



Cordonul ombilical: o sursă bogată și etică de celule stem, în avantajul medicinii regenerative

Articol publicat cu sprijinul companiei Cryo Stem Health, reprezentanta
în România a Băncii de celule stem nr. 1 în Europa: Cryo-Save

**N. Forraz,
C.P. McGuckin**

CTI-Lyon,
Institutul de Cercetare
al Terapiei cu Celule,
Parc Technologique de Lyon,
St. Priest, St. Priest Lyon,
Franța

Abstract

Medicine and science are put their hopes in regenerative medicine and development of stem cells research. The present study try to define regenerative medicine concept focusing on the abundant source of stem cells, neonatal tissue, also called umbilical cord. The blood taken from umbilical cord is utilized in therapy already since 20 years ago like a cells source for the hematopoietic stem cells transplant. Stem cells taken from umbilical cord have been demonstrated a high potential in pluripotent differentiation (liver, pancreas, neural tissue, and also other organs too) both in vitro and in vivo. These promising researches have been inaugurated a new age for neonatal stem cells utilization used nowadays out of hematology too, in clinical studies for the immune system disorders, cerebral paralysis or diabetes.

Keywords: stem cells, regenerative medicine, umbilical cord

Rezumat

Știința și medicina își pun mari speranțe în dezvoltarea cercetării celulelor stem și în medicina regenerativă. Prezentul articol încearcă să definească conceptul de medicină regenerativă, concentrându-se pe sursa abundentă de celule stem, țesutul neonatal, denumit și cordonul ombilical. Sângele prelevat din cordonul ombilical este utilizat în terapie deja de mai bine de 20 de ani ca o sursă de celule pentru transplantul de celule stem hematopoietice. Celulele stem extrase din cordonul ombilical au demonstrat un mare potențial în diferențierea pluripotentă (ficat, pancreas, țesut neuronal, cât și altele organe) atât in vitro, cât și in vivo. Aceste cercetări promițătoare au inaugurat o nouă epocă pentru utilizarea celulelor stem neonatale, folosite în prezent și în afara hematologiei, în studiile clinice pentru tulburări ale sistemului imunitar, paralizie cerebrală sau diabet.

Cuvinte-cheie: celule stem, medicină regenerativă, cordon ombilical

Introducere

„Celulele stem”: niciodată în istoria științei și a medicinei nu au mai existat alte două cuvinte care să trezească atât de mult interes, o pasiune atât de mare și speranță în rândul comunităților științifice, medicale, publice, etice, religioase, politice și comerciale (Prolif. celulară, 2011, 44 (Suplim. 1), 60-69 doi: 10.1111/j.1365-2184.2010.00729.x). Cu toate acestea, este important să se clarifice faptul că, în ciuda multiplelor reușite clinice semnificative și a promisiunilor mărețe, celulele stem nu reprezintă singura modalitate de vindecare a tuturor bolilor. Cercetările biomedicale și tratamentele viitoare se vor baza pe inovațiile din medicină, chirurgie, tehnologie și/sau farmacie.

Acest articol subliniază conceptele din jurul aplicațiilor cu celule stem și a medicinei regenerative și se va concentra în special pe sursa cea mai abundentă de celule stem, cordonul ombilical. Acest țesut sprijină fiziologic dezvoltarea copilului de la stadiul de fetus până la naștere, ca apoi să poată fi utilizat pentru cercetări biomedicale și în aplicații clinice.

Medicina regenerativă

Progresele din domeniul științei, medicinei și chirurgiei au ajutat omenirea să îmbunătățească sănătatea globală, deși sunt incongruențe semnificative în accesarea serviciilor medicale la nivel mondial între țările dezvoltate și cele în curs de dezvoltare, fiind propuse mai multe definiții pentru termenul de „medicină regenerativă”⁽¹⁻³⁾. Kaiser, un economist în domeniul sănătății care previzionează tehnologiile medicale viitoare, a prezentat acest concept pentru prima dată în anul 1992 ca o încercare de a micșora numărul de boli cronice și de a reabilita organele bolnave care prezentau tulburări de funcționare⁽⁴⁾.

O dată cu dezvoltarea schemelor imunosupresoare, medicina transplanturilor și chirurgia secolului XXI au făcut posibilă tratarea pacienților care nu ar mai fi avut alte alternative terapeutice. Totuși, penuria de donatori de organe a crescut semnificativ o dată cu cererea clinică.

Dacă luăm drept exemplu ficatul, se estimează că 70% dintre pacienții care așteaptă un transplant de

ficat în țările Uniunii Europene prezintă un procent de 3% de a găsi un donator. Această penurie persistentă de donatori de ficat a dus la o rată a mortalității de 20% pe an dintre persoanele aflate pe listele de așteptare⁽⁵⁾.

Stilul modern de viață a dus de asemenea la o creștere a prevalenței diabetului (de tip I și II) și a bolilor cardiovasculare, ambele provocând complicații majore (infarct, insuficiență renală și altele) și numai în SUA costurile anuale ale serviciilor medicale sunt de 475 miliarde de dolari (sursă: Institutul Național de Sănătate din SUA).

