

Születéskor gyűjtött őssejt-tartalmú minták kíméletes feldolgozása

Száraz Leonóra dr.

KRIO Intézet Sejt- és Szövetbank, Budapest

A tevékenységek automatizálása természetes törekvés a folyamatok költségsökkentési optimalizálása során és ennek jelentősége a tömegcikk előállítása szempontjából valóban megkérdőjelezhetetlen. Vannak azonban olyan termékek és szolgáltatások, amelyekhez akkor társítunk kiemelkedő minőséget, ha az előállításuk közvetlen emberi közreműködéssel, szakértelemmel történik. A gyermekek születésekor gyűjthető biológiai minták feldolgozásánál értéként kell megjelennie annak, hogy nem egy automatizált eljárásrend uniformizált protokollja szerint, hanem a gyűjtött minták egyedi tulajdonságainak figyelembevételével történik a feldolgozás. Ezt az álláspontunkat semmi nem igazolhatja jobban, mint az a tény, hogy Intézetünk eddig több sikeres (legutóbb 2016 novemberében végrehajtott) hazai transzplantációhoz biztosított köldökzinórvért.

Kulcsszavak: köldökzinórvér mélyfagyasztása, volumenredukció, kézi feldolgozás

Gentle processing of stem cell containing samples collected at birth

Automatization is an established intention for decreasing costs during the optimization of production lines, especially for mass production. However, some products and services can be regarded of high quality only in case they are provided with direct human technical contribution and professionalism. We believe that an additional value should be recognized and assigned for newborns related biological samples if their processing is carried out according to their special and individual characteristics, instead of addressing uniformized and automatized protocols. This policy is supported by the successful transplantations performed in Hungary (with the latest one in November 2016) with umbilical cord blood samples that have been processed and stored by our Institute.

Keywords: cryopreserving of umbilical cord blood, volume reduction, manual processing

AABB akkreditált minőség-biztosítási háttér

A KRIO Intézet 2005 óta auditált minőségirányítási rendszerrel (ISO 9001:2008 és ISO 14001:2004), míg 2010 óta AABB (Advancing Transfusion and Cellular Therapies Worldwide) akkreditációs háttérrel látja el köldökzinórvér feldolgozási és tárolási tevékenységét. Az AABB akkreditáció révén olyan nemzetközi szövetség ellenőrzése mellett dolgozunk, amely azokat az egészségügyi szolgáltatókat felügyeli és támogatja tevékenységükben, ahol vérátömlesztéssel, illetve sejtterápiával foglalkoznak. Az AABB akkreditációs programjának az a célja, hogy javítsa a vér gyűjtésének, feldolgozásának, mélyfagyasztásának és terápiákban történő felhasználásának biztonságát – így ez az önként vállalt független felügyelet a valódi terápiás

értékkel rendelkező minták tárolása melletti elkötelezettséget jelenti.

A minta térfogatának döntő szerepe

Bár nem a gyűjtött vér térfogata adja egy minta terápiás értékét, hanem az

ún. magvas sejtszáma (ún. TNC-érték, és ezen belül a CD34+, CD45+ vérképző őssejtek száma), de kétségtelenül hatással van arra, hiszen minél nagyobb a köldökzinórvér térfogata, általában annál több őssejtet tartalmaz. Intravénás terápiákban azokat a mintákat lehet felhasználni és ennek megfe-



1. ábra. Vörösvérsejt és alvadék ülepitése plazmaprésben

Levelezési cím:

Dr. Száraz Leonóra, KRIO Intézet Sejt- és Szövetbank, 1026 Budapest, Kelemen László utca 12.

E-mail: szaraz.leonora@krio.hu

lelően azoknak javasolt jelenleg a hosszú távú megőrzése, amelyek TNC-értéke eléri a $2 \cdot 10^7$ /ttkg értéket. Az AABB szellemiségének megfelelően Intézetünkben elsődlegesen az 50 ml-nél nagyobb térfogatú mintákat tároljuk, mivel gyakorlati tapasztalataink szerint ezek a minták már megfelelő mennyiségű sejtet tartalmaznak egy kisebb gyermek kezeléséhez. Az Intézetünkbe érkező minták 10%-át az 50 ml-es küszöbérték el nem érése miatt utasítjuk el; ebben az esetben a szülőket kizárólag a gyűjtőszett ára terheli. Fontos kiemelni, hogy az elfogadási határ bevezetése szakmai érvekre épített kommunikációs stratégia kidolgozásával járt együtt, mivel a visszautasítás tényét, még ha anyagi „megkönnyebbülés” is kíséri, a szülők egy része a születés körüli hetek felfokozott érzelmi állapotában gyakran értetlenséggel fogadja.

