

© Borgis

Możliwości zastosowania komórek macierzystych u pacjentów z chorobami genetycznymi.

Część pierwsza – niektóre wskazania

***Dariusz Boruczowski¹, Katarzyna Pawelec², Maciej Boruczowski^{3, 4}, Piotr Michalski⁵**

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

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

³Zakład Biologii Molekularnej i Komórkowej, Wydział Biologii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza, Poznań
Kierownik Zakładu: prof. dr hab. Przemysław Wojtaszek

⁴Praca powstała podczas studiów drugiego stopnia, specjalizacja: biologia molekularna

⁵Szpital Ginekologiczno-Położniczy Ujastek, Kraków
Dyrektor Szpitala: dr Jan Kosacz

THE POSSIBLE STEM CELLS APPLICATIONS IN CHILDREN WITH GENETIC DISEASES.

PART ONE – SELECTED INDICATIONS

Summary

The report about first haematopoietic stem cells transplantation from cord blood was published in 1989. Since then, the major changes have occurred, based on scientific and technical developments. There is a potential limit (number of haematopoietic stem cells) for the widespread use of cord blood as a source of hematopoietic stem cells for marrow replacement in Poland. Ex-vivo expansion (outside of the Poland) proves usefulness in different clinical situation, involving treatment of grown-up children and adults. Transplantation, defined as an ex-vivo generated components, presents good approach and may open a promising new way for cell therapy in genetic diseases. A new kind of stem cells population from i.e. human cord blood was described (mesenchymal cells) which can grow and can expand without losing pluripotency and can show differentiation into osteoblasts, chondroblasts, adipocytes, hematopoietic and neural cells too. New articles suggest that treatment by stem cells in for example retinitis pigmentosa, can produce retina functional recovery.

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

Pierwszą nieudaną próbę leczenia białaczki przy użyciu krwi pępowinowej (KP) przeprowadzono w 1970 roku, przeszczepiając 16-letniemu chłopcu przez 18 dni osiem porcji krwi pępowinowej. Przeszczepienia te zostały przeprowadzone podczas standardowej chemioterapii (składającej się wtedy tylko z dwóch leków – enkortonu i 6-merkaptopuryny) bez jakiegokolwiek specjalistycznego przygotowania pacjenta do transplantacji (1). Pierwsze skuteczne przeszczepienie krwi pępowinowej

przeprowadzono w 1988 roku u pięcioletniego chłopca z niedokrwistością typu Fanconiego. Krew pępowinowa pochodziła od siostry chorego. Chłopiec został wyleczony, żyje do dziś w USA (2).

Raporty powstałej w 1974 roku European Group for Blood and Marrow Transplantation zawierały początkowo opisy rodzajów transplantacji oraz wskazania do transplantacji krwiotwórczych komórek macierzystych (KKM) bez podziału na rodzaje źródeł (3, 4). Dopiero w

2002 roku, w trzecim raporcie EBMT, po raz pierwszy został zamieszczony podział KKM na trzy rodzaje (źródła) używane do transplantacji (szpik, mobilizowana krew obwodowa, krew pępowinowa) oraz po raz pierwszy zamieszczono skrócony opis warunków koniecznych do spełnienia przed transplantacją KKM z krwi pępowinowej (5). W przedostatnim (6) oraz ostatnim (7) raporcie EBMT, opublikowanych odpowiednio w 2006 oraz 2010 roku, stwierdzono po raz kolejny, że wskazania do transplantacji komórek macierzystych KP są takie same, jak w przypadku komórek macierzystych pochodzących ze szpiku kostnego lub z mobilizowanej krwi obwodowej. Według EBMT transplantacje KKM przeprowadza się w określonych jednostkach chorobowych już w sposób standardowy (*standard of care*) – co oznacza, że sposób przeprowadzenia procedury transplantacji KM został dobrze poznany, a jej wyniki zostały zdefiniowane i są statystycznie lepsze od wyników leczenia prowadzonego bez udziału transplantacji KM.

