
NEONATAL UMBILICAL CORD STEM CELLS - RECEIVING, PRESERVING, AND APPLYING TO CONTEMPORARY MEDICINE

Ivelina Dobreva

Trakia University – Medical College, Stara Zagora, Republic of Bulgaria ivelinadob@abv.bg

Pavlina Teneva

Trakia University – Medical College, Stara Zagora, Republic of Bulgaria pl.teneva@abv.bg

Tsvetana Bojkova

Trakia University – Medical College, Stara Zagora, Republic of Bulgaria bojkova76@abv.bg

Valya Trencheva

Trakia University – Medical College, Stara Zagora, Republic of Bulgaria

Abstract: Stem cells derived from umbilical cord blood at the birth of a child have a number of advantages: they are young, have a huge potential for fission and differentiation; the dose of umbilical cord stem cells required for transplantation is about 10 times lower than that obtained from bone marrow; have an absolute identity with the tissues of the child whose cord umbilical cord is obtained.

Blood samples and isolated stem cells must be tested in accordance with international standards for:

- Stem Cells Content;
- Blood grouping and HLA typing;
- Viability of cells prior to typing;
- Microbiological studies and others.

Stem cells are frozen with special equipment, ensuring optimal cooling rate and maximum viability of thawed cells.

Cells are stored in liquid nitrogen at -196C, at this temperature they retain their viability for virtually unlimited time.

Today, umbilical cord blood stem cells are treated:

Metabolic Disorders: Krabbe's Disease, Hurler's Syndrome

Blood cancer: Leukemia, Lymphoma, Myeloma

Immune diseases: Severe combined immune deficiency, Wiskott-Aldrich syndrome

Blood disorders: Sickle-cell anemia, Aplastic anemia, Fanconi anemia

Because hematopoietic stem cells (HSCs) can be transformed into any kind of blood cells, they are currently used in the treatment of various cancers and blood diseases including leukemia, lymphoma and myeloma.

This exclusive innovative medical area uses stem cells to regenerate or even replace injured tissues and organs. mesenchymal stem cells (MSCs) are considered to be an extremely important part of future development.

Attempts are being made to treat the following diseases with stem cells: Autism, Brain Injury, Multiple Sclerosis, Cerebral Palsy, Parkinson's Disease, Alzheimer's Disease, Hearing Loss, Bone Fractures, Stroke, Infarction, Liver Disease, Diabetes

Keywords: stem cells, storage, treatment.

СТВОЛОВИТЕ КЛЕТКИ ОТ ПЪПНА ВРЪВ НА НОВОРОДЕНО - ПОЛУЧАВАНЕ, СЪХРАНЕНИЕ И ПРИЛОЖЕНИЕ В СЪВРЕМЕННАТА МЕДИЦИНА

Ивелина Добрева

Тракийски университет – Медицински колеж, Стара Загора, Република България

ivelinadob@abv.bg

Павлина Тенева

Тракийски университет – Медицински колеж, Стара Загора, Република България pl.teneva@abv.bg

Цветана Божкова

Тракийски университет – Медицински колеж, Стара Загора, Република България

bojkova76@abv.bg

Валя Тренчева

Тракийски университет – Медицински колеж, Стара Загора, Република България

Резюме: Стволовите клетки, получени от кръвта от пъпната връв при раждането на детето, имат редица преимущества: те са млади, имат огромен потенциал за делене и диференциация; дозата стволови клетки, получени от пъпна връв, необходима за трансплантация, е около 10 пъти по-ниска в сравнение с тези, получени от костен мозък; имат и абсолютна идентичност с тъканите на детето, от чиято пъпна връв са получени.

Пробите кръв и изолираните стволови клетки се подлагат на задължително тестиране в съответствие с международните стандарти за:

- Съдържание на стволови клетки;
- Кръвна група и HLA типизиране;
- Жизнеспособност на клетките преди типизиране;
- Микробиологични изследвания и др.

Стволовите клетки се замразяват със специална апаратура, осигуряваща оптимална скорост на охлаждане и максимална жизнеспособност на размразените клетки.

Клетките се съхраняват в течен азот при температура -196С, при тази температура те запазват жизнеспособността си за практически неограничен период от време.

