

Shranjevanje matičnih celic iz popkovnične krvi – danes in jutri

Umbilical cord blood banking – today and tomorrow

Primož Rožman,¹ Dragoslav Domanović,¹ Miomir Knežević^{2,3}

¹ *Zavod Republike Slovenije za transfuzijsko medicino, Štajmerjeva 6, 1000 Ljubljana*

² *Biobanka d.o.o., Prevale 9, OIC Trzin, 1236 Trzin*

³ *Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Jamnikarjeva 101, 1000 Ljubljana*

Korespondenca/ Correspondence:

izr. prof. dr. Primož Rožman, Zavod Republike Slovenije za transfuzijsko medicino, Štajmerjeva 6, 1000 Ljubljana.
Mail: primoz.rozman@ztn.si

Ključne besede:

banka popkovnične krvi, popkovnična kri, matične celice

Key words:

umbilical cord blood bank, umbilical cord blood, stem cells

Citirajte kot/Cite as:

Zdrav Vestn 2012;
81: 44–53

Izvleček

Popkovnična kri (PK) je bogat vir krvotvornih matičnih celic (KMC) za zdravljenje. PK, popkovičnica in posteljica vsebujejo poleg KMC še obilo drugih matičnih celic, ki postajajo zanimive za uporabo v regenerativni medicini. Javne banke popkovnične krvi shranjujejo že več kot 500.000 enot PK, ki so namenjene mednarodni izmenjavi preko svetovnih registrov. Verjetno pa je še enkrat več enot popkovnične krvi shranjenih v zasebnih bankah, ki shranjujejo PK za avtologno uporabo. Čeprav so pričakovali, da se bodo razvile hibridne banke PK, iz katerih bi lahko PK uporabljali tako za alogensko kot avtologno presaditev, se to še ni zgodilo. Dejavnost registrov PK je komplementarna delovanju registrov darovalcev krvotvornih matičnih celic, ki shranjujejo podatke o več kot 16 milijonih darovalcev. Ključni podatki za mednarodno izmenjavo enot PK so podatki o tipizaciji HLA ter podatki o vsebnosti KMC v shranjeni enoti PK. Večina strokovnih združenj ne podpira shranjevanja v avtolognih bankah, ker pri trenutnih oblikah zdravljenja ne uporabljajo avtologne PK. To mnenje pa se z razvojem regenerativne medicine spreminja, zato pričakujejo spremembe etičnih in strokovnih stališč tudi na področju klinične uporabe avtolognih matičnih celic iz PK. V Sloveniji deluje javna banka popkovnične krvi v okviru Zavoda RS za transfuzijsko medicino, edina banka za avtologno shranjevanje pa je zasebno podjetje Biobanka. Ker neomejeno povečevanje števila enot PK ne povečuje verjetnosti, da bo bolnik dobil HLA-identični presadek,

nameravamo v Sloveniji zbrati v javni banki največ okrog 2000 enot PK. Po načelih solidarnosti in enake dostopnosti v zdravstvu bi bilo potrebno zagotoviti uporabo celic iz PK vsem otrokom in odraslim, saj jih bomo potencialno s pridom uporabili za zdravljenje v prihodnosti.

Abstract

Umbilical cord blood (UCB) is an abundant source of haematopoietic stem cells (HSC) for allogeneic HSC transplant. In addition to HSCs, the cord blood and placenta contain ample non-haematopoietic stem cells, which increasingly raise the interest of regenerative medicine. Public UCB banks have more than 500.000 UCB units in international UCB registries that are available for the international exchange. It is estimated that additional two-fold number of units are held in the private UCB banks that store the cells for autologous purposes. Although the development of hybrid UCB banks was predicted in which the private units of UCB could be used for allogeneic purposes if needed, this has not yet happened. The activity of UCB registries is complementary to the bone marrow donor registries, which keep the data of more than 16 million donors. The key data for international exchange of UCB are the HLA typing results and the stem cell count in the UCB units. The majority of international associations and bodies do not support the autologous UCB banking based on the current poor evidence on the usefulness of autologous UCB cells. However, this opinion is changing owing to the development of regenerative medicine so

Prispelo: 2. mar. 2011,
Sprejeto: 9. maj 2011

changes of the ethical and expert opinions are expected. In Slovenia, the only public UCB bank is maintained at the Blood Transfusion Centre of Slovenia, whereas the only private UCB bank is Biobanka. Since unlimited expansion in the number of UCB units does not increase the like-

lihood of finding HLA-identical grafts, in Slovenia we plan to collect maximum up to 2000 UCB units. In order to foster the solidarity and equal accessibility, one needs to assure the use of UCB derived cells for children and adults for their possible treatment in the future.

Uvod – matične celice v popkovnični krvi

Matične celice (MC) so redke nediferencirane celice živih bitjih, ki so sposobne dolgotrajnega deljenja in tvorbe sebi identičnih kopij ter razvoja v različno usmerjene potomke.¹ Največ različnih MC vsebujejo tkiva zarodka in ploda. Plodova kri, ki jo lahko po porodu iztisnemo iz popkovnice, je predvsem pomemben vir KMC. V posteljici po porodu namreč ostane 50–150 mL popkovnične krvi (PK), iz katere lahko osamimo KMC in jih uporabimo za avtologno ali alogensko zdravljenje s presaditvijo, podobno kot KMC odraslega, ki jih osamimo iz kostnega mozga ali periferne krvi.²

