

## SAHARA-TSC

### Стандартизированная процедура размораживания криоконсервированных стволовых клеток крови

Даже в настоящее время криоконсервированные стволовые клетки размораживают в водяной бане, которую нагревают до температур от 37 до 39°C, и окончание процесса размораживания трансплантатов определяется пользователем субъективно.

В этих неконтролируемых условиях температура трансплантатов может различаться в каждом случае размораживания, что приводит к не стандартизированному качеству стволовых клеток. Более того, подобная процедура размораживания увеличивает риск загрязнения стволовых клеток в пластиковых мешках экзогенными микроорганизмами [1, 2]. Даже низкие концентрации определенных патогенных микроорганизмов внутри трансплантатов может вызвать смертельную инфекцию у пациентов с иммунодефицитом.

В соответствии с европейскими приказами [3], замороженные продукты крови должны размораживаться в специальных устройствах с контролируемой окружающей средой в соответствии с установленной процедурой. Соответствующие обогревающие устройства должны соответствовать ECD MDD 93/42/ЕЕС и их работа должна проверяться систематически. Размораживание пластиковых мешков с криоконсервированными стволовыми клетками в водяной бане не соответствует этим стандартам.

### ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ SAHARA-TSC

В SAHARA-TSC каждый пластиковый мешок с криоконсервированными стволовыми клетками размораживается отдельно между адапционным компрессом, который предварительно нагревают до 37°C и теплопроводящей пластиной, которую активно нагревает алюминиевая нагревательная платформа. В течение всего процесса размораживания трансплантат осторожно перемешивается для создания одинаковых температур во всем мешке и даже в его боковых участках.

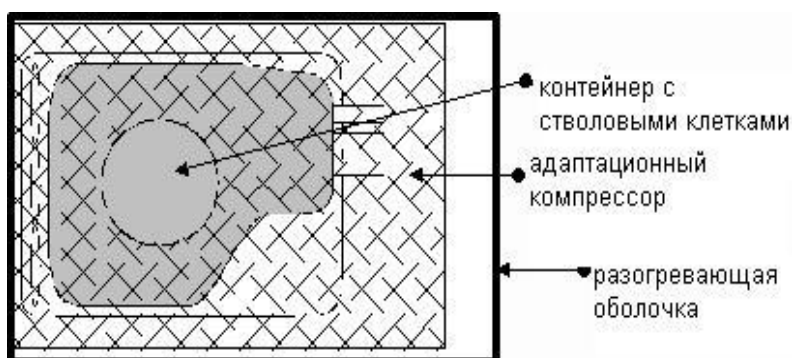


Рисунок 1. Вид сверху на загруженную подогреваемую пластину

Быстрое время нагревания каждого мешка в течение всего нескольких минут и низкая температура окружающей среды (от 10 до 15°C) вокруг мешка с трансплантатом в конце процесса размораживания эффективно снижают потенциальную токсичность таких криопротектантов, как DSMO [см. 4].

Перед началом размораживания, через отверстие в адапционном компрессе на поверхность мешка со стволовыми клетками накладывают регулируемый инфракрасный датчик. Он позволяет осуществлять постоянный и точный мониторинг за температурой, что гарантирует контроль над нагреванием и безопасность протокола размораживания, который должен осуществляться со скоростью подъема температуры 90°C в минуту [5]. Мешок с трансплантатом, наполненный на 40 или 110 мл, размораживается в среднем от 4 до 6 минут.

