

© Borgis

Krew pępowinowa. Część trzecia – przyszłość

***Dariusz Boruczowski¹, Katarzyna Pawelec², Anna Pieczonka¹, Piotr Michalski³,
Maciej Boruczowski^{4,5}**

¹NZOZ – Polski Bank Komórek Macierzystych, Warszawa
Kierownik: dr biol. Tomasz Ołdak

²Katedra i Klinika Pediatrii, Hematologii i Onkologii, Warszawa
Kierownik Katedry i Kliniki: prof. dr hab. Michał Matysiak

³Szpital Ginekologiczno-Położniczy Ujastek, Kraków
Dyrektor Szpitala: dr Jan Kosacz

⁴Zakład Biologii Molekularnej i Komórkowej, Wydział Biologii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza, Poznań
Kierownik Zakładu: prof. dr hab. Przemysław Wojtaszek

⁵Praca powstała podczas studiów drugiego stopnia, specjalizacja: biologia molekularna.

CORD BLOOD. PART THREE – THE FUTURE

Summary

The first report about haematopoietic stem cells transplantation from cord blood with good result, was published in 1989. Since then, the major changes have occurred, based on scientific and technical developments and umbilical cord blood (CB) banks have been established in six continents. Since the first CB transplantation, more than 25 000 transplantations have been reported worldwide and more than 1 000 000 cord blood units (CBUs) have been stored in more than 100 CB banks. Results and the courses of CBUs transplantations in malignant and nonmalignant diseases, in adults and children, show, in comparison with others stem cells sources (bone marrow and mobilized peripheral blood), that CB has several advantages, including prompt availability of the transplant, decrease of Graft versus Host Disease and better long-term immune recovery resulting in a long-term survival. Today developments still want improve on engraftment, by i.e. ex vivo expansion of stem cells, intrabone injection of CB cells and double/simultaneous CB transplantations. In addition to haematopoietic stem cells, cord blood and especially placenta contain a large number of nonhaematopoietic (mesenchymal) stem cells. Today, after over twenty years standards use of haematopoietic stem cells and shorter use of mesenchymal stem cells, the articles describing medical application of both kinds of cells, confirm the possibility of more and more diseases treatment and in the absence of ethical concern, the unlimited supply of mesenchymal cells explains the increasing interest of using cord blood for developing regenerative medicine.

Key words: cord blood, stem cells, haematopoietic stem cells, mesenchymal stem cells

NASTĘPNE PRZESZCZEPIENIA KRWIOTWÓRCZYCH KOMÓREK MACIERZYSTYCH Z PBKM SA

Transplantacje z użyciem krwi pępowinowej stają się coraz powszechniejsze. W czasie ostatniego półroczna 2011 roku PBKM SA i jeden z współtworzących (podlegającą PBKM) europejską grupę banków krwi pępowinowej (FamiCord) Krio – Instytut (Węgry), przekazały do leczenia dzieci następane trzy porcje allogenicznych preparatów KP. Piąta transplantacja została przeprowadzona w Miskolcu. Była to pierwsza na Węgrzech

transplantacja allogenicznej KP. Transplantacja KP od młodszej siostry w tym przypadku dotyczyła dziewczynki z ostrą białaczką limfoblastyczną, u której ze względu na powtarzające się od momentu rozpoznania zakażenia nie można było prowadzić leczenia. Szósta (7 stycznia 2011 r.) i siódma (30 czerwca 2011 r.) transplantacje odbyły się w Katedrze i Klinice Transplantacji Szpiku, Onkologii i Hematologii Dziecięcej, Akademii Medycznej we Wrocławiu. Biorczynią szóstej KP była dziewczynka leczona z powodu niedokrwistości Fanconiego. Była

to transplantacja łączona – przeszczepiono KP i szpik kostny pobrany w dniu transplantacji od młodszego brata w celu uzupełnienia brakującej liczby komórek macierzystych. Biorcą siódmej KP był chłopiec leczony z powodu nawrotu ostrej białaczki limfoblastycznej. W tym przypadku liczba komórek macierzystych zawartych w jednostce KP była wystarczająca. We wrześniu na Węgrzech Krio Instytut przekazał do transplantacji następną jednostkę krwi pępowinowej. Pod koniec września 2011 r. w Poznaniu odbyła się u pacjenta z histiocytozą komórek Langerhansa dziewiąta transplantacja krwi pępowinowej. Aktualnie PBKM SA przygotowuje się do dziesiątej transplantacji allogenicznej krwi pępowinowej u pacjenta z przewlekłą chorobą ziarniniakową.

