

50 lat BANKOWANIA I STERYLIZACJI RADIACYJNEJ TKANEK W POLSCE

Artur Kamiński, Janusz Komender, Jacek Michalik

W 2013 r. mija 50 lat od chwili, kiedy to w ramach działalności Zakładu Histologii Akademii Medycznej w Warszawie powstał pierwszy w Polsce bank tkanek (fot. 1). Inicjatorami rozpoczęcia tej unikatowej w owych czasach działalności byli: prof. Kazimierz Ostrowski – kierownik Zakładu Histologii oraz prof. Adam Gruca – kierownik Kliniki Ortopedii.

W Centrum Dydaktycznym Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego odbyła się w dniach 7-8 czerwca 2013 r., I Konferencja Polskiego Stowarzyszenia Banków Tkanek i Komórek zorganizowana przez Zakład Transplantologii i Centralny Bank Tkanek. Konferencję rozpoczęła uroczysta sesja poświęcona jubileuszowi 50-lecia utworzenia Zakładu i tym samym rozpoczęcia procedur bankowania tkanek w Polsce. Honorowy Patronat nad konferencją objęli: prof. dr hab. Marek Krawczyk – rektor Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego oraz Bartosz Arłukowicz – minister zdrowia.

W uroczystej sesji jubileuszowej uczestniczyło ok. 180 osób, a wśród zaproszonych gości byli: prof. Marek Krawczyk – rektor Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, prof. Andrzej Górski – wiceprezes Polskiej Akademii Nauk, prof. Andrzej Chmielewski – dyrektor Instytutu Chemii i Techniki Jądrowej w Warszawie, dziekani I i II Wydziału Lekarskiego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, kierownicy i pracownicy zakładów i klinik Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego oraz przedstawiciele banków tkanek i komórek z całej Polski. Prof. Marek Krawczyk uhonorował Zakład Transplantologii i Centralny Bank Tkanek Jubileuszowym Medalem im. Tytusa Chałubińskiego za wielkie zasługi dla rozwoju bankowania tkanek w Polsce i Europie oraz pracę na rzecz budowania marki Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego jako wiodącego akademickiego ośrodka naukowego.

W czasie jubileuszowej sesji zaproszeni wykładowcy przedstawili historię, terażniejszość i perspektywy na przyszłość bankowania tkanek i komórek oraz przykłady zastosowań klinicznych przeszczepów. W ramach kolejnych sesji konferencji przedstawiciele banków tkanek i komórek omawiali dzia-

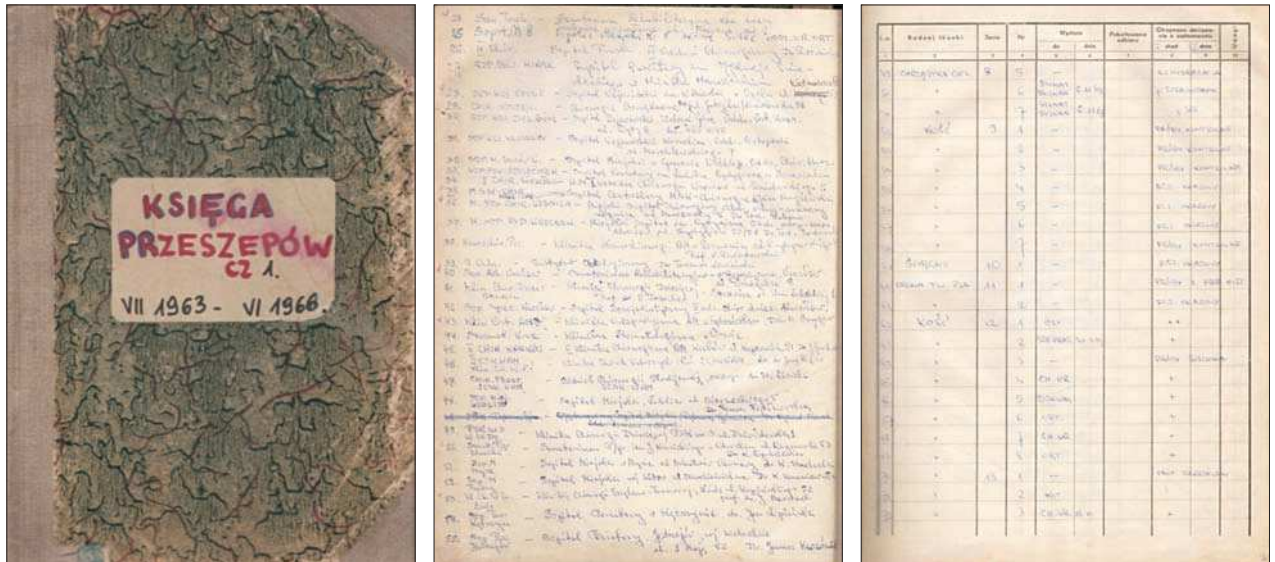
łalność, osiągnięcia i plany na przyszłość swoich jednostek.