Po porodu popkavnica še nekaj minut utripa, nato jo porodničar prereže, preveže in ostanek popkavnice s posteljico vred zavrže. V tem zavrženem materialu lahko ostane tudi do 150 mL popkovnične krvi, ki vsebuje večjo koncentracijo KMC kot kri otroka ali odraslega. Zato lahko KMC iz popkavnice osamimo, zamrznemo in shranimo pri nizkih temperaturah v tekočem dušiku ali parah tekočega dušika za obdobje več let. MC iz popkovnične krvi imajo za razliko od MC odrasle osebe precej boljši delitveni potencial, manjše število mutacij in daljše telomere, kar je njihova kakovostna prednost. Seveda pa je omejitev njihovo relativno majhno skupno število. Te celice lahko kasneje uporabimo za avtologno ali alogensko zdravljenje s presaditvijo.^{2,3}

Čeprav so o poskusu presaditve KMC iz PK poročali že l. 1972, je prvo uspešno presaditev KMC iz PK opravila šele Gluckmanova s sodelavci v Parizu l. 1988.⁴ Zdravljenje s presaditvijo alogenskih KMC iz PK je danes postalo alternativa bolj uveljavljeni presaditvi KMC iz kostnega mozga ali iz periferne krvi tudi za odrasle bolnike.⁵⁻⁷

Popkovnična kri ima v primerjavi s kostnim mozgom ali periferno krvjo več pred-

nosti. Predvsem je enostavno zbiranje, ki ne predstavlja tveganja za mater ali novorojenca. Pri zbiranju PK tudi ni nevarnosti za dajalca, saj nista potrebna boleča punkcija kostnega mozga ali postopek afereze. Poleg tega je tveganje za prenos bolezni pri presaditvi celic iz PK majhno, enote PK pa so trajno zamrznjene in so na razpolago takoj, ko je potrebna presaditev KMC. KMC iz PK tudi manj pogosto povzročijo akutno in kronično bolezen presadka proti gostitelju (GvHD), čeprav je neskladje v transplantacijskih antigenih HLA lahko do 30 % večje.⁸

Ker je glavni biološki dejavnik uspešnosti alogenske presaditve tkivna skladnost, lahko šele določitev skladnosti dajalca in prejemnika na podlagi tipizacije HLA z visoko ločljivostjo omogoči dobre klinične rezultate. Najbolj pomembni transplantacijski antigeni so produkti šestih klasičnih polimorfnih lokusov HLA-A, -B, -C, -DRB1, -DQB1 in -DPB1, vsak človek jih ima dvanajst. V primeru presaditve KMC priporočajo ujemanje v osmih alelih lokusov HLA-A, -B, -C in -DRB1 (t. i. ujemanje 8/8) ali vsaj v šestih alelih, to je HLA-A, -B in -DRB1 (6/6). Visoka stopnja ujemanja je ključna za prejemnike KMC iz kostnega mozga, a je dosti manj pomembna pri prejemnikih KMC iz PK, pri katerih je uspešno tudi ujemanje 4/6.^{9,10}

KMC iz PK pa imajo tudi pomembno slabost: povprečna enota PK ima volumen približno 100–150 mL in vsebuje skoraj desetkrat manj KMC kot enota KMC iz kostnega mozga ali periferne krvi. Če uporabimo za presaditev enoto PK, zaradi manjšega števila KMC delovanje presadka po presaditvi zakasni, pogostejša pa je tudi odpoved presadka. Zato so KMC iz PK na začetku presajali samo otrokom. Za povečanje števila KMC v enotah PK so razvili več strategij, s čimer se je uspešnost presaditev PK pri odraslih bistveno povečala.¹¹

Shranjevanje popkovnične krvi v bankah popkovnične krvi za alogensko uporabo, standardizacija in svetovni registri

Popkovnično kri po odvzemu v porodnišnici shranjujejo v bankah popkovnične krvi. Banka PK je ustanova za celice in tkiva, ki zbira, obdeluje, shranjuje, dodeljuje in razdeljuje PK, namenjeno zdravljenju boleznih s presajanjem.^{1,11} Obstajata dva glavna načina shranjevanja PK: tj. shranjevanje za alogensko in shranjevanje za avtologno uporabo. Shranjeno PK lahko uporabimo kot vir KMC za sorodniško (usmerjeno) ali nesorodniško alogensko presaditev, manj pogosto pa tudi za avtologno presaditev. Popkovnično kri za alogenske namene shranjujejo v javnih bankah, za avtologne namene pa v zasebnih bankah PK. Prva zasebno banko PK Cryo-Cell International so ustanovili v ZDA že l. 1992.¹² Da bi dostopnost do nesorodne alogenske PK omogočili vsem bolnikom po načelu solidarnosti, so že leta 1993 v transfuzijski ustanovi New York Blood Center ustanovili prvo javno banko za shranjevanje PK.¹³ Na podlagi javnih programov shranjevanja PK, ki so jih kasneje začele izvajati še banke PK v Milanu, Düsseldorfu, Barceloni, Parizu, Londonu, Saint Louisu, Leidnu, Denverju in Tokiu, število enot shranjene krvi v bankah PK hitro narašča. Omrežje registrov shranjenih enot PK je sedaj razprostranjeno na vseh celinah in omogoča hiter dostop do primerne presadke.¹⁴ Shranjevanje PK poteka vzporedno z vzdrževanjem nacionalnih registrov odraslih tipiziranih darovalcev KMC. Nacionalni registri sicer ne shranjujejo biološkega materiala, temveč samo vodijo zbirke podatkov o prostovoljnih HLA-tipiziranih darovalcih, ki jih pokličejo, če se pokaže potreba po njihovih celicah. Pri nas je tak nacionalni register Slovenija Donor, ki ima sedež na Zavodu RS za transfuzijsko medicino in je dosedaj vpisal že več kot 15.000 prostovoljnih darovalcev KMC.¹⁵

