 29. Приміщення кріобанку з контейнерами для зберігання рідкого азоту та резервними ємностями для рідкого азоту (А) та великі контейнери з мідним тепловим шунтом MVE 1400 series («Chart MVE», США), що використовуються для зберігання ГКП (В).

Fig. 29. Cryobank with liquid nitrogen storage containers and liquid nitrogen backup containers (A) and large MVE 1400 series containers (Chart MVE, USA) with copper thermal shunt used for HPC storage (B).





Рис. 30. Двері кріобанку з інструкціями щодо входу та попереджувальними етикетками (1). Поруч з дверима заряджений сухий контейнер (2).

Fig. 30. The cryobank door with entry instructions and warning labels (1). Next to the doors is a charged dry container (2).

них карток. Поруч завжди знаходиться заряджений сухий контейнер, який використовується для переміщення клітин та тканин всередині лікарні (рис. 30). В окремому приміщенні здійснюється моніторинг температури та рівня рідкого азоту всередині біологічних контейнерів та параметрів навколишнього середовища в кріобанку (рис. 31).

Приміщення кріобанку обладнане примусовою вентиляцією. Оскільки пари рідкого азоту важчі за повітря, вони відводяться з нижньої частини приміщення кріобанку, а свіже повітря подається зі стелі у вертикальному напрямку [75]. Настінні кисневі монітори «Polytron» (Draeger, Німеччина) розміщуються на висоті приблизно 1 м над підлогою банку, вміст кисню в атмосфері вимірюється та реєструється з п'ятихвилинними інтервалами.

У разі відсутності співробітників у кріобанку тривожні сигнали передаються черговому персоналу, дистанційне спостереження за контрольованими параметрами здійснюється центральною технічною службою лікарні. Також ведеться дистанційне відеоспостереження за приміщенням кріобанку. Коридори обладнані дихальними апаратами для персоналу та забезпечені інструкціями з кріогенної безпеки. У самих кріосховищах також є захисні маски, рукавички та фарти (див. рис. 22, В).



Рис. 31. Візуалізація значень температури та рівня рідкого азоту всередині контейнерів з біологічними речовинами. Попереджувальні значення виділені жовтим кольором, аварійні — червоним.

Fig. 31. Visualisation of temperature values and liquid nitrogen levels inside the containers with biological substances. Alert values are labelled yellow, alarm levels are labelled red.

data on tissue donation, harvest, processing, and distribution are referred to the Tissue Monitoring Unit of the Transplantation Coordination Centre via TISSIS software.



Рис. 32. Резервуари «Eurocyl 230 LP» (Chart-Ferox, Чеська Республіка), розміщені всередині кріобанку та з'єднані з трубопроводом рідкого азоту за допомогою ізолюваного шлангу.

Fig. 32. Eurocyl 230 LP vessels (Chart-Ferox, Czech Republic) placed inside the cryobank are connected with the liquid nitrogen pipeline by an insulated hose.



Таблиця 8. Manifestation of oxygen deficiency risk description at atmospheric pressure

Table 8. Прояви кисневої недостатності при атмосферному тиску

Вміст кисню в атмосфері, об. % Atmospheric oxygen content, vol %	Прояви кисневої недостатності Effect and symptoms
11–14	Зниження фізичної та інтелектуальної працездатності без усвідомлення людиною Diminution of physical and intellectual performance without the person's knowledge
8–11	Можливість втрати свідомості через короткий проміжок часу без попереджувальних симптомів Possibility of fainting after a short period without warning
6–8	Непритомність через кілька хвилин; можлива реанімація, якщо діяти негайно Fainting within a few minutes; resuscitation possible if carried out immediately
0–6	Майже миттєва непритомність призводить до смерті мозку навіть у разі реанімації Fainting almost immediate, causes brain death even if resuscitated

Зони з ризиком дефіциту кисню (сам кріобанк, центральна кімната моніторингу та прилегла кріолaborаторія класу С) чітко позначені та обладнані настінними кисневими моніторами. Світлова сигналізація розміщена на входних дверях та з'єднана зі звуковими сигналами тривоги. Біля дверей розміщена таблиця з узагальненою інформацією про ризики дефіциту кисню (табл. 8) [124], а на дверях розміщені короткі попередження та інструкції щодо безпеки входу у приміщення (див. рис. 30).

Рідкий азот подається з ізольованого трубопроводу до невеликих (230 л) резервуарів низького тиску «Eurocyl 230 LP» (Chart Ferox, Чеська Республіка), які розміщені всередині (рис. 32). Контейнери для зберігання кріоконсервованих клітин та тканин (див. рис. 29) заповнюються автоматично з цих малих резервуарів для зберігання рідкого азоту. Представлене рішення є альтернативою широко розповсюдженішому прямому підключенню трубопроводу до контейнерів для зберігання біоматеріалу та має ряд переваг, а саме:

- усунення ризику надмірного витоку рідкого азоту в разі пошкодження трубопроводу ззовні або всередині банку;
- зниження ризику надмірного витоку рідкого азоту всередині кріобанку, спричиненого втратою вакууму, оскільки одночасне пошкодження більш ніж одного резервуара «Eurocyl» є малоймовірним;
- мобільність резервуарів «Eurocyl» — їх можна від'єднати від контейнера для зберігання біологічних матеріалів та використовувати як альтернативне джерело постачання рідкого азоту в разі пошкодження зовнішнього резервуара, а також їх можна перенести разом з біологічними контейнерами до іншого кріобанку.

The grafts can be delivered only to authorised Clinical Transplantation Centres for implantation in patients who were previously included on the vascular transplantation waiting list. Transport is performed in a dry shipper by the ambulance of the company with the TE licence. Slow thawing according to common protocol (two hours in the refrigerator, which avoids vessel cracking) is performed by the staff at the Transplantation Centre. After thawing, the operating nurse removes the graft from the cryobag and keeps it in the precooled organ preservation solution until implantation. The recipient receives immunosuppression as prescribed by the common low-dose immunosuppressive protocol with tacrolimus (Prograf/Advagraf (Astellas Pharma, Japan)).

1. For grafts implanted for critical limb ischemia (CLI), immunosuppression is given from the 1st post-operative day. In patients with infection on antibiotic treatment, it is given on the 7th post-operative day.

2. Monotherapy of tacrolimus is used with target levels of 4–7 ng/ml.

3. The levels of immunosuppression and renal functions are examined in three-month intervals in the first year, then in six-month intervals afterwards.

4. If there are no clinical or CT signs of graft rejection, the dose is reduced to 0.5 mg a day after 24 months (at minimum plasma concentrations).

5. For patients who are not able to control the levels of Prograf, Sandimmun 2 × 25 mg (Cyclosporin A) by Novartis (Switzerland) is an alternative.

6. Patients with advanced renal disease are immunosuppressed individually.

The annual number of cryopreserved grafts and the number of grafts delivered for clinical appli-



Важливість створення стабільних параметрів навколишнього середовища всередині кріобанку

Підтримання температури і відносної вологості в межах експлуатаційних норм для контейнерів з рідким азотом, визначених виробником, вимагає ефективного кондиціонування повітря, навіть у країнах з м'яким кліматом. Ефективна примусова вентиляція необхідна для підтримання безпечного рівня кисню в атмосфері. Підтримка належного функціонування систем вентиляції та кондиціонування повітря вимагає постійного моніторингу та реєстрації температури, відносної вологості та рівня атмосферного кисню (див. рис. 31). Рівень кисню слід реєструвати через дуже короткі проміжки часу, оскільки вже через кілька хвилин кисневого голодування мозок людини може бути серйозно пошкоджений.

Вважається необов'язковим визначати ступінь чистоти середовища кріобанку, однак ми рекомендуємо проводити принаймні її валідацію шляхом підрахунку частинок та аероскопії з метою оцінки ризику та/або запобігання бактеріального забруднення повітряно-крапельним шляхом контейнерів для зберігання.

Оцінка та управління ризиком дефіциту кисню в атмосфері. Всі інструкції з безпеки для належної та безпечної роботи кріобанку і транспортування кріоконсервованих клітинних та тканинних препаратів до клінічних відділень повинні бути викладені в Загальному плані з безпеки при роботі з рідким азотом, складеному відповідно до стандартів JACIE/EBMT. Найважливішою особливістю небезпеки кисневої недостатності є те, що асфіксія настає швидко, без виникнення негайних попереджувальних симптомів у потенційної жертви [17, 124] (див. табл. 8). Чеське законодавство встановлює прийнятні показники кисню на рівні 19,9% для вагітних жінок і дітей та 18% для решти населення [75]. Остання версія рекомендацій EDQM [35] встановлює найнижчий прийнятний рівень у 19%.

Навантаження простору кріобанку газоподібним азотом, що випаровується, можна розрахувати на основі відображених та зареєстрованих даних (див. рис. 29) добового використання рідкого азоту:

$$V(G) = \left[(\pi \times r^2) \times h_L \right] \times 683,$$

де $V(G)$ — об'єм газоподібного азоту, м³; π — число Людовіфа; r — внутрішній радіус контейнера для зберігання, м; h_L — добове використання рідкого азоту, м; 683 — газовий фактор для рідкого азоту.

cation in 2013–2022 are shown in Fig. 23, and the number of grafts remaining in stock in Fig. 24. It is evident that in 2021 and 2022, these numbers were influenced by the COVID-19 pandemic. Table 6 shows data from 2023 that indicates the return to pre-pandemic levels.

Routine post-thaw viability testing of the cells of the vascular wall of cryopreserved grafts is not performed. For validation purposes in six cryopreserved great saphenous veins chosen for audit, we used the modified method of S. Johnson and P. Rabinovich [55] based on *in situ* staining with fluorescent vital dyes and the use of confocal microscopy [78]. The results of this five-year cryostability study of vessels thawed slowly (in a refrigerator for two hours) and rapidly (in a 37°C water bath) demonstrated good preservation of cell viability (Table 7, Fig. 25) and provides confidence in the routine slow thawing protocol. Viability was assessed at perpendicular cuts (cross-sections of the thawed venous allografts) [78].

Reports on the clinical outcomes are sent back to the TE after discharging the patient from hospital. Long-term clinical effects are evaluated by the working group for VT replacement of the Czech Society for Cardiovascular Surgery, which also supervises the entire project.

IMPACT OF CLINICAL NEEDS ON THE DESIGN AND TECHNICAL BACKGROUND OF THE CRYOBANK

The size and specific requirements of clinical transplantation programmes are critical parameters for designing the cryobank premises and selecting suitable equipment and liquid nitrogen distributors. The cryobank design must guarantee the safety of the cryobank staff and stable environmental parameters. We demonstrate solutions to these issues with the example of the cryobank at the University Hospital Hradec Králové.

Cryobank design and its supply by high-quality liquid nitrogen

The cryobank [74] is located on the ground floor, separated from clinical departments and accessible through a personal corridor and the technical entrance (Fig. 26), which can be used for loading and unloading large and heavy technical equipment. This entrance is also usable for emergency ventilation in the event of a massive liquid nitrogen leak inside the cryobank.

