

УДК 62–9

Современные системы IT-мониторинга условий криогенного хранения биологического материала в банке пуповинной крови

Д. А. ИВОЛГИН, д-р мед. наук А. Б. СМОЛЯНИНОВ

Северо-западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова
195067, Санкт-Петербург, Пискаревский пр., 47

Д-р биол. наук Ш. М. БАГАУТДИНОВ

Военно-медицинская академия МО РФ, 190013, Санкт-Петербург, Загородный пр., 47

К. В. КОРОВИНА

ООО «Покровский банк стволовых клеток», 199106, Санкт-Петербург, Большой пр. В. О., 85

И. С. ТРУКШИН, О. С. КОЗЛОВ

ООО «Криогентех», 197755, Санкт-Петербург, Лисий Нос, Балтийский пр., 2

This paper presents an overview of a cord blood bank cryostorage activities for optimizing the quality of stored umbilical cord blood units. Also, the characteristic of the developed in RF innovative system for monitoring of cryostorage conditions of umbilical cord blood units, and maintaining a database of stored samples.

Keywords: monitoring, cryostorage, cord blood banks.

Ключевые слова: мониторинг, криохранение, банки пуповинной крови.

Считавшаяся когда-то биологическим отходом, пуповинная кровь (ПК) относительно недавно была определена как источник гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) для трансплантации. После ряда исследований подтвердивших *in vitro* функциональность ПК после криоконсервирования в октябре 1988 г. состоялась первая трансплантация ГСК ПК [1]. После этого первого успеха использование ГСК ПК для гемопоэтического восстановления получило значительное распространение как для родственных трансплантаций [2], так и неродственных [3].

Исследования показали, что ГСК ПК являются приемлемой альтернативой HLA-совместенному костному мозгу для пациентов в педиатрии [4]. Криоконсервированная ГСК ПК от HLA-совместимых и несовместимых неродственных доноров является достаточным источником ГСК для трансплантации с высокой вероятностью приживления и низким риском выраженной острой реакции «трансплантат против хозяина» (ОРТПХ).

Наряду с традиционным использованием трансплантации ГСК ПК при онкогематологических заболеваниях существуют еще и другие области применения ПК. Это неонкологические заболевания, такие как тяжелая апластическая анемия, анемия Фанкони, талассемия и серповидно-клеточная анемия, иммунодефицитные состояния, врожденные расстройства метаболизма. Относительно недавно стали появляться сообщения о способности клеток ПК дифференцироваться не только в клетки системы крови, но и в клетки других тканей организма. Это послужило толчком к исследованиям по негемопоэтическому использованию ПК. Сегодня все больше и больше публикаций появляется по применению ПК для лечения неврологических, сердечно-сосудистых, аутоиммунных и большого количества других

заболеваний, в лечении которых ГСК ПК никогда ранее не использовались [5].

Образец ПК для первой трансплантации ПК предоставил первый банк ПК (БПК), организованный д-ром Hal E. Vrohmeyer. Так как ПК была успешно применена как источник ГСК ПК при родственной трансплантации, стали очевидными и возможности для неродственной трансплантации, обосновывая учреждение банков неродственной ПК.

Первый банк неродственной ПК был организован доктором П. Рубинштейном в Нью-Йоркском Центре крови в 1992 г. [6]. Тогда же началось развитие всех аспектов деятельности БПК по сбору, обработке, хранению и использованию ПК, поставлены вопросы и проблемы, легшие в основу дальнейшего изучения трансплантации ПК. Вскоре после этого были организованы банки ПК в Дюссельдорфе, Милане, Париже и других городах.

В настоящий момент накоплен серьезный опыт организации БПК и всех процессов, осуществляемых в них [7].

