

# Zastosowanie multipotencjalnych komórek macierzystych z galarety Whartona we współczesnej medycynie – część I

## The use of the multipotent stem cells of Whatton's jelly in modern medicine – part I

© GinPolMedProject 2 (36) 2015

Artykuł poglądowy/Review article

DARIUSZ BORUCZKOWSKI<sup>1</sup>, KATARZYNA PAWELEC<sup>1,2</sup>, MACIEJ BORUCZKOWSKI<sup>3</sup>, DOMINIKA GŁADYSZ<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Polski Bank Komórek Macierzystych

Dyrektor: dr n. biol. Tomasz Ołdak

<sup>2</sup> Katedra i Klinika Pediatrii, Hematologii i Onkologii,

Warszawski Uniwersytet Medyczny

Kierownik: Prof. dr hab. n. med. Michał Matysiak

<sup>3</sup> Katedra i Zakład Immunologii Klinicznej, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu

Kierownik: dr hab. n. med. Grzegorz Dworawski, prof. UM

Adres do korespondencji/Address for correspondence:

Dariusz Boruczkowski

NZOZ Polski Bank Komórek Macierzystych

ul. Grzybowska 2/41, 00-131 Warszawa

tel./fax +48 22 4364050 e-mail: [dariusz.boruczkowski@pbkm.pl](mailto:dariusz.boruczkowski@pbkm.pl)

### Statystyka/Statistic

Liczba słów/Word count 2178/2400

Tabele/Tables 0

Ryciny/Figures 0

Piśmiennictwo/References 74

Received: 28.01.2015

Accepted: 26.03.2015

Published: 26.06.2015

### Streszczenie

Pochodzące z krwi pępowinowej hematopoetyczne komórki macierzyste wykorzystywane są w praktyce klinicznej od ponad 25 lat, lecz właśnie teraz uwagę naszą przykuwa kolejne źródło neonatalnych komórek. Część pępowiny, zwana galaretą Whartona jest bogatym źródłem mezenchymalnych komórek macierzystych, obiecującym wiele medycynie regeneracyjnej. Ich wysoka podzielność oraz umiejętność różnicowania, a także słabe lub niewystępujące wcale charakterystyki immunogenne sprawiają, że są dobrym kandydatem nawet dla allogenicznego zastosowań. Allogeniczne mezenchymalne komórki macierzyste wykorzystano już w terapii szeregu schorzeń ginekologicznych (m.in. nietrzymania moczu i stolca) oraz neurologicznych (m.in. porażenia mózgowego) ze wstępnymi, obiecującymi wynikami. Pierwsi pacjenci neurologiczni przechodzą właśnie eksperymentalne terapie komórkami macierzystymi, po każdorazowym uzyskaniu zgody komisji bioetycznych.

**Słowa kluczowe:** galareta Whartona; mezenchymalne komórki macierzyste; zastosowanie

### Summary

Cord blood-derived hematopoietic stem cells have been used in the clinic for more than 25 years, and right now another source of neonatal stem cells, cord tissue, comes into spotlight. A part of umbilical cord, called Wharton's jelly, is an abundant source of mesenchymal stem cells which hold promise for regenerative medicine. Their high proliferation and differentiation capabilities as well non or weakly immunogenic characteristics makes them good candidates even for an allogenic use. Allogeneic mesenchymal stem cells have been widely used in treating Graft-versus-Host Disease. Worldwide they have been already used in therapy of various gynecological (i.a. urinary and anal incontinence) and neurological disorders (i.a. cerebral palsy) with preliminary promising results. First neurological patients currently undergo stem cell treatment as experimental therapy after individual bioethical committee approval.

**Key words:** Wharton's jelly; mesenchymal stem cells; application

## WPROWADZENIE

W poprzednim artykule, który ukazał się w GinPolMedProject w 2009 roku [1], opisano w skrócie rodzaje i źródła krwiotwórczych komórek macierzystych (KKM) wykorzystywanych do przeszczepień, wskazania do ich przeprowadzenia i kilka z pierwszych przeszczepień komórek z jednostek krwi pępowinowej przechowywanych w Polskim Banku Komórek Macierzystych. Dzisiaj po pięciu latach należy uaktualnić te dane o kilkanaście następnych pediatrycznych transplantacji rodzinnych jednostek krwi pępowinowych z PBKM [2-3], jak również należy uaktualnić informacje dotyczące mezenchymalnych komórek macierzystych pochodzących z galarety Whartona, a wykorzystywanych także w Polsce w medycynie regeneracyjnej [4]. Medycyna regeneracyjna staje się coraz bardziej popularnym tematem, który niesie nadzieję w terapii wielu chorób, których dotychczasowe leczenie jest niesatysfakcjonujące. Komórkami macierzystymi, które mogą budzić szczególne zainteresowanie są multipotencjalne mezenchymalne komórki macierzyste (MKM).

## MEZENCHYMALNE KOMÓRKI MACIERZYTE

Mezenchymalne komórki macierzyste charakteryzują się zdolnością do samoodnawiania oraz możliwością różnicowania w kilka rodzajów komórek dojrzewających w obrębie zarodkowego listka mezodermalnego. Mogą ulegać miogenezie, przekształcając się w kardiomiocyty oraz miocyty, osteogenezie i chondrogeniezie, różnicując się w komórki układu kostnego oraz chrzęstnego, a także adipocyty lub komórki kanalików nerkowych. W dorosłym organizmie ludzkim, komórki mezenchymalne zlokalizowane są między innymi w szpiku kostnym, tkance tłuszczowej, tkance mięśniowej oraz we krwi i w płucach [5-8]. Scharakteryzowano je, stosując metodę cytometrii przepływowej, jako populację komórek tkankowych o immunofenotypie CD11b-/CD19-/CD45-/CD34-/HLA-DR-/CD73+/CD90+/CD105+ [9,10]. Posiadają ponadto szczególnie właściwości o charakterze antyapoptycznym, przeciwzapalnym oraz angiogenicznym [11,12]. Kolejną ważną cechą tej populacji komórek jest możliwość zastosowań terapeutycznych, ze względu na niski poziom ekspresji białek układu zgodności tkankowej MHC klasy I oraz bardzo niski w przypadku MHC klasy II [13]. Wykazano, iż komórki te nie indukują odpowiedzi immunologicznej, przejawiając jednocześnie właściwości immunosupresyjne. Dowiedziono, że mezenchymalne komórki macierzyste, w środowisku *in vitro*, mają wpływ na komórki prezentujące antygen (APC), komórki NK (*natural killer*), a także na limfocyty T oraz limfocyty B [14, 15]. Stwierdzono, iż mezenchymalne komórki macierzyste, pozyskane z galarety Whartona, w porównaniu z komórkami mezenchymalnymi pochodzącymi ze szpiku kostnego, charakteryzują się podwyższonym potencjałem zdolności namnażania [16]. Ponadto, porównano zdolności immunomodulacyjne