An upright tank VT 11 (Chart Ferox, Czech Republic) located nearby is used for storage of 10 tons of liquid nitrogen and is connected to the cryobank via an insulated pipeline (Fig. 27). It



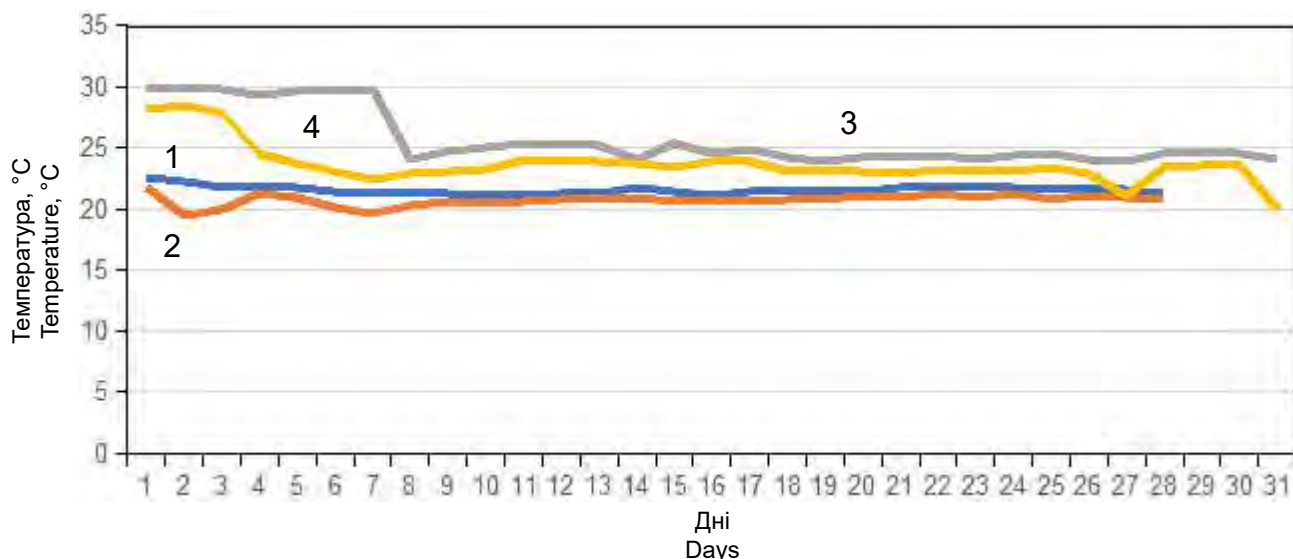


Рис. 33. Температурний режим в приміщенні кріобанку в теплий і холодний періоди 2023 р. 1 — $T_{\max}$ лютий, 2 — $T_{\min}$ лютий, 3 — $T_{\max}$ липень, 4 — $T_{\min}$ липень.

Fig. 33. The temperature regime inside the cryobank in the warm and cold periods of 2023. 1 — $T_{\max}$ Feb, 2 — $T_{\min}$ Feb, 3 — $T_{\max}$ Jul, 4 — $T_{\min}$ Jul.

Для оцінки відмінності у ризику дефіциту кисню в теплий та холодний періоди року слід порівняти навантаження азоту, оскільки різниця температур (рис. 33) може впливати на швидкість випаровування рідкого азоту, особливо в тих випадках, коли температура виходить за межі робочого діапазону контейнерів «Chart MVE 1400» (18–27°C). Однак на рис. 34 та

is telemetrically supervised by a supplier that is certified to manufacture medicinal gases. The pipeline is filled with liquid nitrogen only when liquid nitrogen transfers are performed, usually twice a week. The minimum weight of the remaining LN2 is adjusted to 1 t, and refilling is usually performed in onemonth intervals. Continuously increasing liquid nitrogen consumption is shown in Figure 28.

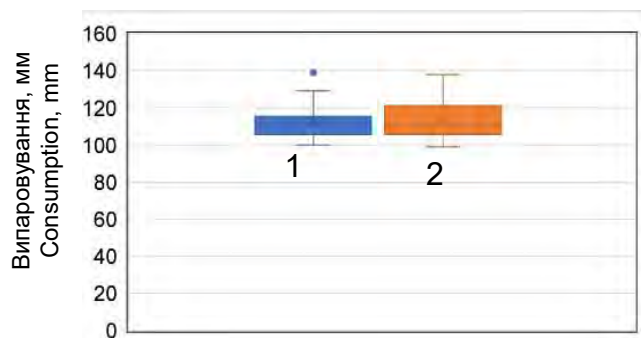


Рис. 34. Загальне добове випаровування рідкого азоту з 4-х контейнерів «Chart MVE 1400». 1 — у лютому, 2 — у липні.

Fig. 34. Total daily liquid nitrogen consumption of 4 liquid nitrogen containers «Chart MVE 1400». 1 — February, 2 — July.

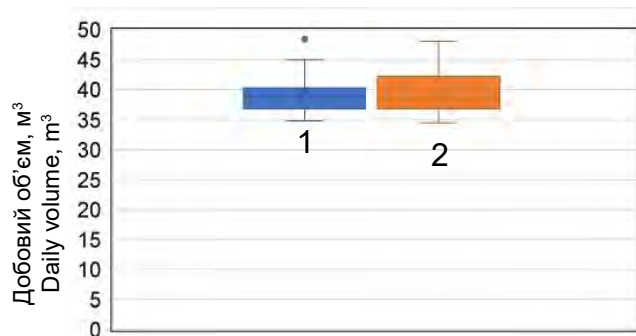


Рис. 35. Загальний добовий об'єм випаровування газоподібного азоту з 4-х контейнерів «Chart MVE 1400». 1 — у лютому, 2 — у липні.

Fig. 35. Total daily volume of nitrogen gas evaporated from 4 liquid nitrogen containers «Chart MVE 1400». 1 — February, 2 — July.

35 показані лише незначні відмінності в кількості газоподібного азоту, що випаровується, а на рис. 36 зафіксовано підтримання рівня атмосферного кисню вище граничного значення EDQM — 19%.

The cryobank (Fig. 29) is under continuous video monitoring. The information on internal temperature, liquid nitrogen level and daily liquid nitrogen usage shown on the display is manually recorded once a day in data logs located on top of



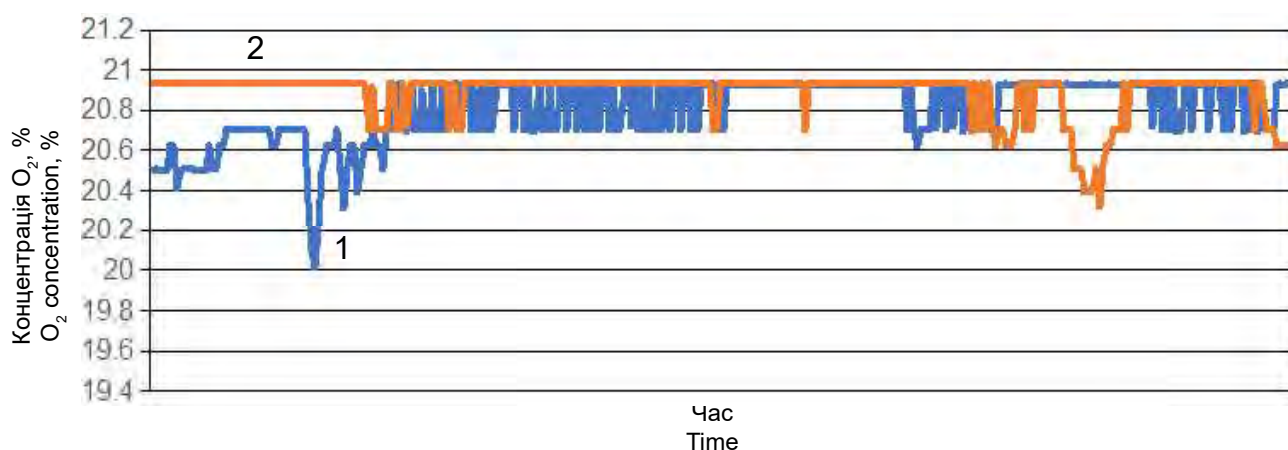


Рис. 36. Вміст кисню в атмосфері в теплий і холодний періоди 2023 р. 1 — 13 липня, 2 — 14 лютого.
Fig. 36. Atmospheric oxygen level record in the warm and cold periods of 2023. 1 – 13th July, 2 – 14th February.

Регулювання відносної вологості та запобігання забрудненню повітря. Відомо, що висока відносна вологість призводить до намерзання льоду на кришках контейнерів, який слід регулярно видаляти, а також до утворення туману після відкриття контейнерів. Для скорочення часу на маніпуляції під час завантаження або розвантаження матеріалів, що зберігаються, необхідно використовувати автоматичні або ручні системи розморожування. Порівняння даних за лютий та липень 2023 р. (рис. 37) наочно демонструє, що ризик перевищення рівня відносної вологості за межею експлуатації обладнання у 50% є вищим у літній період. Під час тривалого зберігання конденсована атмосферна волога утворює шар льоду на дні контейнера. Якщо атмосфера всередині кріобанку недостатньо чиста, конденсована волога може призводити до бактеріального забруднення контейнера, яке можна виявити в відталому льоду при розморожуванні (табл. 9).

each container. The cryobank room is separated from adjacent rooms by a door with access control using personal electronic cards. There is always a charged dry container near the door, which is used to move cells and tissues around the hospital (Fig. 30). In a separate room, temperature and liquid nitrogen levels inside the biological containers and environmental parameters inside the cryobank are monitored (Fig. 31).

The cryobank space is equipped with forced ventilation. As liquid nitrogen vapour is heavier than the air, it is exhausted from the bottom of the cryobank space and fresh air is pumped from the ceiling in a vertical direction [75]. Wall-mounted oxygen monitors Polytron (Draeger, Germany) are placed at a height of approximately 1 m above the floor of the bank and the atmospheric oxygen content is measured and recorded at five-minute intervals.

In the absence of the cryobank staff, alarm situations are referred to the staff members on duty

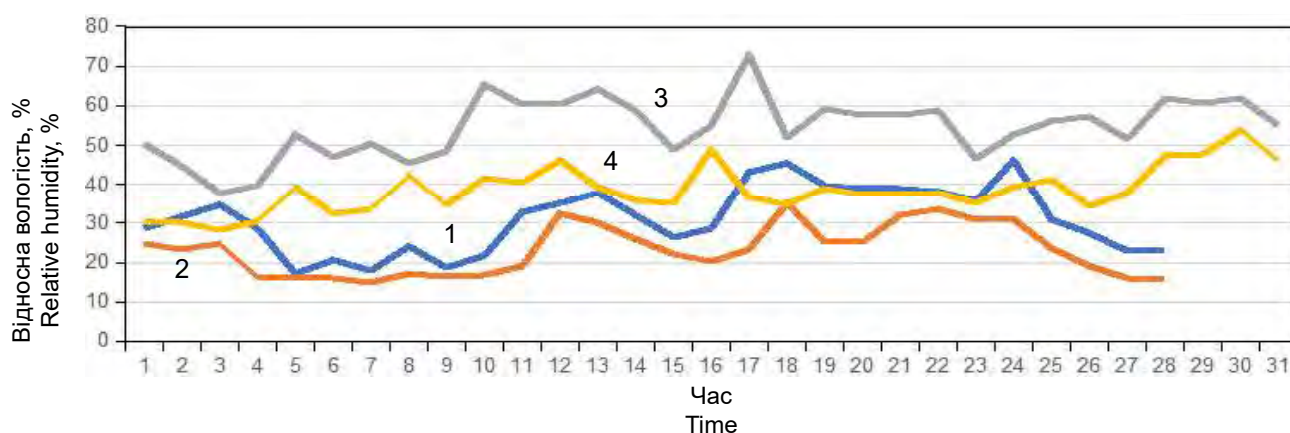


Рис. 37. Відносна вологість повітря (%) всередині кріобанку в теплий і холодний періоди 2023 р. 1 — $rH_{\max}$ лютий, 2 — $rH_{\min}$ лютий, 3 — $rH_{\max}$ липень, 4 — $rH_{\min}$ липень.

Fig. 37. Relative humidity level (%) inside the cryobank in the warm and cold periods of 2023. 1 – $rH_{\max}$ Feb, 2 – $rH_{\min}$ Feb, 3 – $rH_{\max}$ Jul, 4 – $rH_{\min}$ Jul.