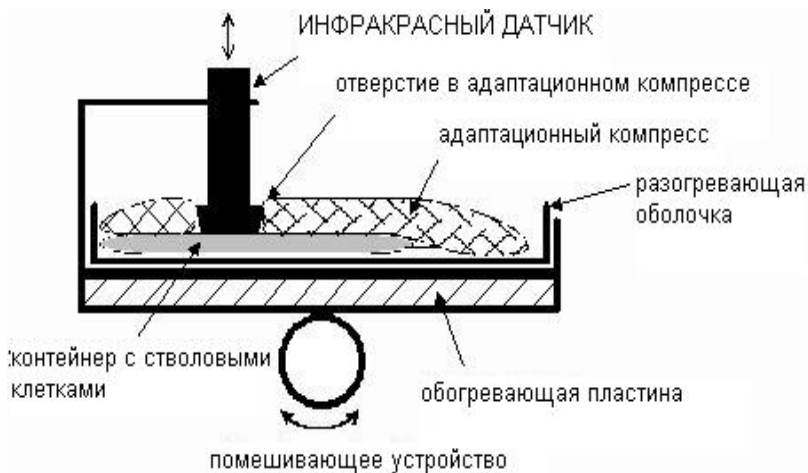


Рисунок 2. Вид сбоку на размораживающее оборудование SAHARA-TSC

При достижении температуры трансплантата 0°C звучит звуковой сигнал, который свидетельствует об увеличении скорости роста температуры. Более того, все данные о подъеме температуры могут быть выведены на принтер. Это обеспечивает полную документацию процесса размораживания и позволяет всегда завершать размораживание трансплантата при одной и той же температуре.

Рисунок 3. Размораживающее оборудование SAHARA-TSC без (слева) и вместе с мешком со стволовыми клетками (справа).



Рисунок 4. Полный комплект системы SAHARA-TSC включает: SAHARA-TSC, базовую модель SAHARA-III, принтер протокола, модуль - подставка SAHARA и адаптационные компрессы TSC.

SAHARA-TSC – Выгодное использование для персонала и пациентов.

- Стандартизированная процедура размораживания с контролем температуры
- Гарантируемое качество стволовых клеток крови
- Быстрое время размораживания

- Процесс обогрева сухим теплом
- Легкое использование и обслуживание
- Удобный уход и дезинфекция принадлежностей SAHARA-TSC
- Полная и доступная документация всего процесса размораживания
- Сбор вытекших препаратов крови
- Соответствует Европейским стандартам MDD 93/42/EEC

## КЛИНИЧЕСКИЕ ИСПЫТАНИЯ

Процесс размораживания криоконсервированных стволовых клеток крови при помощи оборудования SAHARA-TSC был проверен множеством клинических исследований. Во время этих исследований жизнеспособность стволовых клеток была протестирована красителем - трипановым синим и процедурами, основанных на культурах (CFU-GM). При сравнении с обычным протоколом размораживания в системах, основанных на принципе водяной бани, лучшие гигиенические условия наблюдались в SAHARA-TSC. Была определена точка плавления замороженных стволовых клеток, а затем было показано, что ее значение применимо к различному объему замороженных клеток (55-110 мл). При использовании SAHARA-TSC было зафиксировано стандартизированное и высокое качество стволовых клеток после размораживания. Более того, сделано заключение, что SAHARA-TSC легко обслуживать.

### Были выпущены следующие публикации:

**Реллинг К; Бабтц Дж.; Шварц В.; Энинджер Г.; Борнхаузер М.**

РАЗМОРАЖИВАНИЕ ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК – СРАВНЕНИЕ РАЗМОРАЖИВАНИЯ В ВОДЯНОЙ БАНЕ И РАЗМОРАЖИВАНИЯ СУХИМ ТЕПЛОМ С КОНТРОЛЕМ ПРОЦЕССА РАЗМОРАЖИВАНИЯ

**7-Й Ежегодный симпозиум (Международного общества гемотерапии и трансплантологии, Канада)**

[www.ishage.abstractcentral.com](http://www.ishage.abstractcentral.com)

**Агилдере А.; Ульрих Г.**

РАЗМОРАЖИВАНИЕ КРИОКОНСЕРВИРОВАННЫХ ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ КРОВЯНЫХ КЛЕТОК-ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ: ПОДТВЕРЖДЕНИЕ РАБОТЫ SAHARA-TSC, НОВОГО УСТРОЙСТВА

**34. Jahreskongress der DGTI 2001 in Hamburg**

## ЛИТЕРАТУРА:

1. Голубич-Чепублич Б. и др. Контроль качества необходим для профилактики бактериального загрязнения костного мозга и трансплантатов из периферических кровяных стволовых клеток. *Vox Sanguinis*, 78, Suppl. P683, 2000