## INTRODUCTION

The previous article published in GinPolMedProject in 2009 [1] provided a brief description of kinds and sources of hematopoietic stem cells (HSCs) used for transplantations, the indications for those and some of the first transplantations of cells from the blood units stored in the Polski Bank Komórek Macierzystych [Pol. for "Polish Bank of Stem Cells"]. Today, after five years, this data requires an update with over ten new pediatric transplantations of family-stored units of cord blood from PBKM [2-3], and also with information regarding the mesenchymal stem cells of the Wharton's jelly, and used also in Poland, in regenerative medicine [4]. The regenerative medicine becomes an ever more popular subject, that brings hope for many patients, whose treatment results were less than satisfactory till date. The stem cells of potential interest are the multipotent mesenchymal stem cells [MSCs].

## MESENCHYMAL STEM CELLS

Mesenchymal stem cells are characterized by their ability to recreate and the differentiate onto several types of maturing within the embryonic mesoderm layer. They can be subjected to myogenesis, transforming into cardiac-myocytes and myocytes, osteogenesis and chondrogenesis in which they differentiate into bone and cartilage system cells and also adipocytes or the renal channel cells. In a mature human organism mesenchymal cells are located, inter alia, in bone marrow, fat tissue, muscular tissue, blood and lungs [5-8]. They were characterized with use of flow cytometry method, as a population of tissue cells of the immune-phenotype of CD11b-/CD19-/CD45-/CD34-/HLA-DR-/CD73+/CD90+/CD105+ [9,10]. They also have some special anti-apoptotic, anti-inflammatory and angiogenic properties [11,12]. Another important feature of this population of cells is the possibility of therapeutic application, due to their low level of MHC tissue compatibility proteins of class I category and very low in case of class II MHC [13]. It was proven that these cells do not induce immunologic response, at the same time demonstrating immunosuppressive properties. It was proven that mesenchymal stem cells, in *in vitro* environment influence the antigen presenting cells (APC), the NK (*natural killer*) cells as well as T and B lymphocytes [14,15]. It was found that mesenchymal stem cells acquired from Wharton's jelly, when compared to the mesenchymal cells from bone marrow, are characterized by increased multiplication capability potential [16]. Furthermore the immunomodulating capabilities of stem cells from bone marrow and Wharton's jelly when compared. In both cases the decreased activity of pro-inflammatory cytokines, among them the interferon gamma (IFN  $\gamma$ ) and the alpha tumor necrosis factor (TNF  $\alpha$ ) [17].

mezenchymalnych komórek macierzystych ze szpiku kostnego oraz galarety Whartona. W obu przypadkach zaobserwowano zmniejszoną aktywność cytokin prozapalnych, między innymi interferonu gamma (IFN  $\gamma$ ) oraz czynnika martwicy nowotworów alfa (TNF  $\alpha$ ) [17].

MKM mogą być pozyskane m.in. z powyższych źródeł, ale to sznur pępowiny, okazał się bardzo dobrym i bogatym źródłem komórek macierzystych. Jego zaletą jest nie tylko łatwość i bezinwazyjność pozyskania, ale także wysoki potencjał proliferacyjny i zdolność różnicowania, które bliskie są potencjałowi embrionalnemu. Słaba immunogenność komórek mezenchymalnych czyni je dobrymi kandydatami do allogenicznych (od dawcy) transplantacji. Polski Bank Komórek Macierzystych posiada już w pozyskiwaniu MKM z galarety Whartona odpowiednią praktykę laboratoryjną. Zaprezentowano w kwietniu 2012 roku w Genewie podczas międzynarodowej konferencji European Group for Blood and Marrow Transplantation [18] oraz w maju 2012 roku w Łodzi na VI Zjeździe Polskiego Towarzystwa Onkologii i Hematologii Dziecięcej [19].

Prowadzone przez PBKM SA, własne badania laboratoryjne dotyczące preparatyki kilkuset próbek galarety Whartona pochodzących z kilku krajów europejskich, potwierdziły istnienie efektywnej metody pozyskania MKM z galarety Whartona, które nadają się, po otrzymaniu zgody stosownych komisji bioetycznych, do wykorzystania klinicznego. W kwietniu 2013 roku, Polski Bank Komórek Macierzystych przedstawił swoje nowe, pozytywne doświadczenia laboratoryjne, dotyczące MKM, podczas kolejnej międzynarodowej konferencji European Group for Blood and Marrow Transplantation w Londynie [20].

Bazując na swoich doświadczeniach laboratoryjnych oraz na uzyskanych zgodach komisji bioetycznych [21-30], PBKM SA przekazał już materiał biologiczny, będący wynikiem prowadzonych badań laboratoryjnych i prac badawczo-rozwojowych do polskich ośrodków przeszczepiających standardowo hematopoetyczne komórki macierzyste, które mogły podjąć decyzję o jego leczniczym zastosowaniu klinicznym. Do dnia 9 sierpnia 2014 roku, poza powyższą procedurą, MKM pochodzące z GW zostały zastosowane bez skutków ubocznych, które mogłyby zostać powiązane z iniekcją dożylną, jeszcze u następnych dziesięciu pacjentów, celem leczenia lekoopornych powikłań (ostrej lub przewlekłej GvHD) po przeszczepieniach hematopoetycznych komórek macierzystych. Ocena skuteczności powyższej terapii została przedstawiona na międzynarodowym zjeździe EBMT w kwietniu 2014 roku w Mediolanie [31].

## GINEKOLOGIA I POŁOŻNICTWO

Jednym z potencjalnych zastosowań MKM w ginekologii jest wysiłkowe nietrzymanie moczu (WNM). Mechanizm terapii za pomocą MKM w nietrzymaniu moczu opiera się nie tylko na bezpośrednim różnicowaniu komórek i regeneracji mięśni, ale także poprzez

MSCs can be acquired from the above listed sources, but the umbilical cord proved a very good and rich source of stem cells. Its advantages are not just the ease and non-invasiveness of acquisition, but also the high proliferation potential and the ability to differentiate, that is close to embryonic potential. Poor immunogenicity of mesenchymal cells makes them a good candidate for allogenic (donor) transplantations. The Polish Bank of Stem Cells has already appropriate laboratory practice for acquiring MSCs from Wharton's jelly. It was presented in April 2012 in Geneva during the European Group for Blood and Marrow Transplantation international conference [18] and in May 2012 in Łódź, during the 6th Convention of the Polish Association of Children Oncology and Hematology [19].