Днес чрез използване на стволови клетки от пъпна връв се лекуват:

Метаболитни нарушения: Болест на Krabbe, Синдромът на Hurler

Рак на кръвта: Левкемия, Лимфом, Миелом

Имунни заболявания: Тежка комбинирана имунна недостатъчност, Синдром на Wiskott-Aldrich

Кръвни смущения: Сърповидно-клетъчна анемия, Апластична анемия, Анемия на Fanconi

Тъй като хематопоетичните стволови клетки (HSCs) могат да се трансформират във всякакъв вид кръвни клетки, в момента те се използват при лечението на различни видове рак и заболявания на кръвта, включващи левкемия, лимфом и миелом.

Тази изключителска новаторска медицинска област използва стволови клетки за регенериране или дори замяна на увредени тъкани и органи. мезенхимните стволови клетки (MSCs) се смятат за изключително важна част от бъдещото развитие.

В момента се провеждат изследвания за лечение със стволови клетки на следните заболявания: Аутизъм, Мозъчни травми, Множествена склероза, Церебрална парализа, Болестта на Паркинсон, Болест на Алцхаймер, Загуба на слуха, Костни фрактури, Инсулт, Инфаркт, Чернодробни заболявания, Диабет и др.

Ключови думи: стволови клетки, съхранение, лечение.

Пъпната връв и кръвта от пъпната връв се считат за най-значимият източник на хемopoетични и мезенхимни стволови клетки. Хемopoетични стволови клетки се използват за лечение на злокачествени заболявания в автоложна или алогенна употреба в продължение на повече от двадесет години. Считат се дори за предимство в приложението в сравнение с костния мозък, защото не е необходимо да бъдат напълно съвместими с пациента и затова, ако той ги няма, не е проблем да ги получи от друг донор. За лечение на злокачествените заболявания от решаващо значение е количеството на стволовите клетки, което следва да бъдат пропорционално на теглото на пациента. Последните проучвания показват, че стволовите клетки събрани в лабораторията от плацентата показват силни ангиогенни възможности за лечение на миокарден инфаркт, мозъчен инсулт, церебрална парализа, аутизъм и артериална оклузия като цяло. Стволови клетки от пъпната връв са предназначени основно за детето и са напълно съвместими с него, както и към братя, сестри и родителите. Процента на преживяемост при пациенти, които са получили стволови клетки от семейството е 91% при лечение на злокачествени заболявания.

Стволовите клетки от пъпната връв се използват за лечение на автоимунни заболявания в автоложна употреба като апластична анемия, ревматоиден артрит и лупус, улцерозен колит и болестта на Крон. Най-големите клинични изпитвания с кръвта на пъпната връв са при деца с церебрална парализа, изгаряния и сложни фрактури.

По последни данни мезенхимни стволови клетки доказаха, че подобряват диабетна невропатия и водят до намаляване на болката и изтръпването на крайниците.

VSELs са уникални стволови клетки, с които е наситена кръвта на пъпната връв. Те са изключително малки по своя размер. VSELs остават в кръвта след първоначалното събиране на хематопоетични стволови клетки. Тяхното изолиране продължава в лабораторна среда и преминава през още 3 етапа, докато се отделят, съберат и замразят т.нар. VSELs (много малки ембрионални клетки като стволовите клетки). По време на

вътреутробното формиране на органите, започва тяхното изграждане от обособени популации от VSELs клетки. VSELs са различни клетки, те не са нито хематопоетични, нито мезенхимни, като по своя произход са още по-първични. VSELs могат да се трансформират и в двата типа стволови клетки. Ползата от VSELs е, че от тях може да бъде създадена специфична клетъчна линия за всеки орган, като например черен дроб. В случай на увреждане на черния дроб директно се инжектира клетъчна линия от VSELs, която възстановява и подобрява нормалното му функциониране. По този начин се избягва трансплантация на органи и се свежда до минимум риска от отхвърляне на донорския орган. Основната приложимост на тези клетъчни линии е възстановяване на органи, а не трансплантация.

Въз основа на техния произход, стволови клетки, са категоризирани или като ембрионални стволови клетки (embryonic stem cells (ESCs)), или като постнатални стволови клетки / соматични стволови клетки (postnatal stem cells/somatic stem cells/adult stem cells (ASCs)).