2. Монтаг Т.; Ленг Г.; Шмидт У.; Штробель Дж.; Экснер М. Бактериальное загрязнение компонентов крови. *Bundesgesundheitsbl-Gesundheitsschutz* 2: 132-142, 1999
3. Совет Европы. Правила приготовления, использования и оценки качества компонентов крови. 7 edition, Council of Europe Publishing, 2001
4. Аракава Т. и др. Основы для токсичности некоторых криопротектантов: гипотеза. *Cryobiology*, 27, 401-15, 1990
5. Вальтер З. и др. Методы замораживания, размораживания и установления жизнеспособности гемопоэтических стволовых клеток. *Przegląd Lekarski*, 56, Suppl. 1,34-9,1999

---

## SAHARA-TSC

### КЛИНИЧЕСКИЕ ИСПЫТАНИЯ (ПРОМЕЖУТОЧНЫЙ ОТЧЕТ)

---

Ссылка: 7-й Ежегодный симпозиум (Международного общества гемотерапии и трансплантологии, Канада), Abstract-ID: ISHAGE-41432, 2001  
[www.ishage.abstractcentral.com](http://www.ishage.abstractcentral.com)

### РАЗМОРАЖИВАНИЕ ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК – СРАВНЕНИЕ РАЗМОРАЖИВАНИЯ В ВОДЯНОЙ БАНЕ И РАЗМОРАЖИВАНИЯ СУХИМ ТЕПЛОМ С КОНТРОЛЕМ ПРОЦЕССА РАЗМОРАЖИВАНИЯ

*Реллинг К.; Бабтиц Дж.; Шварц В.; Энинджер Г.; Борнхаузер М.*

Отделение онкологии, клиника при Дрезденском университете, Германия.

**Предпосылки.** Размораживание криоконсервированных стволовых клеток периферической крови (СКПК) обычно выполняется для аутологичной и аллогенной трансплантации СКПК. Это должно производиться осторожно и быстро, чтобы минимизировать температурозависимую токсичность DMSO для стволовых клеток. Обычно размораживание производится путем погружения пакета со стволовыми клетками в водяную баню (температура 37°C)

**Цель.** Мы сравнили эффективность размораживания криоконсервированных стволовых клеток в водяной бане и в устройстве с электрическим нагревателем и сухим теплом, содержащем подогреваемые гелиевые прокладки.

**Методы.** Два криоконсервированных образца, полученные при помощи одной процедуры у одного и того же пациента, были одновременно разморожены. Один в водяной бане, другой сухим теплом. Были протестированы жизнеспособность (исключающее окрашивание), апоптоз/некроз (окрашивание аннексином) и клоногенный потенциал (CGU-E, CFU-GM).

**Результаты.** Были проанализированы 125 пар образцов. Средняя жизнеспособность клеток после размораживания в водяной бане была 61,5% (пределы колебаний 15-99%), после размораживания под действием сухого тепла 58,0% (пределы колебаний 14-92%). После размораживания в водяной бане и под действием сухого тепла было выявлено среднее процентное соотношение аннексин-позитивных клеток, соответственно 28,44% (в пределах 1,88-52,07%) и 32,12% (2,5-64,54%). Среднее количество CGU-E и CFU-GM на  $1 \times 10^5$  посеянных клеток (проанализировано 13 образцов) составило: для водяной бани 32 (в пределах 1-128) и 24 (в пределах 8-120) и для нагревателя с сухим теплом 31 (1-79) и 38 (3-83). Статистический анализ результатов теста связанных пар Вилкоксона не выявил никаких значительных различий в тестируемых параметрах между процедурами размораживания в водяной бане и в нагревателе сухого тепла. Всем пациентам была сделана трехлинейная пересадка в обычных временных рамках.

**Выводы.** Наши результаты показали, что размораживание криоконсервированных СКПК с использованием автоматического устройства также эффективно, как и размораживание в водяной бане. Обе процедуры занимают одинаковый период времени и легко выполнимы. Тем не менее, снижение риска бактериального загрязнения, как клеточных продуктов, так и тканей пациента и правила клинической практики (ПКП) позволяют сделать вывод, что предпочтительнее использовать процедуру размораживания в электрическом нагревателе сухого тепла.

