

## Опыт работы Самарского регистра доноров кроветворных клеток

О.В. Тюмина, Д.Ю. Ключников, С.Е. Волчков, Л.М. Трусова  
Клинический центр клеточных технологий, Самара

### Experience of Samara hematopoietic cells donor registry

O.V. Tyumina, D.Y. Klyuchnikov, S.E. Volchkov, L.M. Trusova  
Clinical Centre of Cell Technologies, Samara

Трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток костного мозга и пуповинной крови применяется для лечения онкологических и иммунных заболеваний в мировой практике со второй половины прошлого века, но, несмотря на это, по-прежнему главной проблемой остается поиск совместимого донора. Для решения этой проблемы по всему миру были созданы регистры потенциальных доноров кроветворных клеток, включающие в свой состав банки пуповинной крови. В 2010 г. в Самаре на базе ГБУЗСО «Клинический центр клеточных технологий» был организован регистр потенциальных доноров кроветворных клеток. В его состав вошли единицы пуповинной крови из Самарского банка пуповинной крови и доноры кроветворных клеток из нескольких областей Российской Федерации. На сегодняшний день в составе регистра насчитывается более 5000 единиц пуповинной крови и 5000 потенциальных доноров кроветворных клеток. За время работы регистра из Самарского банка 44 единицы пуповинной крови были переданы в Российские и международные трансплантационные центры для проведения неродственных трансплантаций. По полученным результатам общая выживаемость пациентов после трансплантации кроветворных клеток пуповинной крови составила 65%. В связи с ростом онкогематологических заболеваний в РФ очень остро стоит вопрос о создании единого национального регистра доноров кроветворных клеток.

**Ключевые слова:** гемопоэтические стволовые клетки, трансплантация, регистры доноров костного мозга.

Первая успешная неродственная трансплантация костного мозга была проведена в 1973 г. в Нью-Йорке ребенку, страдающему иммунодефицитом. В 1979 году была проведена первая успешная трансплантация кроветворных клеток костного мозга пациенту с острым лимфолейкозом. С тех пор прошло более 30 лет и трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) костного мозга и пуповинной крови стала мировой практикой [1, 2]. По данным некоммерческой организации Международной сети трансплантаций костного мозга (WBMТ) в 2012 г. был зафиксирован 1 миллион трансплантаций ГСК по всему миру [3]. В России количество трансплантаций ГСК не соответствует потребностям, что связано не только с недостаточностью финансирования, но и с отсутствием возможности эффективного поиска неродственных доноров. Нужно отметить, что, несмотря на острую потребность в донорах кроветворных клеток, в России нет единого национального регистра, в отличие от многих других стран. Отсутствие законодательной регуляции деятельности регистров, невозможность в государ-

ственной трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток костного мозга и пуповинной крови применялась для лечения онкологических и иммунных заболеваний во время поздних 1970-х годов. Несмотря на то, что поиск совместимого донора остается главной проблемой в этой области, как и прежде. Для решения этой проблемы были созданы регистры потенциальных доноров костного мозга по всему миру. В 2010 году в Самаре на базе ГБУЗСО «Клинический центр клеточных технологий» был организован регистр потенциальных доноров костного мозга. В его состав вошли банки пуповинной крови и доноры костного мозга из нескольких регионов России. На сегодняшний день в составе регистра насчитывается более 5000 единиц пуповинной крови и 5000 потенциальных доноров костного мозга. За время работы регистра 44 единицы пуповинной крови были переданы в российские и международные трансплантационные центры для проведения неродственных трансплантаций. По полученным результатам общая выживаемость пациентов составила около 65%. В связи с ростом онкогематологических заболеваний в России развитие национальной системы регистрации доноров костного мозга является чрезвычайно важным.

**Key words:** hematopoietic stem cells, transplantation, bone marrow donor registry.

ственных учреждениях создавать отделения по набору доноров кроветворных клеток со штатными местами и бюджетным финансированием ограничивает развитие регистров в РФ. Существующие регистры либо частные, либо организованы на внебюджетные средства, и, соответственно, ведущие локальную деятельность, т.е. только в рамках своих медицинских учреждений, городов или областей. Развитие таких регистров сильно ограничено, в связи с чем среди них едва ли можно найти хоть один регистр с количеством А-В-DRB1 типированных доноров кроветворных клеток более 5000. Невысокое количество доноров, отсутствие координации между отдельными регистрами значительно снижают эффективность поиска. Несколько лучше обстоят дела с регистрами, в состав которых входят образцы пуповинной крови, увеличивая общее количество кроветворных клеток до более приемлемых цифр. С другой стороны, вопрос не только в количестве потенциальных доноров кроветворных клеток в регистрах по всей России, но и в использовании донорского материала. Возможным решением проблемы стала бы организация

e-mail: [dir@cordbank.ru](mailto:dir@cordbank.ru)

единого национального регистра, который бы взял на себя функцию консолидации отдельных регистров в единую информационную сеть с целью обеспечения эффективного поиска совместимых доноров кроветворных клеток.