The own laboratory research by PBKM SA, concerning the preparations of several hundreds of samples of Wharton's jelly from several European countries, confirmed the existence of effective method of MSC acquisition from Wharton's jelly, that are suitable, after obtaining permissions of applicable bioethics commissions, for clinical use. In April 2013 the Polish Bank of Stem Cells presented its new, positive laboratory experiments concerning MSCs during the next London European Group for Blood and Marrow Transplantation conference [20].

Based on its own laboratory experiments and the bioethical commission consents [21-30] the PBKM SA has submitted biological material, resulting from laboratory tests and R&D work to Polish centers that perform standard transplantations of hematopoietic stem cells, who could decide to use it in clinical practice. On August 9<sup>th</sup>, 2013 apart from the aforesaid procedure the MSCs from WJ were used, without side effects, that could be connected with intravenous injection, in the next ten patients, in order to treat the drug-resilient complications (acute or chronic GvHD) after transplantations of hematopoietic stem cells. The effectiveness of this therapy was presented during the international EMBT convention in Milan in April, 2014.

## GYNECOLOGY AND OBSTETRICS

One of the potential applications of MSCs in gynecology is the stress incontinence (SI). The mechanism of MSC therapy in incontinence is not only based on the direct differentiation of cells and muscle regeneration, but also through excretion of trophic factors and immunomodulating properties, that can beneficially influence the healing process. Recent time has seen increased number of researches on the MSC use for treatment of SI. Bone marrow or lipid tissue stem cells were most frequently used, but also the stem cells from muscles.

wydzielanie czynników troficzych oraz właściwości immunomodulujące, które mogą korzystnie wpłynąć na proces gojenia. W ostatnim czasie było prowadzonych coraz więcej badań na temat zastosowania MKM w WNM. Najczęściej używano komórek macierzystych pochodzących ze szpiku kostnego bądź tkanki tłuszczowej, aplikowano również komórki macierzyste pochodzące z mięśni. Podając komórki zastosowano drogę miejscową poprzez wstrzyknięcia przez- i okołocewkowe, a także podaż systemową, aplikując komórki dożylnie. Komórki macierzyste posiadają zdolności migrowania w miejsce uszkodzenia, co jest wykorzystywane przy infuzji dożylniej. Migracja MKM w kierunku uszkodzenia w obrębie miednicy została udowodniona na modelu zwierzęcym, a MKM były wykrywane jeszcze przez 10 dni po podaniu dożylnym [32].

Badania przedkliniczne przyniosły w większości obiecujące wyniki [33-42], doniesiono m.in. o poprawie maksymalnej pojemności pęcherza moczowego czy ciśnienia, przy którym dochodziło do wypływu moczu. Istnieje potrzeba dalszych, usystematyzowanych badań przedklinicznych nad skutecznością terapii w nietrzymaniu moczu. Badania na zwierzętach są trudne do podsumowania ze względu na bardzo różne metody wytworzenia modelu nietrzymania moczu. W 2013 roku opublikowano przegląd systematyczny dotychczas opublikowanych wyników leczenia WNM u ludzi za pomocą komórek macierzystych. W analizie uwzględniono 8 prac, które w sumie obejmowały 311. pacjentów. Większość badań podaje, że doszło do zmniejszenia liczby epizodów nietrzymania moczu oraz zużycia wkładek. We wszystkich pięciu badaniach, w których oceniano jakość życia, doszło do poprawy tego wskaźnika. W sześciu badaniach, w których elementem oceny było badanie urodynamiczne, opisano poprawę. Przegląd systematyczny obejmował również powikłania terapii komórkowej, w większości o małym znaczeniu klinicznym. Doszło m.in. do perforacji pęcherza, zapalenia pęcherza, przejściowego zatrzymania moczu oraz bólu uniemożliwiającego dokończenie procedury. Wyniki badań u ludzi wydają się być obiecujące, a procedura małoinwazyjna, jednak wciąż jest zbyt wcześnie, by wyciągnąć ostateczne wnioski. Brakuje również długoterminowych wyników. Obecnie na świecie trwa osiem prób klinicznych wykorzystujących komórki w leczeniu WNM (NCT01799694, NCT01804153, NCT01648491, NCT01953315, NCT01011777, NCT02156934, NCT01850342, NCT01963455), w tym większość wykorzystuje autologiczne komórki pobrane z tkanki mięśniowej [43].

Kolejnym problemem, w którego leczeniu mogą pomóc komórki macierzyste, jest nietrzymanie stolca. Wstępne wyniki przedkliniczne oraz pierwsze próby leczenia u ludzi wydają się być obiecujące [44-50]. Jednak brak zarówno większych prób, jak i odległych wyników oraz danych na temat bezpieczeństwa metody. Na świecie trwają trzy próby kliniczne, które mają na celu leczenie nietrzymania stolca za pomocą komórek,

The administration of cells was either local – through urethra and near-urethra injections, or systemic through intravenous application of cells. The stem cells have migration capabilities that allow them to reach the damaged places, which is used in IV infusion. The migration of MSCs in the direction of damage within the pelvis was proven on animal model and the MSCs were still detected even 10 days after IV administration [32].

Most of pre-clinical research brought promising results [33-42], among the reported effects were: increased maximum volume of bladder or increase of pressure causing the urine to leak. There is need for further, systematic pre-clinical research of the efficiency of this therapy in incontinence therapy. Tests on animals are hard to summarize, as the methods for achieving incontinence differ greatly. In 2013 a systematic review was published, of the human SI stem cell treatment results. The analysis included 8 works, that included the total number of 311 patients. The majority of researchers observed the lowered number of incontinence episodes and the number of pantyliners used. All five tests in which the quality of life was also assessed showed the improvement of this factor. The six researches that evaluated just the urodynamic aspects described an improvement therein. This systematic review also included the complications of cell therapy, most of them with low clinical significance. Among others perforation of bladder, inflammation of bladder, temporary urinary stoppage and pain that did not allow the procedure to be completed were reported. The results of test on humans seem promising, the procedure only slightly invasive, but it is still too early to reach final conclusions. There are no long-term results available yet too. There are currently six clinical tests using cells in treatment of SI undergoing throughout the world (NCT01799694, NCT01804153, NCT01648491, NCT01953315, NCT01011777, NCT02156934, NCT01850342, NCT01963455), with the majority using autologic cells collected from muscle tissue [43].