Таблиця 9. Штами, виявлені при кількісному бактеріологічному контролі біологічних контейнерів при розморожуванні

Table 9. Strains found at quantitative bacteriological control of biologic containers at defrosting

Номер контейнера Container No.	Номер зразка Sample No.	Виявлені штами Strains found	Кількість, КУО/мл Quantity, CFU/mL
11	1	Негативний Negative	< 1
	2	Негативний Negative	< 1
13	1	Негативний Negative	< 1
	2	Негативний Negative	< 1
18	1	<i>Acinetobacter pittii</i> <i>Aerococcus viridans</i> <i>Pseudomonas koreensis</i>	5 2 4
	2	<i>Acinetobacter pittii</i> <i>Pseudomonas koreensis</i> <i>Pseudomonas oryzae</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	21 17 2 3

У двох з трьох розморожених контейнерів було зафіксовано забруднення нижче межі виявлення 1 КУО/мл у відталому льоду, у третьому — лише вузький спектр непатогенної або потенційно патогенної флори родів *Acinetobacter*, *Aerococcus*, *Pseudomonas* [63, 95, 119, 128] у низьких концентраціях нижче 25 КУО/мл. Єдиним типовим патогеном був виявлений *Staphylococcus aureus* у дуже низькій концентрації — 3 КУО/мл. Цей результат не узгоджується з висновками F. Bajerski [6], який описав вищі рівні забруднення. Однак наші результати є попередніми та мають бути підтверджені в подальшому.

Оцінка чистоти середовища кріобанку та забруднення повітря. Можливість бактеріального зараження рідкого азоту була описана В. Grout у 2007 р. [44]. Іншим ймовірним джерелом бактеріального зараження може бути повітря, яке циркулює у великих об'ємах через примусову вентиляцію, якщо немає належної фільтрації повітря. Для оцінки цього ризику рекомендовано проводити підрахунок частинок або аероскопію. Наші результати підрахунку частинок продемонстрували високий рівень екологічної чистоти (табл. 10), що відповідає класу С, дійсному для умов експлуатації за Європейським стандартом GMP (табл. 11) та класу В, дійсному для умов експлуатації у разі використання аероскопії (табл. 12 і 13). В якості ефек-

and remote surveillance of monitored parameters is performed by the central hospital technical service. Remote video monitoring of the cryobank space is also performed. The personnel corridors are equipped with cryogenic safety instructions and a breathing apparatus. Protective face shields, gloves, and aprons (Fig. 22B) are available inside the cryostorage area.

Areas with oxygen deficiency risk (the cryobank itself, the central monitoring room, and the adjacent grade C cryolaboratory) are clearly identified with signage and equipped with wall-mounted oxygen monitors. Light alarm signalisations are placed at entry doors and connected with audible alarm signals. A table summarising oxygen deficiency risks (Table 8) [124] is placed near the door, and the door itself is labelled with a short warning and entry instructions (see Fig. 30).

The liquid nitrogen is transferred from the insulated pipeline to the small (230 L) low-pressure liquid nitrogen storage tanks Eurocyl 230 LP (Chart Ferox, Czech Republic) placed inside (Fig. 32). The containers used for the storage of cryopreserved cells and tissues (see Fig. 29) are filled automatically from the small liquid nitrogen storage tanks. The presented solution is an alternative to the widely used direct connection of the pipeline to biological storage containers and has several advantages:

- it eliminates the risk of excessive liquid nitrogen leaks in the event of damage to the pipeline outside or inside the bank;



Таблиця 10. Результати контролю повітря методом підрахунку частинок
Table 10. Results of air control by particle counting

Розмір частинок, мкм Particle size, μm	Середня кількість, частинок/м ³ Mean, particles/m ³	Стандартне відхилення SD	Min; Max
0,5	3036567	70367	2934964; 3142128
5,0	4135	3226	1400; 11549

тивного засобу для попередження повітряного забруднення контейнерів для зберігання рекомендовано проведення регулярних перевірок чистоти середовища кріобанку. Низькі рівні забруднення (див. табл. 9), ймовірно, були наслід-

- it lowers the risk of excessive liquid nitrogen leaks inside the cryobank caused by vacuum loss, as the simultaneous damage of more than one Eurocyl filled with 230 L of liquid nitrogen is highly improbable;

- the Eurocyl vessels are movable, can be disconnected from the biological storage container and can be used as an alternative liquid nitrogen supply in the event of damage to the outer tank; they can also be transferred together with biological containers to another cryobank.

Таблиця 11. Критерії допустимих меж для класів чистоти повітря за методом підрахунку частинок

Table 11. Criteria of acceptability limits for air purity classes by the method of particle counting

Клас чистоти Class of purity	Допустимі ліміти для частинок 0,5 мкм Acceptability limit for particles 0.5 μm	Допустимі ліміти для частинок 5,0 мкм Acceptability limit for particles 5.0 μm
С в стані спокою C at rest	351,000	2,900
С під час роботи C at operation	3520,000	29,000
Д тільки в стані спокою D rest only	3520,000	29,000

Importance of creating stable environmental parameters inside the cryobank

Maintaining the temperature and relative humidity values within the operational limit for liquid nitrogen containers determined by their manufacturer requires efficient air conditioning, even in countries with a mild climate. Efficient forced ventilation is essential for preserving safe atmospheric oxygen levels. Verification of the proper function of ventilation and air conditioning systems requires continuous monitoring and recording of temperature, relative humidity and atmospheric oxygen levels (see Fig. 31). The oxygen level should be recorded in very short intervals as the human brain can be severely damaged after only a few minutes of oxygen depletion.

There is no obligation to define the purity grade of a cryobank environment; however, we recommend performing at least process validation by particle counting and aeroscopy to assess the risk and/or prevent airborne bacterial contamination of storage containers.

Таблиця 12. Допустимі ліміти методу аероскопії
Table 12. Aeroscopy acceptability limits

Клас чистоти Class of purity	Допустимі ліміти КУО/м ³ Acceptability limit (CFU/m ³)
В під час роботи B at operation	10
С під час роботи C at operation	100
Д тільки в стані спокою D at rest only	200

Atmospheric oxygen deficiency risk assessment and management

All safety instructions for the proper and safe operation of the cryobank and for the transport of cryopreserved cell and tissue products to clinical departments should be summarised in the General Liquid Nitrogen Safety Plan, written according to the JACIE/EBMT standards. The most important



Таблиця 13. Результати контролю повітря шляхом аероскопії
Table 13. Results of air control by aeroscopy

Номер No	Кількість КУО/м³ Number of CFU/m³
М 1	3
М 2	1
М 3	3
М 4	6

руднення навколишнього середовища та суворий контроль доступу.

МАЙБУТНІ ВИКЛИКИ

У сучасній медицині кріобанк як частина ТУ, є критично важливою інфраструктурою, незалежною від клінічних відділень. Технологічна база, гарантія якості, система управління та захисту даних пацієнтів, а також пакет необхідних дозволів кріобанку відіграють ключову роль у забезпеченні належної якості та обсягу клінічних програм з трансплантації клітин та тканин.

Основним питанням, що виникає, є майбутні зміни у регламенті типу клітин і тканин від директив ЄС, імплементованих у національне законодавство, до регулювання на рівні ЄС. Новий регламент ЄС щодо речовин людського походження (SOHO) вимагає підтвердження відповідності настановам EDQM [34] та рекомендаціям Європейського центру контролю захворювань (ECDC), що базуються на підході до оцінки ризиків. Спеціальні інструменти для оцінки мікробіологічного ризику під час збирання і обробки клітин та тканин або для оцінки новизни вже доступні для ТУ, які планують подати заяву на новий тип авторизації відповідно до майбутнього регламенту.

Використання інструменту оцінки новизни також буде обов'язковим у разі зміни чинних стандартних процедур та впровадження нових технологій у клінічну практику. Ця ситуація створює нове підґрунтя для співпраці між кріобанками та науковими установами, необхідне для оцінки ризику новизни. Нарешті, очікуване розширення програм терапії CAR-T вимагатиме технологічної сумісності кріобанків та їх систем управління якістю з вимогами великих фармацевтичних компаній.

feature of oxygen deficiency danger is that asphyxia occurs rapidly, with no warning to the potential victim [17, 124] (Table 8). Czech legislation sets acceptable levels at 19.9% for pregnant women and children and 18% for the rest of the population [75]. The latest version of the EDQM guide [35] set the lowest acceptable level to 19%.

The load of the cryobank space by evaporated nitrogen gas can be calculated from displayed and recorded data (Fig. 29) of daily usage of liquid nitrogen according to Equation:

$$V(G) = \left[(\pi \times r^2) \times h_L \right] \times 683,$$

where $V(G)$ is the volume of nitrogen gas in m³; π is the Ludolphine number; r is the internal radius of the storage container in m; h_L represents the displayed daily liquid nitrogen usage in m and 683 is the gas factor for liquid nitrogen.

To assess differences in oxygen deficiency risk in the warm and cold periods of the year, a comparison of the nitrogen gas load should be performed, as temperature differences (Fig. 33) might influence the liquid nitrogen evaporation rate, especially in cases when temperature occurs outside the storage container Chart MVE 1400 operation limit (18–27°C). The Figure 34 and 35 show however only minute differences of the evaporated nitrogen gas and the Figure 36 documents maintaining of atmospheric oxygen levels above the EDQM limit of 19%.

Relative humidity management and prevention of airborne contamination

High relative humidity is known to cause ice accretion on the container lids, which must be regularly removed, and produce fog after the containers are opened. Automatic or manual defogging systems must be used to reduce manipulation times during the loading or unloading of stored material. A comparison of the data from February and July 2023 (Fig. 37) clearly shows that the risk of relative humidity levels outside the equipment operation limit of 50% is higher in the summer period. During long-term storage, condensed atmospheric moisture forms an ice layer at the bottom of the container. If the atmosphere inside the cryobank is not sufficiently clean, condensed moisture can contribute to bacterial contamination of the container that can be identified at defrosting from thawed ice, as shown in Table 9. In two of the three defrosted containers, contamination below the detection limit of 1 CFU/mL was found in the thawed ice. In the third one, only a narrow spectrum of non-pathogenic or potentially pathogenic flora of genera *Acinetobacter*, *Aerococcus* and *Pseudomonas* [63,



Автори висловлюють подяку Університетській лікарні м. Градец-Кралове і Карловому університету за фінансову підтримку — грант MH CZ-DRO (UHHK, 00179906) та грант Карлового університету SVV 260543/2020. Автори дякують Загальній університетській лікарні в м. Прага за підтримку (проект MHCZ-DRO-VFN, ГП-20-Л.03-723).

Автори висловлюють подяку Центру методів візуалізації в BIOCEV, установі, яка підтримується MEYSCR (LM2023050 Czech-BioImaging) за допомогу в тестуванні життєздатності клітин.

