
Βλαστικά Κύτταρα Ομφαλοπλακουντιακού Αίματος: Η ερευνητική γνώση γίνεται πλέον καθημερινή πραγματικότητα

Πάουλα Μαρκαντωνάτου*

Έχουν ήδη περάσει 20 χρόνια από την πρώτη μεταμόσχευση βλαστικών κυττάρων, που πραγματοποίησε η Dr Gluckman σε αγοράκι που έπασχε από αναιμία "Fanconi". Σήμερα, σ' ολόκληρο τον κόσμο λειτουργούν εκατοντάδες ιδιωτικές τράπεζες βλαστικών κυττάρων ομφαλοπλακουντιακού αίματος και έχουν ήδη πραγματοποιηθεί δεκάδες χιλιάδες μεταμοσχεύσεις με βλαστικά κύτταρα.

Τα βλαστικά κύτταρα είναι τα πρωταρχικά, πολυδύναμα, αρχέγονα κύτταρα όλων των πολυκύτταρων οργανισμών. Τα κύτταρα αυτά διατηρούν την ικανότητα να αυτοανανεώνονται μέσω μιτωτικής διαίρεσης και έχουν την ιδιότητα να διαφοροποιούνται σχηματίζοντας έτσι εξειδικευμένα κύτταρα, ιστούς, όργανα και τελικά τον ίδιο τον οργανισμό.

Τα βλαστικά κύτταρα του ομφαλοπλακουντιακού αίματος είναι στο μεγαλύτερο ποσοστό τους αιμοποιητικά βλαστικά κύτταρα (HSCs) και χρησιμοποιούνται σε μεταμοσχεύσεις για την αντιμετώπιση ασθενειών του αιμοποιητικού ή ανοσοποιητικού συστήματος. Εκτός, όμως, από τα αιμοποιητικά βλαστικά κύτταρα, το ομφαλοπλακουντιακό αίμα αποτελεί πηγή για πολλά άλλα πρόδρομα κύτταρα, τα οποία υπό κατάλληλες συνθήκες μπορούν να δημιουργήσουν διάφορα είδη εξειδικευμένων κυττάρων (καρδιακά, ηπατικά, νευρικά, παγκρεατικά κλπ). Με τον τρόπο αυτό διευρύνεται η μελλοντική χρήση του συγκεκριμένου βιολογικού υλικού, ενώ ήδη έχουν ξεκινήσει εφαρμογές σε ενήλικες.

Τα βλαστικά κύτταρα ομφαλοπλακουντιακού αίματος υπερέχουν έναντι άλλων πηγών βλαστικών κυττάρων, κυρίως λόγω της εύκολης και απόλυτα ασφαλούς διαδικασίας συλλογής. Επιπλέον, στο ομφαλοπλακουντιακό αίμα είναι μεγαλύτερη η πιθανότητα να βρεθεί και να απομονωθεί ικανοποιητικός αριθμός βλαστικών κυττάρων, τα οποία να είναι άμεσα διαθέσιμα για χρήση σε κάποια μεταμόσχευση. Επίσης, υπάρχει χαμηλός κίνδυνος ιικών μολύνσεων των κυττάρων, επειδή η συλλογή γίνεται άμεσα και άσηπτα αμέσως μετά τον τοκετό.

Οι κύριοι λόγοι που οι οικογένειες επιλέγουν να φυλάξουν τα ομφαλοπλακουντιακά βλαστικά κύτταρα του παιδιού τους είναι:

- 100% ιστοσυμβατότητα για ομόλογη χρήση.
- Άμεση διαθεσιμότητα του μοσχεύματος με αποτέλεσμα να προλαμβάνεται η εξέλιξη της νόσου.

* Βιολόγος, Επιστ. Συνεργάτης
"ΒΙΟΡΗΥΛΑΧΙΣ".

- Αυξημένη πιθανότητα ιστοσυμβατότητας για ετερόλογη χρήση μέσα στην οικογένεια.
- Εύκολη, ανώδυνη και απόλυτα ασφαλής διαδικασία συλλογής δείγματος.
- Χαμηλός κίνδυνος ιικών μολύνσεων των κυττάρων, επειδή η συλλογή γίνεται άμεσα και άσηπτα αμέσως μετά τον τοκετό.
- Μικρή πιθανότητα απόρριψης του μοσχεύματος (GVHD) στις ετερόλογες μεταμοσχεύσεις και απάλειψη του κινδύνου στις ομόλογες.