Vsako obdelavo, testiranje in zamrzovanje enote PK spremlja običajna izguba vsaj 10–20 % volumna in s tem tudi ustreznega

števila celic. Ta izguba se lahko še poveča, če banke uporabljajo različne standarde. Zmanjšanje števila lahko slabo vpliva na prijetje presadkov, še posebno, če je bilo število celic že ob odvzemu blizu spodnje priporočljive meje. Vse banke popkovnične krvi bi morale enote PK obvezno testirati na nalezljive bolezni in razpolagati s popolnim sistemom zagotavljanja kakovosti. Nekatere banke tega ne zagotavljajo, poleg tega pa zahtevajo plačilo visokih stroškov. Zato strokovne organizacije terjajo ustrezno izboljšanje delovanja vseh javnih bank PK.⁸ Združenja Netcord (<http://www.netcord.org/>), JACIE (Joint Accreditation Committee ISCT&EBMT, <http://www.celltherapy-society.org/>; <http://www.ebmt.org>) in FACT (Foundation for the Accreditation of Cellular Therapy, <http://www.factwebsite.org/>) so zato oblikovala mednarodne standarde kakovosti za delovanje bank PK, ki bistveno vplivajo na večjo kakovost celic za presaditev in s tem na uspešnost zdravljenja.^{9,10,16}

Na področju popkovnične krvi je poleg omenjenih aktivnih še nekaj mednarodnih združenj. Evropsko združenje registrov PK je EUROCORD (<http://www.eurocord-ed.org/>).¹⁷ Drugo mednarodno združenje je World Marrow Donor Association (WMDA) (<http://www.worldmarrow.org/>), ki zbira podatke iz 76 nacionalnih registrov darovalcev KMC in iz 139 bank PK, zato so statistični podatki te organizacije najbolj obširni in zanesljivi. Tretje združenje je Bone Marrow Donors Worldwide (BMDW) s sedežem v Leidnu (<http://www.bmdw.org/>), ki hrani podatke iz 64 registrov darovalcev KMC v 45 državah (nekatero države imajo več registrov) in o shranjenih enotah popkovnične krvi v 44 bankah PK v 26 državah.

Javne banke shranjujejo PK novorojencev za javno uporabo, kar je podobno altruističnemu sistemu transfuzije. Temelji na etičnih načelih krvodajalstva, kot so prostovoljnost, neplačanost, anonimnost in solidarnost. Starši se v imenu otroka odrečejo popkovnični krvi in jo podarijo v skupni register. Enote PK nato HLA-tipizirajo in zamrznejo ter so na voljo vsem bolnikom v državah članicah registra BMDW (Bone marrow Donor Worldwide). Javne banke ponavadi vodijo vladne zdravstvene ustano-

ve, plačujejo pa jih sistemi javnega zdravstva ali dobrodelne fundacije. Popkovnične krvi, ki jo darujejo v ta register, starši načeloma ne morejo več dobiti nazaj za zdravljenje svojega otroka. Po podatkih WMDA so do 01.01.2010 v 139 javnih bankah v 36 državah sveta shranili že več kot 537.000 enot PK,¹⁸ kar pa je še vedno izredno malo in predstavlja le 3,2 % od skupno 16,428.835 tipiziranih darovalcev KMC, vpisanih v v svetovni register BMDW.¹⁹

V številnih državah se pojavlja vprašanje, kako velika naj bo "zaloga" alogenske PK v banki PK. V ZDA so se namenili, da bodo do l. 2010 zbrali 150.000 enot PK, s čimer bi pokrili 90 % vseh potreb bolnikov;²⁰ v Veliki Britaniji je načrt zbrati 20.000 enot, čeprav bi bila optimalna količina verjetno 50.000 enot. To število bi omogočilo približno 98-odstotno verjetnost, da bi za vsakega bolnika našli vsaj enega 4/6 skladnega dajalca.²¹ V Franciji nameravajo zbrati 30.000 enot PK do leta 2015 in 50.000 enot PK do leta 2020, kar naj bi omogočilo 84-odstotno verjetnost, da najdejo skladnega darovalca za slehernega bolnika.²⁰ Velikost registra je seveda najbolj odvisna od lokalne etnične raznolikosti. Tako npr. v etnično močno raznolikem Singapuru pričakujejo, da je za 4,9-milijonsko državo potrebnih 10.000 enot PK, če želijo najti dajalca z 80-odstotno verjetnostjo.^{21,22} Shranjevanje v javnih bankah PK zahteva tudi veliko javnih sredstev, saj je strošek odvzema in 20-letnega hranjenja na 1 enoto PK več kot 2.000 evrov.²⁰ Cena je visoka predvsem zaradi visokih stroškov testiranja, delno pa tudi zaradi visokih meril kakovosti, saj so za presaditev alogenskih celic potrebna strožja merila sprejemljivosti v primerjavi s presaditvijo avtolognih celic. Več kot 50 % zbranih enot PK je torej neprimernih za alogensko uporabo.²³ Stroški shranjevanja avtologne PK so zato približno 25 % nižji.

Shranjevanje popkovnične krvi za avtologno uporabo – »zasebne banke popkovnične krvi«

Vzporedno z javnimi bankami PK so nastale tudi številne banke PK, v katerih shra-

njujejo novorojenčkovo PK za potencialno avtologno uporabo v njegovem življenju ali za njegove ožje sorodnike, zato jih imenujejo tudi »družinske banke« PK. Novi sorojenec ima namreč 25 % možnosti, da bo imel enako sestavo antigenov HLA kot starejši bratec ali sestra. Tak način imenujejo »usmerjeno« ali »družinsko« shranjevanje PK in ga nekatere ustanove podpirajo.