Inspiracją do stworzenia banku tkanek w Warszawie była wcześniejsza wizyta prof. Kazimierza Ostrowskiego w Ośrodku Badań Medycznych Marynarki Wojennej USA w Bethesda, w którym utworzono pierwszy na świecie bank kości.

Prof. Kazimierz Ostrowski nie był wyłącznie inicjatorem utworzenia banku tkanek w Warszawie. Współuczestniczył również w powołaniu Banku Tkanek przy Regionalnym Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Katowicach, Banku Tkanek – Działu Kriobiologicznego przy Regionalnym Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Kielcach oraz Banku Tkanek Oka w Warszawie.

Bankowanie tkanek i komórek to dziedzina medycyny, której zadaniem jest przygotowanie i przechowanie do czasu zastosowania w szpitalach przeszczepów tkanek pobranych od osób zmarłych lub pozyskanych od żywych dawców oraz przygotowanie i przechowanie lub namnożenie i przechowanie komórek pobranych od żywych dawców. Przygotowane w bankach tkanek i komórek przeszczepy znajdują zastosowanie w wielu dziedzinach medycyny wspomagając metody leczenia chirurgicznego: rekonstrukcje ubytku tkanek powstałego w wyniku urazu, zmian degeneracyjnych, wynikającego z konieczności wykonania rozległego wycięcia tkanek z powodu nowotworu, a także leczenia wad wrodzonych lub nabytych. Komórki macierzyste krwi służą do odtworzenia uszkodzonego na skutek choroby lub planowego leczenia układu krwiotwórczego.

Procedury przygotowania i przechowania przeszczepów odbywają się w wyspecjalizowanych laboratoriach nazywanych bankami tkanek i komórek. W laboratoriach tych przygotowuje się przeszczepy w kontrolowanym, czystym środowisku. W przypadku przeszczepów tkankowych proces przygotowania kończy się sterylizacją bądź inaktywacją. W procesach konserwacji wykorzystuje się metody zamrażania w niskich temperaturach od -70°C do -150°C , liofilizację (odwodnienie w głębokim zamrożeniu) lub przechowywanie w płynach



Fot. 1. Dokumentacja wytwarzania przeszczepów w banku tkanek w Warszawie obejmująca okres pierwszych sześciu lat działalności

konserwujących w temperaturze 4°C. Pracownicy banków tkanek i komórek przygotowują przeszczepy różnych rodzajów tkanek jak kość, chrząstka, ścięgna, skóra, owodnia, rogówki, zastawki serca, komórki chrząstki, komórki naskórka, komórki macierzyste krwi.