MEZENCHYMALNE KOMÓRKI MACIERZYTE W LECZENIU GVHD

W pionierskiej publikacji Le Blanc (1) opisała kliniczne zastosowanie mezenchymalnych komórek macierzystych (MKM) w leczeniu ciężkiej, odpornej na standardową terapię, przewlekłej choroby przeszczep przeciw gospodarzowi (ang. *chronic Graft versus Host Disease* – cGvHD), która wystąpiła po allogenicznej transplantacji krwiotwórczych komórek macierzystych od dawcy niespokrewnionego u 9-letniego chłopca. Doskonały rezultat dwukrotnej infuzji MKM pozyskanych ze szpiku matki chłopca zachęcił badaczy do kolejnych tego typu prób. Po paru latach, w publikacji z 2008 roku, Le Blanc (2) przedstawiła wyniki eksperymentalnego badania II fazy zastosowania MKM w terapii sterydoopornej ostrej GvHD. Ocenie poddano 55 pacjentów z GvHD II-IV stopnia, którzy otrzymali od jednej do pięciu infuzji MKM pochodzących ze szpiku kostnego dawców. U trzydziestu pacjentów zaobserwowano całkowitą odpowiedź, u dziewięciu stwierdzono złagodzenie nasilenia GvHD. U pacjentów pediatrycznych odpowiedź na leczenie stwierdzano znamienne częściej niż u dorosłych. Śmiertelność związana z procedurą transplantacyjną była znacząco niższa w grupie pacjentów, którzy odpowiedzieli na leczenie niż w grupie bez odpowiedzi lub z częściową odpowiedzią na podane komórki (2). Weng i wsp. (3) przedstawili wyniki zastosowania MKM u 19 pacjentów z przewlekłą GvHD. Odsetek odpowiedzi był porównywalny ze spostrzeganym w pracy Le Blanc. Na podstawie przeprowadzonych dotychczas badań można stwierdzić, że zastosowanie infuzji komórek mezenchymalnych pochodzących ze szpiku kostnego w leczeniu GvHD jest skuteczne, a ponadto nie jest obciążone zwiększonym ryzykiem występowania zakażeń. Karlsson i wsp. (4) w opublikowanej przez siebie pracy podają, że infuzja MKM w mały znaczący sposób wpływa na odpowiedź limfocytów T na zakażenie wirusem cytomegalii.

Dotychczas podejmowane próby leczenia GvHD z zastosowaniem MKM wykorzystywały komórki pozyskane ze szpiku kostnego dawcy rodzinnego, niespokrewnionego lub też tzw. „osoby trzeciej” (ang. *third party donor*) (2, 5). O ile w przypadku dorosłego dawcy niespokrewnionego, od którego pobrano krwiotwórcze komórki macierzyste do allogenicznej transplantacji, dodatkowe

