



CU, SAU FĂRĂ, separare celulară

În 1988 a fost înregistrat la nivel mondial primul transplant reușit cu celule stem recoltate la naștere. Astăzi transplantul de celule stem ombilicale este tratament standard pentru cca 80 de boli (leucemii, limfoame, boli congenitale ale sistemului imun, boli mieloproliferative, etc). Din 1988 au fost efectuate peste 35.000 de transplanturi cu celule stem ombilicale în întreaga lume.

Modalitatea de transplant și pregătirea probei de celule stem pentru transplant nu au fost întotdeauna aceleași. Procesarea și stocarea celulelor stem ombilicale a devenit procedură standardizată odată cu trecerea timpului, după ce medicii au testat diverse modalități de transplantare a acestora.

În literatura de specialitate au fost publicate cercetări, studii, informații despre procesarea sângelui ombilical și despre transplant. Astăzi, MAREA majoritate a Băncilor a renunțat la modalitatea de stocare a sângelui integral și a trecut la **procedura separării celulelor stem înainte de criogenare**.

Ce este separarea celulară?

Separarea celulară presupune procesarea sângelui ombilical recoltat la naștere și separarea în cele 3 mari componente ale sale: plasma, hematii și concentrat de leucocite și celule stem (celule mononucleate). Apoi plasma și hematiile sunt îndepărtate, rămânând a fi stocată doar componenta ce conține celule stem.

Plasma conține hormoni, produși de metabolism și trombocite - componente ce nu sunt benefice în cazul unui transplant și din acest motiv nu sunt stocate. Hematiile pe de altă parte, nu sunt nici ele benefice într-un transplant, chiar fac rău pacientului - prin hemoglobina și fierul pe care îl conțin, pot duce pacientul către insuficiență renală și deces. Din acest motiv și hematiile vor fi îndepărtate înainte de stocare. Componenta sângelui importantă în transplant este concentratul de leucocite (celule mononucleate). Acest concentrat celular conține speciile celule



stem hematopoietice CD34+, pe care medicii le utilizează în transplant. Însă, concentratul de leucocite conține și alte tipuri de celule stem (celule stem mezenchimale, endoteliale, chiar și celule stem embrionare) și va fi stocat în condiții de criogenie, la -196°C, pentru a fi gata de transplantare în orice moment.

Cea mai modernă, și în același timp, cea mai eficientă metodă de separare a celulelor stem din sângele ombilical recoltat este separarea semi-automată. Separarea semi-automată oferă avantajele unui sistem închis (fără risc de contaminare exterioară a probei), combinat cu avantajele faptului că personalul din laborator poate monitoriza și, dacă e necesar, poate relua procesarea ori de câte ori e nevoie. Astfel va fi izolat și criogenat numărul maxim de celule stem din probă. Procesarea semi-automată oferă o rată de separare și criogenare a celulelor stem de peste 98% - procent neegalat de nicio altă metodă de procesare utilizată astăzi.



Foarte devreme, laboratoarele care procesează sânge din cordonul ombilical, au început să elimine cea mai mare parte a plasmăi (plasma depletion) și hematiile (RBC depletion) înainte de stocarea componentei de sânge rămase, care conține celulele stem.

Plasma conține proteine, dar nu și celule stem, deci nu este necesară pentru transplant. De asemenea, hematiile nu sunt considerate de ajutor în timpul transplantului, deci nu sunt necesare nici ele. De fapt, prezența hematiilor în timpul transplantului poate fi periculoasă din câteva motive. În primul rând, chiar și atunci când pacientul și donatorul sunt perfect compatibili pentru transplant, ceea ce înseamnă că au același tip de HLA, ei pot avea hematii complet diferite. Prin urmare, orice hematie a donorului ajunsă în corpul pacientului poate declanșa reacții adverse.

Date fiind problemele legate de manipularea probelor de sânge ombilical care conțin hematii, [...] standardul curent pentru majoritatea băncilor este să opereze o separare parțială a hematiilor și a plasmăi înainte de stocare. **În plus, toate băncile publice licențiate de FDA (n. red. autoritatea americană pentru alimente și medicamente) folosesc un sistem de îndepărtare a plasmăi și a hematiilor.**

Andromachi Scaradavou, MD, director medical al New York Blood Center, National Cord Blood Program

Acesta este procedeul modern de procesare a sângelui ombilical recoltat la naștere. Astfel nu este irosită nicio fracțiune importantă a sângelui. Sunt îndepărtate componentele ce nu sunt benefice și sunt stocate toate componentele ce ar putea duce la reușita transplantului.