В 2010 г. ГБУЗ Самарской области «Клинический центр клеточных технологий» и Самарская областная общественная организация помощи детям, страдающим онкогематологическими заболеваниями «Виктория», учредили Некоммерческое партнерство «Регистр доноров кроветворных клеток и публичных банков пуповинной крови» (далее Регистр), который размещается на площадях Клинического центра клеточных технологий. Основная задача, которая была поставлена перед Регистром – обеспечение эффективного поиска совместимых доноров ГСК костного мозга и единиц пуповинной крови (ЕПК) для нужд онкогематологической службы. В настоящее время Регистр имеет в своем составе единственный в России банк пуповинной крови, вошедший в международную ассоциацию банков пуповинной крови Net Cord. Регистр доноров активно сотрудничает с Покровским банком стволовых клеток (Санкт-Петербург), ГБУЗ «Оренбургская станция переливания крови» (Оренбург), благотворительным фондом «Карельский регистр неродственных доноров гемопоэтических стволовых клеток» (Петрозаводск) и многими трансплантационными центрами в России и за рубежом. Регистр входит в международную систему по поиску доноров Bone Marrow Donors Worldwide (BMDW) и является полноправным членом всемирной ассоциации по донорству костного мозга World Marrow Donor Association (WMDA).

### Материал и методы

Согласно рекомендации всемирной ассоциации по донорству костного мозга в состав Регистра входят доноры в возрасте от 18 до 50 лет, не страдающие гемотрансмиссивными, тяжелыми соматическими и психическими заболеваниями [4]. Основными принципами донорства кроветворных клеток костного мозга являются: добровольность, безвозмездность и анонимность. Все доноры на момент вступления в регистр заполняют форму информированного согласия. Сейчас Регистр включает в себя более 5000 доноров кроветворных клеток костного мозга из Самарской, Оренбургской, Саратовской, Московской областей и Карельского регистра.

Заготовка пуповинной крови проводилась в родильных домах г. Самары после подписания добровольного информированного согласия беременными женщинами. Было заготовлено 10648 донорских образцов ПК и проведены исследования на наличие следующих серологических маркеров: HIV-1 и -2Ag/Ab, Anti-HBcor, HBs-Ag, Anti-HCV, Anti-CMV, Anti-Toxoplasma gondii, Anti-HSV-1 и -2, RW. Исследования проводили на иммуноферментных анализаторах AxSym (Abbott, США) и Architect 1000i (Abbott, США). Бактериологические исследования осуществлялись в аккредитованной лаборатории на оборудовании BACTEC™ (BD, США). Гематологические исследования проводились на гематологическом анализаторе Pentra 60C+ (ABX, Франция), анализ ГСК и оценка их жизнеспособности на проточном цитофлюориметре FACS Canto (BD, США). Обработка крови осуществлялась в чистых помещениях класса Б или ISO 5, согласно OCT 42-510-98 и ISO 14644-1,

соответственно. Выделение клеток осуществляли двумя методами: двойным центрифугированием с гидроксипропилоккрахмалом и автоматизированным методом на сепараторе клеток Serax (Biosafe, Швеция). Замораживание и хранение ЕПК проводили на автоматизированном комплексе Bioarchive® (Thermogenesis, США). Транспортировка образцов осуществлялась в Сосуде Дьюара сухого типа Cryoshipper XC (MVE, США) согласно требованиям IATA № A152.

Определение антигенов тканевой совместимости (HLA) доноров костного мозга и ЕПК осуществлялось в аккредитованной Европейской федерацией иммуногенетики (EFI) лаборатории молекулярно-генетическими методами SSO (Sequence Specific Oligonucleotides) и SSP (Sequence Specific Primers) на проточном флюориметре Luminex X100 (Luminex, США).

В работе банка пуповинной крови и Регистра доноров использованы стандарты и рекомендации следующих международных ассоциаций и обществ: World Marrow Donor Association (WMDA), Bone Marrow Donors Worldwide (BMDW), Net Cord, Foundation for the Accreditation of Cellular Therapy (FACT), European Federation for Immunogenetics.