Література

1. Acker J, Bondarovich M, Brunotte R, et al. Preservation and storage of cells for therapy: current applications and protocols. In: Gimble JM, Marolt Presen D, Oreffo ROC, et al., editors. Cell engineering and regeneration. Reference Series in Biomedical Engineering. Cham: Springer; 2022. p. 1-69.
2. Ali S, Kjekken R, Niederlaender C, et al. The European Medicines Agency review of Kymriah (tisagenlecleucel) for the treatment of acute lymphoblastic leukemia and diffuse large B-cell lymphoma. *Oncologist*. 2020; 25(2): 321–7.
3. Annaratone L, De Palma G, Bonizzi G, et al. Basic principles of biobanking: From biological samples to precision medicine for patients. *Wircnows Archiv*. 2021; 479:233–46.
4. Areman EM, Sacher RA, Deeg HJ. Processing and storage of human bone marrow: A survey of current practices in North America. *Bone Marrow Transplant*. 1990; (3): 203–9.
5. Armitage JO, Jagannath S, Spitzer G, et al. High dose therapy and autologous marrow transplantation as salvage treatment for patients with diffuse large cell lymphoma. *Eur J Cancer Clin Oncol*. 1986; 22: 871–7.
6. Bajerski F, Bürger A, Glasmacher B, et al. Factors determining microbial colonization of liquid nitrogen storage tanks used for archiving biological samples. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2020;104(1):131–44.
7. Barlogie B, Attal M, Crowley J, et al. Long-term follow-up of autotransplantation trials for multiple myeloma: Update of protocols conducted by the Intergroupe Francophone du Myelome, Southwest Oncology Group, and University of Arkansas for Medical Sciences. *J Clin Oncol*. 2010; 287: 1209–14.
8. Barvič M, Bedrna J, Červeňanský J, et al., editors [Transplantation – theory, experiment, and practice]. Praha: Státní zdravotnické nakladatelství n.p.; 1956. 214 p. Czech.
9. Baust JM, Campbell LH, Harbell JW. Best practice for cryopreservation, thawing and recovering, and assessing cells. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*. 1990; 53(10): 855–71.
10. Belous AM, Grischenko VI. [Cryobiology]. Kyiv: Naukova Dumka; 1994. 430 p. Russian.
11. Berz D, McCormack EM, Winer ES, et al. Cryopreservation of hematopoietic stem cells. *Am J Hematol*. 2007; 82(6): 463–72.
12. Beskow A. Uppsala Biobank – the development of a biobank organization in a local, regional, and national setting. *Upp J Med Sci*. 2019; 124(1):6–8.

95, 119, 128] were identified, in low concentrations of below 25 CFU/mL. The only typical pathogen found was *Staphylococcus aureus* at a very low concentration of 3 CFU/mL. This result does not correspond with the findings of Bajerski [6], who described higher levels of contamination. Our results are, however, only preliminary and should be confirmed in the future.

Assessment of cryobank environment purity and airborne contamination. The possibility of bacterial contamination of liquid nitrogen was described by Grout in 2007 [44]. Another possible source of bacterial contamination may be the air that is exchanged in large quantities due to forced ventilation if proper air filtration is not in place. To assess this risk, particle counting or aeroscopy is recommended. Our results of particle counting demonstrated a high level of environmental purity (Table 10), compliant with grade C valid for operational conditions according to EU GMP standards (Table 11) and grade B for operation conditions if aeroscopy was used (Tables 12, 13). Regular checks of cryobank environment purity are recommended as an effective tool for preventing airborne contamination of storage containers. The low levels of contamination presented in Table 11 were probably due to a combination of several factors, such as the use of high-quality liquid nitrogen, the storage of HPCs processed and frozen in the clean rooms, their protection in sterile bags and sterilized metal cassettes, low contamination of the environment and strict access control.

FUTURE CHALLENGES

In modern medicine, the cryobank, as a part of the TE, represents a critical infrastructure independent of clinical departments. Its technological background, quality assurance, patient data management and protection system and the extent of necessary authorisation play key roles in ensuring the quality and size of clinical cell and tissue transplantation programmes.

The major emerging issue is the impact of forthcoming changes in the type of cell and tissue regulation from EU directives implemented into national law to regulation at the EU level. This new EU substance of human origin (SOHO) regulation will require proof of compliance with the EDQM guide [34], and European Centre for Disease Control (ECDC) recommendations based on the risk assessment approach. The specific tools for microbiology risk assessment during cell and tissue harvest and processing or for novelty assessment have already been available for TEs that plan to apply for the new type of authorisation according to the forthcoming regulation.



13. Bláha M, Maisnar V, Jebavý L, et al. [Transplantation of blood progenitor cells collected from peripheral blood – first experience]. *Vojen Zdrav Listy*. 1990; 59:218–23. Czech.
14. Bláha M, Měříčka P, Žák P, et al. The risk of infection transmission from blood progenitor cell concentrates. *J Hematother Stem Cell Res*. 2003; 12:161–4.
15. Bláha M, Měříčka P, Štěpánová V, et al. Potential risk of infection transmission during storage of haematopoietic progenitor cells. Safety assurance. *Folia Microbiol*. 2003; 48:399–402.
16. Britannica Encyclopaedia. Cryogenics. [Internet] Available from: <https://www.britannica.com/science/cryogenics> (cited 2024 Mar 10).
17. British Cryogenic Council Safety Committee. Cryogenics safety manual: A guide to good practice. British Cryogenic Council; 2018. 75 p.
18. Calmels F, Boulanger E, Baudoux V, et al. Conservation and destruction of autologous and allogeneic cryopreserved cellular products: Recommendations from the SFGM-TC. *Pathologie Biologie*. 2014; 62:221–5.
19. Caramia V, Ghirardini A, Di Ciaccio P, et al. From the EU legislation to the application of the single European code: Support to the implementation. *Transfus Med Hemother*. 2017; 44:391–4.
20. Carrel A. Ultimate results of aortic transplantations. *J Exp Med*. 1912; 15(4): 389–92.
21. Carreras E, Dufour C, Mohty M, Kröger N, editors. The EBMT Handbook: Hematopoietic stem cell transplantation and cellular therapies. 7th edition. Cham: Springer; 2019. 700 p.
22. Cervo S, De Paoli P, Perin T, et al. Cost-effective organization of an institutional human cancer biobank in a clinical setting: CRO-Biobank experience toward harmonization. *Int J Biol Markers*. 2015; 30(2): E43–E50.
23. Chlupac J, Matejka R, Konarik M, et al. Vascular remodeling of clinically used patches and decellularized pericardial matrices recellularized with autologous or allogeneic cells in a porcine carotid artery model. *Int J Mol Sci*. [Internet] 2022 Mar 18 [Cited 2023 Oct 19]; 23(6): 3310. Available from: <https://www.mdpi.com/1422-0067/23/6/3310>
24. Costa LJ, Lin Y, Cornell RF, et al. Comparison of Ciltacel, an anti-BCMA CAR-T cell therapy, versus conventional treatment in patients with relapsed/refractory multiple myeloma. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. 2022; 22(5):326–35.
25. Council of Europe. Convention for Protection of Human Rights and Dignity of Human Beings with Regard to the Application of Biology and Medicine. (Oviedo 4. IV 1997). European Treaty Series. No. 164. [Internet] [Cited 2023 Oct 19]. Available from: <https://www.coe.int/en/web/bioethics/oviedo-convention>
26. Council of Europe. Additional Protocol to the Convention of Human Rights and Biomedicine. Transplantation of organs and tissues of human origin. In: Council of Europe guide to safety and quality assurance for human organs, tissues and cells. 1st edition. Strasbourg: Council of Europe Publishing; 2002. p. 79–87.
27. Distler P, editor. United States consensus guidance for the uniform labelling of cellular therapy products using ISBT 128. Version 1.3.1. San Bernardino, CA: ICCBBA; 2015. [Internet] [Cited 2023 May 25] Available from: <http://www.iccbba.org/tech-library/iccbba-documents/guidance-documents>
28. Dubost C, Allary M. Aneurysm of the abdominal aorta treated by resection and graft. *Arch Mal Coeur Vaiss*. 1951; 44(9):848–51.
29. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). ECDC report: Coronavirus disease (COVID-2019) and supply of substances of human origin in the EU/EEA – first update. Stockholm: ECDC; 2020; 16 p.
30. European Commission. Directive 2006/17/EC of 8 February 2006 implementing Directive 2004/23/EC of the European Parliament and of the Council as regards certain technical

Use of the novelty assessment tool will also be obligatory in cases of changes in existing standard procedures and the introduction of new technologies to clinical practice. This situation creates a new field for cooperation between cryobanks and academic institutions aimed at novelty risk assessment. Finally, the expected expansion of CAR-T therapy programmes will require the technological compatibility of cryobanks and their quality management systems with the requirements of large pharmaceutical companies.

The authors thank the University Hospital Hradec Králové and the Charles University for financial support – supported by MH CZ–DRO (UHHK, 00179906) and Charles University grant project SVV 260543/2020.

The authors thank General University Hospital in Prague for support by project MHCZ–DRO– VFN. GIP-20-L.03-723.

The authors acknowledge Imaging Methods Core Facility at BIOCEV, institution supported by the MEYS CR (LM2023050 Czech-BioImaging) for their support of the cell viability testing.

References

1. Acker J, Bondarovich M, Brunotte R, et al. Preservation and storage of cells for therapy: current applications and protocols. In: Gimble JM, Marolt Presen D, Oreffo ROC, et al., editors. *Cell engineering and regeneration. Reference Series in Biomedical Engineering*. Cham: Springer; 2022. p. 1-69.
2. Ali S, Kjeker R, Niederlaender C, et al. The European Medicines Agency review of Kymriah (tisagenlecleucel) for the treatment of acute lymphoblastic leukemia and diffuse large B-cell lymphoma. *Oncologist*. 2020; 25(2):321–7.
3. Annaratone L, De Palma G, Bonizzi G, et al. Basic principles of biobanking: From biological samples to precision medicine for patients. *Wirschows Archiv*. 2021; 479:233–46.
4. Areman EM, Sacher RA, Deeg HJ. Processing and storage of human bone marrow: A survey of current practices in North America. *Bone Marrow Transplant*. 1990; (3):203–9.
5. Armitage JO, Jagannath S, Spitzer G, et al. High dose therapy and autologous marrow transplantation as salvage treatment for patients with diffuse large cell lymphoma. *Eur J Cancer Clin Oncol*. 1986; 22:871–7.
6. Bajerski F, Bürger A, Glasmacher B, et al. Factors determining microbial colonization of liquid nitrogen storage tanks used for archiving biological samples. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2020; 104(1):131–44.
7. Barlogie B, Attal M, Crowley J, et al. Long-term follow-up of autotransplantation trials for multiple myeloma: Update of protocols conducted by the Intergroupe Francophone du Myelome, Southwest Oncology Group, and University of Arkansas for Medical Sciences. *J Clin Oncol*. 2010; 287: 1209–14.
8. Barvič M, Bedrna J, Červeňanský J, et al., editors [Transplantation – theory, experiment, and practice]. Praha: Státní zdravotnické nakladatelství n.p.; 1956. 214 p. Czech
9. Baust JM, Campbell LH, Harbell JW. Best practice for cryopreservation, thawing and recovering, and assessing cells. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*. 1990; 53(10):855–71.
10. Belous AM, Grischenko VI. [Cryobiology]. Kyiv: Naukova Dumka; 1994. 430 p. Russian.
11. Berz D, McCormack EM, Winer ES, et al. Cryopreservation of hematopoietic stem cells. *Am J Hematol*. 2007; 82(6):463–72.