Aceste provocări reprezintă oportunități pentru domeniul medicinei regenerative. Scopul acestora este să adune diverse specialități și tehnologii științifice, pentru a reabilita funcțiile deficitare ale țesuturilor și organelor provocate de boli, accidente sau chiar alte tratamente.

Inovația și cercetarea în domeniul nanotehnologiilor, materialelor biologice, ingineria țesuturilor, bio-imagistică reprezintă cheia către progresul medicinei regenerative, așa cum s-a putut demonstra prin recente studii de caz. În 2006, Atala și colegii săi au izolat celule de la pacienți cu disfuncții ale vezicii urinare și le-au cultivat pe structuri biologice sub formă de vezică. Aceste vezici artificiale au fost implantate ulterior cu succes pacienților, funcțiile acestora fiind reabilitate⁽⁶⁾. Mai recent, Macchiani și colegii săi din cadrul unui consorțiu internațional au efectuat un transplant la un adult în Spania, cu un segment de trahee artificial. Traheea donatorului acelușar a fost cultivată împreună cu celulele epiteliale și condrocitele extrase din celulele stem mezenchimale, cultivate anterior *in vitro*^(7,8). Această tehnică a fost repetată în anul 2010 în Marea Britanie, la un copil ce prezenta un segment traheal cu o lungime anormală. Până în momentul de față nu s-au raportat complicații, deoarece traheele donate au fost decelularizate și reconstruite folosind celulele pacientului. De asemenea, nu au fost raportate complicații imunologice, ambii pacienți ducând o viață normală fără imunosupresoare (la 18 luni, respectiv 5 luni după efectuarea transplantului). Astfel de cazuri clinice sigure și pasionante din domeniul medicinei regenerative ilustrează nevoia de cercetări interdisciplinare și înțelegerea potențialului total al celulelor stem pentru aplicațiile clinice.

Celulele stem

Celulele stem sunt definite de capacitatea acestora de a se diviza și produce (cel puțin o) celulă stem identică (autoînnoire) și de a realiza o diferențiere lineară⁽⁹⁾. În funcție de potența celulelor stem de a produce una sau mai multe linii celulare, acestea se împart în totipotente (de exemplu, zigotul, singura celulă sexuală capabilă să producă toate celulele și țesuturile unui organism), pluripotente (având capacitatea de a produce celule și țesuturi din toate cele trei straturi embrionare - ectoderm, mezoderm și endoderm), multipotente (având capacitatea de a produce mai mult decât o linie celulară) sau unipotente (diferențiere într-un singur tip de celulă).

La începutul anilor 1990, Maximow a fost primul care a sugerat că limfocitele se comportă ca celule stem obișnuite și migrează prin țesuturi pentru a forma componentele circulației sangvine⁽¹⁰⁾, însă anii 1960 reprezintă adevăratele începuturi ale cercetării celulelor stem conform datelor actuale. Cercetările efectuate de Till și McCulloch, Goodman și Hodgson au demonstrat pe șoareci că măduva oaselor conține celule stem din care se pot extrage precursori clonogenici și că se poate reabilita hematopoieza la animalele iradiate^(11,12). Această lucrare a evoluat simultan cu transplantul celulelor stem umane pentru înlocuirea măduvei osoase⁽¹³⁾. În același timp, cercetările efectuate de Edwards și colegii săi au generat primele linii de celule stem embrionare la iepuri⁽¹⁴⁾, fapt ce a evoluat mult mai târziu în dezvoltarea primei linii de celule stem embrionare umane⁽¹⁵⁾.

Celulele stem embrionare

Celulele stem embrionare (ESCs) umane sunt derivate *in vitro* din blastocistele unui embrion, rămase de obicei în urma fertilizării *in vitro*. ESCs sunt linii celulare derivate din embrioblastul unui embrion în stadiul de blastocist. Acestea se răspândesc *in vitro* păstrând în același timp un stadiu nediferențiat, și sunt capabile să se divizeze în mai multe tipuri de celule somatice specializate în condiții adecvate (pluripotente). Părerile controversate au dominat lumea cercetărilor biomedicale de la derivarea primelor linii de celule stem embrionare umane, întrucât se recurge la distrugerea unui embrion uman. Cu toate acestea, în afara obiecțiilor etice ridicate în cercetările cu privire la celulele ESCs umane, obstacolele tehnice semnificative au încetinit de fapt progresul către aplicații clinice, cel puțin starea imunogenă, formarea spontană de teratocarcinoame la transplant și instabilitatea genetică/genomică în sistemele de cultivare celulară în timpul extinderii⁽¹⁶⁾.