Powstanie pierwszych banków tkanek na świecie datuje się na II połowę lat 50. i I połowę lat 60. XX wieku (1950 – Bethesda, USA; 1952 – Hradec Kralove, Czechosłowacja; 1955 – Leeds, Wielka Brytania; 1956 – Berlin, NRD; 1960 – Rostów nad Donem, ZSRR; 1963 – Warszawa), zaś udostępnienie na szeroką skalę i powszechność zastosowań przeszczepów tkankowych to lata 80. i 90. XX wieku. Początkowo pracownicy banku tkanek przygotowywali głównie przeszczepy tkanek mięśniowo-szkieletowych dla potrzeb ortopedii i traumatologii. Później rozwinęło się bankowanie tkanek układu sercowo-naczyniowego (zastawki serca, naczynia krwionośne, osierdzie), tkanek oka (rogówki, twardówki) i skóry. Koniec lat 80. i lata 90. XX wieku to rozwój hodowli komórkowych i bankowania komórek, początkowo komórek naskórka – keratynocytów, później komórek chrząstki – chondrocytów i komórek kości – osteoblastów oraz komórek macierzystych. Równolegle rozwijało się bankowanie komórek krwiotwórczych.

W tworzenie i rozwój bankowania tkanek w Polsce włączyły się następnie instytucje, tj. Polska Akademia Nauk oraz II Szpital Kliniczny Wojskowej Akademii Medycznej, nawiązano również współpracę z Zakładem Medycyny Sądowej Akademii Medycznej w Warszawie. W odróżnieniu od jałowych procedur pobierania i przygotowywania przeszczepów tkanki kostnej stosowanych w banku tkanek w Stanach Zjednoczonych, w Warszawie zdecydowano o stosowaniu procedury „tak czystej jak to jest tylko możliwe” i końcowej sterylizacji prze-

szczepów. Podjęto decyzję o wyborze metody sterylizacji radiacyjnej do wyjaławiania przeszczepów tkankowych. Metoda ta jest stosowana do dziś. Dalsze prace pracowników banku tkanek skupiły się na badaniach nad wyborem najbardziej optymalnych metod konserwacji i sterylizacji przeszczepów. Nawiązano współpracę z Instytutem Badań Jądrowych w Świerku (obecnie NCBJ), a następnie z Instytutem Chemii i Techniki Jądrowej w Warszawie. Bank Tkanek w Warszawie stał się pierwszym bankiem tkanek na świecie stosującym rutynowo promieniowanie jonizujące do sterylizacji przeszczepów tkankowych.

Dzięki wieloletniej współpracy pracowników banku tkanek z dr Wacławem Stachowiczem, prof. Jackiem Michalikiem, prof. Andrzejem Chmielewskim, dr Zbigniewem Zimkiem z Instytutu Chemii i Techniki Jądrowej opracowano i udoskonalano techniki oraz warunki sterylizacji radiacyjnej, a także metody konserwacji przeszczepów pozwalające na zachowanie ich właściwości biologicznych, mechanicznych i chemicznych po zastosowaniu promieniowania jonizującego. Efektem tej współpracy było także zastosowanie spektrometrii elektronowego rezonansu paramagnetycznego (EPR) do określenia pochodzenia i trwałości wolnych rodników i innych centrów paramagnetycznych w napromienionych tkankach szkieletowych, oszacowania dawki pochłoniętej promieniowania jonizującego, ilościowej oceny stopnia przebudowy sterylizowanych radiacyjnie przeszczepów kostnych, opracowania metody oceny krystaliczności minerału tkanek szkieletowych oraz oceny pośredniej właściwości przeszczepów tkanki kostnej. Oprócz wdrożenia do rutynowego zastosowania opracowanych technik, efektem trwającej do dziś współpracy było wspólne opublikowanie kilkudziesięciu artykułów naukowych, monografii i rozdziałów w monografiach.