- requirements for the donation, procurement and testing of human tissues and cells. Official Journal of the European Union. 2006 Feb 09 (38): 40-52.
31. European Commission. Commission Directive 2006/86/EC of 24 October 2006 implementing Directive 2004/23/EC of the European Parliament and of the Council as regards traceability requirements, notification of serious adverse reactions and events and certain technical requirements for the coding, processing, preservation, storage and distribution of human tissues and cells. Official Journal of the European Union. 2006 Oct 25 (294): 32–50.
 32. European Commission. Economic landscapes of human tissues and cells for clinical application in the EU. Final Report EAHC/2012/Health/19 Contract No 201236301. Brussels: European Commission; 2015. 362 p.
 33. European Commission, Health and Food Directorate-General, Directorate B – Health systems, medical products, and innovation B4. Medical products: quality, safety, innovation (2021) EU Coding Platform Compendia User Manual. REF. ARES (2021) 3506463-27/05/2021. 11 p.
 34. European Committee (Partial Agreement) on Organ Transplantation (CD-P-TO). Guide to the quality and safety of tissues and cells for human application. Strasbourg: European Directorate for the Quality of Medicines & Health Care (EDQM), Council of Europe; 2022. 699 p.
 35. European Directorate for the Quality of Medicines & Health Care. New guide to the quality and safety of tissues and cells for human application (5th ed.). [Internet] [Cited 2022 May 29]. Available from: <https://www.edqm.eu/en/news/new-guidequality-and-safety-tissues-and-cells-human-application>
 36. European Union. Directive 2004/23/EC of the European Parliament and of the Council of 31 March 2004 on setting standards of quality and safety for the donation, procurement, testing, processing, preservation, storage and distribution of human tissues and cells. Official Journal of the European Union. 2004 Apr 07 (102):48–58.
 37. Ferko A, Páral J, Raupach J, et al. Autologous vein stent graft: Feasibility study. *J Vasc Interv Radiol* 2000; 11:111–4.
 38. Fernyhough LJ, Buchan VA, McArthur LT, et al. Relative recovery of haematopoietic stem cell products after cryogenic storage of up to 19 years. *Bone Marrow Transplant*. 2012; 48:32–5.
 39. Food and Drug Administration, HHS. Current good tissue practice for human cell, tissue, and cellular and tissue-based product establishments; Inspection and enforcement. Final rule, 24 Nov 2004. *Fed Regist*. 69(226):68611–88.
 40. Foundation for the Accreditation of Cellular Therapy (FACT) and the Joint Accreditation Committee ISCT and EBMT (JACIE). International standards for hematopoietic cellular therapy product collection, processing, and administration, 7th ed. FACT–JACIE; 2018. 162 p. [Internet] [Cited 2023 Oct 29]. Available from: <https://www.ebmt.org/sites/default/files/2018-06/FACT-JACIE%207th%20Edition%20Standards.pdf>
 41. Goffin YA, Van Hoeck B, Jashari R, et al. Banking of cryopreserved heart valves in Europe: Assessment of 10-year operation in the European Homograft Bank (EHB). *J Heart Valve Dis*. 2000; 9(2):207–14.
 42. Gregor J, Měřička P, Jandová M, et al. CAR-T therapy: The new and growing application of cryotechnology in medicine. In: *The 17th Cryogenics IIR International Conference Proceedings*. (2023 April 25–28; Dresden, Germany). Paris: International Institute of Refrigeration; 2023. p. 183–90.
 43. Gross RE, Bill AH Jr, Peirce EC Jr. Methods for preservation and transplantation of arterial grafts; observations on arterial grafts in dogs; report of transplantation of preserved arterial grafts in nine human cases. *Surg Gynecol Obstet*. 1949; 88(6): 689–701.
 44. Beskow A. Uppsala Biobank – the development of a biobank organization in a local, regional, and national setting. *Uppsala J Med Sci*. 2019; 124(1):6–8.
 45. Bláha M, Maisnar V, Jebavý L, et al. [Transplantation of blood progenitor cells collected from peripheral blood – first experience]. *Vojen Zdrav Listy*. 1990; 59:218–23. Czech.
 46. Bláha M, Měřička P, Žák P, et al. The risk of infection transmission from blood progenitor cell concentrates. *J Hematother Stem Cell Res*. 2003; 12:161–4.
 47. Bláha M, Měřička P, Štěpánová V, et al. Potential risk of infection transmission during storage of haematopoietic progenitor cells. Safety assurance. *Folia Microbiol*. 2003; 48:399–402.
 48. Britannica Encyclopaedia. Cryogenics. [Internet] Available from: <https://www.britannica.com/science/cryogenics> (cited 2024 Mar 10).
 49. British Cryogenic Council Safety Committee. Cryogenics safety manual: A guide to good practice. British Cryogenic Council; 2018. 75 p.
 50. Calmels F, Boulanger E, Baudoux V, et al. Conservation and destruction of autologous and allogeneic cryopreserved cellular products: Recommendations from the SFGM-TC. *Pathologie Biologie*. 2014; 62:221–5.
 51. Caramia V, Ghirardini A, Di Ciaccio P, et al. From the EU legislation to the application of the single European code: Support to the implementation. *Transfus Med Hemother*. 2017; 44:391–4.
 52. Carrel A. Ultimate results of aortic transplantations. *J Exp Med*. 1912; 15(4):389–92.
 53. Carreras E, Dufour C, Mohty M, Kröger N, editors. *The EBMT Handbook: Hematopoietic stem cell transplantation and cellular therapies*. 7th edition. Cham: Springer; 2019. 700 p.
 54. Cervo S, De Paoli P, Perin T, et al. Cost-effective organization of an institutional human cancer biobank in a clinical setting: CRO-Biobank experience toward harmonization. *Int J Biol Markers*. 2015; 30(2): E43–E50.
 55. Chlupac J, Matejka R, Konarik M, et al. Vascular remodeling of clinically used patches and decellularized pericardial matrices recellularized with autologous or allogeneic cells in a porcine carotid artery model. *Int J Mol Sci*. [Internet] 2022 Mar 18 [Cited 2023 Oct 19]; 23(6):3310. Available from: <https://www.mdpi.com/1422-0067/23/6/3310>
 56. Costa LJ, Lin Y, Cornell RF, et al. Comparison of Cilta-cel, an anti-BCMA CAR-T cell therapy, versus conventional treatment in patients with relapsed/refractory multiple myeloma. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. 2022; 22(5):326–35.
 57. Council of Europe. Convention for Protection of Human Rights and Dignity of Human Beings with Regard to the Application of Biology and Medicine. (Oviedo 4. IV 1997). European Treaty Series. No. 164. (Internet) [Cited 2023 Oct 19]. Available from: <https://www.coe.int/en/web/bioethics/oviedo-convention>
 58. Council of Europe. Additional Protocol to the Convention of Human Rights and Biomedicine. Transplantation of organs and tissues of human origin. In: Council of Europe guide to safety and quality assurance for human organs, tissues and cells. 1st edition. Strasbourg: Council of Europe Publishing; 2002. p. 79–87.
 59. Distler P, editor. United States consensus guidance for the uniform labelling of cellular therapy products using ISBT 128. Version 1.3.1. San Bernardino, CA: ICCBBA; 2015. [Internet] [Cited 2023 May 25] Available from: <http://www.iccbba.org/tech-library/iccbba-documents/guidance-documents>
 60. Dubost C, Allary M. Aneurysm of the abdominal aorta treated by resection and graft. *Arch Mal Coeur Vaiss*. 1951; 44(9):848–51.
 61. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). ECDC report: Coronavirus disease (COVID-2019) and supply of substances of human origin in the EU/EEA – first update. Stockholm: ECDC; 2020; 16 p.
 62. European Commission. Directive 2006/17/EC of 8 February 2006 implementing Directive 2004/23/EC of the European Parliament and of the Council as regards certain technical requirements for the donation, procurement and testing of



44. Grout BWW, Morriss GJ. Contaminated liquid nitrogen vapour as a risk factor in pathogen transfer. *Theriogenology*. 2007; 7: 1179–82.
45. Harlander-Locke MP, Harmon LK, Lawrence PF, et al. The use of cryopreserved aortoiliac allograft for aortic reconstruction in the United States. *J Vasc Surg*. 2014; 59(3):669–74.
46. Hawkins AE, Zuckerman MA, Briggs M, et al. Hepatitis B nucleotide sequence analysis linking an outbreak of acute hepatitis B to contamination of cryopreservation tank. *J Virol Methods*. 1996; 60: 81–8.
47. Holbro A, Baldomero H, Lanza F, et al. Handling, processing, and disposal of stem cell products in Europe: A survey by the cellular therapy and immunobiology working party of the European Society for Blood and Marrow Transplantation. *Cytotherapy*. 2018; 20: 433–60.
48. Horáček JM, Jebavý L, Jakl M, et al. Cardiovascular changes associated with infusion of hematopoietic cell grafts in oncohematological patients – impact of cryopreservation with dimethylsulfoxide. *Exp Oncol*. 2009; 31: 121–2.
49. Hunt CJ, Pegg DE. Improved temperature stability in gas phase nitrogen refrigerators: Use of a copper heat shunt. *Cryobiology*. 1996; 33: 544–51.
50. Hunt CJ, Song Y, Bateson E, et al. Fractures in cryopreserved arteries. *Cryobiology*. 1994; 31: 506–15.
51. ICCBBA. ISBT 128 STANDARD. Standard terminology for medical products of human origin. [Internet]. [Cited 2022 Dec 27]. Available from: <https://www.isbt128.org/standard-terminology>
52. Jandová M, Měřička P, Gregor J, et al. Influence of the Me₂SO removal on key parameters of cryopreserved autologous peripheral progenitor cells concentrates: A retrospective study in patients with primary or secondary amyloidosis. *Probl Cryobiol Cryomed*. 2022; 32(4): 298.
53. Jandová M, Stacey GN, Lánská M, et al. The role of cryopreservation techniques in manufacturing, transport and storage of CAR-T therapy products. *CryoLetters*. 2023; 44(3): 123–33.
54. Jashari R, Bouzet B, Alcaraz Blanco MJ, et al. Vascular allografts for clinical application in Europe: Assessment of 30 years of experience with vascular tissue banking in Brussels. *Cell Tissue Bank*. 2023; 24: 613–24.
55. Johnson S, Rabinovitch PS. *Ex vivo* imaging of excised tissue using vital dyes and confocal microscopy. *Curr Protoc Cytom*. 2012; 61: 9.39.1–9.39.18.
56. Kessinger A, Armitage JO, Smith DM, et al. High-dose therapy and autologous peripheral blood stem cell transplantation for patients with lymphoma. *Blood*. 1989; 74: 1260–5.
57. Kieffer E, Gomes D, Chiche L, et al. Allograft replacement for infrarenal aortic graft infection: Early and late results in 179 patients. *J Vasc Surg*. 2004; 39(5): 1009–17.
58. Klen R. [Tissue Centre] ČS. Nemocnice. 1952; 20: 120–1. Czech.
59. Klen R. [Harvest and preservation of tissues. Biological principles] Praha: Státní zdravotnické nakladatelství; 1957. 275 p. Czech.
60. Kniemeyer HW, Torsello G, Hennes N, et al. Fresh homologous arterial transplant as aorto-iliac-femoral vascular replacement in prosthesis infection. *Vasa*. 1994; 23(3): 268–73.
61. Kriegsmann K, Wack M, Pavel P, et al. Collection, cryostorage, transplantation and disposal of hematopoietic stem cell products. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2022; 25: 382–90.
62. Kröger N, Gribben J, Chabannon C, et al. The EBMT/EHA CAR-T cell handbook. Cham: Springer; 2020. 237 p.
63. Kwon SW, Kim JS, Park IC, et al. *Pseudomonas koreensis* sp. nov., *Pseudomonas umsongensis* sp. nov. and *Pseudomonas jinjuensis* sp. nov., novel species from farm soils in Korea. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2003; 53 (Pt 1): 21–7.
- human tissues and cells. Official Journal of the European Union. 2006 Feb 09 (38): 40–52.
31. European Commission. Commission Directive 2006/86/EC of 24 October 2006 implementing Directive 2004/23/EC of the European Parliament and of the Council as regards traceability requirements, notification of serious adverse reactions and events and certain technical requirements for the coding, processing, preservation, storage and distribution of human tissues and cells. Official Journal of the European Union. 2006 Oct 25 (294): 32–50.
32. European Commission. Economic landscapes of human tissues and cells for clinical application in the EU. Final Report EAHC/2012/Health/19 Contract No 201236301. Brussels: European Commission; 2015. 362 p.
33. European Commission, Health and Food Directorate-General, Directorate B – Health systems, medical products, and innovation B4. Medical products: quality, safety, innovation (2021) EU Coding Platform Compendia User Manual. REF. ARES (2021) 3506463-27/05/2021. 11 p.
34. European Committee (Partial Agreement) on Organ Transplantation (CD-P-TO). Guide to the quality and safety of tissues and cells for human application. Strasbourg: European Directorate for the Quality of Medicines & Health Care (EDQM), Council of Europe; 2022. 699 p.
35. European Directorate for the Quality of Medicines & Health Care. New guide to the quality and safety of tissues and cells for human application (5th ed.). [Internet] [Cited 2022 May 29]. Available from: <https://www.edqm.eu/en/news/new-guidequality-and-safety-tissues-and-cells-human-application>
36. European Union. Directive 2004/23/EC of the European Parliament and of the Council of 31 March 2004 on setting standards of quality and safety for the donation, procurement, testing, processing, preservation, storage and distribution of human tissues and cells. Official Journal of the European Union. 2004 Apr 07 (102):48–58.
37. Ferko A, Páral J, Raupach J, et al. Autologous vein stent graft: Feasibility study. *J Vasc Interv Radiol*. 2000; 11: 111–4.
38. Fernyhough LJ, Buchan VA, McArthur LT, et al. Relative recovery of haematopoietic stem cell products after cryogenic storage of up to 19 years. *Bone Marrow Transplant*. 2012; 48: 32–5.
39. Food and Drug Administration, HHS. Current good tissue practice for human cell, tissue, and cellular and tissue-based product establishments; Inspection and enforcement. Final rule, 24 Nov 2004. *Fed Regist*. 69(226): 68611–88.
40. Foundation for the Accreditation of Cellular Therapy (FACT) and the Joint Accreditation Committee ISCT and EBMT (JACIE). International standards for hematopoietic cellular therapy product collection, processing, and administration, 7th ed. FACT–JACIE; 2018. 162 p. [Internet] [Cited 2023 Oct 29]. Available from: <https://www.ebmt.org/sites/default/files/2018-06/FACT-JACIE%207th%20Edition%20Standards.pdf>
41. Goffin YA, Van Hoeck B, Jashari R, et al. Banking of cryopreserved heart valves in Europe: Assessment of 10-year operation in the European Homograft Bank (EHB). *J Heart Valve Dis*. 2000; 9(2): 207–14.
42. Gregor J, Měřička P, Jandová M, et al. CAR-T therapy: The new and growing application of cryotechnology in medicine. In: The 17th Cryogenics IIR International Conference Proceedings. (2023 April 25–28; Dresden, Germany). Paris: International Institute of Refrigeration; 2023. p. 183–90.
43. Gross RE, Bill AH Jr, Peirce EC Jr. Methods for preservation and transplantation of arterial grafts; observations on arterial grafts in dogs; report of transplantation of preserved arterial grafts in nine human cases. *Surg Gynecol Obstet*. 1949; 88(6): 689–701.
44. Grout BWW, Morriss GJ. Contaminated liquid nitrogen vapour as a risk factor in pathogen transfer. *Theriogenology*. 2007; 7: 1179–82.
45. Harlander-Locke MP, Harmon LK, Lawrence PF, et al. The use of cryopreserved aortoiliac allograft for aortic reconstruction in the United States. *J Vasc Surg*. 2014; 59(3): 669–74.
46. Hawkins AE, Zuckerman MA, Briggs M, et al. Hepatitis B