Another problem that the treatment with stem cells may form a solution form is the fecal incontinence. Initial pre-clinical results and first attempts of treating humans seem to be promising [44-50]. But there is lack of larger tests, distant results and the data regarding the safety of the method. There are currently three clinical tests throughout the world, that aim at treatment of fecal incontinence with use of cells – two cases (NCT01949922, NCT01523522) with use of cells from muscle tissue, one test is based on MSCs from bone marrow (NCT02161003) [43]. Stem cells in gynecology can also be used in procedures connected with vaginal reconstruction, correction of fistulas and female genital prolapse [51,52].

w dwóch przypadkach (NCT01949922, NCT01523522) pochodzą one z tkanki mięśniowej, natomiast jedno badanie opiera się na MKM pobranych ze szpiku (NCT02161003) [43]. Komórki macierzyste w ginekologii mogą być również wykorzystywane w zabiegach związanych z rekonstrukcją pochwy, korekcją przetok czy wypadaniem narządu rodowego [51,52].

## PEDIATRIA I NEUROLOGIA DZIECIĘCA

Mózgowe porażenie dziecięce (MPD) jest heterogenną jednostką chorobową spowodowaną przewlekłym i niepostępującym uszkodzeniem ośrodkowego układu nerwowego we wczesnym stadium jego rozwoju [53]. Ze względu na poprawę jakości życia pacjentów, poszukuje się coraz skuteczniejszych terapii. Mózgowe porażenie dziecięce znajduje się wśród chorób neurologicznych, które potencjalnie mogłyby być leczone za pomocą komórek macierzystych [54]. Obecnie przeprowadzono już pierwsze terapie z użyciem zarówno własnych (autologicznych), jak i pochodzących od dawcy – allogenicznych - komórek macierzystych. Trwają także próby kliniczne mające na celu weryfikację bezpieczeństwa, użycia i efektywności [55]. Purandare i współpracownicy podali 6. letniej pacjentce z CP autologiczne komórki mononuklearne pochodzące ze szpiku kostnego drogą pięciu infuzji dokanałowych. Uzyskano poprawę w sferze motorycznej, poznawczej, zmysłowej oraz w zakresie umiejętności mowy [56]. Opisano również poprawę stanu klinicznego 11. letniego chłopca z wywiadem niedotlenienia okołoporodowego i rozpoznaniem mózgowego porażenia dziecięcego po 4. infuzjach dożylnych autologicznych komórek macierzystych pochodzących ze szpiku kostnego [57]. Jensen i Hamelmann w 2013 roku donieśli o pierwszym użyciu autologicznej krwi pępowinowej w leczeniu dziecka w stanie wegetatywnym, z porażeniem mózgowym spowodowanym encefalopatią niedotlenieniowo-niedokrwienną po zatrzymaniu akcji serca. Pacjent otrzymał dożylnie  $5,75 \times 10^8$  komórek mononuklearnych. Uzyskano poprawę kliniczną [58]. W powyższych przypadkach doszło również do poprawy upośledzonego widzenia. Natomiast Wang i współpracownicy użyli allogenicznej krwi pępowinowej pochodzącej od młodszego rodzeństwa drogą zarówno dożylną, jak i dokanałową. Nie opisano objawów ubocznych poza gorączką niskiego stopnia. Obserwowano poprawę motoryki dużej [59]. Udowodniono, że użycie allogenicznego źródła komórek macierzystych może być preferowane u chorych na mózgowe porażenie dziecięce ze względu na obniżony poziom cytokin prozapalnych we krwi pacjentów. Badaniem objęto 7. pacjentów poddano auto- bądź allo-transplantacji z użyciem krwi pępowinowej potencjalizowanej erytropoetyną [60]. Min i współpracownicy przeprowadzili randomizowane badanie kliniczne z podwójnie ślepą próbą badające skuteczność łączonej terapii za pomocą allogenicznej transplantacji komórek krwiotwórczych z krwi pępowinowej (allo-CB-HSCT) i rekombinowanej ludzkiej erytropoetyny, jako poten-

## PEDIATRICS AND CHILD NEUROLOGY

The cerebral palsy (CP) is a heterogenic disease caused by chronic and non-progressive damage of the central nervous system during early stage of its development [53]. Due to the improvement of the quality of patient's lives ever more efficient therapies are sought for. Cerebral palsy is among the neurological disorders that could potentially be treated with stem cells [54]. There were currently first therapies with use of both own (autologic) and donor (allogenic) stem cells. There are also clinical trials aiming at verification of safety, application and efficiency [55]. Purandare et al. administered a 6-year old CP patient autologic mononuclear cells from bone marrow in five lumbar infusions. There was improvement achieved in motility, cognition, senses and in speech abilities [56]. Also the clinical condition was described as improved in case of a 11-year old boy with history of birth-related oxygen starvation and diagnosed cerebral palsy, after 4 intravenous infusions of autologic stem cells from bone marrow [57]. Jensen and Hamelmann reported, in 2013, about the first use of autologic cord blood in treatment of a child in vegetative state, with cerebral palsy caused by oxygen-blood starvation induced encephalopathy after cardiac arrest. The patient was intravenously administered  $5.75 \times 10^8$  of mononuclear cells. A clinical improvement was achieved [58]. In the above cases also improvement of impaired vision occurred. Wang et al. used allogenic cord blood of younger siblings, both in intravenous and lumbar infusions. There were no side effects, apart from low grade fever. The major motility was improved [59]. It was proven, that the use of allogenic source of stem cells may be preferred in case of cerebral palsy patients, due to the lowered levels of pro-inflammatory cytokines in patients' blood. The test included 7 patients subjected to auto- or allo-transplantation with use of cord blood potentialized with erythropoietin [60]. Min et al. conducted a randomized clinical test with double blank group investigating the efficiency of connected therapy of allogenic bloodforming cells transplantation (allo-CB-HSCT) and recombinant human erythropoietin as potentialization of allo-CB-HSCT in case of children with cerebral palsy. Three therapeutic groups were tested: one subjected only to rehabilitation, the other also received erythropoietin injections, the third was completed with allo-CB-HSCT addition. The last group showed statistically significant decrease of motile and cognitive dysfunction, and also metabolic and structural changes in central nervous system [61]. There are currently two clinical tests undergoing (Duke University Medical Center - NCT01147653 and Georgia Health Sciences University - NCT01072370) aiming at evaluation of efficiency and safety of treating children with cerebral palsy with use of autological umbilical cord blood. Two other tests (Bundang CHA Hospital - NCT01639404, NCT01528436) using allogenic cord

cializacji działania allo-CB-HSCT u dzieci z mózgowym porażeniem dziecięcym. Badano trzy grupy terapeutyczne: jedna poddana była wyłącznie rehabilitacji, druga również otrzymywała zastrzyki z erytopoetyny, a w trzeciej grupie do terapii dołączono allo-CB-HSCT. Zaobserwowano, że w ostatniej grupie doszło do statystycznie istotnego zmniejszenia dysfunkcji motorycznej i poznawczej, a także do metabolicznych i strukturalnych zmian w ośrodkowym układzie nerwowym [61]. Obecnie w toku są dwa badania kliniczne (Duke University Medical Center - NCT01147653 oraz Georgia Health Sciences University - NCT01072370) mające na celu ocenę skuteczności i bezpieczeństwa leczenia dzieci z mózgowym porażeniem dziecięcym za pomocą autologicznej krwi pępowinowej. Dwa inne badania (Bundang CHA Hospital - NCT01639404, NCT01528436), w których zastosowano allogeniczną krew pępowinową już się zakończyły, natomiast wyników jeszcze nie opublikowano [43].