pozyskanie macierzystych komórek mezenchymalnych jest możliwe, ale może stanowić problem organizacyjny i wymaga dodatkowej zgody dawcy. Dostęp do dawcy rodzinnego zazwyczaj jest mniej skomplikowany, choć w sytuacji, kiedy dawcą jest rodzeństwo – a więc osoba niepełnoletnia, kolejne wykonanie bolesnej procedury pobrania szpiku może budzić wątpliwości natury etycznej. Tak zwana osoba trzecia, tj. inna niż dawca komórek krwiotwórczych i będąca najczęściej rodzicem, jest pełnoletnia i zazwyczaj bardzo dobrze współpracuje, co nie zmienia faktu, że pobranie szpiku jest procedurą bolesną. Z powyższych powodów oraz ze względu na brak standardowego postępowania w leczeniu przewlekłej GvHD obecnie poszukuje się nowego źródła mezenchymalnych komórek macierzystych (6-9). Źródła, które bez ponownej, jakiegokolwiek fizycznej ingerencji w organizm zdrowego dawcy pozwolą dostarczyć w sposób systematyczny oraz w sposób ciągły (nawet przez 2 lata) odpowiednią ilość MKM (1-3, 10). Nawet jeżeli zaawansowana cGvHD będzie dotyczyła skóry lub mięszu wątroby (3,10). Należy również zaznaczyć, że stosowanie MKM nie ogranicza się do cGvHD. Trwają już próby wprowadzania od dnia transplantacji MKM w profilaktyce ostrej GvHD, które w tym przypadku były podawane 4 godziny przed infuzją KKM (11). Chociaż, profilaktykę GvHD najlepiej rozpocząć jeszcze przed przeszczepieniem – używając w miarę możliwości do transplantacji źródła krwiotwórczych komórek macierzystych o statystycznie najniższym prawdopodobieństwie wystąpienia tego powikłania. Czyli KKM pochodzących z maksymalnie zgodnych jednostek krwi pępowinowej. Opierając się na powyższej idei poszukiwania jak najbardziej zgodnego, niespokrewnionego materiału biologicznego dla chorego biorcy KKM, PBKM SA działając we współpracy z Centrum Organizacyjno-Koordinacyjnym ds. Transplantacji – Poltransplant utworzył w kwietniu 2011 roku pierwszy w Polsce publiczny bank jednostek krwi pępowinowej finansowany w całości ze środków pozapaństwowych. Ponadto we współpracy z Uniwersytetem Medycznym w Lublinie, PBKM SA uzyskał zgodę Komisji Bioetycznej na przeprowadzenie badań według projektu "Zastosowanie komórek mezenchymalnych pozyskanych z galarety Whartona w leczeniu choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi po transplantacji allogenicznych komórek hematopoetycznych" (KE-0254/11/2011).

KRWIOTWÓRCZE KOMÓRKI MACIERZYTE PRZESZCZEPIANE *IN UTERO*

Przeszczepienie już w czasie życia płodowego krwiotwórczych komórek macierzystych (ang. *in utero hematopoietic stem cell transplantation* – IUHSC) stanowi alternatywę dla poporodowych transplantacji przeprowadzanych w terapii chorób, o których wiadomo, że mogą być zdiagnozowane już na początku ciąży, a po drugie są już leczone poprzez transplantację KKM. Podstawą do praktycznego zastosowania przeszczepienia KKM już w okresie życia płodowego (11-14 tydzień) są trzy zjawiska występujące na początku ciąży:

1) immunologiczna tolerancja – w której mikrośrodowisko grasicy płodu odgrywa podstawową rolę w identyfikacji własnych komórek i w odpowiedzi na obce antygeny, najprawdopodobniej opisana już po raz pierwszy w 1953 roku (12);

2) migracja komórek macierzystych – występująca tylko jeden raz w życiu, której przykładem jest przemieszczanie się układu krwiotwórczego z pęcherzyka żółtkowego poprzez grasicę, wątrobę, nerki do szpiku kostnego (13-16);

3) bardzo mały ciężar ciała biorcy – w 12 tygodniu życia płodowego wynosi on poniżej 35-40 gramów. Przeszczepiając przed 14 tygodniem, mały ciężar ciała biorcy pozwala na częstsze uzyskanie mieszanego chimeryzmu poprzyszczepowego, znanego w fizjologicznej postaci od dawna w przypadku ciąży ludzkich oraz zwierzęcych (17-20).