Standardowe wskazania do transplantacji komórek macierzystych (pochodzących np. z KP) obejmują kilkadziesiąt chorób, a wśród nich m.in. następujące choroby uwarunkowane genetycznie: a) pierwotne niedobory odporności, b) hemoglobinopatie – talasemie, c) niedokrwistość sierpowatokrwinkową, d) wrodzone defekty szpiku kostnego (niedokrwistość Fanconiego i niedokrwistość Blackfana-Diamonda), e) choroby spichrzeniowe – mukopolisacharydozę I typu, f) osteopetrozę (6, 7).

A) Pierwotne niedobory odporności – zostały sklasyfikowane w ośmiu kategoriach: 1. złożone niedobory odporności, 2. niedobory z przewagą zaburzeń produkcji przeciwciał, 3. inne dobrze zdefiniowane niedobory odporności, 4. choroby dysregulacji odpowiedzi immunologicznej, 5. wrodzone zaburzenia liczby i/lub funkcji komórek żernych, 6. zaburzenia odporności naturalnej, 7. zaburzenia odpowiedzi zapalnej, 8. niedobory układu dopełniacza (8).

W pierwszej grupie chorób, obejmującej złożone niedobory odporności – genetycznie uwarunkowane ciężko przebiegające zaburzenia kliniczne – transplantacje KKM przeprowadza się najczęściej w zespole ciężkiego złożonego niedoboru odporności (ang. *severe combined immune deficiency* – SCID) oraz w zespole Omenna. W obydwu zespołach sposób przygotowania biorcy do transplantacji zależy od rodzaju dawcy (9). W przypadku przeprowadzenia transplantacji w SCID jeszcze wewnątrzmacicznie (przed 14 tygodniem), chory biorca nie wymaga ze względu na przebieg ontogenezy żadnego kondycjonowania, a ze względu na odizolowanie od środowiska profilaktyki zakażeń bakteryjnych, wirusowych lub grzybiczych. Niedobór CD40L podlega również leczeniu przeszczepieniem KKM, jednak w tym przypadku termin przeprowadzenia transplantacji dodatkowo zależy od rodzaju dawcy (spokrewniony lub niespokrewniony) i jego stopnia zgodności z biorcą. Wymieniany w tej samej kategorii zespół hiper-IgM, którego cechą jest uniemożliwienie przełączenia syntezy z IgM do IgG, IgA i IgE, był już leczony ze skutkiem pozytywnym transplantacją KKM pobranych od dawcy

spokrewnionego – zgodnego rodzeństwa (10, 11). W trzeciej grupie – innych dobrze zdefiniowanych niedoborów odporności – przeszczepienie KKM z na przykład KP jest przeprowadzane najczęściej w zespole Wiskotta-Aldricha (spowodowanym mutacją genu zlokalizowanego na krótkim ramieniu chromosomu X). Cechą charakterystyczną dla tej choroby są bardzo małe płytki krwi, co wiąże się z mutacją białka WAS, które uczestniczy w tworzeniu cytoszkieletu komórek. Identyczne przygotowanie biorcy do transplantacji jak dla zespołu Wiskotta-Aldricha, EBMT zaleca m.in. również dla niedoboru fosforylasy nukleozydów purynowych (*PNP deficiency*) (12). Z tej samej grupy pochodzi leczony transplantacją KM zespół Nijmegen (defekt naprawy DNA) (13). Czwarta grupa niedoborów obejmuje m.in. choroby związane z zaburzeniami regulacji odpowiedzi immunologicznej (zespół Chediaka-Higashiego, zespół Griscelli, limfocytopenia hemofagocytarna), które już posiadają wspólny, ustalony w zaleceniach EBMT sposób przygotowania biorcy do transplantacji (14). Piąta grupa pierwotnych niedoborów odporności – wrodzone zaburzenia liczby lub funkcji komórek żernych mogą być spowodowane np. obniżoną liczbą ww. komórek na skutek zaburzeń ich różnicowania w szpiku – neutropenia cykliczna lub agranulocytoza Kostmanna. Zespół Kostmanna – dziecięca agranulocytoza (liczba granulocytów obojętnochłonnych $< 0,5 \times 10^9/l$) – jest w około 10% nie tylko oporny na leczenie farmakologicznymi czynnikami wzrostu kolonii komórkowych, a nawet w powyższych przypadkach oporności może dojść do transformacji w zespół mielodysplastyczny lub w ostrą białaczkę szpikową (15, 16). Grupa siódma – zaburzenia odpowiedzi zapalnej to albo utrudnienie przedostania się komórek do miejsca zapalenia (niedobór cząstek adhezyjnych), albo utrudnienie zabijania bakterii (przewlekła choroba ziarniniakowa), która jest również wskazaniem do transplantacji KKM. Taka transplantacja (KKM ze „spokrewnionej” KP) odbyła się w listopadzie 2011 roku w Katedrze i Klinice Transplantacji Szpiku, Onkologii i Hematologii Dziecięcej we Wrocławiu. Pobranie, preparatyka i przechowywanie odbyły się w Polskim Banku Komórek Macierzystych SA.