W związku ze zwiększającym się zapotrzebowaniem na przeszczepy tkankowe, w 1966 r. przy Katedrze Histologii i Embriologii utworzono Zakład Konserwowania Tkanek i Narządów, a w 1970 r. powołano Zakład Transplantologii i Centralny Bank Tkanek, który wszedł w strukturę nowo utworzonego Instytutu Biostruktury Akademii Medycznej w Warszawie. W latach 1963–1992 pracownicy banku tkanek prowadzili działalność w zaadaptowanych pomieszczeniach Zakładu Histologii, a od 1992 r. w nowo wybudowanym budynku, dedykowany Zakładowi Transplantologii i Centralnemu Bankowi Tkanek. W 2002 r. wykonano remont pomieszczeń laboratoryjnych, w których przygotowywane są przeszczepy tkankowe. Kolejny remont pomieszczeń, w których przygotowane są przeszczepy, dostosowujący je do rygorystycznych unijnych i krajowych wymogów przeprowadzono w 2007 r. (fot. 2).

Pracą jednostki na kolejnych etapach jej rozwoju kierowali kolejno: prof. Stanisław Moskalewski, prof. Janusz Komender i prof. Anna Dziedzic-Goćławska.

Główne kierunki badań prowadzonych przez pracowników Zakładu (fot. 3), oprócz wspomnianej powyżej współpracy z IChTJ to:

- 1) opracowywanie metod przygotowania i konserwacji przeszczepów tkankowych;
- 2) ocena wpływu metod konserwacji i warunków sterylizacji radiacyjnej na właściwości przeszczepów tkank mięśniowo-szkieletowych;
- 3) ocena cytotoksyczności folii polimerowych używanych do pakowania i sterylizacji radiacyjnej przeszczepów;
- 4) ocena wpływu sterylizacji radiacyjnej na powstawanie z tłuszczów obecnych w tkance kostnej substancji potencjalnie toksycznych;
- 5) opracowanie metody otrzymywania folii i gąbek kolagenowych ich zastosowanie do hodowli *in vitro* ludzkich komórek naskórka;
- 6) badania nad interakcją biomateriałów z komórkami i tkankami;
- 7) hodowla *in vitro* ludzkich komórek naskórka, chondrocytów, osteoblastów i komórek macierzystych tkanki łącznej;



Fot. 2. Zdjęcia pomieszczeń banku tkanek w Warszawie po remoncie w 2007 r.



Fot. 3. Zdjęcie personelu banku tkanek w Warszawie z 2009 r.

- 8) opracowywanie produktów inżynierii tkankowej: zastosowanie allogenicznych przeszczepów tkankowych jako rusztowań dla komórek własnych pacjenta;
- 9) ocena wczesnych i odległych wyników leczenia z zastosowaniem sterylizowanych radiacyjnie przeszczepów tkankowych;

W okresie 50 lat istnienia Zakładu 16 osób uzyskało stopień doktora nauk medycznych, 5 osób doktora habilitowanego nauk medycznych, a 3 osoby tytuł profesora. Pracownicy Zakładu opublikowali ponad 650 artykułów naukowych, książek i rozdziałów związanych z tematyką bankowania tkanek i komórek.

Zasady dotyczące bankowania tkanek i komórek w Europie regulowane są dyrektywą 2004/23/WE Parlamentu Europejskiego i Rady w sprawie ustalenia norm jakości i bezpiecznego oddawania, pobierania, testowania, przetwarzania, konserwowania, przechowywania i dystrybucji tkanek i komórek ludzkich wraz z dyrektywami technicznymi obowiązującymi we wszystkich Krajach Członkowskich. Parlament Rzeczypospolitej na podstawie tych dokumentów unijnych uchwalił ustawę z dnia 1 lipca 2005 r. o pobieraniu, przechowywaniu i przeszczepianiu komórek, tkanek i narządów oraz jej nowelizację – ustawę z dnia 17 lipca 2009 r. o zmianie ustawy o pobieraniu, przechowywaniu i przeszczepianiu komórek, tkanek i narządów oraz o zmianie ustawy – Przepisy wprowadzające Kodeks karny, które wraz z aktami wykonawczymi określają zasady bankowania tkanek i komórek w Polsce.