Ponadto proporcjonalnie małą dawką komórek można (w przypadku niepowodzenia terapii przeprowadzonej *in utero*) ułatwić następną transplantację, przeprowadzoną już po urodzeniu dziecka. W niektórych przypadkach mieszany chimeryzm poprzyszczepowy był opisywany jako terapeutyczny dla chorób leczonych za pomocą transplantacji KKM pochodzących na przykład ze szpiku kostnego ojca dziecka (21, 22). Przez ostatnie dwadzieścia lat zostało opisanych około 50 przypadków IUHST. Sformułowanie właściwych wniosków, opartych na danych klinicznych, było i jest w znacznym stopniu utrudnione ze względu na różnorodność docelowych chorób, różne źródła komórek dawcy oraz różnice w procedurach transplantacyjnych. Do dnia dzisiejszego, procedura IUHST została uznana za skuteczną terapię, tylko dla ciężkiego, złożonego niedoboru odporności, sprzężonego z chromosomem X (ang. *X-linked Severe Combined Immunodeficiency* – XSCID). Jest już co najmniej 10 udokumentowanych przypadków z zaobserwowaną odpowiednią rekonstrukcją limfocytów T (23-27). Podjęto również próby leczenia prenatalnego innych schorzeń połączonych z niedoborem odporności, takich jak przewlekła choroba ziarniniakowa (ang. *Chronic Granulomatous Disease* – CGD) czy zespół Chediaka-Higashiego (ang. *Chediak-Higashi syndrome* – CHS). Terapie te okazały się nieskuteczne, z powodu niewykrywalnego po urodzeniu mieszanego chimeryzmu poprzyszczepowego (28-31). Przy użyciu IUHST próbowano również leczyć hemoglobinopatie, co okazało się nieskuteczne. Ponadto, odnotowano 12 prób leczenia β -talasemii, z czego jedynie dwóch badaczy udokumentowało wykrywalny mieszany chimeryzm poprzyszczepowy (32-37). IUHST zastosowano także w badaniach w leczeniu α -talasemii. Z trzech dostępnych raportów wynika, że wszyscy trzej pacjenci pozostali zależni od transfuzji, natomiast u jednego pacjenta zaobserwowano mikrochimeryzm (38, 39). Znanie są również minimum trzy próby leczenia pacjentów z anemią sierpowatą, jednak terapie nie doprowadziły do wykrycia mieszanego chimeryzmu poprzyszczepowego (31, 39).

W chwili obecnej istnieją dwie, najbardziej skuteczne strategie leczenia, mogące mieć zastosowanie kliniczne.

1. Pojedyncza (lub wielokrotna) IUHST. Głównym celem tej strategii jest uzyskanie terapeutycznego poziomu chimeryzmu, dzięki pojedynczej bądź wielokrotnym transplantacjom *in utero*. Idealnym czasem na rozpoczęcie tej terapii jest okres od jedenastego do czternastego tygodnia ciąży. W tych ramach czasowych, jak już wspomniano, wątroba płodu prowadzi aktywną hematopoezę, natomiast zarówno w grasicy, jak również w obwodowym układzie krwionośnym znajduje się jeszcze bardzo mało dojrzałych limfocytów. Ponadto, ciężar płodu jest mały (poniżej 35 gramów), co pozwala na zastosowanie możliwie dużej dawki komórek dawcy podanych w odpowiednio małej objętości. Obecnie, dzięki tej metodzie istnieją szanse na leczenie XSCID, niedokrwistości Fanconiego czy zespołu Blooma (40-42).