Posebna privlačnost shranjevanja PK za avtologno uporabo v primerjavi z alogensko uporabo je v tem, da pri avtologni uporabi ne more priti do zavrnitve celic. Dejanske koristi takšnega shranjevanja še niso dokazali, saj je verjetnost, da bo otrok, katerega PK se shranjuje, v otroštvu zbolel za maligno boleznijo in potreboval presaditev lastnih KMC, izjemno majhna (manj kot 0,04 %, ali celo manj kot 0,02 %), če upoštevamo le bolezni, ki jih zdravimo danes.^{11,24,25} Ob sedanjih načelih presajanja izključno za hematološke indikacije je verjetnost, da bomo zboleli in potrebovali avtologni presadek KMC do starosti 20 let približno 0,02 %, do starosti 40 let približno 0,05 % in do starosti 70 let približno 0,23 %.²⁶ Avtorji navajajo, da so avtologne celice trenutno za zdravljenje določenih rakavih obolenj neuporabne, ker lahko PK že sama vsebuje začetne mutacije DNA, ki so značilne za rakave celice. Vendar v zadnjem času dosegajo dobre rezultate zdravljenja nekaterih krvnih bolezni tudi z avtolognimi presadki.²⁷ Prav tako avtolognih celic trenutno ne moremo uporabiti za zdravljenje prirojenih genskih bolezni, ker vsebujejo okvarjene gene. To pomanjkljivost bi lahko premostilo šele gensko zdravljenje v prihodnosti.

Vendar kljub raznovrstnim strokovnim mnenjem velikost zbirk v zasebnih bankah presega tisto v javnih in še narašča. Organizacija Parent's Guide to Cord Blood Foundation (<http://www.parentsguidecordblood.org/>) objavlja spisek s 154 zasebnimi in družinskimi bankami PK, ustanovljenimi večinoma po letu 2000. Čeprav ni dostopnih točnih podatkov, predvidevajo, da te banke shranjujejo že vsaj 2-do 3-krat več enot PK kot javne banke.¹² Kljub temu, da so torej zasebne banke v zadnjih 20 letih zbrale več kot 1 milijon enot PK, še vedno ni objavljenih zanesljivih znanstvenih poročil o upo-

rabi teh enot in izidih presaditev.²⁰ Zaradi majhnega števila kliničnih primerov ni statističnih rezultatov glede doseganje uporabe PK za avtologne namene, med drugim tudi zato, ker je od začetkov shranjevanja PK preteklo premalo časa. Sullivan l. 2008 navaja, da so do leta 2007 skupno izvedli samo tri (3) presaditve avtologne PK.¹¹ Teh presaditev je v zadnjih letih nekaj več. V neznanstvenih virih dve zasebni banki, obe ustanovljeni l. 1995 (Cordon Vital (CBR) v Mehiki in Cord Blood Registry v ZDA), navajata, da sta omogočili do januarja 2009 vsaka približno 90 presaditev avtologne PK ali v povprečju 7,6 presaditev na leto,¹² kar ni v skladu z omenjenimi podatki Sullivana in sod.¹¹ Seveda pa se raziskave nadaljujejo in pričakovati je, da bo v bližnji prihodnosti na voljo več rezultatov registriranih kliničnih raziskav, ki trenutno že potekajo. Med njimi so študije zdravljenja cerebralne paralize, hipoksično ishemične encefalopatije, gluhosti, sladkorne bolezni tipa 1, limfoma, hude kombinirane imunske pomankljivosti (SCID) in nekaterih drugih bolezni (glej <http://clinicaltrials.gov/>).

Hibridne in mešane banke popkovnične krvi

Tretja vrsta bank PK so t. i. hibridne banke PK. Obstaja več modelov takih bank, ki so večinoma kombinirane javno-zasebne ustanove. V nekaterih hibridnih bankah shranjujejo PK za dajalca, vendar jo hkrati tudi HLA-tipizirajo, vpišejo v svetovni register in po potrebi namenijo tistemu bolniku, ki jo potrebuje. Določeni avtorji zelo spodbujajo take banke PK, čeprav se soočajo s številnimi etičnimi in finančnimi problemi.¹² Pričakujejo še drugo vrsto hibridnih bank, v katerih bodo lahko starši shranili del vsake enote PK za avtologne namene, drugi del pa darovali v javno banko PK, kjer jo bodo HLA-tipizirali in vpisali v obstoječi svetovni register BMDW, da bo na voljo vsem bolnikom. Takšne banke so ustanovili že l. 2006 v Španiji, a zaenkrat še vedno niso zaživele. Enako se dogaja v Veliki Britaniji s podobnim modelom zasebne banke Virgin Health Bank, ki ji uspeva zbrati 10-krat manj enot, kot je predvidevala.²⁰ Zaradi raz-

polovljenega števila matičnih celic bo takšen model verjetno zaživel šele takrat, ko bodo izpopolnili metode ekspanzije matičnih celic iz PK z gojenjem *in vitro*.