64. Laffaldano N, Di Iorio M, Antenucci, et al. Italian semen cryobank of autochthonous chicken and turkey breeds: A tool for preserving genetic biodiversity. *Ital J Anim Sci.* 2021; 20(1): 2022–33.
65. Lioznov M, Dellbrügger C, Sputc A, et al. Transportation and cryopreservation may impair haematopoietic stem cell function. *Bone Marrow Transplant.* 2008; 42: 121–8.
66. Lovelock JE, Bishop MWH. Prevention of freezing damage to living cells by dimethyl sulphoxide. *Nature.* 1959; 183 (4672): 1394–5.
67. Luyet B, Gehenio MP. Life and death at low temperatures. Normandy, Missouri: Biodynamica; 1940. 341 p.
68. Makino S, Harada M, Akashi K, et al. A simplified method for cryopreservation of peripheral blood stem cells at –80 degrees C without rate-controlled freezing. *Bone Marrow Transplant.* 1991; 8: 239–44.
69. Matia I, Adamec M, Janousek L, et al. Fresh arterial grafts as conduits for vascular reconstructions in transplanted patients. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2006; 32(5): 549–56.
70. Matia I, Fellmer P, Splith K, et al. Immunosuppressive protocol with delayed use of low-dose tacrolimus after aortic transplantation suppresses donor-specific anti-MHC class I and class II antibody production in rats. *Ann Transplant.* 2014; 12(19): 225–32.
71. Meryman HT, editor. *Cryobiology.* New York: Academic Press Inc.; 1966. 775 p.
72. Měříčka P, Schustr P, Vinš M, et al. Containers for freezing and storage of bone marrow stem cells. *Sb Ved Prac Lek Fak Karlovy University Hradec Kralove.* 1991; 34:367–87.
73. Měříčka P, Straková H, Lánská M, et al. How long do we need to store cryopreserved cells and tissues? In: *Cryogenics 2017. Proceedings of the 14th IIR International Conference.* (2017 May 15–19; Dresden, Germany). Paris: International Institute of Refrigeration; 2017. Pap. n. 05.
74. Měříčka P, Strakova H, Sterba L, et al. Cryobank of the Tissue Establishment University Hospital Hradec Králové – Design and 10-year experience of operation. In: *Cryogenics 2014. Proceedings of the 13th IIR International Conference.* (2014 April 7–11; Prague, Czech Republic). Paris: International Institute of Refrigeration; 2014. p. 177–82.
75. Měříčka P, Vávra L, Vinš M, et al. The importance of oxygen level monitoring in the cryostorage facilities (C04–08). In: *Cryogenics 2004. Proceedings of the 8th IIR International Conference.* (24–30 Apr 2004; Prague, Czech Republic). Prague: Icaris, Ltd.; 2004. p. 242–7.
76. Měříčka P. Brief history of the Tissue Bank University Hospital Hradec Králové, Czech Republic Cell Tissue Bank; 2000. p. 17–25.
77. Měříčka P, Jandová M, Gregor J, et al. Cryopreservation of non-mobilized peripheral blood mononuclear cells (PBC) current situation and future perspectives. *CryoLetters.* 2021; 42(6):376–7.
78. Měříčka P, Janoušek L, Benda A, et al. Cell viability assessment using fluorescence vital dyes and confocal microscopy in evaluating freezing and thawing protocols used in cryopreservation of allogeneic vascular grafts. *Int J Mol Sci.* [Internet] 2021 Sep 30 [Cited 2023 Oct 27]; 22(19): 10653. Available from: <https://www.mdpi.com/1422-0067/22/19/10653>
79. Měříčka P, Straková H, editors. *Cryoprotectants in medical practice long abstracts.* Paris: International Institute of Refrigeration; 1997.
80. Měříčka P, Straková H, Honegrová B, et al. Own experience from the 22 years lasting process of harmonization of the European Union safety and quality requirements for harvesting, processing and distribution of human cells and tissues for clinical transplantation. In: *15th Cryogenics Conference, Proceedings of the IIR International Conference nucleotide sequence analysis linking an outbreak of acute hepatitis B to contamination of cryopreservation tank.* *J Virol Methods.* 1996; 60: 81–8.
47. Holbro A, Baldomero H, Lanza F, et al. Handling, processing, and disposal of stem cell products in Europe: A survey by the cellular therapy and immunobiology working party of the European Society for Blood and Marrow Transplantation. *Cytotherapy.* 2018; 20: 433–60.
48. Horáček JM, Jebavý L, Jakl M, et al. Cardiovascular changes associated with infusion of hematopoietic cell grafts in oncohematological patients – impact of cryopreservation with dimethylsulfoxide. *Exp Oncol.* 2009; 31: 121–2.
49. Hunt CJ, Pegg DE. Improved temperature stability in gas phase nitrogen refrigerators: Use of a copper heat shunt. *Cryobiology.* 1996; 33: 544–51.
50. Hunt CJ, Song Y, Bateson E, et al. Fractures in cryopreserved arteries. *Cryobiology.* 1994; 31: 506–15.
51. ICCBBA. ISBT 128 STANDARD. Standard terminology for medical products of human origin. [Internet]. [Cited 2022 Dec 27]. Available from: <https://www.isbt128.org/standard-terminology>
52. Jandová M, Měříčka P, Gregor J, et al. Influence of the Me₂SO removal on key parameters of cryopreserved autologous peripheral progenitor cells concentrates: A retrospective study in patients with primary or secondary amyloidosis. *Probl Cryobiol Cryomed.* 2022; 32(4): 298.
53. Jandová M, Stacey GN, Lánská M, et al. The role of cryopreservation techniques in manufacturing, transport and storage of CAR-T therapy products. *CryoLetters.* 2023; 44(3):123–33.
54. Jashari R, Bouzet B, Alcaraz Blanco MJ, et al. Vascular allografts for clinical application in Europe: Assessment of 30 years of experience with vascular tissue banking in Brussels. *Cell Tissue Bank.* 2023; 24: 613–24.
55. Johnson S, Rabinovitch PS. *Ex vivo* imaging of excised tissue using vital dyes and confocal microscopy. *Curr Protoc Cytom.* 2012; 61: 9.39.1–9.39.18.
56. Kessinger A, Armitage JO, Smith DM, et al. High-dose therapy and autologous peripheral blood stem cell transplantation for patients with lymphoma. *Blood.* 1989; 74: 1260–5.
57. Kieffer E, Gomes D, Chiche L, et al. Allograft replacement for infrarenal aortic graft infection: Early and late results in 179 patients. *J Vasc Surg.* 2004; 39(5): 1009–17.
58. Klen R. [Tissue Centre] ČS. Nemocnice. 1952; 20:120–1. Czech.
59. Klen R. [Harvest and preservation of tissues. Biological principles] Praha: Státní zdravotnické nakladatelství; 1957. 275 p. Czech.
60. Kniemeyer HW, Torsello G, Hennes N, et al. Fresh homologous arterial transplant as aorto-iliac-femoral vascular replacement in prosthesis infection. *Vasa.* 1994; 23(3):268–73.
61. Kriegsmann K, Wack M, Pavel P, et al. Collection, cryostorage, transplantation and disposal of hematopoietic stem cell products. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2022; 25:382–90.
62. Kröger N, Gribben J, Chabannon C, et al. The EBMT/EHA CAR-T cell handbook. Cham: Springer; 2020. 237 p.
63. Kwon SW, Kim JS, Park IC, et al. *Pseudomonas koreensis* sp. nov., *Pseudomonas umsongensis* sp. nov. and *Pseudomonas jinjuensis* sp. nov., novel species from farm soils in Korea. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2003;53 (Pt 1): 21–7.
64. Laffaldano N, Di Iorio M, Antenucci, et al. Italian semen cryobank of autochthonous chicken and turkey breeds: A tool for preserving genetic biodiversity. *Ital J Anim Sci.* 2021; 20(1):2022–33.
65. Lioznov M, Dellbrügger C, Sputc A, et al. Transportation and cryopreservation may impair haematopoietic stem cell function. *Bone Marrow Transplant.* 2008; 42:121–8.
66. Lovelock JE, Bishop MWH. Prevention of freezing damage to living cells by dimethyl sulphoxide. *Nature.* 1959; 183(4672): 1394–5.
67. Luyet B, Gehenio MP. Life and death at low temperatures. Normandy, Missouri: Biodynamica; 1940. 341 p.
68. Makino S, Harada M, Akashi K, et al. A simplified method for cryopreservation of peripheral blood stem cells at –80 degrees C without rate-controlled freezing. *Bone Marrow Transplant.* 1991; 8:239–44.