Wang i współpracownicy wykazali poprawę motoryki dużej u pacjentów z CP poddanych terapii autologicznymi mezenchymalnymi komórkami macierzystymi pochodzącymi ze szpiku kostnego. Badanie objęło 46 osób, komórki podawano dokanałowo bądź podczas operacji stereotaktycznej [62]. Mancías-Guerra i współpracownicy badali bezpieczeństwo i efekty terapii komórkowej u dzieci z mózgowym porażeniem dziecięcym w badaniu klinicznym I fazy. Oceniano 18. pacjentów po dokanałowej i dożylniej podaży pochodzących ze szpiku kostnego komórek macierzystych po stymulacji czynnikiem wzrostu granulocytów. U 3. pacjentów zaobserwowano efekty uboczne pod postacią bólu głowy, wymiotów, gorączki czy sztywności karku. Oceniano sferę motoryczną, poznawczą, umiejętności komunikacyjne, socjalne i adaptacyjne przed terapią oraz miesiąc i sześć miesięcy po podaniu komórek. We wszystkich aspektach zanotowano efekt odpowiadający zwiększeniu się wieku rozwojowego o 4,7 miesiąca [63]. Chen i współpracownicy analizowali potencjał neuropodobnych komórek macierzystych pochodzących z autologicznego szpiku kostnego w badaniu klinicznym na 60. pacjentach, wśród których połowa poddana była tylko rehabilitacji, a druga otrzymała jeszcze autotransplantację do przestrzeni podpajęczynówkowej. Duża motoryka uległa poprawie u pacjentów poddanych terapii komórkowej, pozostałe obszary nie uległy zmianie. Nie zanotowano poważnych efektów ubocznych [64]. Pod koniec 2014 roku jest absolutnie za wcześnie na podsumowanie znaczenia multipotencjalnych komórek mezenchymalnych z galarety Whartona w polskiej neurologii, ale najważniejszą wydaje się informacja, że zaczęto je już stosować na zasadzie medycznego eksperymentu leczniczego.

## PEDIATRIA I HEMATO-ONKOLOGIA

Złośliwe nowotwory stanowią drugą – pod względem częstości – przyczynę zgonów (mężczyźni – około 26%, kobiety – około 23%). Zgodnie z raportem Konsultan-

blood have already finished, but their results were not yet published [43].

Wang et al. proved the improvement of major motility in CP patients subjected to allogenic therapy with mesenchymal stem cells from bone marrow. The study included 46 people the cells were administered in the cord or during stereotactic procedure [62]. Mancías-Guerra et al. Investigated the safety and effects of cell therapy of children suffering from cerebral palsy in a first stage clinical trial. 18 patients after lumbar and intravenous administration of bone marrow stem cells after stimulation with granulocyte growth factor were evaluated. In all aspects an effect was observed that corresponded to an increase of development age of 4.7 months [63]. Chen et al. analyzed the potential of neuro-similar stem cells from autologic bone marrow in a clinical test conducted with 60 patients, half of which were subjected to rehabilitation only, the other half also received an autotransplantation into subarachnoid space. Major motility improved in case of cell transplant patients, remaining areas did not change. No serious side effects were observed [64]. At the end of 2014 it is most certainly too early to summarize the importance of multipotent mesenchymal Wharton's jelly stem cells in Polish neurology, but what seems most important is the information that they started to be used in medical experiments.

## PEDIATRICS AND HEMATO-ONCOLOGY

Malignant cancers are the second – when frequency is considered – cause of death (men – approximately 26%, women – around 23%). Pursuant to the report of the State Child Oncology and Hematology Consultant there are currently around 1200 new cases of child age cancers each year. The above data confirms the need of creation of new mechanism for maximization of oncologic treatment efficiency, e.g. through lowering of its toxicity. One of the most frequently used methods of treatment for onco-hematological diseases are the chemotherapy and radiotherapy. The efficiency of chemotherapy depends not only from an early diagnosis (which is still frequently late in Poland), but also from the systematic treatment. In order to exclude toxicity of treatment the used doses of (cytostatic) drugs are very precisely defined by applicable standards of treatment.

ta Krajowego do spraw Onkologii i Hematologii Dziecięcej rocznie w Polsce jest rozpoznawanych ok. 1200. nowych zachorowań tylko na nowotwory wieku dziecięcego. Powyższe dane potwierdzają celowość stworzenia nowatorskich mechanizmów maksymalizujących skuteczność leczenia onkologicznego, np. poprzez zmniejszanie jego toksyczności. Jednymi z najczęstszych metod leczenia choroby onko-hematologicznej jest chemioterapia i radioterapia. Skuteczność chemioterapii zależy jednak nie tylko od wczesnego rozpoznania choroby (co nadal zdarza się z opóźnieniem w Polsce), ale również od jej systematycznego leczenia. Celem uniknięcia toksyczności leczenia, dawki stosowanych leków (cytostatyków) są bardzo dokładnie wyznaczane przez obowiązujące schematy terapii. Jednak pomimo przestrzegania schematów i prowadzonej według nich, razem z chemioterapią, profilaktyki działań ubocznych, teoretycznie nawet u każdego dziecka i dorosłego pacjenta może dojść do bardziej lub mniej nasilonej toksyczności związanej ze stosowanym leczeniem.

Toksyczność chemioterapii może być przeciwwskazaniem do stosowania odpowiednio wysokich dawek cytostatyków oraz utrudnia przeprowadzanie w należnym terminie kolejnych cykli leczenia. Osłabione lub opóźnione w którykolwiek z powyższych sposobów, postępowanie medyczne wpływa jednoznacznie niekorzystnie na wyniki leczenia. Jak wynika z badań naukowych prowadzonych już przez liczne ośrodki multipotencjalne komórki macierzyste wydają się być odpowiednim narzędziem w leczeniu toksyczności coraz większej liczby cytostatyków stosowanych w chemioterapii [65-71]. Próbnie zastosowanie multipotencjalnych komórek macierzystych w zwalczaniu powikłań chemoterapii ma szansę przekształcić się w regularne postępowanie lecznicze, mające na celu podwyższenie skuteczności leczenia oraz zmniejszenia kosztów przedłużającej się chemioterapii. Proponowane, podobne postępowanie obniżające toksyczność radioterapii, opisywane już w światowej literaturze medycznej [72-74].