B) Beta-talasemia, inaczej niedokrwistość śródziemnomorska, występuje w postaciach o różnym natężeniu objawów klinicznych. Najcięższą odmianą tej choroby jest β -talasemia major (anemia Cooleya), gdzie produkcja łańcuchów β hemoglobiny jest zahamowana całkowicie, a przy braku tych podjednostek łańcuchy α hemoglobiny tworzą nierozpuszczalne agregaty, wytrącające się we wnętrzu niedojrzałych erytrocytów. W przypadku talasemii minor tylko jeden gen (z dwóch) kodujący łańcuch β hemoglobiny jest zmutowany. Rzadko, ale zdarza się, że ta postać choroby zostaje rozpoznana dopiero podczas pierwszej ciąży. W wyniku braku równowagi pomiędzy łańcuchami α i β (prawidłowa cząsteczka hemoglobiny to $\alpha_2\beta_2$) erytropoeza jest nieefektywna, a wytworzone erytrocyty mają słabsze powinowactwo do tlenu i cechuje je znacznie szybszy okres rozpadu. Przyczyną tych anomalii jest tranzycja adeniny w guaninę w pierwszym intronie genu kodującego podjednostkę

łańcucha β hemoglobiny. Mutacja ta tworzy nowe miejsce splicingowe w obrębie genu kodującego ww. podjednostkę łańcucha β hemoglobiny. Tzw. małe jądrowe rybonukleoproteinowe kompleksy (ang. *small nuclear ribonucleoprotein particles* – snRNP) rozpoznają oba miejsca splicingowe, co skutkuje w „pierwszej” turze splicingowej powstaniem prawidłowego messenger RNA (mRNA), a w „drugiej” wytworzeniem niewłaściwego mRNA, posiadającego sekwencje intronu. Takie nieprawidłowe mRNA o dodatkowej sekwencji intronowej ulega degradacji, uniemożliwiając w procesie translacji wytworzenie sprawnie funkcjonującej podjednostki łańcucha β hemoglobiny (17-19).

C) Niedokrwistość sierpowatokrwinkowa. Przyczyna choroby to mutacja punktowa w genie kodującym hemoglobinę, czego efektem jest słabe wysycenie tlenem hemoglobiny. Dodatkowo opisuje się znaczenie mikrocząstek błon komórkowych w patogenezie (20), a nawet postawiono tezę, że pomiar uwalnianych mikrocząstek w tej niedokrwistości mógłby teoretycznie służyć do wykrywania progresji choroby lub oceny skuteczności jej leczenia (21). Transplantację KKM ze wskazań standardowych w talasemii oraz niedokrwistości sierpowatokrwinkowej rzadko przeprowadza się u polskich biorców. Procedura dotyczy głównie pacjentów z rejonu Morza Śródziemnego (22).