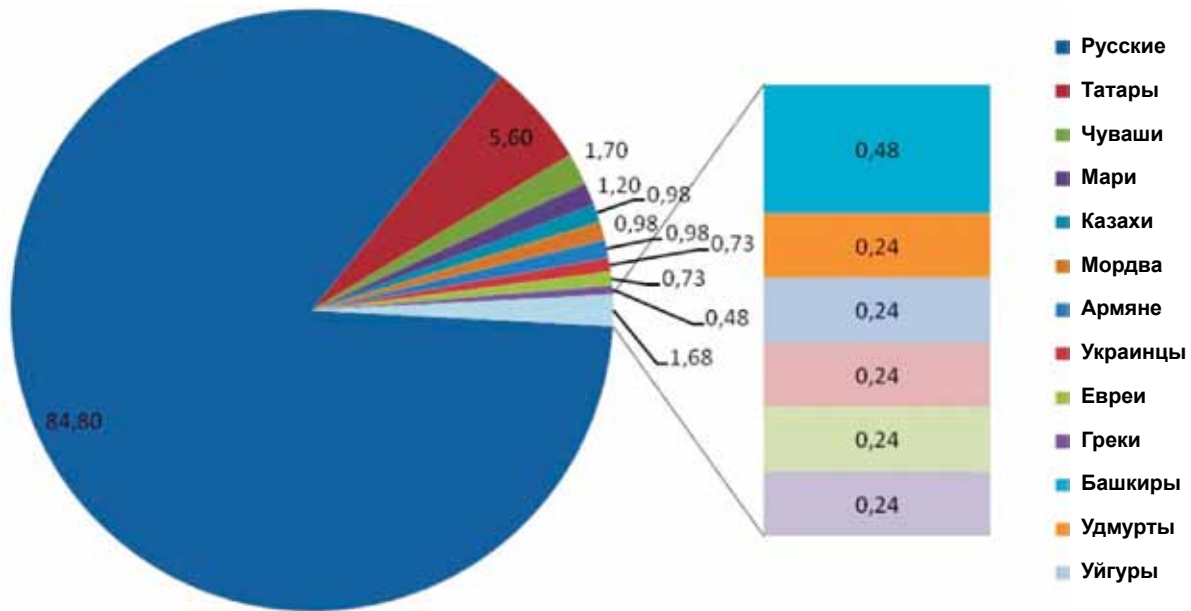
Результаты исследований частоты встречаемости HLA-типов были подвергнуты статистической обработке методами параметрической и непараметрической статистики с использованием программ Statistica 6.0 и MS Office Excel 2003. Выявленные закономерности и связи изучаемых параметров между группами и признаками были значимыми при вероятности безошибочного прогноза  $p = 95\%$  и более ( $p < 0,05$ ).

### Результаты и обсуждение

По причине высокой полиморфности генов главного комплекса гистосовместимости существует чрезвычайно большое количество HLA-типов. На сегодняшний день по HLA-A насчитывается 1571 антиген, по HLA-B – 2156, по HLA-C – 1252, по HLA-DRB1 – 1030, по HLA-DQB1 – 137 [5]. В нашей стране с ее богатой историей проживает более 200 национальностей [6], в связи с этим население России характеризуется очень большим разнообразием по HLA-типам. На сегодняшний день Регистр включает в себя доноров многих национальностей (рис.).

Соотношение мужчин/женщин составляет 49% и 51%, а средний возраст потенциального донора в Регистре составляет 32,9 лет.

Для банка пуповинной крови на основании нормативных документов РФ и стандартов международных сообществ Net Cord и FACT нами были установлены следующие характеристики ЕПК для клинического применения: негативные маркеры на HIV-1 и -2 Ag/Ab, Anti-HBcor, HBs-Ag, Anti-HCV, Anti-CMV, Anti-Toxoplasma gondii, Anti-HSV-1 и -2, RW, стерильность по отношению к гемокультурам, анаэробной флоре и грибам рода кандиды. Кроме того, чистый объем пуповинной крови до выделения ядродержащих клеток – не менее 80 мл, количество живых CD34<sup>+</sup>-клеток не менее  $1,6 \times 10^8$ , количество живых CD34<sup>+</sup>-клеток не менее  $1,6 \times 10^6$ . Средние показатели клеточности готовых для клинического применения образцов пуповинной крови, находящихся на хранении в Самарском банке, составляют: Le –  $15,7 \pm 2,5 \times 10^8$ , Lym –  $5,0 \pm 1,5 \times 10^8$ , CD34<sup>+</sup>-клетки –  $4,9 \times 10^6 \pm 2,8$ .