Celulele stem adulte

Celulele stem adulte sau somatice pot fi izolate din anumite țesuturi umane (creier, piele, intestine, măduva osoasă, țesut adipos, cornee și altele). Au o abilitate limitată de a regenera țesuturi deteriorate fiziologic. Deși potențialul acestora de diferențiere este considerat de unii oameni de știință a fi mai scăzut decât cele ESCs, izolarea acestora, caracterizarea și transpunerea în studii clinice și pre-clinice au crescut în ultimele două decenii, cel puțin în domeniul hemato/imunoterapiilor, dar recent și pentru anumite boli cardiovasculare⁽¹⁷⁾, vindecarea rănilor^(18, 19), regenerarea corneei⁽²⁰⁾ sau chiar, deși într-o manieră mai puțin avansată, pentru scleroza multiplă⁽²¹⁾. În afară de celulele stem specifice țesuturilor, celulele stem mezenchimale (MSCs) au fost caracterizate la început ca fiind o populație celulară aderentă, similară fibroblastelor, derivate din măduva osoasă cu potențial și capacitate de a suporta hematopoieza^(22,23). Studiile ulterioare au demonstrat potențialul acestora de a se diferenția inițial în trei linii

specifice, linii de osteocite, condrocite și adipoase, ulterior în mai multe țesuturi endodermice, mezodermice și ectodermice^(24,25).

Au fost propuse diferite țesuturi adulte ca surse pentru MSCs: măduva osoasă, țesutul adipos, membrană sinovială, pulpa dentară și altele. Testele clonogenice și markerii putativi au fost de asemenea propuse pentru MSCs, a căror biologie este din ce în ce mai bine înțeleasă și standardizată⁽²⁶⁾.

Celulele stem pluripotente induse

Descoperirile recente de celule stem pluripotente induse (IPSCs), prin lucrările inițiale executate de Yamanaka și colegii săi, mai întâi pe șoareci și apoi pe oameni, au relevat într-o anumită măsură unele limitări etice și științifice ale cercetării în domeniul ESCs⁽²⁷⁾. Această tehnică constă în utilizarea de celule somatice diferențiate terminal și inducerea expresiei unui număr de gene în acestea pentru a produce linii stabile de celule stem pluripotente asemănătoare cu cele embrionare. Această tehnică oferă posibilitatea interesantă de a crea linii de celule stem specifice pacientului. Cu toate acestea, semnificația acesteia pentru aplicații clinice relevante rămâne necunoscută, în mare parte datorită eficienței scăzute a genelor induse. Sunt investigate noi tehnici pentru a genera celule IPSCs cu modificări genetice minime sau non-exogene⁽²⁸⁾.

Celulele stem neonatale

Grupul nostru de cercetători a investigat o categorie distinctă de celule stem somatice numite celule stem „neonatale”, derivate din diverse țesuturi biologice considerate adesea reziduuri biologice după naștere, mai degrabă decât resurse biologice, și anume lichid

amniotic, placenta, cordonul ombilical și sângele din cordon^(29,30). Cu peste 135 milioane de nașteri anual la nivel mondial (CIA SUA Factbook, 2009), țesuturile neonatale reprezintă în mod obiectiv cea mai vastă și diversă din punct de vedere genetic sursă de celule stem ce poate fi accesată într-o manieră non-invazivă, rapidă și cu un preț accesibil, în timpul și după naștere.

Cordonul ombilical, ca sursă de celule stem

Din a treia săptămână de dezvoltare, embrionul uman se atașează printr-un cordon de placenta în formare. În săptămâna a 5-a, se formează un cordon ombilical primitiv în formă de inel ombilical. În săptămâna a 10-a, după dezvoltarea tractului gastrointestinal al fătului, ombilicul apare ca o hernie conectată la cordonul ombilical.

Cordonul ombilical este acoperit cu un epiteliu amniotic care protejează o matrice gelatinoasă și elastică din mucopolizaharide (în mare parte acid hialuronic și sulfat de condroitină) denumită „Gelatina lui Wharton”, după dr. Thomas Wharton, care a descris-o pentru prima dată în 1656⁽³¹⁾. Membrana amniotică și gelatina lui Wharton protejează trei vase de sânge cu o importanță crucială pentru dezvoltarea embrionară și fetală. Un vas ombilical mare furnizează fătului aflat în dezvoltare sânge placentar, bogat în nutrienți și oxigen și în ultimul trimestru anticorpi importanți oferiiți de mamă. Două vase ombilicale mai mici transportă de la făt sângele cu dioxid de carbon, reziduuri și alte toxine. Astfel, cordonul ombilical poate oferi celule stem din sângele care curge prin vasele ombilicale, pereții care înconjoară vasele și gelatina lui Wharton.