D) Wrodzone defekty szpiku kostnego. Niedokrwistość Fanconiego (dziedziczenie autosomalne recesywne) charakteryzująca się pancytopenią krwi obwodowej, malformacjami układu kostnego i zwiększoną predyspozycją do wystąpienia chorób nowotworowych oraz jedyna wymieniona w tym artykule wybiórcza hipoplazja układu czerwono-krwinkowego z zachowaną zdolnością wytwarzania innych komórek układu krwiotwórczego – niedokrwistość hipoplastyczna Blackfana-Diamonda (dziedziczona autosomalnie dominująco i recesywnie) są to genetycznie uwarunkowane niedokrwistości, które należą do większej grupy chorób – wrodzonych defektów szpiku kostnego (ang. *inherited bone marrow failure syndromes* – IBMFS). Obydwie niedokrwistości są standardowym wskazaniem do zastosowania transplantacji KKM. W tej samej grupie znajdują się jeszcze inne (wymienione poniżej) wrodzone defekty szpiku kostnego, w których również, chociaż nie ze wskazań standardowych, przeszczepia się KKM. *Dyskeratosis congenita* (DKC), inaczej zespół Zinssera-Engmana-Cole'a – to mutacja w genie hTER, albo sprzężenie z chromosomem X. Obydwie defekty genetyczne prowadzą do nieprawidłowego funkcjonowania telomerazy w komórkach macierzystych, co powoduje klinicznie objawy przedwczesnego starzenia się. Podjęte próby wyleczenia nie przynoszą jeszcze obiecujących wyników głównie ze względu na obecność ciężkich objawów występujących późno po transplantacji KKM: rozsianego zapalenia naczyń oraz zwłóknienia płuc (23, 24). Zespół Shwachmana-Diamonda (dziedziczenie autosomalnie recesywne) charakteryzuje się niewydolnością zewnątrzwydzielniczą trzustki, zaburzeniami hematologicznymi, predyspozycją do nowotworów układu krwiotwórczego, wadami układu kostnego. Zespół ten

jest drugą przyczyną niewydolności trzustki u dzieci. Możliwe jest również wystąpienie ostrej białaczki szpikowej (23, 25). Zespół szpikowo-trzustkowy Pearsona (*Pearson syndrome*) to rzadka choroba genetyczna wynikająca z zaburzeń w funkcjonowaniu lub/i strukturze mitochondriów. Do objawów zalicza się m.in. ciężką niedokrwistość, pancytopenię, zaburzenia funkcji trzustki i zaburzenia funkcji wątroby. W wieku dojrzewania mogą wystąpić objawy zespołu Kearnsa i Sayre'a (objawy neurologiczne, utrata słuchu, ataksja, neuropatia obwodowa, upośledzenie umysłowe) (26).

E) Pierwszy artykuł o przeszczepianiu komórek w mukopolisacharydozie I – typ Hurler, pojawił się ponad 30 lat temu (27). Mukopolisacharydoza typu I jest spowodowana brakiem aktywności lizosomalnego enzymu α -iduronidazy. Klinicznie wyróżnia się trzy fenotypy mukopolisacharydozy typu I. Podział odbywa się na podstawie oceny zajęcia ośrodkowego układu nerwowego. W postaci Hurler dominuje upośledzenie umysłowe. Fenotyp Hurler/Scheie jest pośredni, upośledzenie umysłowe jest niewielkiego stopnia. W postaci Scheie rozwój umysłowy jest prawidłowy, nasilenie objawów somatycznych jest słabiej wyrażone niż w postaci Hurler. W postaci Hurler występują dwie najczęstsze mutacje Q70X i W402X w układzie homo- lub heterozygotycznym. Takie genotypy prowadzą do deficytu aktywności α -iduronidazy, a w konsekwencji – do postępującego przebiegu choroby (28). Dzisiaj transplantacja KM jest jedyną metodą leczenia (*standard of care*), która w najcięższej postaci mukopolisacharydozy może zapobiec zmianom m.in. w ośrodkowym układzie nerwowym (29).

F) Osteopetroza (choroba Albersa-Schönberga) jest dziedziczonym autosomalnie recesywnie defektem funkcji osteoklastów prowadzącym do zaburzenia resorpcji kostnej. Objawy kliniczne wynikają z uszkodzenia układu krwiotwórczego (niedokrwistość, małopłytkowość, skłonność do zakażeń) lub z uszkodzenia struktury kostnej spowodowanej również zaburzeniami gospodarki wapniowo-fosforanowej powodującej ucisk na nerwy czaszkowe. Jedyną metodą leczenia jest allogeniczne przeszczepienie KKM (30) po zastosowaniu odpowiedniego postępowania przygotowawczego ustalonego przez EBMT w 2004 roku i przynoszącego dobre rezultaty (31).