Ембрионални стволови клетки

Ембрионални стволови клетки (ESCs) са получени от ембриони, които са на 2-11 дни наречени бластоцити. Те са стволови клетки на практика, способни на диференциране във всеки тип клетки, включително зародишните клетки. Ембрионалните стволови клетки се считат за безсмъртни, тъй като те могат да се размножават и се да поддържат в недиференцирано състояние неопределено време. Тези стволови клетки имат най-голям потенциал да се регенерират и „ремонтират“ поразените тъкани и органи в тялото. Въпреки, терапевтичната полза на ембрионалните стволови клетки, към момента те не се използват, поради убеждението, че в процеса на извличане на стволови клетки от ембрион се разрушава самия ембрион и някои виждат това като отнемане на живот и има повишаване на моралните и етични съображения. Ембрионалните стволови клетки не са използвани до момента терапевтично и са само една платформа за научни изследвания.

Възрастни стволови клетки (Adult stem cells)

Този тип стволови клетки са открити във възрастни тъкани, от където произхожда и името им. Те са мултипотентни т.е. те са способни на диференциране в повече от един клетъчен тип, но не всички видове клетки. В зависимост от техния произход, стволовите клетки могат да бъдат допълнително класифицирани като хемопоетични стволови клетки (hemopoetic stem cells – HSCs) и мезенхимни стволови клетки (mesenchymal stem cells – MSCs). Хемопоетичните стволови клетки са получени или от кръв от пълна връв или от периферна кръв. Най-често причина за трансплантация на хемопоетични стволови клетки са различните видове рак на кръвта. Мезенхимните стволови клетки са тези, които произхождат от мезодермалния слой на плода и при възрастните пребивават в различни тъкани, като стволови клетки от костен мозък (BMSCs), лимбални стволови клетки, чернодробни стволови клетки, кожни стволови клетки, и т.н.

След като се извлекат стволовите клетки те се транспортират в подходяща среда в лабораторията, където се центрофугират и размножават, а след това се съхраняват в банката за стволови клетки. Банката допълнително ги пасира до получаване колони стволови клетки, даващи правилни индуктивни сигнали за диференциране в необходимите видове клетки. След това те се инжектират/имплантират в пациента. Днес, два общи метода за доставка на клетките са интравенозно инжектиране (директна доставка на клетки) и клетъчно капсулиране на системи (непряка доставка на клетки с помощта на носител). Подходът на клетъчно капсулиране използва биосъвместим, биоразградим материал, конструкция, която се засява с клетки и се имплантира в дефекти, за да се регенерира загубената тъкан.

Има няколко начина за изолиране на стволови клетки, повечето от които се проучват активно. Учените откриват, че много тъкани и органи съдържат малък брой стволови клетки, които им помагат да се поддържат. Възрастни стволови клетки са намерени в мозъка, костния мозък, кръвоносните съдове, скелетния мускул, кожа, зъби, сърцето, червата, черния дроб и други органи и тъкани. Смята се, че живеят в определена област на всяка тъкан, където те могат да останат в латентно състояние в продължение на години, разделят и създават на нови клетки, само когато се активират от нараняване на тъканите, болест или нещо друго, което кара тялото да се нуждае от повече клетки.

Различават се два основни вида трансплантации на [стволови клетки](#), като имената им идват от вида на източника на стволовите клетки:

- Автоложни- стволовите клетки идват от един и същ човек, който ще получи трансплантацията. Този вид трансплантация на стволови клетки се използва главно за лечение на някои левкемии, лимфоми и множествен миелом.

- Алогенни- стволовите клетки идват от съответстващ или несвързан донор.

ИЗПОЛЗВАНЕ НА СТВОЛОВИ КЛЕТКИ ПРИ ЛЕЧЕНИЕ НА НЕОПЛАСТИЧНИ ЗАБОЛЯВАНИЯ

При типичната трансплантация на стволови клетки за лечението на рак се използват много високи дози химиотерапия, понякога заедно с лъчелечение, за да се опитат да убият всички ракови клетки. По този начин обаче се убиват и стволовите клетки в костния мозък. Скоро след лечението с химиотерапия и лъчетерапия, стволовите клетки се трансплантират на мястото на унищожените. Тези стволови клетки се въвеждат във вената, подобно на кръвопреливане. С течение на времето се заселват в костния мозък и започват да растат и да произвеждат здрави кръвни клетки.