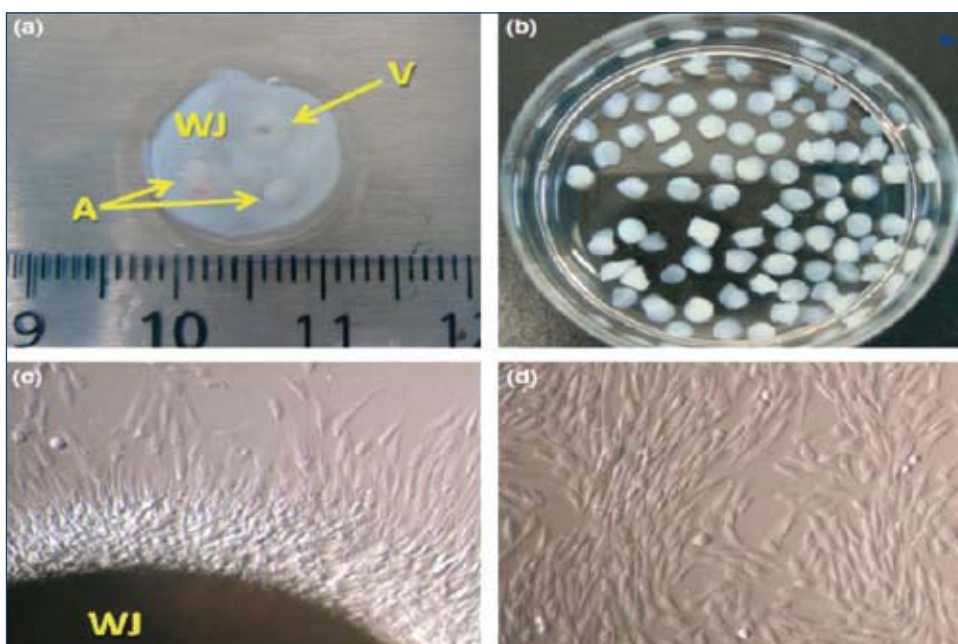


Figura 1. Gelatina lui Wharton din cordonul ombilical ca sursă de celule stem mezenchimale. (a) Plan sagital cordon ombilical cu diametrul de 1 cm cu gelatina lui Wharton (WJ) ce înconjoară două artere (A) și o venă (V). (b) Secțiuni biopsie de 10 mm² din gelatina lui Wharton. (c) Porțiune din gelatina lui Wharton (WJ) dintr-o cultură lipsită de ser de celule stem mezenchimale. (d) Celule stem mezenchimale din cordonul ombilical cu o confluență de 80% în cultură lipsită de ser

Celulele stem din sângele cordonului ombilical

Sângele cordonului ombilical poate fi recoltat la naștere utilizând un kit steril de recoltare format dintr-o pungă de recoltare ce conține substanțe anticoagulante (de regulă, citrat sau heparină) conectat la unul sau mai multe ace de recoltare. Mostrele de sânge din cordonul ombilical pot fi recoltate *in utero*, după nașterea copilului și înainte de scoaterea placentei sau *ex utero*, din secțiuni rezultate la nașterea naturală sau prin cezariană fără nici un fel de dureri pentru mamă sau copil (figura 1).

Într-un studiu recent, grupul nostru de cercetare a demonstrat că celulele stem din cordonul ombilical și alte populații celulare, în general, au fost influențate de istoria obstetricii și alți factori materni⁽³⁰⁾. Unitățile de sânge din cordonul ombilical sunt transferate de obicei către un laborator, unde sunt supuse unui proces de separare celulară pentru a extrage pelicula leucocitară și/sau amestecuri de celule îmbogățite cu celule stem. Astfel, există tehnici diferite pentru a extrage celulele din sângele cordonului ombilical, precum: separarea centrifugară, formarea de rulo-uri, metode pe bază de amidon și metode cu gradient de densitate, printre altele⁽³²⁻³⁴⁾ (figura 1).

Din punct de vedere istoric, sângele din cordonul ombilical conține celule progenitoare/stem hematopoietice care au capacitatea de a produce descendenți clonali. În 1974, Knudtson⁽³⁵⁾ a fost primul care a confirmat prezența celulelor cu potențial clonogenic hematopoietic în sângele cordonului ombilical *in vitro*. Broxmeyer și colegii săi au publicat în 1989 un raport care confirma prezența celulelor stem hematopoietice în sângele cordonului ombilical⁽³⁶⁾. Studiile ulterioare au verificat potențialul clonogenic al acestora, proprietatea de autoînnoire și capacitatea de expansiune *in vitro*⁽³⁷⁻⁴¹⁾.

Grupul nostru de cercetători a analizat diferențele grupări de celule prezente în sângele cordonului ombilical pentru a face distincția dintre fenotipurile de celule stem și celule progenitoare și ulterior dintre grupurile de celule hematopoietice și non-hematopoietice^(40,42). În 2004, echipa noastră a raportat pentru prima dată descoperirea de celule stem

similare cu cele embrionare pluripotente non-hematopoietice în sângele cordonului ombilical, denumite celule stem similare celor embrionare din sângele cordonului ombilical (CBE). Investigațiile suplimentare efectuate pe aceste celule au demonstrat că acestea pot fi recoltate din unități proaspete și crioconservate având un potențial de expansiune și diferențiere în precursori neurali, hepatobiliari și pancreatici⁽⁴³⁻⁵⁰⁾. Această descoperire revoluționară, deși controversată în acea perioadă, a fost confirmată de atunci de câteva alte grupuri de cercetători⁽⁵¹⁻⁵⁵⁾.

Celulele stem din cordonul ombilical

În plus, s-au realizat identificarea și izolarea MSCs multipotente din sângele cordonului ombilical cu potențial de diferențiere mai restrictiv și variabilitate semnificativă între mostre^(date nepublicate;56-58). Aceste studii au demonstrat că sângele cordonului ombilical are un potențial în afara diferențierii hematopoietice și poate fi luat în considerație pentru cercetări ulterioare în domeniul medicinei regenerative⁽⁵⁹⁾.