Na zakończenie warto przytoczyć próby przeszczepiania komórek macierzystych w chorobie genetycznej, w której molekularny mechanizm powstawania zmian klinicznych (powstanie mutacji zaburzającej splicing pre-mRNA) jest najprawdopodobniej podobny do talasemii, ale próby leczenia za pomocą komórek macierzystych są prowadzone nie poprzez systemowe, a tylko poprzez lokalne podanie materiału biologicznego – do uszkodzonego narządu.

W zwyrodnieniu barwnikowym siatkówki (*retinitis pigmentosa* – RP), w początkowym stadium uszkodzane są komórki odpowiedzialne za widzenie nocne. Następnie dochodzi do utraty widzenia obwodowego oraz do prawie całkowitej utraty wzroku. Choroba ta występuje

z częstotliwością 1/4000 urodzeń. Jest zarówno dominująca, jak i recesywna, a jej dziedziczenie może być sprzężone z chromosomami autosomalnymi lub z chromosomem X. W przypadku autosomalnej, dominującej formy choroby, a więc o ciężkim klinicznie przebiegu, dochodzi do mutacji genu kodującego pre-mRNA białko numer 8 (Prp8). Białko to pełni ważną rolę w splicingu, gdyż jest rdzeniowym komponentem U5 snRNP, zatem pośrednio wchodzi również w skład U4-U5-U6-snRNP. Biorąc pod uwagę fakt, że białko Prp8 obecne jest w każdej procedurze splicingowej na terenie całego organizmu, niewyjaśniony zostaje kliniczny wpływ tej mutacji jedynie na siatkówkę oka. Jedną z teorii zakłada, iż komórki receptorowe pręcików są niezwykle czułe na nawet najmniejsze zmiany zachodzące w aparacie splicingowym (pręcik jest ponad sto razy bardziej czuły na światło niż czopek, warunkujący widzenie kolorów), za sprawą szybkich przemian reakcji barwnikowych (32, 33). Już od 2005 roku w Brazylii na uniwersytecie Sao Paulo (grant NCT 01068561) podejmowane były próby leczenia RP komórkami macierzystymi. Do gałki ocznej podawano 10 milionów mononuklearów pochodzących z autologicznego szpiku (34). Aktualnie, oprócz kontynuacji badań brazylijskich (przewidywana data zakończenia nowego grantu NCT 01560715 to czerwiec 2013), trwają próby leczenia RP komórkami macierzystymi między innymi w Tajlandii. Szpital Siriraj-Mahidol University w Bangkoku we współpracy z Ministerstwem Zdrowia prowadzi badania od 2012 roku. Milion mezenchymalnych komórek macierzystych (MKM) pochodzących ze szpiku jest podawanych do wnętrza gałki ocznej w roztworze soli fizjologicznej nieprzekraczającym 100 mikrolitrów objętości (34). W tym granicy jednak procedura jest przeprowadzana tylko u zaproszonych wcześniej przez ośrodek w Bangkoku pacjentów. Kolejne próby zastosowania komórek w leczeniu RP to badania trzynastu amerykańskich ośrodków (NCT 00447993) dotyczące podawania do gałki ocznej kapsułki z unipotencjalnymi ludzkimi komórkami nabłonka barwnikowego siatkówki (34).

Oprócz powyższych terapii, użycie MKM w podejmowanych próbach leczenia innych chorób (na przykład choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi) opiera się niestety najczęściej na wykorzystaniu komórek pozyskanych z własnego szpiku, szpiku dawcy rodzinnego, dawcy niespokrewnionego albo tzw. „osoby trzeciej” (*third party donor*) (35, 36). Z wielu powodów (m.in. ograniczona dostępność) oraz ze względu na brak jeszcze standardowych reguł postępowania z użyciem MKM, nadal poszukuje się nowego, lepiej dostępnego, bezpieczniejszego dla dawcy źródła macierzystych komórek mezenchymalnych. Źródła, które bez jakiegokolwiek fizycznej ingerencji w organizm zdrowego dawcy pozwolą dostarczyć w sposób systematyczny, umożliwiając ciągłą terapię (35, 37) odpowiednią liczbę MKM, zabezpieczającą w czasie trwania, bez ograniczeń spowodowanych ciężarem ciała pacjenta całą konieczną procedurę leczniczą.