Национальный состав Регистра (n = 409)

На базе Клинического центра было проведено исследование HLA-типов образцов пуповинной крови и доноров костного мозга, по результатам которого были выявлены наиболее часто встречающиеся HLA-

аллели и A-B-DRB1 гаплотипы на высоком уровне разрешения (табл. 1 и 2). Наиболее распространенные HLA-типы доноров Регистра и ЕПК Самарского банка пуповинной крови совпадают.

Таблица 1. Наиболее частые HLA аллели пуповинной крови и доноров кроветворных клеток (n = 3971)

№	HLA-A, (% встречаемости)	HLA-B, (% встречаемости)	HLA-DRB1, (% встречаемости)
1	02:01 (24,0)	07:02 (10,6)	07:01 (13,2)
2	03:01 (14,0)	18:01 (8,4)	15:01 (11,0)
3	01:01 (11,2)	35:01 (7,1)	01:01 (10,8)
4	24:02 (10,3)	08:01 (6,6)	03:01 (7,9)
5	26:01 (5,3)	44:02 (5,8)	13:01 (7,8)
6	11:01 (5,3)	13:02 (5,6)	11:01 (6,3)
7	25:01 (5,1)	51:01 (4,4)	11:04 (5,0)
8	68:01 (3,2)	15:01 (4,3)	16:01 (4,2)
9	32:01 (3,1)	38:01 (4,0)	04:01 (3,2)
10	23:01 (2,6)	27:05 (3,9)	13:03 (2,9)

Таблица 2. Наиболее часто встречающиеся гаплотипы (n = 3971)

№	Гаплотип	Частота встречаемости, %
1	A*01:01~B*08:01~DRB1*03:01	3,6
2	A*03:01~B*07:02~DRB1*15:01	2,5
3	A*03:01~B*35:01~DRB1*01:01	2,4
4	A*02:01~B*13:02~DRB1*07:01	1,4
5	A*02:01~B*07:02~DRB1*15:01	1,3
6	A*25:01~B*18:01~DRB1*15:01	1,2
7	A*30:01~B*13:02~DRB1*07:01	1,0
8	A*02:01~B*18:01~DRB1*11:04	1,0
9	A*33:01~B*14:02~DRB1*01:02	0,9
10	A*23:01~B*44:03~DRB1*07:01	0,8

При обработке данных было выявлено 63 аллельных варианта локуса A, 107 — локуса B и 100 — локуса DRB1. Среди наиболее частых аллелей локуса A были 02:01, 03:01, 01:01; локуса B — 07:02, 18:01, 35:01; локуса DRB1 — 07:01, 15:01, 01:01.

Самые распространенные гаплотипы, выявленные среди ЕПК Самарского банка и доноров идентичны таковым среди северо-американской популяции доноров регистра Be The Match-USA (США) [7].

Анализ медицинской технологии, мета-анализ, рандомизированные контролируемые клинические исследования убедительно доказали более высокую клиническую эффективность метода трансплантации кроветворных клеток по сравнению с химиотерапией у пациентов с острыми лейкозами [8–12]. В зависимости от типа лейкоза, от возраста пациента, от группы риска 5-летняя общая выживаемость после трансплантации аллогенных ГСК колеблется, по данным этих исследований, от 48% до 53%, а при проведении стандартной химиотерапии — от 28% до 45%.

С 2008 года регистр передал из Самарского банка 44 единицы пуповинной крови. 8 ЕПК были переданы в иностранные трансплантационные центры. Возраст пациентов, получивших клеточный трансплантат, находился в пределах от 6 мес. до 69 лет. География распространения образцов включала Россию (Екатеринбург, Санкт-Петербург, Москва), Европу (Австрия, Норвегия, Дания, Польша, Великобритания, Голландия, Белоруссия) и Юго-Западную Азию (Израиль). За время работы Регистра пока не было задействовано взрослых доноров, что вероятнее всего связано с небольшим количеством имеющих типированных доноров, высокой сложностью синхронизации по времени процедуры сбора кроветворных клеток у донора с началом химиотерапии реципиента и сложностью в транспортировке костного мозга на большие расстояния.

Заболевания, при которых проводились трансплантации ПК: острые лейкозы (11), хронический миелолейкоз (1), миелодиспластический синдром (1), лимфома (1), первичный X-сцепленный лим-

фопротиферативный синдром (1), первичный семейный гемофагоцитарный лимфогистиоцитоз (1), первичный иммунодефицит (1) синдром Вискотта — Олдриджа (1), синдром «голых» лимфоцитов (2); все пациенты — высокой группы риска.