Celulele stem din gelatina lui Wharton

O serie de grupuri de cercetători au raportat recent posibilitatea de a deriva MSCs nu doar din sângele cordonului ombilical, ci și din matricea cordonului ombilical - gelatina lui Wharton. McElreavey și colegii săi au raportat pentru prima dată în 1991 posibilitatea de a izola celulele fibroblaste cu potențial de creștere a populației celulare din gelatina lui Wharton⁽⁶⁰⁾. Au fost raportate câteva tehnici de disecare mecanică a gelatinei lui Wharton și/sau de a digera enzimatic pentru a cultiva populații omogene de MSCs.

Academia Franceză de Medicină a prezentat în ianuarie 2010 un raport prin care arătau că cercetările asupra celulelor stem din cordonul ombilical erau extrem de promițătoare și ar putea furniza noi instrumente pentru tratarea anumitor boli. O singură porțiune de 5-10 mm³ din gelatina lui Wharton are potențialul de a produce 1 miliard de MSCs în 30 de zile (Degoul O., Jurga M., Forraz N. și McGuckin C.P. date personale nepublicate). În cazul unui cordon ombilical obișnuit care măsoară 50 cm, se poate previziona că această



Figura 2. Recoltarea și procesarea sângelui din cordonul ombilical. (a) Sângele cordonului ombilical este recoltat după naștere din vena ombilicală în (b) punga de recoltare de sânge cu anticoagulant pe bază de citrat. (c) Dispozitivul Sepax permite procesarea sângelui din cordonul ombilical în sistem închis în aproximativ 20 de minute

sursă de MSCs va deveni tot mai relevantă pe măsură ce cercetările vor avansa (figura 2).

MSCs derivate din gelatina lui Wharton sunt considerate mai robuste decât cele din sângele cordonului ombilical și astfel, prin natura lor, sunt mai puțin invazive decât cele din măduva osoasă⁽⁶¹⁾. Unele studii au arătat că MSCs derivate din cordonul ombilical pot fi diferențiate în linii osoase^(62,63), ale pielii⁽⁶⁴⁾, endoteliului⁽⁶⁵⁾, hepatocite^(66,67) și neurale⁽⁶⁸⁾. S-a arătat că proprietățile imuno-modulatoare ale MSCs din cordonul ombilical sunt identice cu cele ale MSCs derivate din măduva osoasă⁽⁶⁹⁾. Potențialul acestei surse de celule stem este prin urmare enorm pentru aplicațiile din medicina regenerativă.

Vasele sangvine ale cordonului ombilical

Cordonul ombilical este o sursă de celule progenitoare endoteliale. Acestea au fost identificate pentru cercetările angiogenetice și vasculogenetice și ca țesuturi model, cel puțin cu izolarea standard a celulelor endoteliale ale venei cordonului ombilical (HUVEC)⁽⁷⁰⁾. Rolul acestora în hematopoieză a fost demonstrat și de faptul că HU-VEC produc factori de creștere și molecule de adeziune ce pot induce păstrarea și proliferarea progenitorilor hematopoietici ai sângelui cordonului ombilical⁽⁷¹⁾. În 2003, Saraguser și colegii săi au sugerat că vena ombilicală și HUVEC sunt o sursă de celule perivasculare - pericite. Pentru studiul acestora, aceștia au presupus că vasele sangvine ale cordonului ombilical erau o potențială sursă pentru o populație distinctă de pericite, care erau strămoșii MSCs descoperite în gelatina lui Wharton⁽⁷²⁾. Această ipoteză a fost coroborată de atunci în studii suplimentare care au identificat aceste pericite anterioare MSCs și în alte țesuturi adulte^(73,74).

Celulele stem din cordonul ombilical și sângele cordonului ombilical pentru medicina regenerativă

Hemato/imunoterapii

În anul 1939, dr. Halbrecht a publicat două rapoarte privind utilizarea sângelui placentar pentru transfuzii. Sângele placentar depozitat pentru o perioadă de până la 15 zile a fost folosit pentru 220 de transfuzii cu efecte minime sau fără efecte nedorite asupra pacienților^(75,76). Ende și Ende au raportat în 1972 primul caz clinic, utilizând opt unități de sânge din cordonul ombilical pentru a realiza transfuzii unui pacient de 16 ani diagnosticat cu leucemie⁽⁷⁷⁾. Aceste studii au dus la efectuarea unui transplant la un copil ce suferea de insuficiență medulară ereditară, anemia Fanconi, folosind sângele cordonului ombilical aparținând surorii sale, în 1998; sângele din cordonul ombilical al acesteia a fost colectat și conservat la naștere⁽⁷⁸⁾. Wagner și colegii săi au inițiat în 1995 primele bănci voluntare de familie pentru tinerii pacienți care aveau un frate/o soră compatibil(ă) și de la care se putea recolta la naștere sânge din cordonul ombilical⁽⁷⁹⁾.