СТВОЛОВИ КЛЕТКИ ЗА ЛЕЧЕНИЕ НА АУТИЗЪМ

Причината за лечението на аутизъм с мезенхимални стволови клетки от тъкан от пъпна връв е, че аутизмът и степента му на сериозност са значително свързани с възпалителни и невровъзпалителни цитокини. Интравенозно приложение на мезенхимални стволови клетки от пъпна връв е показано в множество клинични изпитвания за намаляване на възпалението. Намаляването на възпалението в аутистичния пациент може да облекчи симптомите на аутизъм. Чрез прилагането на мезенхимни стволови клетки се наблюдава подобрене при пациентите, лекувани експериментално.

Възрастните стволови клетки, използвани за лечение на аутизъм в института на стволовите клетки, идват от тъкан от човешка пъпна връв (алогенна мезенхима). Пъпната връв се дава от майките след нормални, здрави раждания. Преди да бъдат одобрени за лечение, всички стволови клетки, получени от пъпна връв, се изследват за вируси и бактерии съгласно Международните стандарти за кръвни банки.

Тъй като стволовите клетки от пъпна връв са идеални за лечение на аутизъм, те позволяват на лекарите да прилагат еднообразни дози и не изискват събиране на стволови клетки от пациента, което за аутистичните деца и техните родители може да бъде труден процес. Тъй като те се събират веднага след (нормалното) раждане, клетките, получени от пъпна връв, са много по-мощни от техните „по-стари“ партньори, например клетки, получени от костен мозък. Мезенхимните стволови клетки, произхождащи от пъпна връв, не представляват риск от отхвърляне, защото тялото не ги разпознава като чужди. Мезенхимните стволови клетки от човешка пъпна връв са привилегирани за имунната система и не е необходимо съвпадение на човешкия левкоцитен антиген (HLA).

ПРИЛОЖЕНИЕ НА СТВОЛОВИ КЛЕТКИ ПРИ НЕВРОЛОГИЧНИ ЗАБОЛЯВАНИЯ

В случая на разстройства на мозъка това е един подход, който обикновено се използва в изследванията на лечението: да се използват стволови клетки, за да се заменят нервните (мозъчните) клетки, които вече са загубени като част от болестния процес, като средните мозъчни допаминови клетки при болестта на Паркинсон. Към днешна дата необходимостта от постигането на всичко това е изпълнена само отчасти за неврони, получени от ембрионални стволови клетки или клетки от iPS, и дори данните не са с качество, което да заслужава клинични изпитания.

Разбира се, стволовите клетки не само трябва да се използват за подмяна на неврони за трансплантация. Те могат да бъдат използвани по други начини, по-специално като поддръжник на болни клетки и контролиращо или регулиращо влияние в централната нервна система на пациента, поради което някои видове стволови клетки (например, мозъчни стволови клетки) могат да бъдат уникално полезни при болестта. Например, при множествена склероза такива трансплантации на стволови клетки могат да имат стойност не само при производството на вещества, които подпомагат оцеляването или възстановяването на увредените неврони, но чрез намаляване на възпалението. Това може да се окаже ценен подход, независимо от способността на такива стволови клетки да се превърнат в заместващи нервни клетки

В средата на 18-ти век беше открито, че клетките са основно градивните елементи на живота и, че някои клетки имат способността да произвеждат други клетки. Направени са опити за оплождане на яйцеклетки от бозайници извън тялото, а в началото на 19-ти век се открива, че някои клетки имат способността да генерират кръвни клетки. През 1968 г. първата трансплантация на костен мозък е извършена за успешно лечение на двама брат и сестра с тежка комбинирана имунна недостатъчност. Други ключови събития в изследванията на стволови клетки включват:

- 1978 година : Стволовите клетки са открити в човешка кръв от пъпна връв
- 1981 година : Първа ин витро стволова клетъчна линия, разработена от мишки

- 1988 година : Ембрионални стволови клетки, извлечени от хамстер
- 1995 година: Първа линия на ембрионални стволови клетки, получена от примат
- 1997 година : Клонирание на агне от стволови клетки (овцата Доли). Професор Йън Уилмът е основният „виновник“ за раждането на овцата Доли, клонинг на зряло животно.
- 1997 година: Произход на левкемия, намерен като хематопоеична стволова клетка, показващ възможно доказателство за ракови стволови клетки.