Σήμερα υπάρχουν περισσότερες από 60 ασθένειες, που αντιμετωπίζονται δυνητικά με μοσχεύματα βλαστικών κυττάρων ως πρότυπη θεραπεία, ενώ περισσότερες από 30 βρίσκονται σε φάση κλινικών δοκιμών ή πειραματικών εφαρμογών. Οι πρότυπες θεραπείες αφορούν είδη λευχαιμίας, μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα, λεμφώματα, καρκίνους του μυελού των οστών κ.ά., ενώ κάποιες από τις δυνατότητες μελλοντικής χρήσης αφορούν ανιάτες παθήσεις, όπως Parkinson, Alzheimer, σκλήρυνση κατά πλάκας, σακχαρώδη διαβήτη κ.ά.

Η διαδικασία λήψης ξεκινά αμέσως μετά την αποκοπή του νεογνού από τη μητέρα και κατά προτίμηση πριν την αποκόλληση του πλακούντα. Το σημείο λήψης θα πρέπει να είναι κοντά στο σημείο αποκοπής του νεογνού και να αποστειρώνεται τοπικά για να αποφεύγεται η πιθανότητα επιμόλυνσης του δείγματος.

Είναι σημαντικό να συλλέγεται η μέγιστη δυνατή ποσότητα αίματος και η λήψη να γίνεται άμεσα, ώστε να επιτυγχάνεται η απομόνωση μεγάλου αριθμού βλαστικών κυττάρων υψηλής ζωτικότητας κατά την επεξεργασία. Η ίδια διαδικασία λήψης ακολουθείται και στην περίπτωση καισαρικής τομής.

Τα σύγχρονα διεθνή πρότυπα (standards) FACT (Foundation for the Accreditation of Cellular Therapy) – NETCORD (Παγκόσμιο Δίκτυο Αναζήτησης Ομφαλοπλακουντιακών Μοσχευμάτων) απαιτούν ταυτόχρονη λήψη αίματος από τη μητέρα για τη διεξαγωγή ιολογικού ελέγχου στο δείγμα. Ο έλεγχος περιλαμβάνει τους ιούς HIV I & II, HTLV I & II, VDRL, CMV, Hep B, Hep C.

Μετά τη λήψη το δείγμα ομφαλοπλακουντιακού αίματος και το μητρικό αίμα τοποθετούνται σε ελεγχόμενης θερμοκρασίας συσκευασία και μεταφέρονται με εξειδικευμένους μεταφορείς βιολογικών δειγμάτων στην εργαστηριακή μονάδα, όπου ξεκινά η επεξεργασία. Η επεξεργασία και απομόνωση των βλαστικών κυττάρων θα πρέπει

να γίνεται άμεσα, συνήθως μέσα σε 24 ώρες για να αποφεύγεται απώλεια της ζωτικότητας των κυττάρων.

Υπάρχουν διάφορα πρωτόκολλα επεξεργασίας ομφαλοπλακουντιακού αίματος. Το πλέον γνωστό και αναγνωρισμένο διεθνώς είναι αυτό του Dr Pablo Rubinstein και ακολουθεί τις αυστηρές προδιαγραφές των FACT – NETCORD.

Εκτός από τον ιολογικό έλεγχο στο μητρικό αίμα που έχει συλλεχθεί την ώρα του τοκετού, θα πρέπει να γίνεται μικροβιολογικός έλεγχος στο ομφαλοπλακουντιακό αίμα για αερόβια και αναερόβια βακτήρια καθώς και για μύκητες. Τέλος, στο τελικό δείγμα θα πρέπει να γίνει μέτρηση του αριθμού των βλαστικών κυττάρων και της ζωτικότητάς τους με τη μέθοδο της κυτταρομετρίας ροής.

Έλεγχος HLA ιστοσυμβατότητας δεν πραγματοποιείται στις ιδιωτικές τράπεζες φύλαξης για λόγους ασφαλείας. Το τελικό δείγμα που περιέχει τα βλαστικά κύτταρα φυλάσσεται σε κρυοασκούς, όπως επιτάσσουν τα σύγχρονα διεθνή πρότυπα και οι διεθνείς οργανισμοί πιστοποίησης και ελέγχου τραπεζών ομφαλοπλακουντιακού αίματος, όπως το American Association of Blood Banks. Το AABB έχει συστήσει σ' όλες τις τράπεζες παγκοσμίως να μεταβούν σταδιακά σε φύλαξη από κρυοφιαλίδια σε κρυοασκούς.

Το τελικό δείγμα τοποθετείται στον κρυοασκό μετά την έγχυση "κρυοπροστατευτικού" DMSO, για την προστασία των τοιχωμάτων των κυττάρων κατά την ψύξη. Η ψύξη των κυττάρων γίνεται σταδιακά με αυτόματη μέθοδο και στη συνέχεια ο κρυοασκός φυλάσσεται σε ατμούς υγρού αζώτου στους -196 °C. Η διάρκεια φύλαξης εξαρτάται από το συμβόλαιο το οποίο υπογράφεται και είναι συνήθως για 20-25 χρόνια.