Etični zadržki pri shranjevanju popkovnične krvi za avtologne namene

Kot smo že omenili, plačujejo zasebno shranjevanje PK starši in zato ne temelji na solidarnosti. Zasebnemu shranjevanju za avtologne namene oporekajo tudi strokovno utemeljenost, zato so različna strokovna združenja zadržana. Zasebnim bankam očitajo nekritično komercializacijo negotovih načinov zdravljenja v prihodnosti. Vendar avtolognega shranjevanja evropska zakonodaja ne prepoveduje, saj bi bilo to v nasprotju z načelom svobodne izbire posameznika. Izjeme so Francija, Luksemburg in Italija, ki zasebnih bank PK sploh ne dovoljujejo. Skupina za etiko v znanosti Evropske zveze (The European Union Group on Ethics, EGE) je l. 2005 izdala o etičnih vidikih shranjevanja PK mnenje, da za shranjevanje in uporabo avtologne PK trenutno ni dovolj indikacij; po drugi strani pa bodo v prihodnosti za različne presaditve lahko uporabljali tudi alogensko PK ali matične celice odraslih dajalcev.²⁸ To mnenje seveda še ni moglo upoštevati razvoja regenerativne medicine v zadnjih letih. Skupina sicer meni, da je shranjevanje z namenom presaditve avtolognih celic potrebno omejiti, a ohraniti možnost svobodnega trga in izbire posameznika. Državam članicam svetuje strog nadzor nad bankami, kar potrjuje tudi direktiva 2004/23/ES Evropskega parlamenta in sveta o določitvi standardov kakovosti in varnosti, darovanja, pridobivanja, testiranja, predelave, konzerviranja, shranjevanja in razdeljevanja človeških tkiv in celic.²⁹ Skupina za etiko v znanosti Evropske zveze poziva, naj komercialne banke svoje stranke ustrezno informirajo in ne navajajo znanstveno nepreverjenih ali celo lažnih indikacij. Pozivajo tudi oblasti, naj nadzirajo oglaševanje na internetu in podpirajo delovanje javnih bank in registrov. Komercialne banke namreč zavajajo starše z navajanjem uporab-

Tabela 1: Število shranjenih enot popkovnične krvi l. 2008 v javnih bankah v različnih državah. Modificirano po Katz 2010.²⁰

Rang	Država	Prebivalci l. 2008 (v milijonih)	Število shranjenih enot PK	Število enot PK na 10.000 prebivalcev
1	Tajvan	23,0	43.214	18,8
2	Belgija	10,4	13.146	12,6
3	Avstralija	21,1	21.125	10,0
4	Singapur	4,9	4.793	9,8
5	Španija	40,5	39.309	9,7
6	Izrael	7,1	5.986	8,4
7	Finska	5,2	2.944	5,7
8	ZDA	304,1	159.849	5,3
9	Italija	58,1	18.650	3,2
10	Češka	10,2	3.213	3,2
11	J. Koreja	48,5	15.549	3,2
12	Švica	7,6	2.315	3,0
13	Japonska	127,3	32.111	2,5
14	Nemčija	82,4	20.013	2,4
15	Nizozemska	16,6	3.688	2,2
16	VB	60,9	10.559	1,7
17	Francija	64,0	7.745	1,2
18	Argentina	40,1	630	0,2
19	Poljska	38,5	386	0,1
20	Kitajska	1.338,6	5.794	0,04
21	Slovenija 1 Nov. 2010	2,0	550	2,75
	Slovenija – cilj 2014	2,0	2.000	10

nosti avtologne PK za indikacije, ki se v resnici nanašajo na alogensko zdravljenje s PK ali pa celo z drugimi tipi matičnih celic. Podobno stališče je leta 2008 zavzelo ameriško združenje American Society for Blood and Marrow Transplantation.³⁰ Tudi stališče slovenske Komisije RS za medicinsko etiko iz leta 2008 je podobno.

Iz zgornjih poglavij je očitno, da imajo akademske, strokovne medicinske in druge organizacije zaenkrat zadržke glede shranjevanja avtologne popkovnične krvi. Argumenti so predvsem trenutno pomanjkanje kliničnih indikacij, nedorečeni standardi zbiranja in shranjevanja ter še posebno očitki glede nepoštenega oglaševanja.

Relativna privlačnost zasebnega načina shranjevanja še vedno obstaja in je delno posledica slabega obveščanja bodočih staršev o dejanski učinkovitosti avtologne presaditve KMC, delno pa tudi posledica pomanjkanja javnih zdravstvenih sredstev za javne banke PK. Po drugi strani pa smo tudi priča hitremu razvoju regenerativne medicine, ki obljublja uporabo avtolognih MC za zdravljenje degenerativnih bolezni, zato zasebne banke upravičeno argumentirajo, da je neprimerno uničevati tako dragocena tkiva, kot so popkovnična kri, posteljica in njene sestavine. Zato so v zadnjem času nekateri strokovni avtorji in združenja zasebnemu bančništvu bolj naklonjeni.³¹ Temu še posebno pomaga razvoj novih tehnologij,

npr. razvoj induciranih pluripotentnih celic (*angl.* induced pluripotent stem cells, iPSc) iz popkovnične krvi, ki jih lahko uporabimo kot univerzalne celice v regenerativni medicini.³² Gre za vsaditev genov pluripotentnosti v odraslo diferencirano celico; ta se nato spremeni v pluripotentno celico, ki se lahko diferencira v vse tri klične liste. Na tak način lahko iz odrasle celice dobimo katero koli od 200 možnih vrst celic. Pri zdravljenju te celice še niso uporabne, ker še ni jasno, ali so kancerogene. Z določenimi izboljšavami utegne uporaba celic iPSc popolnoma spremeniti sedanje dožemanje vloge matičnih celic iz PK, ker obeta nastanek globalnega biobančništva in s tem shranjevanje dovolj velikega števila HLA-tipiziranih in skladnih celic iPSc za klinično uporabo.²⁰ Še bolj nepredvidljivo prihodnost obetajo zadnja odkritja, ki omogočajo nastanek transdiferenciranih celičnih linij brez predhodne dediferenciacije v pluripotentno linijo iPSc, s čimer se izognemo njihovi teratogenosti.³³⁻³⁵ Seveda je pri tem ključno, da imamo na razpolago mlade celice, ki so dobra osnova za transdiferenciacijo in za celice iPSc.