- (2019 April 8–11; Prague, Czech Republic). Paris: International Institute of Refrigeration; 2019. p. 280–6.
81. Měřička P, Strakova H, Honegrova B, et al. Retrospective analysis of dimethylsulphoxide load in autologous peripheral progenitor cell transplantation in multiple myeloma. *CryoLetters*. 2019; 40:264–5.
 82. Měřička P, Straková H, Lánská M, et al. Testing of cryopreserved concentrates at infusion leads to standardization of engraftment in autologous blood progenitor cell transplantation. In: *Proceedings of the 23rd IIR International Congress of Refrigeration (20–26 August 2011, Prague, Czech Republic)*. Vol. 23. Paris: International Institute of Refrigeration; 2011. p. 3609–13.
 83. Měřička P, Gregor J, Jandová M, et al. Cryopreservation of peripheral blood progenitor cells for unrelated allogeneic transplantation experience from the first and second wave of the COVID-19 pandemic. In: *SLTB 2021. Abstract book of the 57th SLTB annual meeting (Nov 3–5, 2021, on-line)*. Abstract No. OC7.
 84. Morgenstern DA, Ahsan G, Brocklesby M, et al. Post-thaw viability of cryopreserved peripheral blood stem cells (PBSC) does not guarantee functional activity: Important implications for quality assurance of stem cell transplant programmes. *Br J Haematol*. 2016; 174(6): 942–51.
 85. Müller Schweinitzer, E. Cryopreservation of vascular tissues. *Organogenesis*. 2009; 5:97–104.
 86. Papadoulis I, Mueller-Berghaus J, Beuneu C, et al. EMA review of axicabtagene ciloleucel (Yescarta) for the treatment of diffuse large B-cell lymphoma. *Oncologist*. 2020; 25(10): 894–902.
 87. Páral J, Ferko A, Měřička P, et al. [Contribution to preservation of venous grafts]. *Rozhledy v Chirurgii*. 2000; 79:244–9. Czech.
 88. Pedraza, JM Tissue establishment as a necessary institution within the country health care system: importance, requirements, and structure. *Cell Tissue Bank*. 2016; 17(2): 179–88.
 89. Pegg DE, Trotman RE. The preservation of human bone marrow at –79 degrees C. A temperature-controlled method of two-stage cooling. *J Clin Pathol*. 1959; 12: 477–82.
 90. Pegg DE, Wusteman MC, Boylan S. Fractures in cryopreserved elastic arteries. *Cryobiology*. 1997; 34: 183–92.
 91. Pegg, DE. Freezing of bone marrow for clinical use. *Cryobiology*. 1964; 1(1): 64–71.
 92. Pizzi F, Turi F, Gliozzi TM, et al. Implementation and cost analysis of a regional farm animal cryobank: An Italian case study. *Ital J Anim Sci*. 2016; 15(2): 207–10.
 93. Pushkar NS, Belous AM. [Introduction into Cryobiology]. Kyiv: Naukova Dumka; 1975. 342 p. Russian.
 94. Radocha J, Maisnar V, Závělová A, et al. Fifteen years of single center experience with stem cell transplantation for multiple myeloma: A retrospective analysis. *Acta Medica (Hradec Kralove)*. 2013; 56: 9–13.
 95. Rassmussen M. Aerococcus: An increasingly acknowledged human pathogen. *Clin Microbiol Infect*. 2016; 22: 22–7.
 96. Reedt Dortland RW, van Leeuwen MS, Steijling JJ, et al. Long-term results with vein homograft in femoro-distal arterial reconstructions. *Eur J Vasc Surg*. 1991; 5: 557–664.
 97. Rowe W, Splettek A, Kuehnl P. Long-term storage of peripheral blood progenitor cells (PBPC) at –80°C results in a pronounced decrease of membrane integrity and clonogenic potential compared to storage at –170°C. *Vox Sang*. 2006; 91(S3): 30–1.
 98. Schroeter J, Schulz T, Schroeter B, et al. Implementation of the Single European Code in a Multi-Tissue Bank. *Transfus Med Hemother*. 2017; 44: 396–400.
 99. Smith A. Biological effect of freezing and supercooling. London: Edwards Arnold Publishers, Ltd; 1961. 462 p.
 69. Matia I, Adamec M, Janousek L, et al. Fresh arterial grafts as conduits for vascular reconstructions in transplanted patients. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2006; 32(5):549–56.
 70. Matia I, Fellmer P, Splith K, et al. Immunosuppressive protocol with delayed use of low-dose tacrolimus after aortic transplantation suppresses donor-specific anti-MHC class I and class II antibody production in rats. *Ann Transplant*. 2014; 12(19):225–32.
 71. Meryman HT, editor. *Cryobiology*. New York: Academic Press Inc.; 1966. 775 p.
 72. Měřička P, Schustr P, Vinš M, et al. Containers for freezing and storage of bone marrow stem cells. *Sb Ved Prac Lek Fak Karlovy University Hradec Kralove*. 1991; 34:367–87.
 73. Měřička P, Straková H, Lánská M, et al. How long do we need to store cryopreserved cells and tissues? In: *Cryogenics 2017. Proceedings of the 14th IIR International Conference. (2017 May 15–19; Dresden, Germany)*. Paris: International Institute of Refrigeration; 2017. Pap. n. 05.
 74. Měřička P, Strakova H, Sterba L, et al. Cryobank of the Tissue Establishment University Hospital Hradec Králové – Design and 10-year experience of operation. In: *Cryogenics 2014. Proceedings of the 13th International Institute of Refrigeration International Conference. (2014 April 7–11; Prague, Czech Republic)*. Paris: International Institute of Refrigeration; 2014. p. 177–82.
 75. Měřička P, Vávra L, Vinš M, et al. The importance of oxygen level monitoring in the cryostorage facilities (C04–08). In: *Cryogenics 2004. Proceedings of the 8th IIR International Conference. (24–30 Apr 2004; Prague, Czech Republic)*. Prague: Icaris, Ltd.; 2004. p. 242–7.
 76. Měřička P. Brief history of the Tissue Bank University Hospital Hradec Králové, Czech Republic Cell Tissue Bank; 2000. p. 17–25.
 77. Měřička P, Jandová M, Gregor J, et al. Cryopreservation of non-mobilized peripheral blood mononuclear cells (PBC) current situation and future perspectives. *CryoLetters*. 2021; 42(6): 376–7.
 78. Měřička P, Janoušek L, Benda A, et al. Cell viability assessment using fluorescence vital dyes and confocal microscopy in evaluating freezing and thawing protocols used in cryopreservation of allogeneic vascular grafts. *Int J Mol Sci*. [Internet] 2021 Sep 30 [Cited 2023 Oct 27]; 22(19):10653. Available from: <https://www.mdpi.com/1422-0067/22/19/10653>
 79. Měřička P, Straková H, editors. *Cryoprotectants in medical practice long abstracts*. Paris: International Institute of Refrigeration; 1997.
 80. Měřička P, Straková H, Honegrova B, et al. Own experience from the 22 years lasting process of harmonization of the European Union safety and quality requirements for harvesting, processing and distribution of human cells and tissues for clinical transplantation. In: *15th Cryogenics Conference, Proceedings of the IIR International Conference (2019 April 8–11; Prague, Czech Republic)*. Paris: International Institute of Refrigeration; 2019. p. 280–6.
 81. Měřička P, Strakova H, Honegrova B, et al. Retrospective analysis of dimethylsulphoxide load in autologous peripheral progenitor cell transplantation in multiple myeloma. *CryoLetters*. 2019; 40: 264–5.
 82. Měřička P, Straková H, Lánská M, et al. Testing of cryopreserved concentrates at infusion leads to standardization of engraftment in autologous blood progenitor cell transplantation. In: *Proceedings of the 23rd IIR International Congress of Refrigeration (20–26 August 2011, Prague, Czech Republic)*. Vol. 23. Paris: International Institute of Refrigeration; 2011. p. 3609–13.
 83. Měřička P, Gregor J, Jandová M, et al. Cryopreservation of peripheral blood progenitor cells for unrelated allogeneic transplantation experience from the first and second wave of the COVID-19 pandemic. In: *SLTB 2021. Abstract book of the 57th SLTB annual meeting (Nov 3–5, 2021, on-line)*. Abstract No. OC7.