2. IUHST z przeprowadzoną po niej HSCT. Nawet niski poziom mieszanego hematopoetycznego chimeryzmu poprzyszczepowego po IUHST związany jest, w przypadku wcześniej występującego niedoboru, z wyższą odpornością – właściwą dla dawcy przeszczepionych komórek. Wymagany minimalny poziom chimeryzmu poprzyszczepowego oceniany jako pozytywny rezultat, różni się na poziomie gatunku, lecz przeważnie waha się w granicach 1-2%. W przeprowadzonym przez włoskich naukowców badaniu nad mieszanym chimeryzmem u chorych na β -talasemię stwierdzono, iż poziom chimeryzmu poprzyszczepowego w szpiku kostnym równy 25% jest skorelowany z polepszeniem się stanu klinicznego leczonych pacjentów. Potwierdzają to niezależne wyniki badań nad anemią sierpowatą z podobnym poziomem chimeryzmu poprzyszczepowego (43, 44). Oprócz zwiększenia odporności chorego biorcy, IUHST przeprowadzona *in utero* od haploidentycznego rodzica umożliwia uzyskanie dawcy o ewidentnie lepszej zgodności, a to pozwala po urodzeniu zastosować względnie nietoksyczną dla biorcy HSCT. Znaczenie mieszanego chimeryzmu poprzyszczepowego potwierdzają kolejne, prowadzone aktualnie amerykańskie badania (*Mixed Chimerism to Treat Inherited Metabolic Disorders* – NCT 01372228), w których założeniem skuteczności terapii transplantacyjnej, przeprowadzanej w chorobach metabolicznych jest uzyskanie poziomu komórek dawcy w organizmie chorego biorcy wyższego od 10 procent (45). Inne badania prowadzone w Stanach Zjednoczonych (*Fetal Umbilical Cord Blood Transplant for Lysosomal Storage Diseases* – NCT 01003912), mają w założeniu ustalenie, czy można w celu uzyskania jak najwcześniejszego mieszanego chimeryzmu już w pierwszym trymestrze ciąży podawać płodowi niespokrewnioną krew pępowinową bez zagrożenie dla płodu. Dotyczy to zwłaszcza przypadków, w których potwierdzono występowanie jednej z lizosomalnych chorób spichrzeniowych (46).

PERSPEKTYWY

Krew pępowinowa jest nie tylko coraz częściej wykorzystywana do leczenia większej liczby chorób nie- i nowotworowych, ale również chorób neurologicznych, dermatologicznych, oprócz tego służy jako materiał biologiczny do hodowli w okulistyce – komórki nabłon-

ka spojówki oraz zaczyna być stosowana jako wstępny materiał diagnostyczny w alergologii oraz w onkologii (47-52).

Pierwsze w Polsce zastosowanie autologicznej krwi pępowinowej w leczeniu encefalopatii niedokrwienno-niedotlenieniowej przeprowadzono w 2008 roku, przy współpracy PBKM SA (53). Przed trzykrotnym podaniem do komór mózgu chorego dziecka, komórki pochodzące z jego własnej krwi pępowinowej zostały zmienione w laboratorium Zakładu Neurobiologii Naprawczej PAN w „like-neural cells”. W zastosowaniu autologicznej krwi pępowinowej w leczeniu innych ściśle określonych chorób neurologicznych, ale używanej bez laboratoryjnego różnicowania komórek, jednym z ważniejszych parametrów wydaje się nie laboratoryjny sposób różnicowania komórek, lecz liczba krwinek białych, określana w amerykańskich badaniach na minimum $1 \times 10^7/\text{kg}$ ciężaru ciała chorego dziecka oraz minimalny wiek dziecka w dniu rozpoczęcia terapii – powyżej 12 miesięcy. Wyniki pierwszych 184 terapii, autologicznymi komórkami macierzystymi, przeprowadzonych u dzieci z chorobami neurologicznymi pomiędzy 2005 i 2009 rokiem opracował Sun i wsp. (54). Aktualnie, nadal trwają badania poszukujące możliwości zastosowania autologicznej krwi pępowinowej m.in. w leczeniu mózgowego porażenia dziecięcego. Amerykański program kliniczny “A Randomized Study of Autologous Umbilical Cord Blood Reinfusion in Children With Cerebral Palsy” nadal poszukuje chorych dzieci, spełniających określone warunki, z których jednym jest wiek dziecka – poniżej 6. roku życia (55). Interesujące jest jednak to, że lekarze realizujący inny program kliniczny – “Safety and Effectiveness of Cord Blood Stem Cell Infusion for the Treatment of Cerebral Palsy in Children”, starają się podnieść granicę leczenia komórkami macierzystymi pacjenta chorego na mózgowie porażenie dziecięce nawet do 12 roku życia (56). Oczywiście w przypadku wczesnego (poniżej 6 godzin od porodu) stwierdzenia encefalopatii niedokrwienno-niedotlenieniowej, istnieją również możliwości zastosowania komórek macierzystych pochodzących z autologicznej krwi pępowinowej. Potwierdzeniem jest kolejny amerykański program kliniczny “Cord Blood for Neonatal Hypoxic-Ischemic Encephalopathy” (57).