Egyedi minták, egyedi feldolgozási igények

A gyűjtött minták kb. 15%-a alvadékot tartalmaz, ami körültekintőbb feldolgozást igényel, hiszen csak a teljesen homogén minta fagyasztható sikeresen. Ennél jóval több mintát érint, hogy az édesanyák a szülés előtt vagy közben általában infúziót kapnak, amelynek a mennyisége és az összetétele befolyásolja a minta fagyasztás előtti előkészítését, a sejtek kinyerését és így a tárolt minta terápiás értékét. A gyűjtött minta egyedi tulajdonságaihoz igazodó kíméletes, manuális feldolgozás azt biztosítja, hogy az eltárolt mintában a magvas sejtek átlagosan 97%-át tudjuk megőrizni.

Manuális volumenredukció

A gyűjtött minta vörösvérsejtjeinek nincs terápiás értéke, tárolásuk így felesleges, ezért a plazma egy részével együtt, több lépésben eltávolításra kerülnek. Ez a folyamat zárt rendszerben, az esetleges befertőződés teljes kizárásával történik (1–6. ábra).

A fagyasztott minta a fehérvérsejtfrakció (benne az őssejteket) és a plazma egy részét tartalmazza olyan védőoldattal összekeverve, amely átsegíti a biológiai mintát a programozott fagyasztással és felolvasztással együtt járó halmazállapot-változásokon. Felolvasztás után az így feldolgozott minta azonnal felhasználható.



2. ábra. Frakciók szétválása



3. ábra. Plazma frakció centrifugálás utáni rétegződése



4. ábra. Volumenredukált minta fagyasztózsákkal



5. ábra. Megtöltött fagyasztózsák fémkazettában referencia csőszakaszokkal



6. ábra. Tárolt minták fémkazetta rekeszei -180°C -on, folyékony nitrogén gőztérben



7. ábra. Köldökzsinórminta előkészítése, darabolása



8. ábra. Darabolt minta áthelyezése hatlyukú tenyésztőedénybe



9. ábra. MSC sejtizolálás CO_2 termosztátban

Köldökzsinór mesenchymális őssejtek (MSC) kíméletes kinyerése

Az MSC izolálási folyamatra jelenleg még nincs standard eljárás, azonban a terápiás felhasználási lehetőségek folyamatos bővülése miatt fokozott az igény olyan módszer kidolgozására, amely a szöveti állomány enzimes előkezelése nélkül képes kinyerni a Wharton-kocsonya őssejtjeit. A Famicord csoport által kidolgozott és itthon szabadalmi eljárás alatt lévő technológia lényege, hogy az amnionmembrán megtartásával lehetőség van azoknak a kevésbé differenciálódott MSC-sejteknek sértetlen formában (morfológiájában és funkciójában is ép alakban) történő izolálására, amelyekkel már jelenleg is számos sikeresnek ígérkező klinikai kísérlet folyik, pl. autoimmun betegségek kezelésére.

A képeken (7–9. ábra) bemutatott módszerünk egyrészt a mintaelőkészítés módja, másrészt a kinyert sejtek plasztikussága és homogenitása miatt újdonság értékű – ebből fakadóan megindítottuk a szabadalmi oltalom alá történő helyezését.

Következtetések

A születéskor gyűjthető őssejtek megőrzéséről felelősen dönteni és a kínált szolgáltatások között jól eligazodni még akkor is nagy kihívás a laikus családok számára, ha a várandós gondozásban résztvevő szakemberek segítségére is támaszkodhatnak. Családi (mágn) bankként és több sikeres hazai transzplantációval a hátunk mögött egyetlen körülmény jelentőségére szeretnénk ráirányítani a figyelmet: függetlenül a feldolgozás manuális vagy automatizált jellegétől, csak az igazolt és releváns minőségbiztosítási háttér a garancia arra, hogy szükség esetén egy tárolt minta sikeresen felhasználásra kerülhet akár itthon, akár külföldön.

A KRIO Intézet azon az áron is kész a minőségi tárolást képviselni, hogy a nem megfelelő térfogatú vagy alacsony terápiás értékű mintákat elutasítja, mert magánbankként sem teheti meg, hogy hamis illúziókat konzerváljon. A célunk nem pusztán az, hogy minél több mintát tároljunk, hanem az is, hogy olyanokat őrizzünk meg, amelyek akár a jelenben, akár a jövőben megoldást jelentenek és életet mentenek.

A cikk megjelenését a KRIO Sejt- és Szövetbank támogatta.