Одной из особенностей ПК как источника ГСК является гораздо меньшее, чем в костном мозге, количество клеток. В связи с этим главной задачей общественного БПК является накопление как можно большего количества образцов ПК с количеством клеток, достаточным для проведения успешной трансплантации. Эта задача может решаться на разных уровнях — на уровне банка ПК, на уровне регистра доноров ПК и на уровне трансплантационного центра [8]. На уровне БПК эта задача может решаться за счет помещения на хранение образцов ПК с большим количеством ядродержащих, а значит и CD34+ клеток. Обеспечить помещение на хранение таких образцов ПК можно, например, путем ужесточения критериев включения и выполнения всех этапов обработки ПК в банке таким образом, чтобы минимизировать потери ядродержащих клеток.

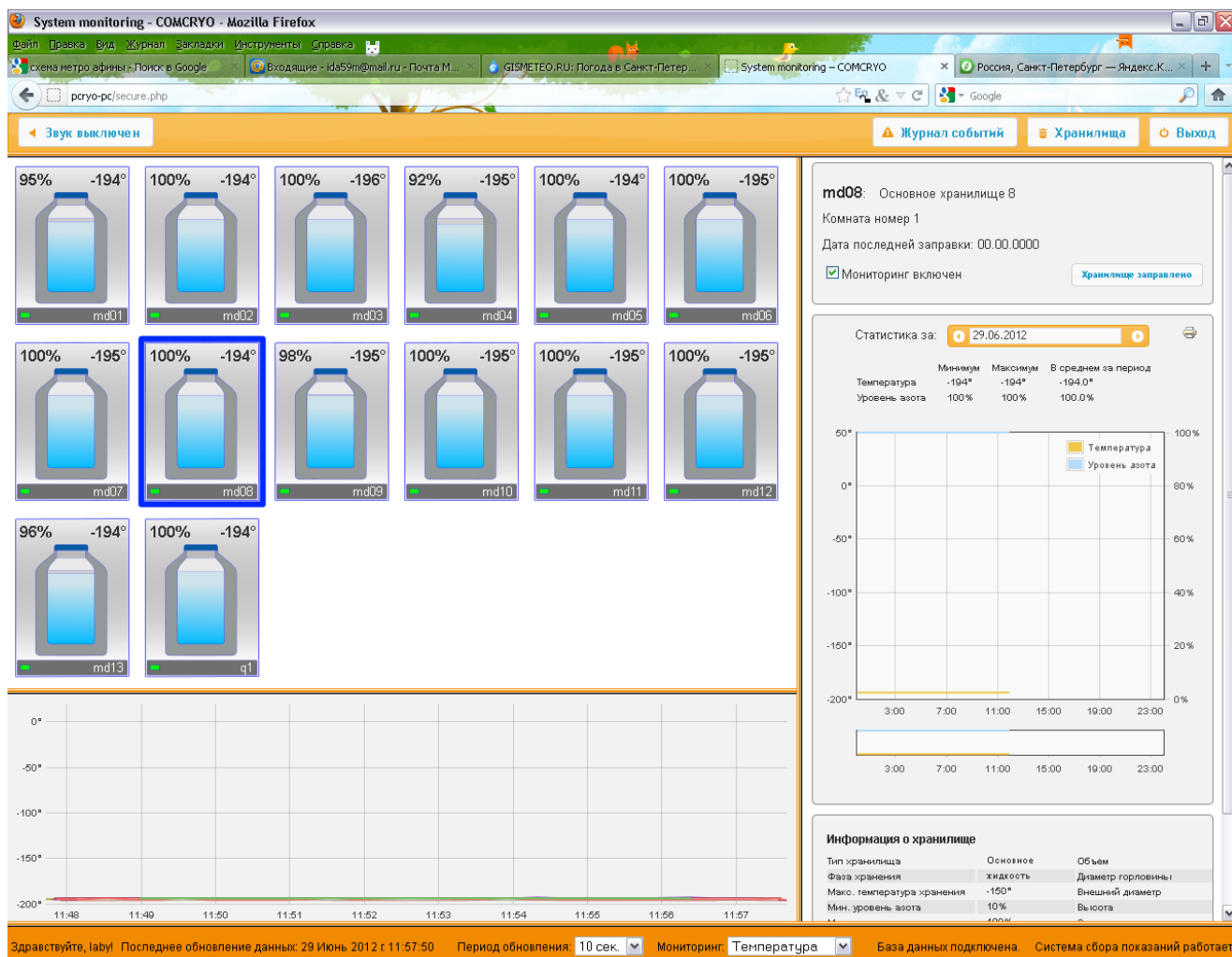


Схема мониторинга криодьюаров на мониторе компьютера по объему и температуре с графиком построения кривых в режиме реального времени в Покровском банке стволовых клеток