Biorąc pod uwagę prowadzone na świecie powyższe, przykładowe badania oraz oczekiwania polskich rodziców dzieci chorych na choroby neurologiczne, Polski Bank Komórek Macierzystych SA będzie się starał umożliwić młodszemu rodzeństwu chorych dzieci lub dzieciom podejrzewanym już podczas ciąży o chorobę neurologiczną zdeponowanie krwi pępowinowej w programie „Pobranie Krwi Pępowinowej Na Ratunek” (58). Celem udostępnienia jej do ewentualnego wykorzystania w kolejnej dziedzinie medycyny. □

Piśmiennictwo

1. Le Blanc K, Rasmusson I, Sundberg B et al.: Treatment of severe acute graft versus host disease with third party haploidentical mesenchymal stem cells. *Lancet* 2004; 363: 1439-1441. 2. Le Blanc K, Frassonni F, Ball L et al.: Mesenchymal stem cells for treatment of steroidresistant,

severe acute graft-versus-host disease: a phase II study. *Lancet* 2008; 371: 1579-1586. 3. Weng JY, Du X, Geng SX et al.: Mesenchymal stem cell as salvage treatment for refractory chronic GVHD. *Bone Marrow Transplant* 2010; 45: 1732-1740. 4. Karlsson H, Samarasinghe S, Ball LM et al.: Mesenchymal stem cells exert differential effects on alloantigen and virus-specific T-cell responses. *Blood* 2008; 112(3): 532-541. 5. Le Blanc K, Ringden O: Immunobiology of human mesenchymal stem cells and future use in hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2005; 11: 321-334. 6. Couriel DR, Saliba R, Escalon MP et al.: Sirolimus in combination with tacrolimus and corticosteroids for the treatment of resistant chronic graft versus-host disease. *Br J Haematol* 2005; 130(3): 409-417. 7. Cutler C, Miklos D, Kim HT et al.: Rituximab for steroid-refractory chronic graft-versus host disease. *Blood* 2006; 108(2): 756-762. 8. Couriel DR, Hosing C, Saliba R et al.: Extracorporeal photochemotherapy for the treatment of steroid-resistant chronic GVHD. *Blood* 2006; 107(8): 3074-3080. 9. Inagaki J, Nagatoshi Y, Hatano M et al.: Low-dose MTX for the treatment of acute and chronic graft-versus-host disease in children. *Bone Marrow Transplant* 2008; 41: 571-577. 10. Ringden O, Uzunel M, Rasmusson I et al.: Mesenchymal stem cells for treatment of therapy-resistant graft-versus-host disease. *Transplantation* 2006; 81(10): 1390-1397. 11. Lazarus HM, Koc ON, Devine SM et al.: Cotransplantation of HLA-identical sibling culture-expanded mesenchymal stem cells and hematopoietic stem cells in hematologic malignancy patients. *Biol Blood Marrow Transplant* 2005; 11: 389-398. 12. Billingham R, Brent L, Medawar PB: Actively acquired tolerance of foreign cells. *Nature* 1953; 172(4379): 603-607. 