Ze względu na nieliczną grup kilkunastu pacjentów, przed końcem 2014 roku nie można jeszcze przeprowadzić szerokiej oceny skuteczności regenerowania narządów u dzieci z hemato-onkologicznymi chorobami wymagającymi przeszczepienia krwiotwórczych komórek macierzystych, jednak ze względu na innowacyjność rozwiązań, jak już wspomniano, pierwsze wyniki zostały już przedstawione na międzynarodowym zjeździe EBMT w kwietniu 2014 roku w Mediolanie [31].

## PODSUMOWANIE

W dniu 1 października 2010r. wszedł w życie pakiet 6 ustaw reformujących system nauki, w tym ustawa z dnia 30 kwietnia 2010r. o zasadach finansowania nauki (Dz.U. Nr 96, poz.615 z późn. zm.). Zgodnie z art. 4 ust. 1 ustawy o zasadach finansowania nauki, Rada Ministrów ustanowiła w formie uchwały Krajowy Program Badań (KPB) w zakresie kierunków badań i prac

Even if the standards are applied in connection with the chemotherapy-assisting prophylactics of side effects, theoretically every child and adult could develop more or less intensive treatment-related toxicity.

Toxicity of chemotherapy may be a contraindication for use of sufficiently high doses of cytostatic drugs, which makes the timely performance of the successive cycles of treatment problematic. The weakened or late, due any of the above listed reasons, medical treatment negatively influence the outcome. As the scientific studies of different centers suggest, the multipotent stem cells seem to be an appropriate tool for treating toxicity of an increasing number of cytostatic drugs used for chemotherapy [65-71]. Test application of multipotent stem cells in treating complications of chemotherapy has the chance of developing into a regular therapeutic procedure, that aims at increasing the efficiency of treatment and the reduction of costs of prolonging chemotherapy. A suggested, similar procedure for reduction of toxicity of radiotherapy, was already described in medical literature [72-74].

Due to the small groups of just over ten patients we are still, as of 2014, unable to perform a broad evaluation of efficiency of organ regeneration in case of children suffering from hemato-oncologic diseases that require the transplantation of blood-forming stem cells, still due to the innovative character of those solutions, the first results were already presented in April 2014 during the EMBT convention in Milan [31].

## SUMMARY

On October 1st, 2010 a package of 6 acts came in force, that reformed the scientific system, including the 30 April, 2010 act on financing of science (Journal of laws "Dz.U." no. 96, item 615, as amended). Pursuant to art. 4 s. 1 of the act on financing of science the Board of Ministers has established, by its resolution, the State Research Program (Pol. "Krajowy Program Badań" – KPB) regarding the research fields and development works, including seven strategic, interdisciplinary research priorities, including the development of modern Polish medicine (Item no. 2. Diseases of affluence, new drugs and regenerative medicine).

rozwojowych, który zastąpił Krajowy Program Badań Naukowych i Prac Rozwojowych z dnia 30 października 2008r. Krajowy Program Badań określa strategiczne dla państwa kierunki badań naukowych i prac rozwojowych i obejmuje w wyborze priorytetowych kierunków badań naukowych i prac rozwojowych, siedem strategicznych, interdyscyplinarnych kierunków, w tym kierunek związany z rozwojem współczesnej polskiej medycyny (Punkt nr 2. Choroby cywilizacyjne, nowe leki oraz medycyna regeneracyjna).

Cytując fragment z KPB „...badania w dziedzinie medycyny regeneracyjnej cechuje ogromny potencjał, w tym zwłaszcza nad wykorzystaniem możliwości terapeutycznych wiążących się z właściwościami somatycznych komórek macierzystych oraz komórek macierzystych krwi pępowinowej, w szczególności w regeneracji narządów...” uważamy, że należy dopisać do powyższego, nowe, obiecujące źródło materiału biologicznego – sznur pępowiny.

We can quote a fragment of KPB “...research in field of regenerative medicine are characterized by their enormous potential, especially those connected with use of therapeutic possibilities offered by somatic stem cells and cord blood stem cells, especially in organ regeneration...” and we believe, that the above should be extended by a new, promising source of biological material – the umbilical cord.

#### Piśmiennictwo / References:

1. **Boruczowski D.** Krew pępowinowa. Przeszość, terażniejszość, przyszłość. *GinPolMedProject* 2009;4(14):73-84.
2. **Gładysz D, Pawelec K, Baran J, Boruczowski D.** Stem cell transplantations: Famicord Group own experience. *Cell and Organ Transplantation* 2013;1(1):35-38.
3. **Pawelec K, Boruczowski D, Oldak T et al.** Combined umbilical cord blood and bone marrow transplantation from a sibling in a patient with Fanconi anemia. *Central European Journal of Immunology* 2013; 38(3):399-402.
4. **Boruczowski D, Pawelec K, Boruczowski M, Gładysz D.** Komórki macierzyste przyszłością biomedycyny. *Transformacje* 2013;1-2(76-77):462-477.
5. **Schmitt A, van Griensven M, Imhoff B et al.** Application of Stem Cells in Orthopedics. *Stem Cells International*, vol. 2012.
6. **Zuk PA, Zhu M, Ashjian P et al.** Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Molecular Biology of the Cell* 2002;13:4279-4295.
7. **Gang EJ, Jeong JA, Hong SH et al.** Skeletal myogenic differentiation of mesenchymal stem cells isolated from human umbilical cord blood. *Stem Cells* 2004; 22:617-624.
8. **Kern S, Eichler H, Stoeve J et al.** Comparative analysis of mesenchymal stem cells from bone marrow, umbilical cord blood or adipose tissue. *Stem Cells* 2004;24:1294-1301.
9. **Deans RJ, Moseley AM.** Mesenchymal stem cells: biology and potential clinical uses. *Experimental Hematology* 2000; 28:875-884.
10. **Barry F, Boynton R, Murphy I et al.** SH-3 and SH-4 antibodies recognized distinct epitopes on CD73 from human mesenchymal stem cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2001;289:519-524.
11. **Meirelles L. da Silva, Fontes AM, Covas DT et al.** Mechanisms involved in the therapeutic properties of mesenchymal stem cells. *Cytokine & Growth Factor Reviews* 2009;20(5-6):419-427.
12. **Iyer SS, Rojas M.** Anti-inflammatory effects of mesenchymal stem cells: novel concept for future therapies. *Expert Opinion on Biological Therapy* 2008; 8:569-581.
13. **Gebler A, Zabel O, Seliger B.** The immunomodulatory capacity of mesenchymal stem cells. *Trends in Molecular Medicine* 2012;18:128-134.
14. **Krampera M, Glennie S, Dyson J et al.** Bone marrow mesenchymal stem cells inhibit the response of naive and memory antigen-specific T cells to their cognate peptide. *Blood* 2003;101:3722-3729.
15. **Maitra B, Szekely E, Gjini K et al.** Human mesenchymal stem cells support unrelated donor hematopoietic stem cells and suppress T-cell activation. *Bone Marrow Transplantation* 2004;33:597-604.
16. **Baksh D, Yao R, Tuan R.** Comparison of Proliferative and Multilineage Differentiation Potential of Human Mesenchymal Stem Cells Derived from Umbilical Cord and Bone Marrow. *Stem Cells* 2007;25:1384-1392.
17. **Prassana SJ, Gopalakrishnan D, Shankar SR et al.** Pro-inflammatory cytokines, IFN $\gamma$  and TNF $\alpha$ , influence immune properties of human bone marrow and Wharton jelly mesenchymal stem cells differentially. *PLoS One* 2010;5:e9016.
18. **Boruczowski D, Oldak T, Pawelec K et al.** The collection and cultivation of umbilical cord derived cells for potential clinical use. *Bone Marrow Transplant* 2012; 47(supl 1):S280 – S281.
19. **Czaplicka I, Murzyn M, Olkowicz A i wsp.** Badania laboratoryjne mezenchymalnych komórek macierzystych pochodzących z galarety Whartona. *Onkologia Polska* 2012, 15(supl.1): p085.