По результатам 20 трансплантаций ЕПК приживление трансплантата было зарегистрировано у 18 пациентов (90%). Острая реакция «трансплантат против хозяина» (РТПХ) I-II степени развилась у 2 (10%) пациентов, случаев развития тяжелой РТПХ отмечено не было. Проявления хронической РТПХ выявлены у 1 (5%) пациента. Смертность к 100 сут. после трансплантации составила 35% (7 пациентов погибли от инфекционных осложнений). Рецидив заболевания был отмечен в 2 (10%) случаях, неприживление трансплантата — в 2 (10%) случаях. Общая выживаемость после трансплантаций пуповинной крови по оценке результатов составила 65%, с медианой наблюдения 150 сут.

### Заключение

Главным источником получения ГСК является костный мозг, дополнительным — пуповинная кровь. Сегодня пуповинная кровь применяется для нужд трансплантологии ГСК в экстренных, срочных случаях, когда время не позволяет провести дополнительное обследование и сбор костного мозга у взрослого донора. Поэтому очень важным является момент наличия в составе регистров неродственных доноров ГСК банков пуповинной крови.

Разнообразие HLA-типов свидетельствует в пользу развития регистров, донорских центров и банков пуповинной крови по всей территории РФ. Многонациональный состав регистра многократно увеличивает эффективность поиска донора для минорных национальностей, проживающих в Российской Федерации. На сегодняшний момент в составе Регистра имеется около 10 000 потенциальных доноров костного мозга и ЕПК.

Развитие донорства пуповинной крови и костного мозга в России активно движется по пути создания национального регистра.

### ЛИТЕРАТУРА:

1. Gluckman E., Broxmeyer H.A., Auerbach A.D. et al. Hematopoietic reconstitution in a patient with Fanconi's anemia by means of umbilical-cord blood from an HLA-identical sibling. *New Eng. J. Med.* 1989; 321(17): 1174–78.
2. Donnal T.E. Bone Marrow Transplantation — past, present and future. Nobel Lecture 1990.
3. [http://bmdw.org/fileadmin/Press\\_Releases/Press\\_release\\_final.pdf](http://bmdw.org/fileadmin/Press_Releases/Press_release_final.pdf)
4. [http://www.worldmarrow.org/fileadmin/Committees/STDC/20120101-STDC-WMDA\\_Standards.pdf](http://www.worldmarrow.org/fileadmin/Committees/STDC/20120101-STDC-WMDA_Standards.pdf)
5. <http://hla.alleles.org/nomenclature/stats.html>
6. [http://www.perepis-2010.ru/results\\_of\\_the\\_census/tab5.xls](http://www.perepis-2010.ru/results_of_the_census/tab5.xls)
7. Maiers M., Gragert L., Klitz W. High-resolution HLA alleles and haplotypes in the United States population. *Hum. Immunol.* 2007; 68(9): 779–88.
8. Ashfaq K., Yahaya I., Hyde C. et al. Clinical effectiveness and cost-effectiveness of stem cell transplantation in the management of acute leukaemia: a systematic review. *Health Technol. Assess* 2010; 14(54): 11–30.
9. Cornelissen J.J., van Putten W.L., Verdonck L.F. et al. Results of a HOVON/SAKK donor versus no-donor analysis of

myeloablative HLA-identical sibling stem cell transplantation in first remission acute myeloid leukemia in young and middle-aged adults: benefits for whom? *Blood* 2007; 109(9): 3658–66.

10. Yanada M., Matsuo K., Suzuki T. et al. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation as part of postremission therapy improves survival for adult patients with high-risk acute lymphoblastic leukemia: a metaanalysis. *Cancer* 2006; 106(12): 2657–63.

11. Goldstone A.H., Richards S.M., Lazarus H.M. et al. In adults with standard-risk acute lymphoblastic leukemia, the greatest benefit is achieved from a matched sibling allogeneic transplantation in first complete remission, and an autologous transplantation is less effective than conventional consolidation/maintenance chemotherapy in all patients: final results of the International ALL Trial. *Blood*; 111(4): 1827–33.

12. Vey N., Thomas X., Picard C., Kovascovic T. et al. Allogeneic stem cell transplantation improves the outcome of adults with t(1;19)/E2A-PBX1 and t(4;11)/MLL-AF4 positive B-cell acute lymphoblastic leukemia: results of the prospective multicenter LALA-94 study. *Leukemia* 2006; 20(12): 2155–61.

Поступила 08.05.2013