100. Spurr EE, Wiggins NE, Marsden KA, et al. Cryopreserved human haematopoietic stem cells retain engraftment potential after extended (5–14 years) cryostorage. *Cryobiology*. 2002; 44: 210–7.
101. Sputc A, Benndorf C, Rowe A, et al. Why frozen peripheral blood progenitor cell (PBPC) concentrates should be thawed at the patient's bedside. *Transfusion*. 2002; 42:46S.
102. Sputc A, Lioznov M, Kröger N, et al. Bioequivalence comparison of a new storage of human hematopoietic progenitor cells. *Cytotherapy*. 2011; 13: 481–9.
103. Stiff PJ, Koester AR, Weidner MK, et al. Autologous bone marrow transplantation using unfractionated cells cryopreserved in dimethylsulfoxide and hydroxyethyl starch without controlled rate freezing. *Blood*. 1987; 70: 974–8.
104. Streinchenberger H, Barjoud P, Adeleine A, et al. Venous allografts preserved at 4°C for infrainguinal bypass: Long-term results from 170 procedures. *Ann Vasc Surg*. 2000; 14: 553–60.
105. Strong DM. The US Navy Tissue Bank: 50 years on the cutting edge. *Cell Tissue Bank*. 2000; 1:1–19.
106. Szilagyi DE, McDonald RT, Smith RF, et al. Biologic fate of human arterial homografts. *AMA Arch Surg*. 1957; 75(4): 506–27.
107. Szilagyi DE, Rodriguez FJ, Smith RF, et al. Late fate of arterial allografts. Observations 6 to 15 years after implantation. *Arch Surg*. 1970; 101(6):721–33.
108. Szilagyi DE, Smith RF, Elliott JP, et al. Long-term behavior of a dacron arterial substitute: Clinical, roentgenologic and histologic correlations. *Ann Surg*. 1965; 162(3): 453–77.
109. Špaček M, Měříčka P, Janoušek L, et al. Comparison of different thawing protocols in human cryopreserved venous grafts. *Ann Vasc Surg*. 2020; 64: 347–54.
110. Špaček M, Měříčka P, Janoušek L, et al. Current vascular allograft procurement, cryopreservation, and transplantation techniques in the Czech Republic. *Adv Clin Exp Med*. 2019; 46: 197–215.
111. Špaček M, Měříčka P, Janoušek L, et al. Organization model for allotransplantations of cryopreserved vascular grafts in Czech Republic. *Cell Tissue Bank*. 2018; 19: 437–45.
112. Špunda R, Hrubý J, Měříčka P, et al. Immunosuppressive protocols with tacrolimus after cryopreserved aortal allotransplantation in rats. *PLoS ONE*. 2018 Aug 9 [cited Oct 10]; 13: e0201984. Available from: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0201984>
113. Tedder RS, Zuckerman MA, Goldstone AH, et al. Hepatitis B transmission from contaminated cryopreservation tank. *Lancet*. 1995; 346: 137–41.
114. Teebken OE, Pichlmaier MA, Brand S, et al. Cryopreserved arterial allografts for in situ reconstruction of infected arterial vessels. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2004; 27(6): 597–602.
115. The Society for Pharmaceutical and Medical Device Professionals. ISPE: Baseline pharmaceutical engineering guide for new and renovated facilities, Volume 3, Sterile manufacturing facilities first edition. ISPE Headquarters, ISPE European Branch Office; 1999. 162 p.
116. Thomas ED, Lochte HL Jr, Lu WC, Ferrebee JW. Intravenous infusion of bone marrow in patients receiving radiation and chemotherapy. *N Engl J Med*. 1957; 257(11): 491–6.
117. Touma J, Cochennec F, Parisot J, et al. In situ reconstruction in native and prosthetic aortic infections using cryopreserved arterial allografts. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2014; 48(3): 292–9.
118. Van Kats JP, Van Tricht C, Van Dijk A, et al. Microbiological examination of donated human cardiac tissue in heart valve banking. *Eur J Cardio-Thorac Surg*. 2010; 37: 163–9.
119. Visca P, Seifert H, Towner KJ. *Acinetobacter* infection – an emerging threat to human health. *IUBMB Life*. 2011; 63: 1048–54.
84. Morgenstern DA, Ahsan G, Brocklesby M, et al. Post-thaw viability of cryopreserved peripheral blood stem cells (PBSC) does not guarantee functional activity: Important implications for quality assurance of stem cell transplant programmes. *Br J Haematol*. 2016; 174(6): 942–51.
85. Müller Schweinitzer, E. Cryopreservation of vascular tissues. *Organogenesis*. 2009; 5: 97–104.
86. Papadoulis I, Mueller-Berghaus J, Beuneu C, et al. EMA review of axicabtagene ciloleucel (Yescarta) for the treatment of diffuse large B-cell lymphoma. *Oncologist*. 2020; 25(10): 894–902.
87. Páral J, Ferko A, Měříčka P, et al. [Contribution to preservation of venous grafts]. *Rozhledy v Chirurgii*. 2000; 79: 244–9. Czech.
88. Pedraza, JM Tissue establishment as a necessary institution within the country health care system: importance, requirements, and structure. *Cell Tissue Bank*. 2016; 17(2): 179–88.
89. Pegg DE, Trotman RE. The preservation of human bone marrow at –79 degrees C. A temperature-controlled method of two-stage cooling. *J Clin Pathol*. 1959; 12: 477–82.
90. Pegg DE, Wusteman MC, Boylan S. Fractures in cryopreserved elastic arteries. *Cryobiology*. 1997; 34: 183–92.
91. Pegg, DE. Freezing of bone marrow for clinical use. *Cryobiology*. 1964; 1(1): 64–71.
92. Pizzi F, Turi F, Gliozzi TM, et al. Implementation and cost analysis of a regional farm animal cryobank: An Italian case study. *Ital J Anim Sci*. 2016; 15(2): 207–10.
93. Pushkar NS, Belous AM. [Introduction into Cryobiology]. Kyiv: Naukova Dumka; 1975. 342 p. Russian.
94. Radocha J, Maisnar V, Zavřelová A, et al. Fifteen years of single center experience with stem cell transplantation for multiple myeloma: A retrospective analysis. *Acta Medica (Hradec Kralove)*. 2013; 56: 9–13.
95. Rassmussen M. *Aerococcus*: An increasingly acknowledged human pathogen. *Clin Microbiol Infect*. 2016; 22: 22–7.
96. Reedt Dortland RW, van Leeuwen MS, Steijling JJ, et al. Long-term results with vein homograft in femoro-distal arterial reconstructions. *Eur J Vasc Surg*. 1991; 5: 557–664.
97. Rowe W, Sputc A, Kuehn P. Long-term storage of peripheral blood progenitor cells (PBPC) at –80°C results in a pronounced decrease of membrane integrity and clonogenic potential compared to storage at –170°C. *Vox Sang*. 2006; 91(S3): 30–1.
98. Schroeter J, Schulz T, Schroeter B, et al. Implementation of the Single European Code in a Multi-Tissue Bank. *Transfus Med Hemother*. 2017; 44: 396–400.
99. Smith A. Biological effect of freezing and supercooling. London: Edwards Arnold Publishers, Ltd; 1961. 462 p.
100. Spurr EE, Wiggins NE, Marsden KA, et al. Cryopreserved human haematopoietic stem cells retain engraftment potential after extended (5–14 years) cryostorage. *Cryobiology*. 2002; 44: 210–7.
101. Sputc A, Benndorf C, Rowe A, et al. Why frozen peripheral blood progenitor cell (PBPC) concentrates should be thawed at the patient's bedside. *Transfusion*. 2002; 42: 46S.
102. Sputc A, Lioznov M, Kröger N, et al. Bioequivalence comparison of a new storage of human hematopoietic progenitor cells. *Cytotherapy*. 2011; 13: 481–9.
103. Stiff PJ, Koester AR, Weidner MK, et al. Autologous bone marrow transplantation using unfractionated cells cryopreserved in dimethylsulfoxide and hydroxyethyl starch without controlled rate freezing. *Blood*. 1987; 70: 974–8.
104. Streinchenberger H, Barjoud P, Adeleine A, et al. Venous allografts preserved at 4°C for infrainguinal bypass: Long-term results from 170 procedures. *Ann Vasc Surg*. 2000; 14: 553–60.
105. Strong DM. The US Navy Tissue Bank: 50 years on the cutting edge. *Cell Tissue Bank*. 2000; 1: 1–19.
106. Szilagyi DE, McDonald RT, Smith RF, et al. Biologic fate of human arterial homografts. *AMA Arch Surg*. 1957; 75(4): 506–27.
107. Szilagyi DE, Rodriguez FJ, Smith RF, et al. Late fate of arterial allografts. Observations 6 to 15 years after implantation. *Arch Surg*. 1970; 101(6): 721–33.

120. Vogt PR, Brunner-La Rocca HP, Carrel T, et al. Cryopreserved arterial allografts in the treatment of major vascular infection: A comparison with conventional surgical techniques. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1998; 116(6): 965–72.
121. Vogt PR, von Segesser LK, Goffin Y, et al. Eradication of aortic infections with the use of cryopreserved arterial homografts. *Ann Thorac Surg.* 1996; 62(3): 640–5.
122. von Tresckow B, Engert A. The role of autologous transplantation in Hodgkin lymphoma. *Curr Hematol Malig Rep.* 2011; 6: 172–9.
123. Watts MJ, Linch DC. Optimisation and quality control of cell processing for autologous stem cell transplantation. *Br J Haematol.* 2016; 175(5): 771–83.
124. Wessington Cryogenics' Ltd. Cryogenic safety (a leaflet). [Internet]. [Cited 2023 Oct 10]. Available from: <http://www.wessingtoncryogenics.co.uk>
125. Westbury G, Humble JG, Newton KA, et al. Disseminated malignant melanoma: Response to treatment by massive dosage of a cytotoxic agent combined with autogenous marrow replacement. *Lancet.* 1959; 1: 968–9.
126. Yakoub-Agha I, Chabannon C, Bader P, et al. Management of adults and children undergoing chimeric antigen receptor T-cell therapy: Best practice recommendations of the European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) and the Joint Accreditation Committee of ISCT and EBMT (JACIE). *Haematologica.* 2020; 105: 297–316.
127. Yang H, Acker JP, Cabuhat M, et al. Association of post-thaw viable CD34+ cells and CFU-GM with time to hematopoietic engraftment. *Bone Marrow Transplantation.* 2005; 35: 881–7.
128. Yu Z, Chang M, Wu M, et al. *Pseudomonas oryzae* sp. nov. isolated from a paddy soil in South China. *Arch Microbiol.* 2013; 195(12): 815–22.
108. Szilagyi DE, Smith RF, Elliott JP, et al. Long-term behavior of a dacron arterial substitute: Clinical, roentgenologic and histologic correlations. *Ann Surg.* 1965; 162(3): 453–77.
109. Špaček M, Měřička P, Janoušek L, et al. Comparison of different thawing protocols in human cryopreserved venous grafts. *Ann Vasc Surg.* 2020; 64: 347–54.
110. Špaček M, Měřička P, Janoušek L, et al. Current vascular allograft procurement, cryopreservation, and transplantation techniques in the Czech Republic. *Adv Clin Exp Med.* 2019; 46: 197–215.
111. Špaček M, Měřička P, Janoušek L, et al. Organization model for allotransplantations of cryopreserved vascular grafts in Czech Republic. *Cell Tissue Bank.* 2018; 19: 437–45.
112. Špunda R, Hrubý J, Měřička P, et al. Immunosuppressive protocols with tacrolimus after cryopreserved aortal allotransplantation in rats. *PLoS ONE.* 2018 Aug 9 [cited Oct 10]; 13: e0201984. Available from: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0201984>
113. Tedder RS, Zuckerman MA, Goldstone AH, et al. Hepatitis B transmission from contaminated cryopreservation tank. *Lancet.* 1995; 346: 137–41.
114. Teebken OE, Pichlmaier MA, Brand S, et al. Cryopreserved arterial allografts for in situ reconstruction of infected arterial vessels. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2004; 27(6): 597–602.
115. The Society for Pharmaceutical and Medical Device Professionals. ISPE: Baseline pharmaceutical engineering guide for new and renovated facilities, Volume 3, Sterile manufacturing facilities first edition. ISPE Headquarters, ISPE European Branch Office; 1999. 162 p.
116. Thomas ED, Lochte HL Jr, Lu WC, Ferrebee JW. Intravenous infusion of bone marrow in patients receiving radiation and chemotherapy. *N Engl J Med.* 1957; 257(11): 491–6.
117. Touma J, Cochenne F, Parisot J, et al. In situ reconstruction in native and prosthetic aortic infections using cryopreserved arterial allografts. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2014; 48(3): 292–9.
118. Van Kats JP, Van Tricht C, Van Dijk A, et al. Microbiological examination of donated human cardiac tissue in heart valve banking. *Eur J Cardio-Thorac Surg.* 2010; 37: 163–9.
119. Visca P, Seifert H, Towner KJ. *Acinetobacter* infection – an emerging threat to human health. *IUBMB Life.* 2011; 63: 1048–54.
120. Vogt PR, Brunner-La Rocca HP, Carrel T, et al. Cryopreserved arterial allografts in the treatment of major vascular infection: A comparison with conventional surgical techniques. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1998; 116(6): 965–72.
121. Vogt PR, von Segesser LK, Goffin Y, et al. Eradication of aortic infections with the use of cryopreserved arterial homografts. *Ann Thorac Surg.* 1996; 62(3): 640–5.
122. von Tresckow B, Engert A. The role of autologous transplantation in Hodgkin lymphoma. *Curr Hematol Malig Rep.* 2011; 6: 172–9.
123. Watts MJ, Linch DC. Optimisation and quality control of cell processing for autologous stem cell transplantation. *Br J Haematol.* 2016; 175(5): 771–83.
124. Wessington Cryogenics' Ltd. Cryogenic safety (a leaflet). [Internet]. [Cited 2023 Oct 10]. Available from: <http://www.wessingtoncryogenics.co.uk>
125. Westbury G, Humble JG, Newton KA, et al. Disseminated malignant melanoma: Response to treatment by massive dosage of a cytotoxic agent combined with autogenous marrow replacement. *Lancet.* 1959; 1: 968–9.
126. Yakoub-Agha I, Chabannon C, Bader P, et al. Management of adults and children undergoing chimeric antigen receptor T-cell therapy: Best practice recommendations of the European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) and the Joint Accreditation Committee of ISCT and EBMT (JACIE). *Haematologica.* 2020; 105: 297–316.
127. Yang H, Acker JP, Cabuhat M, et al. Association of post-thaw viable CD34+ cells and CFU-GM with time to hematopoietic engraftment. *Bone Marrow Transplantation.* 2005; 35: 881–7.
128. Yu Z, Chang M, Wu M, et al. *Pseudomonas oryzae* sp. nov. isolated from a paddy soil in South China. *Arch Microbiol.* 2013; 195(12): 815–22.