13. Christensen JL, Wright DE, Wagers AJ, Weissman IL: Circulation and chemotaxis of fetal hematopoietic stem cells. *PLoS Biol* 2004; 2(3): 368-377. 14. Medvinsky A, Dzierzak E: Definitive hematopoiesis is autonomously initiated by the AGM region. *Cell* 1996; 86: 897-906. 15. Mikkola HK, Gekas C, Orkin SH, Dieterlen-Lievre F: Placenta as a site for hematopoietic stem cell development. *Exp Hematol* 2005; 33(9): 1048-1054. 16. Taviana M, Peault B: The changing cellular environments of hematopoiesis in human development in utero. *Exp Hematol* 2005; 33(9): 1062-1069. 17. Gill T: Chimerism in humans. *Transplant Proc* 1977; 9: 1423-1431. 18. van Dijk B, Bommsma D, de Man A: Blood group chimerism in human multiple births is not rare. *Am J Med Genet* 1996; 61(3): 264-268. 19. Picus J, Aldrich WR, Letvin NL: A naturally occurring bone marrow- chimeric primate. I. Integrity of its immune system. *Transplantation* 1985; 39(3): 297-303. 20. Picus J, Holley K, Aldrich WR et al.: A naturally occurring bone marrow-chimeric primate. II. Environment dictates restriction on cytolytic T lymphocyte-target cell interactions. *J Exp Med* 1985; 162(6): 2035-2052. 21. Hansen HE, Niebuhr E, Lomas C: Chimeric twins. T.S. and M.R. reexamined. *Hum Hered* 1984; 34(2): 127-130. 22. Flake A, Roncarolo MG, Puck J et al.: Treatment of X-linked severe combined immunodeficiency by in utero transplantation of paternal bone marrow. *N Engl J Med* 1996; 335: 1806-1810. 23. Touraine JL, Raudrant D, Rebaud A et al.: In utero transplantation of stem cells in humans: immunological aspects and clinical follow-up of patients. *Bone Marrow Transplant* 1992; 1: 121-126. 24. Touraine JL, Raudrant D, Royo C et al.: In-utero transplantation of stem cells in bare lymphocyte syndrome. *Lancet* 1989; 1: 1382-1383. 25. Westgren M, Ringden O, Bartmann P et al.: Prenatal T-cell reconstitution after in utero transplantation with fetal liver cells in a patient with X-linked severe combined immunodeficiency. *Am J Obstet Gynecol* 2002; 187: 475-482. 26. Touraine JL, Raudrant D, Golfier F et al.: Reappraisal of in utero stem cell transplantation based on long-term results. *Fetal Diagn Ther* 2004; 19: 305-312. 27. Wengler G, Lanfranchi A, Frusca T et al.: In-utero transplantation of parental CD34 haematopoietic progenitor cells in a patient with X-linked severe combined immunodeficiency (SCIDX1). *Lancet* 1996; 348: 1484-1487. 28. Flake AW, Zanjani ED: In utero hematopoietic stem cell transplantation. A status report. *JAMA* 1997; 278: 932-937. 29. Jones DR, Bui TH, Anderson EM et al.: In utero haematopoietic stem cell transplantation: current perspectives and future potential. *Bone Marrow Transplant*

