

Száraz L.¹, Mátrai G.², Kocsis A.¹, Végh G.¹, Fűrész K.¹, Kalapos M.¹, Brindzáné Molnár M.¹, Szénási D.¹, Hegedűs E.¹, Takács A.¹, Aladics Á.¹, Zsigri V.¹, Molnár B.¹, Imre E.¹, Oldak T.³, Balogh I.¹

Placentából gyűjtött vérminták összehasonlító értékelése

¹ KRIO Intézet Zrt., Budapest

² PTE Klinikai Központ Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika, Pécs

³ Polish Stem Cell Bank, Warsaw, Poland

e-mail: szaraz.leonora@krio.hu, dr.matrai.gabor@gmail.com

A köldökzsinórvér gyűjtésével (KZSV) kapcsolatban leggyakrabban elhangzó kritika és egyben a szélesebb klinikai alkalmazásának legfőbb akadálya, hogy kisebb mennyiségben tartalmaz összejtek, mint a csontvelő, így nehezebben teljesíti azt a feltételt, hogy a minta magvas sejtjeinek száma (TNC) min. $2 \cdot 3 \times 10^7$ /testtömeg kg legyen.¹ A probléma jelenlegi megoldását a folyó klinikai kísérletek gyakorlata szerint egyrészt több különböző donortól származó KZSV minta felhasználásában, másrészt a vérképző őssejtek rutinszerű szaporításában látják. Mindezek mellett az utóbbi 15 évben számos olyan tanulmány készült, amely a placenta vérképzésben betöltött szerepével foglalkozik, részletesen vizsgálva az ott fellelhető pluripotens progenitor, ill. multipotens hematopoetikus (HSC) és mesenchymalis őssejtek (MSC) lokalizációját, felületi markereit, szabályozási mechanizmusát, differenciálódását.²⁻⁴ Ezek a közlemények arra hívják fel a figyelmet, hogy az alapvetően még mindig veszélyes hulladékként kezelt placenta a KZSV gyűjtése után is értékes sejteket tartalmaz, amelyek kinyerése jelentős hozzáadott értéket képviselhet a terá-

piás testtömeghatár kiterjesztésével.⁵ Számos módszer került kidolgozásra a benne pangó, igen gyorsan bealvadó vér hatékony kinyerésére, de szélesebb körben egyik sem terjedt el, ugyanis a folyamat időben többnyire elválik a köldökzsinórvér gyűjtésétől, vagy bonyolultabb eszközt igényel.⁶

A Famicord csoport – és annak tagjaként a KRIO Intézet – 2013-ban vezette be saját fejlesztésű szettjét, amely megjelenésében annyiban különbözik a KZSV szettől, hogy 29 ml helyett 100 ml alvadásátló folyadékot tartalmaz. A mintavételeket több magyarországi szülészeti szakintézményben végezték, a szülők kérésére, előzetes szerződés kötetét követően a Krio Intézet szakmai protokollja szerint, melyet a külföldi tapasztalatokat alapul véve gyakorló klinikus bevonásával dolgoztunk ki.

Gyűjtés a gyakorló orvos szemszögéből

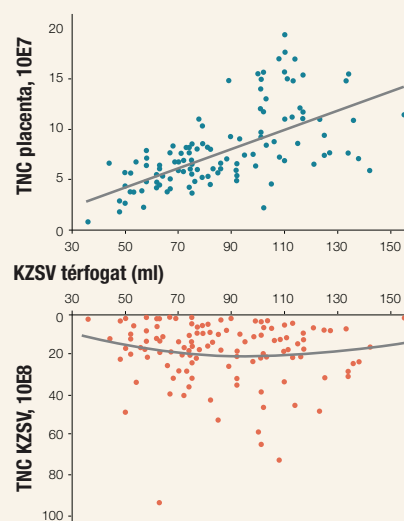
A mintavételek során szerzett tapasztalatok alapján a levételi protokollt folyamatosan tökéletesítettük annak érdekében, hogy a lehetőségekhez mérten a legnagyobb mennyiségű placentavért nyerjük ki. Mivel szakmai ellenjavallatot nem találtunk, klinikai javaslat

alapján a tárolást a hüvelyi szülések mellett császármetszés esetére is lehetővé tettük, valamint feldolgoztuk a töredezett lepényből származó vérmintákat is. A mintavételek minden esetben a szülészorvos és a szülésznő segítségével zajlottak le.

A szülések során kiemelt figyelmet fordítottunk a sterilítás szabályainak betartására.