Najnovejše okoliščine globalne jedrske nevarnosti in radiacijskih katastrof, kot je bil npr. potres na Japonskem marca 2011, bodo verjetno povzročile bistvene spremembe v pogledih na etiko shranjevanja avtologne PK. Etično vprašljivo bo namreč preprečevati shranjevanje avtologne PK prebivalstva, še posebno na področjih, kjer je velika koncentracija atomskih elektrarn na potresno izpostavljenem področju.³⁶

Zbiranje in shranjevanje matičnih celic iz popkovnične krvi v Sloveniji

V Sloveniji so prvo zbiranje PK za sorodniško alogensko presaditev na pobudo Hematološko-onkološkega oddelka pediatrične klinike leta 1999 izvedli strokovnjaki ljubljanske Porodnišnice in Zavoda RS za transfuzijo, vendar do klinične presaditve kasneje ni prišlo. Šele leta 2004 so prvič opravili alogensko nesorodniško presaditev PK, ki je prišla iz avstralske banke popkovnične krvi v Sydneyu. Šele leta 2008 je pri-

čela z delovanjem javna banka PK ESPOK na Zavodu RS za transfuzijsko medicino (ZTM) v Ljubljani.²³

V Sloveniji je bilo na dan 1.1.2011 v javni banki ESPOK na ZTM shranjenih okrog 550 enot PK. To število uvršča Slovenijo nekako na 12. mesto na svetu, če ga primerjamo s stanjem iz leta 2008 (Tabela 1). Načrt banke ESPOK je zbrati in shranjevati približno 2000 enot PK do leta 2014, kar bi pomenilo 10 shranjenih enot PK na 10.000 prebivalcev, kar je dovolj glede na majhno etnično raznolikost slovenske populacije. Shranjevanje večjega števila enot PK tudi ne bi bilo več smotno, ker se verjetnost, da bi dobili dajalca za katerega koli slovenskega bolnika z nadaljnim povečevanjem števila enot PK v javni banki ne poveča niti za en odstotek.¹⁹

Darovanje popkovnične krvi v javno banko popkovnične krvi in odvzemi za avtologno shranjevanje v Sloveniji

Odvzem PK izvajamo v Sloveniji v vseh porodnišnicah na podlagi dogovora z ZTM. Pred odvzemom PK se nosečnice prijavijo na ZTM, kjer dobijo potreben informacijski material in dodatne informacije o darovanju PK. Priporočamo, da se vse formalnosti opravijo pred 34. tednom nosečnosti. Ko izpolnijo prijavnico in medicinski vprašalnik ter podpišejo izjavo o poučenosti in privolitvi v odvzem PK, jih pregleda zdravnik in na podlagi meril za odvzem PK določi ustreznost za njeno darovanje. Nato pošljemo obvestilo o načrtovanem darovanju PK v porodnišnico, enako obvestilo in paket z materialom, potrebnim za odvzem PK, pa pošljemo še nosečnici. Na vsa vprašanja v zvezi s temi postopki se nosečnice lahko obrnejo na e-naslov espok-ztm@ztm.si ali telefon 01 5438 305.

PK odvezamo v porodni sobi takoj po porodu in prerezju popkovnice, ko je posteljica še *in utero*, s punkcijo popkovnične vene ter zbiranjem PK v sterilno plastično vrečko, kjer se meša z antikoagulantom. Popkovnico najprej sterilno razkužimo tik nad prevezanim mestom in nato popkovnično veno punktiramo s transfuzijsko iglo. Popkovnico

nato previdno »pomolzemo«, da preostala kri iz nje in iz posteljice steče v odvzemno vrečko. Odvzeti moramo vsaj 80 mL PK. Takoj zatem izpolnimo poročilo o odvzeti PK. Odvzeto PK nato transportiramo na ZTM, kjer določijo volumen in število celic z jedrom v njej in se na podlagi sprejetih standardov odločijo, ali bodo PK shranili ali ne. Za zagotavljanje ustreznih pogojev v Javni banki mora enota PK za zdravljenje levkemij in dednih bolezni po sedanjih normativih zadostiti dvema pogojema: celokupno število celic z jedrom (TNC) mora biti večje kot $0,90 \times 10^9$, volumen PK pa več kot 50 mL. Po koncentriranju celic z jedrom jih zamrzemo in postavimo v karanteno. Ko dobimo končne izsledke testiranja kakovosti PK, sprostimo enoto iz karantene v trajno shranjevanje v tekočem dušiku za 15 ali celo 20 let. Od vseh odvzetih enot PK smo v zadnjih letih v shranjevanje uvrstili okrog 32 % enot, preostale enote pa smo zaradi premajhnega števila celic, prisotnosti mikroorganizmov ali prekoračitve časovnega intervala 48 ur od odvzema preventivno uničili. Pri tem je bil najpogostejši vzrok za premajhno število celic v enoti PK premajhen volumen odvzete PK.³⁷ Odvzem PK poteka načeloma v vseh slovenskih porodnišnicah. Delovanje vseh bank PK nadzoruje Javna agencija za zdravila in medicinske pripomočke (JAZMP). V skladu z našo zakonodajo morajo porodnišnice za to dejavnost pridobiti status donorskega centra. Za sam postopek zbiranja posebno usposabljanje ni obvezno, je pa na voljo na ZTM. Odvzem PK in financiranje delovanja javne banke PK v Sloveniji še nista finančno urejena zaradi omejenih možnosti javnih financ. Trenutno potekajo pogovori z Ministrstvom za zdravje o ureditvi tega vprašanja.