Основными причинами потери ядродержащих клеток ПК после ее сбора являются обработка, то есть сокращение объема, и криоконсервирование, поэтому выбор метода выделения ядродержащей фракции ПК может иметь существенное значение для успеха трансплантации ПК после длительного хранения в банке СК ПК. Также большое значение имеют условия длительного криохранения, так как температурные колебания или так называемые «кратковременные нагревания» — transient warming events (TWE) — замороженных образцов с температурой менее чем $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ до температуры выше $-130\text{ }^{\circ}\text{C}$ могут сократить итоговую жизнеспособность CD34+ клеток и количество колониеобразующих единиц (KOE) [9]. Таким образом, правильная организация деятельности криохранилища может обеспечить необходимое качество образцов, передаваемых из БПК для трансплантации, и, следовательно, внести свой вклад в ее успех.

Одним из методов, позволяющих предотвратить неблагоприятные события при длительном криохранении, является использование систем автоматического мониторинга условий криохранения. На сегодняшний день по требованиям международных регулирующих документов, в частности «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», каждый криобанк должен быть оборудован такой системой.

Криолаборатория и криохранилище Покровского банка стволовых клеток и НИЛ клеточных технологий СЗГМУ им. И. И. Мечникова недавно были оборудованы такой системой мониторинга «COMCRYO» (ООО «Криогентех, Санкт-Петербург»).

Что представляет собой данная система? На каждом криохранилище установлены датчики, связанные беспроводным соединением с сервером, которые контролируют два параметра: уровень жидкого азота и температура на заданной высоте от дна хранилища. Оба параметра отображаются как в числовой форме, так и в виде графика. График и статистику можно посмотреть за любой период времени. При выходе измеряемых параметров за заданные границы (для каждого криохранилища границы устанавливаются индивидуально) система оповещает об этом пользователя путем звуковой сигнализации, появлением сообщения на экране, кроме того, возможна отправка сообщений на другой компьютер или SMS-сообщения на телефон авторизованного персонала.

Система «COMCRYO» следит за исправностью оборудования — как сервера, так и собственно контролле-

ров на криохранилищах и позволяет получить справочную информацию об установленном оборудовании, она регистрирует все случаи отклонения от заданных параметров и создает рапорт с указанием даты и времени.

Система «COMCRYO» имеет веб-интерфейс: на сервере запущен специальный сайт по сбору и обработке данных с хранилищ и на который можно зайти обычным браузером (Firefox, Safari и т.п.) с любого компьютера из локальной сети (в том числе с самого серверного компьютера) либо через интернет, если такой доступ будет разрешен системным администратором. Сайт доступен только авторизованным (зарегистрированным в системе) пользователям. Уровень доступа каждого конкретного пользователя задается заранее администратором системы, что позволяет ограничить возможность просмотра и модификации данных, хранящихся в системе. Снятие данных с хранилищ может осуществляться как по беспроводной сети (в пределах здания), так и по интернету, если хранилища расположены в разных частях города, области или страны. Все данные архивируются.

Также система позволяет проводить сквозной мониторинг условий хранения образца, то есть если образец был помещен вначале в карантинный дьюар, а затем перенесен в основной, то такая система позволит выдать непрерывный график температуры обоих хранилищ за то время, пока там находился выбранный образец. При наличии модулей контроля температурного режима для переносных хранилищ возможен импорт данных и из них, таким образом, система мониторинга позволяет контролировать весь жизненный цикл образца с момента его получения в роддоме.