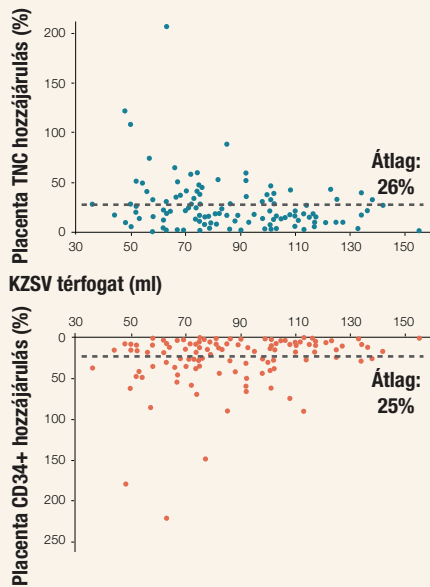
1. ábra

Az összetartozó KZSV és placentavér minták TNC értékei a KZSV minta térfogatának függvényében



2. ábra

A KZSV minták TNC és CD34+, CD45+ értékeire vonatkozó, %-ban kifejezett placentavér hozzájárulás a KZSV minta térfogatának függvényében



A köldökzsinórvér levétele a köldökhöz közeli lefogást és alapos fertőtlenítést követően a köldökvéna punkciójával történt, majd a placenta leválását oxytocin infúzióval segítettük. Megszületését követően steril izoláló kendőre helyeztük a magzati felszínével felfelé.

A köldökzsinórt a lepényi insertiónál fertőtlenítettük, majd a placenta egyik érének punkcióját követően (artéria javasolt) a gyűjtőzsákot magasba emelve történt a placenta ereinek feltöltése a véralvadésgátlóval. A placenta felszínének átmasszírozását követően, a zsákot az asztal szintje alá helyeztük, így az alvadésgátlóval keveredett lepényi vér visszafolyt a gyűjtőzsákba.

Eredmények, értékelés

A 2013. december végéig sikeresen feldolgozott és mélyfagyasztott 118, placentából gyűjtött vérminta elemzését a velük együtt gyűjtött KZSV mintákkal összehasonlítva végeztük el

azt vizsgálva, hogy milyen hozzáadott értéket képvisel ez utóbbi minta. Az értékelést TNC-re ill. CD34+, CD45+ felületi markerekkel rendelkező HSC sejtekre adtuk meg. A mintákról általánosságban elmondható, hogy 35%-ban császáros szülést követően kerültek gyűjtésre, 9%-ban betöltött 37. hét előtti szülésből származtak, 62%-ban alvadékot tartalmaztak és egyik minta tenyésztéses mikrobiológiai vizsgálatának eredménye sem lett pozitív. A velük együtt érkezett KZSV minták 17%-a volt alvadékos.

Az egyes KZSV ill. hozzájuk tartozó placentavér minták TNC értékét a gyűjtött KZSV minta térfogatának függvényében az 1. ábra felső, ill. alsó része mutatja. A két adatsor regressziós megközelítésénél eltérő elveket követtünk. A korábbi ($n > 3500$) megfigyeléseinkből biztosnak vehető, hogy a KZSV térfogatával egyenes arányban nő a KZSV TNC értéke, azonban a jelenlegi, jóval kisebb mintasokaságból ($n=118$) fakadóan, a nyilvánvaló eltérő szórásértékek miatt ennél az összefüggésnél egyszerű lineáris helyett súlyozott lineáris regressziót használtunk – a trend így is egyértelműen megmaradt. A placentavér TNC értékének esetében a vérkinyerés nem egységes módja és a gyűjtött KZSV térfogata jelentősen kihat a placentavér gyűjtési sikerességére: kisebb térfogatú (50 ml-es elfogadási határ alatti) KZSV mintáknál kicsi a valószínűsége annak, hogy placentából sikeres lesz a gyűjtés, hasonlóan a kiemelkedően nagy (130 ml feletti) térfogatú KZSV minták után gyűjtött placentavér mintákhoz. A nagyon kis KZSV térfogatok mögött gyakran húzódik meg eredendően rövid köldökzsinór, ugyanakkor ehhez nem mindig társul kis TNC értékű placentavér. Ebből fakadóan lineáris regresszió helyett másodfokú polinom illesztést hajtottuk végre. Ha eltekintünk az elfogadási határ alatti, ill. 130 ml feletti mintáktól,