---

## SAHARA-TSC

### КЛИНИЧЕСКИЕ ИСПЫТАНИЯ (Резюме).

---

Ссылка: 34-й Ежегодный конгресс DGTI , Abstract-ID: V23.5, 2001  
Infus. Ther. Transfus. Med. 2001; 28 (Sonderheft 1): 57.

### РАЗМОРАЖИВАНИЕ КРИОКОНСЕРВИРОВАННЫХ ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ КРОВЯНЫХ КЛЕТОК-ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ: ПОДТВЕРЖДЕНИЕ РАБОТЫ SAHARA-TSC, НОВОГО УСТРОЙСТВА

*Агилдере А.; Ульрих Г.*

Клиника при университете Regensburg, отделение Клинической химии и Лабораторной медицины, Германия.

**Цель исследования.** Широко используемый протокол размораживания криоконсервированных стволовых клеток в водяной бане, нагретой до температур 37-39°C. Этот метод влечет несколько проблем. Результаты зависят от опыта техника и медсестры. Следовательно, температура трансплантата будет различаться при каждой процедуре размораживания. Быстрое размораживание приводит к меньшим потерям клеток-предшественников, но до сих пор не стандартизированы ни эти требования, ни описание процедуры изменения температуры в процессе размораживания.

Множественно зафиксировано бактериальное загрязнение трансплантата в водяной бане, и это еще одна проблема. Использование данного метода размораживания больше не рекомендуются для банков крови. Стандарты ПМП, установленные для банка крови, должны быть применены и к обработке гемопозитических стволовых клеток. Для гарантии этих стандартов должны быть привлечены новые методы.

Мы изучили SAHARA-TSC, новое устройство, специально предназначенное для размораживания криоконсервированных трансплантатов.

**Методы.** Было исследовано 25 концентратов стволовых клеток от 11 пациентов. Все пациенты получили большую дозу химиотерапии с трансплантацией клеток-предшественников периферической крови. Стволовые клетки были криоконсервированы с 10% DMSO и хранились в жидком или газообразном азоте. В качестве контрольных мы использовали образцы, хранившиеся во флаконах объемом 2 мл, которые готовились вместе с трансплантатами. Их размораживали по протоколу размораживания в водяной бане.

Мы исследовали жизнеспособность и пролиферационную способность перед криоконсервацией и после размораживания. При размораживании пакеты помещали в подогреваемую алюминиевую емкость, затем на них укладывали специальные прокладки, нагреваемые до 37°C. Алюминиевая емкость постоянно находилась в движении для хорошего перемешивания концентрата. Температура трансплантата постоянно измерялась инфракрасным датчиком, который накладывался прямо на замороженный пакет через отверстие в прокладке. Флаконы размораживали в водяной бане, нагретой до температуры 37°C.

**Результаты.** Жизнеспособность концентратов стволовых клеток сразу после сбора составила от 87 до 100% (96,9% +/- 3,9). Жизнеспособность стволовых клеток после размораживания в SAHARA-TSC колебалась от 46 до 88% (67,4% +/- 12,6). Жизнеспособность стволовых клеток после размораживания во флаконах колебалась от 41,9 до 76,7% (65,8% +/- 8,3).

CFU криоконсервированных стволовых клеток колебалось между  $0,21 \times 10^5$  и  $30 \times 10^5$ . CFU в замороженных флаконах колебалось от  $0,29$  до  $16,5 \times 10^5$ .

**Заключение.** Жизнеспособность стволовых клеток после сухого размораживания значительно не отличалась от жизнеспособности контрольных образцов. Пролиферация клеток при использовании нового метода была даже лучше. SAHARA-TSC гарантирует стандартизированный процесс размораживания, с постепенным повышением температуры. Результаты намного меньше зависят от пользователя аппаратуры, а риск бактериального загрязнения также маловероятнее. Еще одним преимуществом является постоянная запись температуры во время всего процесса размораживания и возможность распечатки сопутствующих протоколов. Размораживание в SAHARA-TSC является безопасной процедурой, соответствующей протоколам GMP.