20. **Murzyn M, Czaplicka I, Olkiewicz A et al.** The number of mesenchymal cells from Wharton jelly is not affected by the fragment of the umbilical cord from which the cells were isolated. *Bone Marrow Transplant* 2013;(48)(supl 2):S111.
21. Uchwała Komisji Bioetycznej Lubelskiego Uniwersytetu Medycznego, numer KE-0254/11/2011 z dnia 27 stycznia 2011 roku.
22. Uchwała Komisji Bioetycznej Śląskiego Uniwersytetu Medycznego, numer KNW/0022/KB1/43/12 z dnia 20 marca 2012 roku.
23. Uchwała Komisji Bioetycznej Śląskiego Uniwersytetu Medycznego, numer KNW/0022/KB1/43/1/12 z dnia 22 maja 2012 roku.
24. Uchwała Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu, numer 1141/12 z dnia 03 stycznia 2013 roku.
25. Opinia Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu, numer KB 17 z dnia 11 stycznia 2013 roku.
26. Uchwała Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu, Collegium Medicum w Bydgoszczy, numer KB 69/2013 z dnia 26 lutego 2013 roku.
27. Uchwała Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu, Collegium Medicum w Bydgoszczy, numer KB 78/2013.
28. Uchwała Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym w Lublinie numer KE-0254/172/2013 z dnia 23 maja 2013 roku.
29. Uchwała Komisji Bioetycznej Okręgowej Izby Lekarskiej w Częstochowie numer K.B.Cz. 0004/2014 z dnia 29 października 2014 roku.
30. Uchwała Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym w Lublinie numer KE-0254/274/2014 z dnia 30 października 2014 roku.
31. **Gładysz D, Murzyn M, Czaplicka I et al.** The first in Poland follow-up of 10 patients with steroid-refractory graft-versus-host disease treated with intravenously applied Wharton's jelly-derived mesenchymal stem cells as a salvage therapy. *Bone Marrow Transplant* 2014;Volume 49(supl 1):S537.
32. **Cruz M, Dissaranan C, Cotleur A et al.** Pelvic organ distribution of mesenchymal stem cells injected intravenously after simulated childbirth injury in female rats. *Obstet Gynecol Int* 2012;2012: 612946.
33. **Corcos J, Loutochin O, Campeau L et al.** Bone marrow mesenchymal stromal cell therapy for external urethral sphincter restoration in a rat model of stress urinary incontinence. *Neurourol Urodyn* 2011; 30(3): 447-455.
34. **Xu Y, Song YF, Lin ZX.** Transplantation of muscle-derived stem cells plus biodegradable fibrin glue restores the urethral sphincter in a pudendal nerve-transected rat model. *Braz J Med Biol Res* 2010;43(11):1076-1083.
35. **Kim SO, Na HS, Kwon D et al.** Bone-marrow-derived mesenchymal stem cell transplantation enhances closing pressure and leak point pressure in a female urinary incontinence rat model. *Urol Int* 2011;86(1):110-116.
36. **Wu G, Song Y, Zheng X, Jiang Z.** Adipose-derived stromal cell transplantation for treatment of stress urinary incontinence. *Tissue Cell* 2011;43(4):246-253.
37. **Chermansky CJ, Tarin T, Kwon DD et al.** Intraurethral muscle-derived cell injections increase leak point pressure in a rat model of intrinsic sphincter deficiency. *Urology* 2004;63(4):780-785.
38. **Lim JJ, Jang JB, Kim JY et al.** Human umbilical cord blood mononuclear cell transplantation in rats with intrinsic sphincter deficiency. *J Korean Med Sci* 2010;25(5): 663-670.
39. **Lin G, Wang G, Banie L et al.** Treatment of stress urinary incontinence with adipose tissue-derived stem cells. *Cytotherapy* 2010;12(1):88-95.
40. **Zhao W, Zhang C, Jin C et al.** Periurethral injection of autologous adipose-derived stem cells with controlled-release nerve growth factor for the treatment of stress urinary incontinence in a rat model. *Eur Urol* 2011; 59(1):155-163.
41. **Fu Q, Song XF, Liao GL, Deng CL, Cui L.** Myoblasts differentiated from adipose-derived stem cells to treat stress urinary incontinence. *Urology* 2010;75(3):718-723.
42. **Imamura T, Ishizuka O, Kinebuchi Y et al.** Implantation of autologous bone-marrow-derived cells reconstructs functional urethral sphincters in rabbits. *Tissue Eng Part A* 2011;17(7-8):1069-1081.
43. [www.clinicaltrials.gov](http://www.clinicaltrials.gov)
44. **Salcedo L, Penn M, Damaser M et al.** Functional outcome after anal sphincter injury and treatment with mesenchymal stem cells. *Stem Cells Transl Med* 2014; 3(6):760-767.
45. **Aghaee-Afshar M, Rezazadehkermani M, Asadi A et al.** Potential of human umbilical cord matrix and rabbit bone marrow derived mesenchymal stem cells in repair of surgically incised rabbit external anal sphincter. *Disease Colon Rectum* 2009;52:1753-1761.
46. **White AB, Keller PW, Acevedo JF et al.** Effect of myogenic stem cells on contractile properties of the repaired and unrepaired transected external anal sphincter in an animal model. *Obstet Gynecol* 2010;115: 815-823.
47. **Craig JB LF, Nistor G, Motakef S, Pham Q, Keirstead H.** Allogenic myoblast transplantation in the rat anal sphincter. *Female Pelvic Med Reconstr Surg* 2010; 16:205-208.
48. **Kajbafzadeh AM, Elmi A, Talab SS et al.** Functional external anal sphincter reconstruction for treatment of anal incontinence using muscle progenitor cell auto grafting. *Disease Colon Rectum* 2010;53:1415-1421.
49. **Frudinger A, Kolle D, Schwaiger W et al.** Muscle-derived cell injection to treat anal incontinence due to obstetric trauma: pilot study with 1 year follow-up. *Gut* 2010;59:55-61.
50. **Romaniszyn M, Rozwadowska N, Nowak M et al.** Successful implantation of autologous muscle-derived stem cells in treatment of faecal incontinence due to external sphincter rupture. *Int J Colorectal Dis* 2013; 28(7):1035-1036.
51. **Ochoa I, Peña E, Andreu EJ et al.** Mechanical properties of cross-linked collagen meshes after human adipose derived stromal cells seeding. *J Biomed Mater Res A* 2011;96(2):341-348.
52. **Dorin RP, Atala A, Defilippo RE.** Bioengineering a vaginal replacement using a small biopsy of autologous tissue. *Semin Reprod Med* 2011;29:38-44.
53. **Faulkner SD, Ruff CA, Fehlings MG.** The potential for stem cells in cerebral palsy-piecing together the puzzle. *Semin Pediatr Neurol* 2013;20(2):146-153.
54. **Harris DT.** Cord blood stem cells: a review of potential neurological applications. *Stem Cell Rev* 2008;4(4):269-274.
55. **Ruff CA, Faulkner SD, Fehlings MG.** The potential for stem cell therapies to have an impact on cerebral palsy: opportunities and limitations. *Dev Med Child Neurol* 2013; 55(8): 689-697.