Zwiększająca się systematycznie liczba chorób, w których istnieją wskazania do podania krwiotwórczych lub/i

mezenchymalnych komórek macierzystych (podczas transplantacji lub innej procedury leczniczej) jest dowodem na to, że w przyszłości lekarz, ze względu na stały rozwój nauk medycznych, coraz częściej będzie sięgał po tę metodę leczenia. Zwłaszcza w przypadku możliwości skorzystania z wcześniej zabezpieczonego w dniu porodu odpowiedniego materiału biologicznego. □

Piśmiennictwo

1. Ende M, Ende N: Hematopoietic transplantation by means of fetal (cord) blood. *Virginia Med J* 1972; 99: 276-280.
2. Gluckman E, Broxmeyer HA, Auerbach AD et al.: Haematopoietic reconstitution in a patient with Fanconi's anaemia by means of umbilical cord blood from an HLA identical sibling. *NEJM* 1989; 321(17): 1174-1178.
3. Schmitz N, Gratwohl A, Goldman JM: Allogeneic and autologous transplantation for haematological diseases, solid tumours and immune disorders: current practice in Europe in 1996 and proposals for an operational classification. *Bone Marrow Transplant* 1996; 17: 471-477.
4. Goldman JM, Schmitz N, Niethammer D, Gratwohl A: Allogeneic and autologous transplantation for haematological diseases, solid tumours and immune disorders: current practice in Europe in 1998. *Bone Marrow Transplant* 1998; 21: 1-7.
5. Urbano-Ispizua A, Schmitz N, de Witte T: Allogeneic and autologous transplantation for haematological diseases, solid tumours and immune disorders: definitions current practice in Europe. *Bone Marrow Transplant* 2002; 29: 639-646.
6. Ljungman P, Urbano-Ispizua A, Cavazzano-Calvo M: Allogeneic and autologous transplantation for haematological diseases, solid tumours and immune disorders: definition and current practice in Europe. *Bone Marrow Transplant* 2006; 37: 439-449.
7. Ljungman P, Bregni M, Brune M: Allogeneic and autologous transplantation for haematological diseases, solid tumours and immune disorders: current practice in Europe 2009. *Bone Marrow Transplant* 2010; 45: 219-234.
8. Zeman K, Szalowska D: Pierwotne niedobory odporności – ważna grupa rzadkich chorób uwarunkowanych genetycznie. *Przegląd Pediatryczny* 2006; 36(4): 251-257.
9. Gennery AR, Cant AJ: Cord blood stem cell transplantation in primary immune deficiencies. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2007; 7: 528-534.
10. Scholl PR, O'Gorman MR, Pachman LM et al.: Correction of neutropenia and hypogammaglobulinemia in X-linked hyper-IgM syndrome by allogeneic bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1998; 22(12): 1215-1218.
11. Leone V, Tommasini A, Mandolina M: Elective bone marrow transplantation in a child with X-linked hyper IgM syndrome with acute respiratory distress syndrome. *Bone Marrow Transplant* 2002; 30: 49-52.
12. De Heredia CD, Ortega JJ, Diaz MA: Unrelated cord blood transplantation for severe combined immunodeficiency and other primary immunodeficiencies. *Bone Marrow Transplant* 2008; 41: 627-633.
13. Gennery AR, Slatte MA, Bhattacharya A et al.: Bone marrow transplantation for Nijmegen breakage syndrome. *J Pediatr Hematol Oncol* 2005; 27(4): 239.
14. Eapen M, DeLaat CA, Baker KS: Hematopoietic cell transplantation for Chediak-Higashi syndrome. *Bone Marrow Transplant* 2007; 39: 411-415.
15. Seidler C, Welfe K, Barak Y et al.: Stem cell transplantation in patients with severe congenital neutropenia without evidence of leukemic transformation. *Blood* 2000; 95: 1195-1198.
16. Toyoda H, Azuma E, Hori H et al.: Successful unrelated BMT in a patient with Kostmann syndrome complicated by pre-transplant pulmonary bacterial abscesses. *Bone Marrow Transplantation* 2001; 21: 413-415.
17. Marengo-Rowe AJ: The thalassemias and related disorders. *Proc Bayl Med Cent* 2007; 20(1): 27-31.
18. Galanello R, Origa R: Beta-thalassemia. *Orphanet Journal of rare Diseases* 2010; 5: 11.
19. Cousens N, Gaff C, Metcalfe S, Delatycki M: Carrier screening for beta-thalassaemia: a review of international practice. *European Journal of Human Genetics* 2010; 18: 1077-1083.
20. Shet A, Aras O, Gupta K et al.: Sicle blood contains tissue factor-positive microparticles derived from endothelial cells and monocyte. *Blood* 2003; 102: 2678-2683.