През 1998 г. в университета в Уисконсин се изолират клетки от вътрешната клетъчна маса на ранните ембриони и се развиват първите линии на ембрионални стволови клетки. След това, през 1999 и 2000 г. , учените открили, че манипулирането на тъканите на възрастни мишки може да доведе до различни клетъчни типове. Това означава, че клетките от костния мозък могат да произвеждат нервни или чернодробни клетки и клетки в мозъка също могат да дадат други клетъчни типове. Тези открития са вълнуващи за областта на изследванията на стволови клетки, с обещанието за по-голям научен контрол върху диференциацията и разпространението на стволови клетки.

През последните няколко години националните политики и дебати сред обществеността, както и религиозни групи, правителствени служители и учени доведоха до различни закони и процедури относно събирането, разработването и лечението на стволови клетки за целите на изследванията или болестите. Целите на тези политики са да се защити обществеността от неетични изследвания и употреба на стволови клетки, като същевременно се подкрепят нови постижения в тази област.

Докато десет клетъчни терапии са одобрени по света от януари 2016 г., единствената широко използвана терапия със стволови клетки до този момент е костно-мозъчната трансплантация. Кръвообразуващите стволови клетки в костния мозък са първите стволови клетки, които трябва да бъдат идентифицирани и са първите, които се използват в клиниката. Тази животоспасяваща техника е помогнала на хиляди хора по целия свят, които са страдали от рак на кръвта, като левкемия например.

В допълнение към текущата им употреба при лечение на рак, изследванията показват, че трансплантациите на костен мозък ще бъдат полезни и при лечението на автоимунни заболявания и за помагането на хората да понесат трансплантираните органи.

Другите терапии, базирани на възрастни стволови клетки, понастоящем са в клинични проучвания. Докато тези изпитвания не бъдат завършени, няма да знаем кой тип стволови клетки е най-ефективен при лечението на различни заболявания.

Обещанието за ембрионални стволови клетки е, че те могат да образуват всякакъв вид клетки в тялото. Проблемът е, че когато се имплантират в животно, те правят точно това, под формата на тумори, наречени тератоми. Тези тумори се състоят от маса от много типове клетки и могат да включват космените клетки и много други тъкани.

Тези тератоми са една от причините, поради които е необходимо да се развият ембрионалните стволови клетки във високо пречистени типове възрастни клетки преди имплантирането им в човека. Почти всички доказателства показват, че зрелите клетки са ограничени до тяхната единствена идентичност и не изглежда да се върнат към клетка, образувача тератома.

Трансплантираните стволови клетки, като всеки трансплантиран орган, могат да бъдат разпознати от имунната система като чужди и след това отхвърлени. При трансплантациите на органи като черен дроб, бъбреци или сърце, хората трябва да бъдат на имунно потискащи лекарства до края на живота си, за да предотвратят имунната система да разпознава този орган като чужд и да го унищожава.

Стволовите клетки, генерирани чрез клетъчна технология, от друга страна, са с перфектно генетично съвпадение. Иmunната система вероятно ще пренебрегне, че трансплантираните клетки я виждат като нормална част от тялото. Все пак някои предполагат, че дори ако клетките са напълно съчетани, те може да не изчезнат изцяло от известието за имунната система. Раковите клетки, например, имат същата генетична съставка като заобикалящата ги тъкан и въпреки това имунната система често идентифицира и унищожава ранните тумори.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Дукова, П. М. (2014). *Лабораторна хематология второ издание*. София: Стено.
- [2] Цветкова, Т. (1998). *7. Клиничнолабораторни резултати II част. Подходи и избор на анализа. Оценка и корелация на резултатите*. Пловдив: Медицински издателство ЕТ“Васил Петров“ – ВАП, Пловдив 1998.

- [3] Чакъров, С. Р. (2015). *Стволови клетки*. София: АИ "Марин дринов".
- [4] www.biohellenika.bg
- [5] www.future-health.bg