Τα συμβόλαια που υπογράφονται μεταξύ των γονέων και των ιδιωτικών εταιρειών φύλαξης, εκτός από το χρόνο, το χώρο φύλαξης και επεξεργασίας των δειγμάτων θα πρέπει να διασφαλίζουν τους μελλοντικούς γονείς για τις περιπτώσεις διακοπής λειτουργίας ή πιθανής χρεοκοπίας της εταιρείας, έχοντας εξασφαλίσει για τις περιπτώσεις αυτές τη συνέχιση της φύλαξης μέχρι τη λήξη των συμβολαίων. Στο τέλος της διαδικασίας και συνήθως μετά και την εξόφληση των οικονομικών υποχρεώσεων εκδίδεται ένα επίσημο πιστοποιητικό φύλαξης στο όνομα του παιδιού, που αποτελεί το τελικό έγγραφο με το οποίο ολοκληρώνεται και η διαδικασία.

Στην Ελλάδα το νομικό πλαίσιο πρόσφατα εναρμονίστηκε με την Οδηγία 2004/23/EK του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου σε μια προσπάθεια θέσπισης προτύπων ποιότητας και ασφάλειας. Ήδη λειτουργούν αρκετές ιδιωτικές Τράπεζες Φύλαξης Ομφαλοπλακουντιακού Αίματος και μια δημόσια στο Ίδρυμα Ιατροβιολογικών Ερευνών της Ακαδημίας Αθηνών, ενώ καινοτομία αποτελεί και η ιδέα σύμπραξης ιδιωτικής πρωτοβουλίας με δημόσια ερευνητικά ιδρύματα, όπως λ.χ. το Εργαστήριο Παθολογίας Κυττάρων και Συνδετικού Ιστού του Ινστιτούτου Βιολογίας του "ΔΗΜΟΚΡΙΤΟΥ". Η δημιουργία τέτοιας μορφής εταιρειών (spin-off) στηρίζεται από το Υπουργείο Ανάπτυξης και βασίζεται στη χρήση επιστημονικής γνώσης και τεχνολογίας, που παράγονται σε ερευνητικά εργαστήρια προκειμένου να παρέχονται υψηλού επιπέδου υπηρεσίες.

Με βάση τα παραπάνω είναι φανερό ότι τα βλαστικά κύτταρα ομφαλοπλακουντιακού αίματος αποτελούν βιολογική ασφάλεια για το ίδιο το παιδί, αλλά και για ολόκληρη την οικογένεια, όχι μόνο για τις σημερινές εφαρμογές τους αλλά και για τις πιθανές μελλοντικές.

ABSTRACT

Paola Markantonatou: Umbilical Cord Blood Stem Cells: Scientific research becomes an everyday fact.

"ELEFTHO", 2:80-82, 2008

Stem cells are the original pluripotent "master cells" of all multicell organisms. These cells have the ability to "self-renew" through mitosis and to differentiate, creating in this way specialized cells, tissues, organs, and finally the human body. Cord blood stem cells are in the greatest percentage haematopoietic stem cells (HSCs) and are used in transplants in the fight against blood or immune system diseases. Besides the haematopoietic stem cells, the cord blood is also a source of many progenitor cells which, under the right conditions, can develop into different types of specialized cells (i.e. cardiac, hepatic, neural, pancreatic, etc.).

As a result, this biological material can be potentially used in the future and applications have already begun in adults. Today, more than 60 diseases are treated with stem cell transplantations and more than 30 others are experimental or in clinical trials.

The collection of cord blood takes place during the delivery with a very simple and risk-free procedure. FACT – NETCORD's standards require collection of material blood in order to undertake test for viruses. After the collection, the sample is transported to specialized laboratories where the cord blood is processed.

There are many kinds of protocols in use but the internationally recognized is Dr Pablo's Rubinstein Protocol which adheres to the strict international standards of FACT– NETCORD. In addition to the viruses, the blood sample must also undergo microbiological testing. Stem cells and their viability in the final sample are counted with Flow Cytometry. Stem cells are stored in cryobags in the gaseous phase of liquid nitrogen for at least 20-25 years.

In Greece, over 20 private cord blood banks and one Public Bank already exist and recently a novel form of enterprise, which is supported by the Ministry of Development and is based on the premise to utilize contemporary scientific know how and expertise which is derived from laboratory research and extrapolated into the market, is for example the Laboratory of Cell and Matrix Pathobiology of the Institute of Biology at the National Center for Scientific Research (NCSR) "Demokritos". The application of this specialized knowledge from continuous research provides services of an especially high level.

Key words: *umbilical cord blood, stem cell, hematopoietic stem cell, cryopreservation, autologous transplantation, histocompatibility, cord blood bank.*