Progresul tehnic în transplanturile de măduvă osoasă au fost stingerite de penuria de donatori compatibili de măduvă osoasă, și, în 1991, Centrul de Sânge din New York a creat prima bancă publică de sânge din cordonul ombilical din SUA. Astăzi, aceasta deține cel mai vast registru public de sânge din cordonul ombilical și în 1995 a furnizat o mostră de sânge din cordonul ombilical pentru primul transplant de sânge din cordonul ombilical între persoane neînrudite⁽⁸⁰⁾. Sângele cordonului ombilical comparat cu măduva osoasă a fost identificat rapid ca fiind o sursă valoroasă de celule stem pentru aplicații clinice; oferă mai multe compatibilități HLA tolerate între donator și pacient, are drept rezultat mai puține boli grefă contra gazdă, fiind disponibil din bănci biologice. În transplantul de măduvă osoasă, timpul de prindere a transplantului și doza de celule disponibilă au fost raportate ca fiind dezavantaje majore ale utilizării sângelui cordonului ombilical ca opțiune de transplant hematologic. Cu toate acestea, începând cu anul 2000, transplanturile cu unități duble și triple de sânge din cordonul ombilical au fost standardizate și aplicate la pacienți copii și adulți. Descoperirile recente privind tehnicile de prindere și protocoalele robuste de expansiune *ex vivo* au crescut de asemenea potențialul sângelui din cordonul ombilical pentru reconstrucție imună și hematopoietică^(81,82). Astăzi, peste 20.000 de transplanturi de sânge din cordonul ombilical au avut loc în întreaga lume pentru transplanturi alogene între rude (frați/surori) și persoane neînrudite, majoritatea pentru a trata pacienți cu boli hematologice și imunologice ce necesitau reabilitarea hematopoiezei sau a sistemului imunitar⁽⁸³⁾. Au fost raportate foarte puține cazuri clinice de utilizare autologă de sânge din cordonul ombilical pentru transplanturi, în vederea reabilitării hematopoiezei⁽⁸⁴⁻⁸⁶⁾.

Celulele stem din cordonul ombilical și sângele cordonului ombilical pentru aplicații non-hematopoietice

Progresele în cercetările biomedicale și mediile stricte de reglementare vor contribui împreună la dezvoltarea de trialuri clinice pentru terapia bazată pe celule stem. Oamenii de știință și clinicienii nu trebuie să aibă o perspectivă hematocentrică pentru utilizarea celulelor din sângele cordonului ombilical și din țesutul cordonului ombilical, întrucât studiile clinice recente largesc potențialul celulelor stem neonatale pentru aplicații clinice în afara hematopoeziei.

Diabet de tip 1. Diabetul de tip 1 este o afecțiune autoimunitară ce provoacă distrugerea celulelor pancreatice beta producătoare de insulină prin celule T. Această afecțiune este ținută sub control de pacienți prin administrarea de insulină exogenă pe întreaga durată a vieții. În urma unor studii *in vitro* și *in vivo* pe animale, a avut loc un posibil test clinic sub supravegherea dr. Haller și a colegilor săi de la Universitatea din Florida, SUA, în cadrul cărora 15 copii au primit infuzii

din propriile celule extrase din sângele cordonului ombilical. La trei-șase luni după infuzie, toți pacienții au demonstrat încetinirea pierderii producției de insulină endogenă, corelată cu necesități zilnice de insulină mai scăzute, nivele HbA1c îmbunătățite și o creștere a celulelor T, sugerând un potențial efect imuno-modulator ca mecanism de acțiune pentru acest tratament. Deși evaluarea realizată după 1 an de la infuzie a confirmat securitatea terapiei autologe cu sânge din cordonul ombilical pentru diabetul de tip I, nu s-au observat până în prezent îmbunătățiri semnificative ale producției endogene de C-peptide, a necesarului de insulină sau nivelurilor HbA1c. În plus, nu s-au observat modificări ale rapoartelor fenotipurilor de celule T sau titrului de anticorpi. S-a sugerat că doza de celule și multiplele infuzii de celule din sângele cordonului ombilical ar putea fi necesare pentru a îmbunătăți echilibrul glicemic la pacienții cu diabet de tip I⁽⁸⁷⁻⁸⁹⁾.

Lupus eritematos sistemic. Lupusul eritematos sistemic (SLE) este o afecțiune autoimună cronică provocată de producerea de anticorpi împotriva țesuturilor conjunctive, ducând cel mai adesea la inflamația semnificativă a pielii, articulațiilor și rinichilor, deși și alte organe pot fi afectate. La Universitatea de Medicină din Nanjing, China, s-a raportat recent efectuarea unui test clinic eficient și sigur pe 16 pacienți cu SLE rezistenți la terapia standard, la primirea transplantului alogenic de MSCs derivate din cordonul ombilical. La 15 luni după transplant, toți pacienții au experimentat o ameliorare semnificativă a afecțiunii (înregistrată de indexul activității afecțiunii SLE) și a funcțiilor renale, rezultate serologice îmbunătățite (anticorpi antinucleari, anticorpi anti-ADN dublu catenari, complement C3, albumină), creșterea celulelor T și stabilizarea citochinelor pro-inflamatorii. Aceste rezultate inițiale încurajatoare vor fi urmate de un test clinic controlat aleatoriu⁽⁹⁰⁾.