56. **Purandare C, Shitole DG, Belle V et al.** Therapeutic potential of autologous stem cell transplantation for cerebral palsy. *Case Rep Transplant* 2012;2012:825289.
57. **Li M, Yu A, Zhang F et al.** Treatment of one case of cerebral palsy combined with posterior visual pathway injury using autologous bone marrow mesenchymal stem cells. *J Transl Med* 2012;10:100.
58. **Jensen A, Hamelmann E.** First autologous cell therapy of cerebral palsy caused by hypoxic-ischemic brain damage in a child after cardiac arrest-individual treatment with cord blood. *Case Rep Transplant* 2013; 2013:951827.
59. **Wang L, Ji H, Zhou J et al.** Therapeutic potential of umbilical cord mesenchymal stromal cells transplantation for cerebral palsy: a case report. *Case Rep Transplant* 2013;2013:146347.
60. **Bae SH, Lee HS, Kang MS et al.** The levels of pro-inflammatory factors are significantly decreased in cerebral palsy patients following an allogeneic umbilical cord blood cell transplant. *Int J Stem Cells* 2012;5(1):31-38.
61. **Min K, Song J, Kang JY et al.** Umbilical cord blood therapy potentiated with erythropoietin for children with cerebral palsy: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Stem Cells* 2013;31(3):581-91.
62. **Wang X, Cheng H, Hua R et al.** Effects of bone marrow mesenchymal stromal cells on gross motor function measure scores of children with cerebral palsy: a preliminary clinical study. *Cytotherapy* 2013; 15(12): 1549-1562.
63. **Mancías-Guerra C, Marroquín-Escamilla AR, González-Llano O et al.** Safety and tolerability of intrathecal delivery of autologous bone marrow nucleated cells in children with cerebral palsy: an open-label phase I trial. *Cytotherapy* 2014;16(6): 810-820.
64. **Chen G, Wang Y, Xu Z et al.** Neural stem cell-like cells derived from autologous bone mesenchymal stem cells for the treatment of patients with cerebral palsy. *J Transl Med* 2013;Jan 26;11: 21.
65. **Boruczowski D, Czaplicka I, Murzyn M, Olkowicz A, Boruczowski M.** Perspektywy zastosowania macierzystych komórek mezenchymalnych w leczeniu powikłań toksycznych chemioterapii. *Onkologia Polska* 2012;15(supl.1): p082.
66. **Magnasco A et al.** Mesenchymal Stem Cells Protective Effect in Adriamycin Model of Nephropathy. *Cell Transplantation* 2008;17(10-11):1157 -1167.
67. **Di GH et al.** Human umbilical cord mesenchymal stromal cells mitigate chemotherapy-associated tissue injury in a pre-clinical mouse model. *Cytotherapy* 2012; 14(4):412 – 422.
68. **Ortiz L et al.** Mesenchymal stem cell engraftment in lung is enhanced in response to bleomycin exposure and ameliorates its fibrotic effects. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100(14):8407-8411.
69. **Moodley Y et al.** Human umbilical cord mesenchymal stem cells reduce fibrosis of bleomycin-induced lung injury. *Am J Pathol* 2009;175(1):303-313.
70. **Yuan L et al.** VEGF-modified human embryonic mesenchymal stem cell implantation enhances protection against cisplatin-induced acute kidney injury. *Am J Physiol Renal Physiol* 2011;300(1): F207-F218.
71. **Gopinath S et al.** Human umbilical cord blood derived stem cells repair doxorubicin-induced pathological cardiac hypertrophy in mice. *Biochem Biophys Res Commun* 2010;395(3):367-372.
72. **Fekete N et al.** Effect of high dose irradiation on human bone marrow-derived MSCs. *Tissue Engineering Part C* 2014.
73. **Li Wei et al.** Multiple injections of human umbilical cord-derived mesenchymal stromal cells through the tail vein improve microcirculation and the microenvironment in a rat model of radiation myelopathy. *Journal of Translational Medicine* 2014;12: 246.
74. **Acharya MM et al.** Human Neural Stem Cell Transplantation Ameliorates Radiation-Induced Cognitive Dysfunction. *Cancer Res* 2011;71(14):4834–4845.