- 1996; 18: 831-837. **30.** Muench MO, Rae J, Barcena A et al.: Transplantation of a fetus with paternal Thy-1 +CD34+ cells for chronic granulomatous disease. *Bone Marrow Transplant* 2001; 27: 355-364. **31.** Westgren M: In utero stem cell transplantation. *Semin Reprod Med* 2006; 24(5): 348-357. **32.** Cowan M, Golbus M: In utero hematopoietic stem cell transplants for inherited disease. *Am J Pediatr Hematol Oncol* 1994; 16: 35-42. **33.** Diukman R, Golbus MS: In utero stem cell therapy. *J Reprod Med* 1992; 37: 515-520. **34.** Slavin S, Naparstek E, Ziegler M et al.: Clinical application of intrauterine bone marrow transplantation for treatment of genetic disease-feasibility studies. *Bone Marrow Transplant* 1992; 1: 189-190. **35.** Touraine J: Treatment of human fetuses and induction of immunological tolerance in humans by in utero transplantation of stem cells into fetal recipients. *Acta Haematol* 1996; 96: 115-119. **36.** Orlandi F, Giambona A, Messina F et al.: Evidence of induced non-tolerance in HLA-identical twins with hemoglobinopathy after in utero fetal transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1996; 18: 637-639. **37.** Monni G, Ibba RM, Zoppi MA et al.: In utero stem cell transplantation. *Croat Med J* 1998; 39: 220-223. **38.** Hayward A, Ambruso D, Battaglia F et al.: Microchimerism and tolerance following intrauterine transplantation and transfusion for α -thalassemia-1. *Fetal Diagn Ther* 1998; 13: 8-14. **39.** Westgren M, Ringden O, Sturla EN et al.: Lack of evidence of permanent engraftment after in utero fetal stem cell transplantation in congenital hemoglobinopathies 1. *Transplantation* 1996; 61(8): 1176-1179. **40.** Flake AW, Zanjani ED: Treatment of severe combined immunodeficiency. Letter to the Editor. *N Engl J Med* 1999; 341(4): 291-292. **41.** D'Andrea AD, Grompe M: Molecular biology of Fanconi anemia: implications for diagnosis and therapy. *Blood* 1997; 90(5): 1725-1736. **42.** Ellis NA, Lennon DJ, Proytcheva M et al.: Somatic intragenic recombination within the mutated locus BLM can correct the high sister-chromatid exchange phenotype of Bloom syndrome cells. *Am J Hum Genet* 1995; 57(5): 1019-1027. **43.** Andreani M, Nesci S, Lucarelli G et al.: Long-term survival of ex-thalassemic patients with persistent mixed chimerism after bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2000; 25: 401-404. **44.** Walters MC, Patient M, Leisenring W et al.: Bone marrow transplantation for sickle cell disease. *N Engl J Med* 1996; 335(5): 369-376. **45.** <http://www.clinicaltrials.gov/> **46.** <http://www.clinicaltrials.gov/> **47.** Wan-Zhang Yang, Yun Zhang, Fang Wu et al.: Human umbilical cord blood-derived mononuclear cell transplantation: case series of 30 subjects with Hereditary Ataxia. *J Transl Med* 2011; 9: 65-70. **48.** Rosenkranz K, Meier C: Umbilical cord blood cell transplantation after brain ischemia – from recovery of function to cellular mechanisms. *Ann Anat* 2011; 193: 371-379. **49.** Tolar J, Blazar BR, Wagner JE: Concise Review: Transplantation of Human Hematopoietic Cells for Extracellular Matrix Protein Deficiency in Epidermolysis Bullosa. *Stem Cells* 2011; 29(6): 900-906. **50.** Ang L, Do TP, Thein ZM et al.: The Ex Vivo Expansion of Conjunctival and Limbal Epithelial Cells using Cord Blood Serum-Supplemented Culture Medium. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011; 52: 6138-6147. **51.** Abelius M, Ernerudh J, Berg G et al.: High cord blood levels of the Th2-associated chemokines CCL17 and CCL22 precede allergy development during the first 6 years of life. *Pediatr Res* 2011; 70(5): 495-500. **52.** Qiu L, Low HP, Chang C-I et al.: Novel measurements of mammary stem cells in human umbilical cord blood as prospective predictors of breast cancer susceptibility in later life. *Ann Oncol* 2011; 10.1093/annonc/mdr153. **53.** Józwiak S, Habich A, Kotulska K et al.: Intracerebroventricular Transplantation of Cord Blood-Derived Neural Progenitors in a Child With Severe Global Brain Ischemic Injury. *Cell Medicine, Part B of Cell Transplantation* 2010; 1: 71-80. **54.** Sun J, Allison S, Mc Laughlin C et al.: Differences in quality between privately and publicly banked umbilical cord blood units: a pilot study of autologous cord blood infusion in children with acquired neurologic disorders. *Transfusion* 2010; 50(9): 1980-1987. **55.** <http://www.clinicaltrials.gov/> **56.** <http://www.clinicaltrials.gov/> **57.** <http://www.clinicaltrials.gov/> **58.** Beiano G, Khoshnood B, Kaminski M et al.: Predictors of cerebral palsy in very preterm infants: the EPIPAGE prospective population-based cohort study. *Develop Med & Child Neurology* 2010; 52(6): e119-e125.

nadesłano: 23.08.2011

zaakceptowano do druku: 02.09.2011

Adres do korespondencji:

*Dariusz Boruckowski

NZOZ – Polski Bank Komórek Macierzystych SA

ul. Grzybowska 2/41, 00-131 Warszawa

tel./fax: (22) 436 40 49; tel./fax: (22) 436 40 50

e-mail: dariusz.boruckowski@pbkm.pl