Epidermoliza buloasă. Epidermoliza buloasă (EB) este o afecțiune mutativă genetică, ce provoacă un deficit al pielii în collagen, laminină, integrină și/sau plachină. Pacienții suferă de obicei de erupții veziculare la nivelul tegumentelor și mucoaselor. Un studiu clinic efectuat de Wagner și colegii săi de la Centrul de Cercetare al Universității din Minnesota au vizat pacienții care au suferit un transplant de celule stem din măduva osoasă și din cordon ombilical. Rezultatele preliminare ale acestui studiu au arătat că pacienții au experimentat o ameliorare a afecțiunii cu reducerea veziculelor și producerea de piele sănătoasă⁽⁹¹⁾ (Comunicat de la Conferința Cercetărilor în domeniul Celulelor Stem, noiembrie 2009, Monaco și clinicaltrials.gov nr. ref. NCT01033552).

Afecțiuni metabolice ereditare. Mulți pacienți cu afecțiuni metabolice ereditare experimentează degenerarea progresivă a sistemului nervos central. Transplantul de celule stem recoltate din sângele cordonului ombilical (precum și celule stem din măduva osoasă și din sângele periferic) este deja folosit pentru a trata pacienții cu afecțiuni metabolice ereditare cu tulburări

de depozitare peroxisomală și/sau lizozomală. Câteva studii preclinice și clinice au confirmat faptul că celulele derivate din sângele cordonului ombilical care conțin un nivel normal de enzime au un potențial ridicat de a migra către organe non-hematopoietice și de a declanșa corecția încrucișată a celulelor cu deficit de enzime ale beneficiarului și au o relevanță mare pentru regenerarea neurală⁽⁹²⁾.

Asfizia neonatală și paralizia cerebrală. Paralizia cerebrală este un termen generic care se referă la un număr de afecțiuni ce apar în copilăria timpurie care afectează coordonarea mușchilor și mișcările corpului. Asfizia fetală, neonatală și cea post-natală duc adesea la afecțiuni ale paraliziei cerebrale, din cauza leziunilor neurologice provocate.

Pe lângă îmbunătățirile neurologice observate la pacienții tratați pentru afecțiuni metabolice ereditare, câteva studii preclinice au demonstrat că celulele stem derivate din sângele cordonului ombilical pot induce procese endogene de reparare neurală. Deși mecanismele precise ale acțiunii nu sunt confirmate încă, infuzia de celule din sângele cordonului ombilical după ischemia cerebrală a arătat că poate induce neurogeneză și aduce factorii trofici cu efecte neuroprotectoare la locul leziunii^(29,30,59).

În plus, un studiu clinic pilot efectuat la Universitatea Duke, SUA, evaluează în prezent siguranța celulelor din sângele cordonului ombilical la nou-născuți cu encefalopatie hipoxi-ischemică. Celulele stem din sângele cordonului ombilical au fost furnizate de 14 bănci private și în prezent 188 de pacienți (cu vârsta între 1 săptămână și 9 ani) au fost infuzați cu celule autologe din sângele cordonului ombilical cu o doză celulară minimă de 1 x 10⁷ celule/kg. Infuziile au fost tolerate bine și nu s-au raportat încă efecte clinice adverse. Acești copii vor fi monitorizați pentru rezultate neuroevolutive și de imagistică funcțională MRI (clinicaltrials.gov nr. ref. NCT00593242 și Kurtzberg în comunicatul de la al 8-lea Simpozion Internațional Anual privind Transplanturile, San Francisco, iunie 2010).

Într-un studiu suplimentar a fost inițiat un test clinic al Colegiului Universității din Georgia, SUA, pentru copiii diagnosticați cu paralizie cerebrală, ai căror părinți au prelevat sânge din cordonul ombilical. Pacienții incluși au vârsta între 2 și 12 ani și prezintă dovezi clinice de dizabilități motorii non-progresive (clinicaltrials.gov nr. ref. NCT01072370).

Depozitarea celulelor stem neonatale

Există multe dispute științifice, etice și politice în jurul conceptului de depozitare a sângelui din cordonul ombilical și al altor celule și țesuturi neonatale, pentru aplicații clinice. În cele mai multe țări, părinții primesc informații pentru a aproba donarea sângelui din cordonul ombilical către o bancă publică unde mostrele sunt anonime și depozitate pentru scopuri alogeneice neînrudite (sau uneori între frați/surori) (în general numai pentru hematoterapie) atât timp cât îndeplinesc anumite criterii de control al calității. Costurile depo-

zitării sunt suportate de băncile publice, de obicei prin finanțare publică din partea statului. Alți părinți decid să depoziteze sângele din cordonul ombilical în bănci private. Mostrele din sângele cordonului ombilical sunt apoi disponibile pentru utilizări viitoare autologe sau alogenice între frați/surori, dacă este necesar. Cu toate acestea, inițiativele recente au oferit un al treilea model de depozitare a sângelui din cordonul ombilical printr-un model mixt de bancă, mostrele fiind depozitate de familie, dar putând fi donate către pacienți compatibili ce au nevoie de un transplant.