Кроме того, возможно расширение системы «COMCRYO» до следующих уровней:

— «ведение» образца по лаборатории (автоматизированный ввод данных исследований, контроль перемещений образца по рабочим местам лабораторий);

— авторизация доступа к хранилищам по бесконтактным именованным картам, то есть на крышке каждого хранилища устанавливается замок, который можно открыть, только приложив к считывающему устройству пластиковую идентификационную карту. Причем замок откроется только в том случае, если данному сотруднику разрешен доступ к данному хранилищу в данное время. Факт доступа (или попытки доступа) к хранилищу будет в любом случае зафиксирован в системе;

— контроль перемещения образцов по технологии бесконтактных RFID-меток.

Однако не только эти параметры системы «COMCRYO» позволяют осуществлять деятельность по длительному криохранению образцов ПК на уровне крупных зарубежных банков. Еще одним необходимым фактором деятельности БПК является наличие электронной системы учета и ведения хранящихся образцов ПК. На сегодняшний день в мире применяется большое количество таких коммерческих программ: Freezerwork (Thermogenesis, США), Freezer-PRO (RuRo Inc., США), Kryotrack (Planer Inc. Великобритания), и ранее в Покров-

ском банке стволовых клеток такой учет проводился с использованием программы Freezerwork (Thermogenesis, США). В настоящее время, благодаря функциям системы «COMCRYO», а именно интеграция в систему базы данных хранящихся образцов по более чем 40 показателям с возможностью поиска по различным характеристикам образца (по номеру, по генотипу HLA, по количеству ядросодержащих клеток, по группе крови и т.п.) и по параметру «пациент» (например, всех образцов заданного пациента или всех хранилищ, где хранились образцы конкретного пациента).

В целом, можно сказать, что в системе «COMCRYO» удалось соединить две программы, необходимых для работы криобанка, в частности, БПК-систему мониторинга условий хранения образцов ПК и ведение базы данных хранящихся образцов ПК.

Использование данной системы в Покровском банке стволовых клеток позволило сократить трудовые затраты персонала криолаборатории а также максимально предотвратить появления неблагоприятных событий — «кратковременных нагреваний» и позволяет говорить о Покровском БСК как о структуре, осуществляющей свою деятельность на уровне общемировых стандартов.

Список литературы

1. Hematopoietic reconstitution in a patient with Fanconi's anemia by means of umbilical-cord blood from an HLA-identical sibling/E. Gluckman [et al.] // *N. Engl. J. Med.* 1989. Vol. 321, № 17.
2. Successful transplantation of HLA-matched and HLA-mismatched umbilical cord blood from unrelated donors: analysis of engraftment and acute graft-versus-host disease/J. E. Wagner [et al.] // *Blood.* 1996. Vol. 8. № 3.
3. Hematopoietic Engraftment and Survival in Adult Recipients of Umbilical-Cord Blood from Unrelated Donors/M. J. Laughlin [et al.] // *N. Engl. J. Med.* 2001. Vol. 344. № 24.
4. Placental Blood as a Source of Hematopoietic Stem Cells for Transplantation into Unrelated Recipients/J. Kurtzberg [et al.] // *N. Engl. J. Med.* 1996. Vol. 335, № 3.
5. *Harris D. T.* Non-haematological uses of cord blood stem cells // *British Journal of Haematology.* 2009. Vol. 147. № 2.
6. Stored Placental Blood for Unrelated Bone Marrow Reconstitution/P. Rubinstein [et al.] // *Blood.* 1993. Vol. 81. № 7.
7. Cord blood banking: a historical perspective/C. Navarrete [et al.] // *British Journal of Haematology.* 2009. Vol. 147. № 2.
8. *Barker J. N.* Optimizing Unrelated Donor Cord Blood Transplantation/J. N. Barker, V. Rocha, A. Scaradavou // *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2009. Vol. 15. № 1.
9. *Rubinstein P.* Cord blood banking for clinical transplantation // *Bone Marrow Transplantation.* 2009. Vol. 44. № 10.