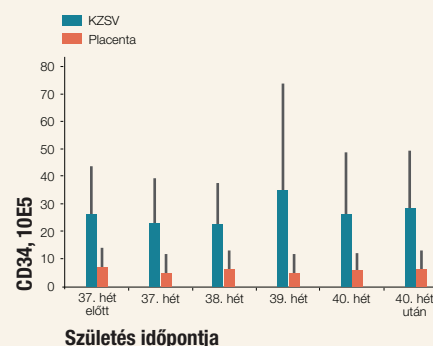
akkor a placentavér TNC átlagértéke az 50–130 ml térfogatú KZSV tartományban 20×10^7 -nek adódik, amely testsúly kg-ban kifejezve 7–10 kg hozzáadott értéket képvisel, vagyis ennyivel növeli meg a gyűjtött KZSV minta terápiás határértékét.

A 2. ábrán az egyes KZSV mintákra vonatkozóan adtuk meg a mellettük gyűjtött placentavér hozzáadott értékét %-ban kifejezve. Az 50 ml alatti KZSV minták két kiugró értékétől eltekintve TNC-re vonatkoztatva átlagosan 26%-nak ill. CD34+, CD45+ sejtekre vonatkoztatva 25%-nak adódnak, ami megfelel a vonatkozó irodalmakban közölt értékeknek.⁴

A továbbiakban azt vizsgáltuk, hogy van-e hatása a szülés módjának a placentából gyűjtött vér mennyiségére és minőségére. A minták TNC ill. CD34+ % adatai alapján azonban nem tapasztaltunk szignifikáns különbséget az egyes gyűjtési módok között. Azzal kapcsolatban, hogy a születés időpontjának van-e hatása a minták CD34+, CD45+ markerekkel jellemezhető összejt mennyiségére, feltételezhetően a kis mintaszám miatt az a kép rajzolódik ki, hogy bár a gyűjtött minták

3. ábra

A születés időpontjának hatása a minták CD34+, CD45+ markerekkel jellemezhető összejt mennyiségére. A hibásávok egységnyi szórásra vonatkoznak



TNC értékeiben mutatkozik némi különbség az érett és kevésbé érett vagy túlhordott placentavér minták között, a HSC sejtek arányát a placenta kora szignifikánsan nem befolyásolja (lásd 3. ábra).⁵

Összefoglalás

A 2012-ben feldolgozott >3500 KZSV minta statisztikai elemzése korábban azt mutatta, hogy az intézetünkben tárolt minták 40%-a alkalmas lenne akár 60 kg-os személyek kezeléséhez is (vö. közösségi bankok közlése: 12%). A placentából gyűjtött vérminták statisztikai elemzése azt mutatja, hogy a KZSV gyűjtése után még kinyerhető,

placentában pangó vér átlagosan 26%-kal emeli a köldökszinórból gyűjtött minta TNC értékét, így az egyesített minta alkalmassá válhat a felnőttek intravénás terápiájában történő hatékonyabb felhasználásra.

HIVATKOZÁSOK

1. Superior Health Council tájékoztató adatlap – hozzáférés időpontja: 2014.01.20. <http://www.health.belgium.be/internet2Prd/groups/public/@public/@shc/documents/ie2divers/19081964.pdf>
2. Bárcena A, Kapidzic M, Muench MO, et al. The human placenta is a hematopoietic organ during the embryonic and fetal periods of development. *Dev Biol.* 2008;327:24-33.
3. Dzierzak E, Robin C. Placenta as a source of hematopoietic stem cells. *Trends Mol Med.* 2010;16:361-367.
4. Robin C, Bollerot K, Mendes S, et al. Human placenta is a potent hematopoietic niche containing hematopoietic stem and progenitor cells throughout development. *Cell Stem Cell.* 2009;5:385-395.
5. Belvedere O, Feruglio C, Malangone W, et al. Increased blood volume and CD34+CD38- progenitor cell recovery using a novel umbilical cord blood collection system. *Stem Cells.* 2000;18:245-251.
6. Takebe N, Gage F, Cheng X, et al. Preliminary findings on the use of pulsative machine reperfusion of a placenta to improve the cord blood collection yield including primitive hematopoietic stem cell fraction. *Transfusion.* 2009;49:1911-1916.
7. Száraz L, Kocsis A, Fűrész K, et al.: Köldökszinórvér feldolgozásának minőségbiztosítási aspektusai a KRIO Intézetben. *Nőgyógyászati és Szülészeti Továbbképző Szemle.* 2013;április:67-69.