În prezent, sunt disponibile peste 400.000 de mostre de sânge din cordonul ombilical de la registre publice din întreaga lume și estimăm că un alt milion de mostre vor fi depozitate în bănci private (figura 3). Atât băncile private, cât și cele publice au început de asemenea recent să ofere depozitarea cordonului ombilical ca potențială sursă pentru aplicații autologe sau alogenice în medicina regenerativă. Majoritatea pacienților trebuie informați cu privire la opțiunile de depozitare a sângelui din cordonul ombilical sau altor celule și țesuturi neonatale, deoarece această extraordinară resursă biologică este disponibilă la nivel mondial în toate țările dezvoltate. Mai mult, progresele efectuate de medicina regenerativă impun ca și alte discipline ale medicinei să aibă o opinie și să manifeste interes pentru utilizarea celulelor derivate din cordonul ombilical și din sângele cordonului ombilical. În lucrarea noastră de referință recentă, care compară diferite modalități de a separa celulele stem din sângele cordonului ombilical, am arătat că nu toate metodele actuale sunt adecvate

pentru medicina regenerativă⁽³⁴⁾. Pe viitor, va exista necesitatea de a avea o multitudine de bănci unde sângele din cordonul ombilical și țesuturile placentare sunt procesate folosind o gamă vastă de metode, fiind puse apoi la dispoziția unui grup vast de clinicieni.

Concluzii

Celulele stem derivate din cordonul ombilical și cele din sângele cordonului ombilical rămân cea mai vastă sursă de celule stem din lume, având în vedere rata globală a natalității de aproximativ 135 de milioane pe an.

Creșterea exponențială a băncilor de stocare a celulelor stem recoltate din sângele și cordonul ombilical arată și interesul global pentru utilizarea și necesitatea acestor celule. Neexistând controverse etice în ceea ce privește recoltarea acestor celule stem din cordonul ombilical, singura întrebare care rămâne este potențialul pentru studiile clinice definite. În acest sens, guvernele trebuie să fie pregătite cu o legislație în domeniul terapiei cu celule stem, pentru a permite transferul rapid al celulelor către spitalele specializate în astfel de tratamente, asigurând în același timp și siguranța pacientului. ■

Mulțumiri

Autorii mulțumesc domnului dr. Olivier Degoul pentru sprijinul oferit cu privire la cifrele referitoare la cordonul ombilical.

Bibliografia se regăsește la autor.

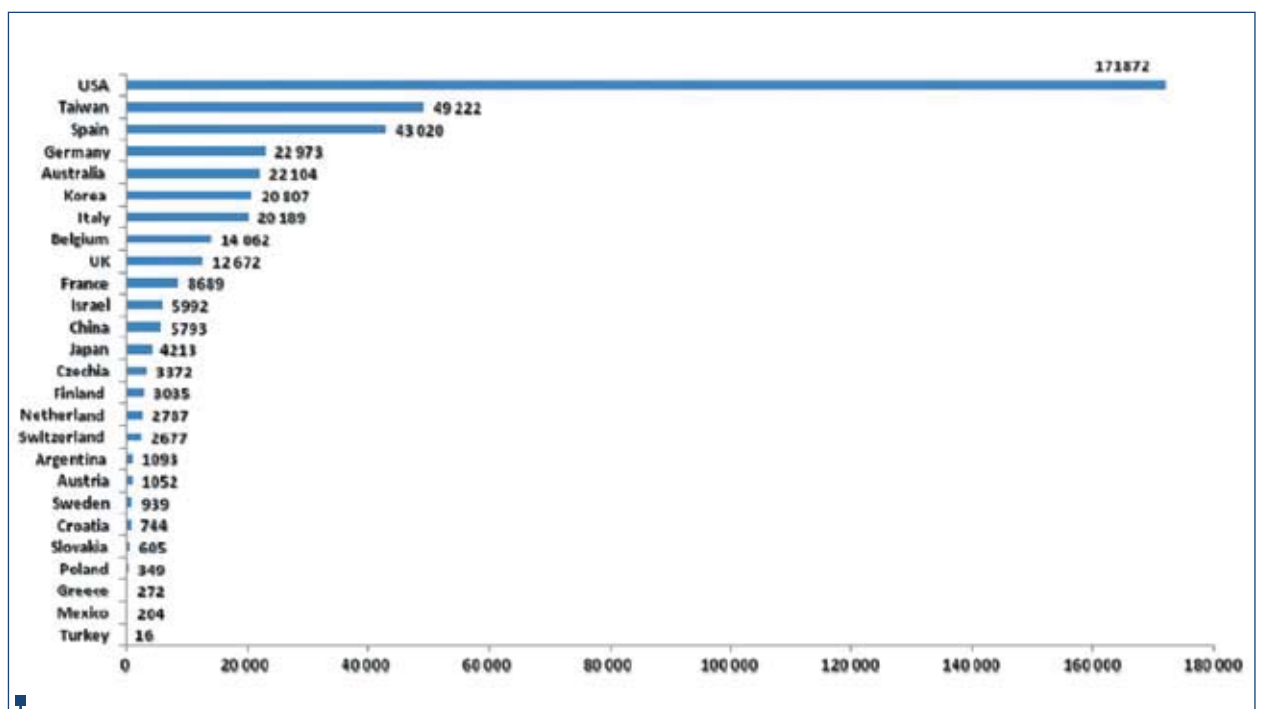


Figura 3. Peste 419.000 de mostre de sânge din cordonul ombilical sunt depozitate în registre publice la nivel mondial (sursa Bone Marrow Donor Worldwide <http://www.bmdw.org>, 2010)