W 2004 r. minister zdrowia na bazie Zakładu Transplantologii i Centralnego Banku Tkanek WUM powołał w 2004 r. Krajowe Centrum Bankowania Tkanek i Komórek. Jednostka sprawuje nadzór mery-

toryczny nad bankowaniem tkanek i komórek w Polsce. W procesie tworzenia i rozwoju oraz nabywania kompetencji przez personel nowo utworzonej jednostki uczestniczyli pracownicy Instytutu Chemii i Techniki Jądrowej. Byli oni odpowiedzialni za realizację w latach 2006–2009 Projektu Środki Przejściowej nr PL2006/018-180.03.04 – Wzmocnienie zdolności i możliwości interdyscyplinarnego laboratorium Krajowego Centrum Bankowania Tkanek dla bezpieczeństwa i kontroli jakości przeszczepów (fot. 4 i 5).

Corocznie pracownicy banku tkanek i komórek w Polsce przygotowują ok. 12-15 tys. przeszczepów tkankowych i komórkowych, które znajdują zastosowanie w ponad 250 różnych klinikach i oddziałach. W naszym kraju działają obecnie 24 banki tkanek i ko-

mórek, w tym: 4 przygotowujące różne rodzaje przeszczepów, 2 banki zastawek serca, 3 banki rogówek oraz 2 banki skóry i komórek naskórka, 1 bank komórek wysp trzustkowych, 1 bank komórek chrząstki oraz 11 banków komórek macierzystych krwi.

Pracownicy banku tkanek w Warszawie w latach 1963–2012 przygotowali i przekazali do szpitali na terenie całego kraju ponad 60 tys. allogenicznych przeszczepów tkankowych, z czego ponad 75% stanowiły przeszczepy tkanek mięśniowo-szkieletowych. Równolegle, w latach 1963–2002 prawie 35 tys. przeszczepów ksenogenicznych (z tkanek pochodzenia zwierzęcego). W związku z memorandum WHO w 2002 r. zaprzestano przygotowywania w banku tkanek w Warszawie przeszczepów z tkanek zwierzęcych.

Od wielu lat przeszczepy tkankowe i komórkowe wykorzystywane są w ortopedii i chirurgii urazowej, w neurochirurgii, kardiologii, chirurgii plastycznej, w okulistyce i otolaryngologii, w leczeniu rozległych oparzeń oraz w hematologii i onkologii.

W wielu procedurach chirurgicznych zastosowanie allogenicznych przeszczepów tkankowych związane jest z ograniczoną dostępnością tkanek własnych pacjenta, ryzykiem powikłań w miejscu pobrania przeszczepu, czy wydłużeniem czasu zabiegu. Skracają one czas leczenia usuwając lub znacznie zmniejszając stopień kalectwa. Zastosowanie przeszczepu pobranego lub pozyskanego od innej osoby umożliwia przede wszystkim wykonanie zabiegów odtworczych u dzieci, u których pobranie tkanek własnych jest utrudnione lub wręcz niemożliwe, ponieważ może spowodować zaburzenia rozwoju i wzrostu.

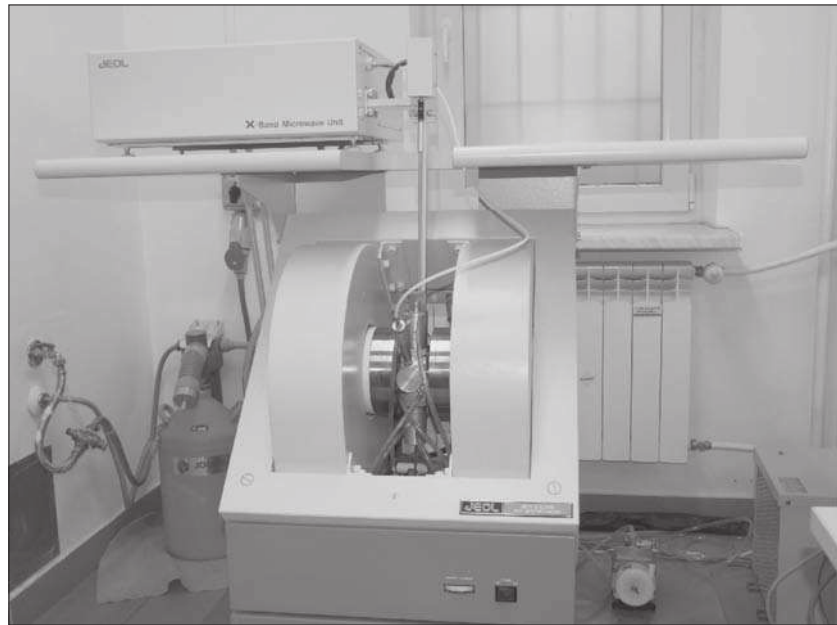
Allogeniczne przeszczepy tkankowe w zależności od ich rodzaju pobudzają regenerację tkanek w miejscu wszczepienia, spełniają funkcje podporowe do