21. Maślanka K: Fizjologiczna i patogenna aktywność mikrocząstek błon komórkowych. *Journal of Transfusion Medicine* 2010; 3(1): 9-17. 22. Bhatia M, Walters MC: Haematopoietic cell transplantation for thalassemia and sickle cell disease: past, present and future. *Bone Marrow Transplant* 2008; 41: 109-117. 23. Gluckman E, Wagner JE: Hematopoietic stem cell transplantation in childhood inherited bone marrow failure syndrome. *Bone Marrow Transplant* 2008; 41: 127-132. 24. Rocha V, Devergie A, Socie G et al.: Unusual complications after bone marrow transplantation for dyskeratosis congenita. *Br J Haematol* 1998; 103: 243-248. 25. Dror Y, Freedman MH: Schwahman-Diamond syndrome. *Br J Haematol* 2002; 118: 701-713. 26. Faraci M, Cuzzubbo D, Micalizzi C et al.: Allogeneic bone marrow transplantation for Pearson's syndrome. *Bone Marrow Transplant* 2007; 39: 563-565. 27. Hobbs JR, Barrett AJ, Chambers D et al.: Reversal of clinical features of Hurler's disease and biochemical improvement after treatment by bone marrow transplantation. *The Lancet* 1981; 318(8249): 709-712. 28. Terlato NJ, Cox GF: Can mucopolysaccharidosis type 1 disease severity be predicted based on a patient's genotype? A comprehensive review of the literature. *Genet Med* 2003; 5: 286-294. 29. Aldenhoven M, Boelens JJ, de Konig TJ: The Clinical Outcome of Hurler Syndrome after Stem Cell Transplantation. *BBMT* 2008; 14: 485-498. 30. Dini G, Floris R, Garaventa A et al.: Long-term follow-up of two children with a variant of mild autosomal recessive osteopetrosis undergoing bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2000; 26: 219-224. 31. Tolar J, Bonfim C, Grewal S, Orchard P: Engraftment and survival following hematopoietic stem cell transplantation for osteopetrosis using a reduced intensity conditioning regimen. *Bone Marrow Transplant* 2006; 38: 783-787. 32. Grainger RJ, Beggs JD: Prp8 protein: At the heart of the spliceosome. *RNA* 2005; 11: 533-557. 33. Mordes D, Luo X, Kar A et al.: Pre-mRNA splicing and retinitis pigmentosa. *Mol Vis* 2009; 12: 1259-1271. 34. <http://clinicaltrials.gov> 35. Le Blanc K, Frassoni 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. 36. 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. 37. 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.

nadesłano: 01.06.2012

zaakceptowano do druku: 25.06.2012

Adres do korespondencji:

*Dariusz Boruckowski

NZOZ – Polski Bank Komórek Macierzystych SA

ul. Grzybowska 2/41, 00-131 Warszawa

tel.: +48 (22) 436-40-49

e-mail: dariusz.boruckowski@pbkm.pl