Zakonodaja pri nas dovoljuje tudi delovanje zasebnih bank za avtologne namene.³⁸ Obstaja le ena domača ustanova, ki shranjuje te celice doma, preostale komercialne tvrdke pa PK le prevzamejo v porodnišnici in nato prenesejo v komercialne banke PK v tujini. Pretirano komercialno vedenje nekaterih ponudnikov shranjevanja PK je tudi v Sloveniji zaradi agresivnega oglaševanja na meji dovoljenega, pri čemer zaradi nezadostnega poznavanja zavajajo javnost. Metanje

vseh tipov matičnih celic v isti koš laično javnost lahko zavede in ji zbudi lažne upe, po drugi strani pa je potrebno vse potencialne možnosti jasno razložiti, kar je glavna naloga in dolžnost stroke. Zato smo avtorji mnenja, da je tudi v Sloveniji potrebno nepristransko informiranje staršev, ki ga morajo izvajati predavatelji pod skrbnim strokovnim in etičnim nadzorom.

Zaključek

Presaditev PK je uveljavljeni način zdravljenja določenih bolezni otrok in odraslih in je postala ustrezna alternativa trenutnim presaditvam kostnega mozga in periferne krvi. Glavna prednost presajanja PK je nizka stopnja bolezni presadka zoper gostitelja ob siceršnjem neskladju v sistemu HLA, medtem ko je zapozneno prijetje presadka zaradi omejenih celičnih odmerkov še vedno njena glavna slabost. PK moramo odvzeti ob porodu in nato nadzorovano shranjevati v banki PK. Število potrebnih shranjenih enot PK za alogensko uporabo v Sloveniji ocenjujemo na največ 2000. V ta namen je potrebno zagotoviti ustrezna sredstva iz javnega proračuna. Banke PK pomagajo mednarodnim registrom tipiziranih dajalcev KMC, ker omogočajo širjenje možnosti alogenske presaditve, odpirajo pa se tudi možnosti uporabe MC v regenerativni medicini, za kar so bolj primerne avtologne celice iz PK, ki pa jih v Evropi praviloma shranjujejo zasebne banke PK. Te avtologne celice bi lahko potencialno uporabili za zdravljenje v prihodnosti in bodo morda prispevale k personalizirani medicini, zato bi bilo potrebno po načelu solidarnosti in enake dostopnosti v zdravstvu zagotoviti uporabo alogenske in avtologne PK vsem otrokom in odraslim, najbolje po načelu hibridnih bank PK iz kombiniranih javnih in zasebnih sredstev. Do tega je zaradi ekonomskih in drugih razlogov verjetno še daleč, saj množično uporabo teh celic napovedujejo šele po letu 2025.¹²

Zahvala

Članek je nastal tudi ob pomoči nacionalnega raziskovalnega programa P3-0371

Človeške matične celice – napredno zdravljenje s celicami, ki ga sofinancira ARRS–Javna agencija za raziskovalno dejavnost RS.«