czasu odtworzenia tkanek własnych biorcy (np. przeszczepy tkanek kostnej), zastępują funkcje fizjologiczne uszkodzonych tkanek lub narządów (np. przeszczepy zastawek serca, rogówek, więzadeł, czy kostek słuchowych), chronią przed zakażeniem i utratą płynów tkankowych (np. przeszczepy skóry lub owodni stosowane w leczeniu rozległych oparzeń).

Żywe przeszczepy komórkowe znajdują zastosowanie w leczeniu w układzie autogenicznym (dawca i biorca to ta sama osoba), np. przeszczepy komórek naskórka w leczeniu rozległych oparzeń, komórki chrząstki w leczeniu uszkodzonych powierzchni stawowych. Zastosowanie w układzie allogenicznym, np. komórek macierzystych krwi, wymaga określenia zgodności tkankowej, tzw. doboru dawca – biorca, a czasem stosowania leczenia immunosupresyjnego, podobnie jak w przypadku transplantologii narządowej.

Przeszczepy tkanki kostnej stosowane są przede wszystkim w operacjach ortopedycznych, głównie do leczenia wad wrodzonych narządu ruchu, rekonstrukcji ubytków powstałych po usunięciu nowotworów, zmian degeneracyjnych, a także pourazowych. Przeszczepy chrząstki żebrowej znajdują zastosowanie w odtwórczych operacjach plastycznych części twarzowej czaszki, zaś przeszczepy skóry i owodni stosowane są jako opatrunki biologiczne w leczeniu rozległych oparzeń. Przeszczepy owodni stosowane są również w okulistyce do leczenia obrażeń rogówki.

Od 1963 r. po dziś dzień, wszystkie przygotowywane w Polsce i przekazywane do szpitali biostacyjne przeszczepy tkankowe sterylizowane są radiacyjnie wiązką szybkich elektronów lub w napromieniaczach gamma dzięki współpracy wszystkich banków tkanek z Instytutem Chemii i Techniki Jądrowej w Warszawie.



Fot. 4. Spektrometr elektronowego rezonansu paramagnetycznego (EPR) będący na wyposażeniu laboratorium interdyscyplinarnego



Fot. 5. Pracownia laboratorium interdyscyplinarnego. Na zdjęciu widoczne: na pierwszym planie widoczny aparat do ultrasprawnej chromatografii cieczowej z detekcją fluorymetryczną, na drugim planie chromatograf gazowy ze spektrometrią mas

fol. z archiwum Zakładu Transplantologii i Centralnego Banku Tkanek

dr hab. n. med., prof. WUM Artur Kamiński,
Zakład Transplantologii i Centralny Bank Tkanek,
Warszawski Uniwersytet Medyczny,
Krajowe Centrum Bankowania Tkanek i Komórek,
Warszawa

prof. dr hab. Janusz Komender,
Zakład Transplantologii i Centralny Bank Tkanek,
Warszawski Uniwersytet Medyczny,
Warszawa

prof. dr hab. Jacek Michalik,
Instytut Chemii i Techniki Jądrowej,
Warszawa