Experiența în transplant, acumulată de spitalele din întreaga lume în ultimii 28 de ani, a dovedit că separarea celulară este una dintre premisele unui transplant reușit.



stocare integrală

se pierd celule stem în timpul criogenării

Stocând sânge integral, nu facem altceva decât să AMÂNĂM separarea celulelor stem. Astăzi, nu se mai fac transplanturi cu sânge integral, ci doar cu concentrat de celule stem. Prin urmare, proba stocată integral va trece obligatoriu prin separare celulară înainte de transplant, însă cu toate dezavantajele ce decurg din separarea târzie: se pierd celule stem în timpul criogenării, înainte de transplant trebuie "spălată" proba de orice nu este celulă stem, iar prin această "spălare" se pierd și celule stem, iar în plus, se pierde timp prețios înainte de transplant.

mai puține celule stem după decriogenare

La temperaturi de -196°C hematiile se balonizează și se sparg, iar în acest proces distrug și ceea ce au în jur - adică celulele stem. Astfel, la decriogenare avem mai puține celule stem viabile față de proba stocată.

transplant cu risc mare de incompatibilitate

Proba trebuie să fie compatibilă nu numai în ceea ce privește celulele stem (compatibilitate HLA), ci și în ceea ce privește hematiile (compatibilitate de grup sanguin, AB0). Prin urmare, este mai dificil de identificat proba compatibilă, iar riscul de reject este mai mare.

cantitate mai mare de crioprezervant toxic

Volumul ce trebuie criogenat este mai mare, prin urmare va trebui adăugată în probă o cantitate mai mare de DMSO (substanță crioprezervantă, ce protejează celulele în procesul de criogenare). Însă DMSO e toxic în eventualitatea unui transplant.

risc de pierdere a viabilității maxime a celulelor stem

Stocând un volum mai mare (sânge integral și nu doar concentratul de leucocite), poate fi dificil de controlat scăderea constantă a temperaturii în întreaga probă. Studiile au demonstrat că o scădere lentă, uniformă și gradată a temperaturii în probă este un pas crucial în păstrarea viabilității maxime a celulelor stem.

separare celulară

număr mai mare de celule stem viabile

Medicii au constatat că, pentru a păstra viabilitatea maximă a celulelor stem, transportul probei până în Bancă trebuie făcut la o temperatură apropiată de temperatura corpului: cca 36°C . Din acest motiv, netransportând proba la rece, mult mai multe celule stem își vor păstra viabilitatea.

transplant mai sigur

Stocând doar celule stem, eliminăm toți produșii sângelui inutili în transplant, care în plus chiar fac rău pacientului: plasmă, hematii, hormoni, produși de metabolism, produși de degradare celulară etc. Spre exemplu, hematiile se distrug în timpul criogenării și, prin distrucția lor eliberează hemoglobină și fier, toxice pentru rinichi, putând duce chiar la insuficiență renală și deces.

risc mai mic de incompatibilitate

Hematiile (globulele roșii din sânge) sunt cele care cresc riscul de incompatibilitate la un eventual transplant. Prin procesarea sângelui, hematiile sunt eliminate și astfel scade și riscul de incompatibilitate.

caracteristicile probei sunt cunoscute de hematolog dinainte de transplant

Separând celulele stem din sângele recoltat, vom cunoaște cu exactitate caracteristicile probei: număr de celule stem, număr de leucocite, viabilitatea celulelor etc.

proba gata de transplant oricând

Separând și stocând doar celule stem, proba este oricând gata de transplantare - în orice moment poate fi decriogenată și transplantată, fără a fi necesari pași suplimentari de pregătire înainte de transplant.



VSEL*

MSC**

HSC***

- * VSEL: Very Small Embryonic Like stem cells (celule stem similar-embrionare foarte mici)
- ** MSC: Mesenchymal Stem Cells (celule stem mezenchimale)
- *** HSC: Hematopoietic Stem Cells (celule stem hematopoietice)