Literatura

1. Rožman P, Jež M: Matična celica in napredno zdravljenje napredno zdravljenje s celicami, genska terapija in tkivno inženirstvo). Slovar. DCTIS–Društvo za celično in tkivno inženirstvo Slovenije 2010 April 20. Dosegljivo na http://www.dctis.org/terminoloski_koticsek/slovar.pdf
2. McGuckin CP, Basford C, Hanger K, Habibollah S, Forraz N. Cord blood revelations: the importance of being a first born girl, big, on time and to a young mother! *Early Hum Dev* 2007; 83: 733–741.
3. Gluckman E. Umbilical cord blood transplant in human. *Bone Marrow Transplant* 1996; 18 Suppl 2: 166–170.
4. Gluckman E, Broxmeyer HA, Auerbach AD, Friedman HS, Douglas GW, Devergie A, Esperou H, Thierry D, Socie G, Lehn P, . Hematopoietic reconstitution in a patient with Fanconi's anemia by means of umbilical-cord blood from an HLA-identical sibling. *N Engl J Med* 1989; 321: 1174–1178.
5. Laporte JP, Gorin NC, Rubinstein P, Lesage S, Portnoi MF, Barbu V, Lopez M, Douay L, Najman A. Cord-blood transplantation from an unrelated donor in an adult with chronic myelogenous leukemia. *N Engl J Med* 1996; 335: 167–170.
6. Wagner JE, Gluckman E. Umbilical cord blood transplantation: the first 20 years. *Semin Hematol* 2010; 47: 3–12.
7. Cutler C, Ballen K. Reduced-intensity conditioning and umbilical cord blood transplantation in adults. *Bone Marrow Transplant.* 2009; 44: 667–71..
8. Stanevsky A, Goldstein G, Nagler A. Umbilical cord blood transplantation: pros, cons and beyond. *Blood Rev* 2009; 23: 199–204.
9. Gluckman E, Rocha V. Cord blood transplantation: state of the art. *Haematologica* 2009; 94: 451–454.
10. Gluckman E. Ten years of cord blood transplantation: from bench to bedside. *Br J Haematol* 2009; 147: 192–199.
11. Sullivan MJ. Banking on cord blood stem cells. *Nat Rev Cancer* 2008; 8: 555–563.
12. Anon. Stem Cells–The Hype & Hope–World Analysis 2009–2024. London: Visiongain LTD; 2009.
13. Rubinstein P, Taylor PE, Scaradavou A, Adamson JW, Migliaccio G, Emanuel D, Berkowitz RL, Alvarez E, Stevens CE. Unrelated placental blood for bone marrow reconstitution: organization of the placental blood program. *Blood Cells* 1994; 20: 587–596.
14. Garcia J. Allogeneic unrelated cord blood banking worldwide: an update. *Transfus Apher Sci* 2010; 42: 257–263.
15. Tonejc M. Letno poročilo 2009. Slovenija-donor. Slovenski register prostovoljnih, nesorodnih darovalcev kostnega mozga. In. Ljubljana: Zavod RS za transfuzijsko medicino, Center za tipizacijo tkiv, Odsek register Slovenija-Donor; 2010. p. 1–13.
16. Anon. International standards for cellular therapy product collection, processing, and administration. Fourth edition. In: Foundation For The Accreditation Of Cellular Therapy (FACT) and Joint Accreditation Committee -ISCT and EBMT (JACIE); 2008.
17. Gluckman E, Rocha V, Chastang CL. Umbilical cord blood hematopoietic stem cell transplantation. *Eurocord-Cord Blood Transplant Group. Cancer Treat Res* 1999; 101: 79–96.
18. Anon. Unrelated Cord Blood Banks/Registries. Annual Report 2009. World Marrow Donor Association; 2010.
19. Anon. Stem Cell Donor Registries Annual Report 2009. World Marrow Donor Association; 2010.
20. Katz G, Mills A. Cord blood banking in France: reorganising the national network. *Transfus Apher Sci* 2010; 42: 307–316.
21. Querol S, Mufti GJ, Marsh SG, Pagliuca A, Little AM, Shaw BE, Jeffery R, Garcia J, Goldman JM, Madrigal JA. Cord blood stem cells for hematopoietic stem cell transplantation in the UK: how big should the bank be? *Haematologica* 2009; 94: 536–541.
22. Koh M, Goh Y, Tan P, Koh L, Hwang W, Loh Y, Tan D, Ng H, Chuah C, Lim T, Niam M, Suck G, Chan M, Phang C, Lee J, Wee V, Ng H, Lim C, Yiu R, Kam G, Ang A, Linn Y. Stem cell transplantation programme at Singapore General Hospital. *Bone Marrow Transplant* 2008; 42 Suppl 1: S121-S124.
23. Krašna M, Tešebak T, Domanovič D. Analysis of cord blood units donated to the Slovenian cord blood bank. *Zdrav Vestn* 2009; 78: 451–455.
24. Anon. WMDA Policy Statement on the Utility of Autologous or Family Cord Blood Unit Storage. The WMDA Board; 2006.
25. Ballen KK, Barker JN, Stewart SK, Greene MF, Lane TA. Collection and preservation of cord blood for personal use. *Biol Blood Marrow Transplant* 2008; 14: 356–363.
26. Nietfeld JJ, Pasquini MC, Logan BR, Verter F, Horowitz MM. Lifetime probabilities of hematopoietic stem cell transplantation in the U.S. *Biol Blood Marrow Transplant* 2008; 14: 316–322.
27. Rosenthal J, Woolfrey AE, Pawlowska A, Thomas SH, Appelbaum F, Forman S. Hematopoietic cell transplantation with autologous cord blood in patients with severe aplastic anemia: An opportunity to revisit the controversy regarding cord blood banking for private use. *Pediatr Blood Cancer* 2011; 56: 1009–1012.
28. The Uropean Group on Ethics in Science and new technologies to the European Commission. Opinion n°19–16/03/2004–Ethical aspects of umbilical cord blood banking. In: European Commission; 2005.
29. Anon. Direktiva 2004/23/ES Evropskega parlamenta in sveta o določitvi standardov kakovosti in varnosti, darovanja, pridobivanja, testiranja, predelave, konzerviranja, shranjevanja in razdeljevanja človeških tkiv in celic.
30. Anon. ASBMT position statement. Collection and Preservation of Cord Blood for Personal Use. *Biology of Blood and Marrow Transplantation* 2008; 14: 364.

31. Hollands P, McCauley C. Private cord blood banking: current use and clinical future. *Stem Cell Rev* 2009; 5: 195–203.
32. Giorgetti A, Montserrat N, Aasen T, Gonzalez F, Rodriguez-Piza I, Vassena R, Raya A, Boue S, Barrero MJ, Corbella BA, Torrabadella M, Veiga A, Izpisua Belmonte JC. Generation of induced pluripotent stem cells from human cord blood using OCT4 and SOX2. *Cell Stem Cell* 2009; 5: 353–357.
33. Bonfanti P, Claudinot S, Amici AW, Farley A, Blackburn CC, Barrandon Y. Microenvironmental reprogramming of thymic epithelial cells to skin multipotent stem cells. *Nature* 2010; 466: 978–982.
34. Takeuchi JK, Bruneau BG. Directed transdifferentiation of mouse mesoderm to heart tissue by defined factors. *Nature* 2009; 459: 708–711.
35. Vierbuchen T, Ostermeier A, Pang ZP, Kokubu Y, Sudhof TC, Wernig M. Direct conversion of fibroblasts to functional neurons by defined factors. *Nature* 2010; 463: 1035–1041.
36. Christodouleas JP, Forrest RD, Ainsley CG, Tochner Z, Hahn SM, Glatstein E. Short-Term and Long-Term Health Risks of Nuclear-Power-Plant Accidents. *N Engl J Med* 2011; *N Engl J Med* 2011; 364: 2334–41.
37. Krašna M, Jazbec J, Černelč P, Domanovic D. Slovenska javna banka popkovnične krvi. *Farm vest* 2010; 61: 139–43.
38. Zakon o kakovosti in varnosti človeških tkiv in celic, namenjenih za zdravljenje (ZKVČTC). *Ur l RS* 61/2007.