

Varia

Potworniak okolicy krzyżowo-guzicznej

KATARZYNA JANIAK, ANNA PIASECZNA-PIOTROWSKA, KRZYSZTOF SZAFLIK

WPROWADZENIE

Ultrasonografia (USG – ultrasonography) ma zastosowanie w diagnostyce guzów u płodów od ponad 30 lat. Precyzyjniejszą ocenę tych anomalii w okresie prenatalnym zapewniają nowsze techniki, takie jak rezonans magnetyczny (MR – magnetic resonance), analiza materiału genetycznego komórek płodu, próba identyfikacji specyficznych dla guzów o różnej etiologii antygenów występujących w surowicy ciężarnej i płodu. Stopień złośliwości guza to ważny wskaźnik prognostyczny, dlatego w większości przypadków diagnozowanie skupia się na określeniu stadium jego zaawansowania i zróżnicowania¹⁻⁴.

W przypadku potworniaka okolicy krzyżowo-guzicznej (SCT – sacrococcygeal teratoma) uwidocznionego w okresie płodowym lokalizacja, rozległość, a przede wszystkim unaczynienie guza wydają się ważniejszymi czynnikami rokowniczymi niż rozpoznanie histopatologiczne. Bogate unaczynienie potworniaka to czynnik nasilający rozwój objawów niewydolności krążenia i obrzęku nieimmunologicznego, mogących prowadzić do wewnątrzmacicznego obumarcia płodu. Niekorzystnemu przebiegowi ciąży w przypadku SCT u płodu można zapobiec metodami inwazyjnej interwencji prenatalnej lub farmakologicznym wspomaganiem układu krążenia płodu⁵⁻⁹.

SCT jest najczęstszym wrodzonym guzem litym w okresie płodowym i noworodkowym. Występuje w 1 przypadku na 35 000–40 000 żywych urodzeń. U płodów płci żeńskiej odnotowuje się go 4 razy częściej niż u chłopców, ale u tych ostatnich większy jest odsetek guzów z cechami złośliwości. Potworniaki zwykle występują sporadycznie i nie powtarzają się w kolejnych ciążach, w większości przypadków nie opisano zaburzeń chromosomowych ani współistniejących wad. Z tego powodu nie ma wskazań do badania kariotypu u płodów z SCT, należy jednak pamiętać, że guzy te niekiedy są dziedziczone rodzinnie, autosomalnie dominująco. U 15% płodów z SCT współistnieją dodatkowe wady wrodzone, takie jak anomalie kości krzyżowej, rozszczep kręgosłupa, przepuklina oponowo-rdzeniowa, zarośnięty odbyt czy dwurożna macica lub pochwa. Niekiedy składają się one na tzw. zespół Currarino, w którym guzowi towarzyszą wady kości krzyżowej i odbytu¹⁰⁻¹².

Naturalna historia SCT rozpoznanego u płodu różni się istotnie od naturalnej historii guza pierwszorazowo zdiagnozowanego u noworodka. U płodów niemal nie zdarzają się obumarcia z powodu cech złośliwości guza, natomiast w okresie postnatalnym są one najczęstszą przyczyną zgonu. Pierwszorazowe rozpoznanie SCT u noworodka zwykle wiąże się z pomyślnym przebiegiem i niską śmiertelnością (ok. 5%), jeżeli zastosuje się właściwe leczenie chirurgiczne z całkowitą resekcją masy guza. SCT rozpoznany w okresie prenatalnym wiąże się z 50% ryzykiem porodu przedwczesnego, śmiertelnością wynoszącą 15–50% i powiązaną zachorowalnością na poziomie 12–68%^{8,9,13,14}.

W okresie noworodkowym rokowanie zależy przede wszystkim od umiejscowienia, wielkości i stopnia unaczynienia oraz dojrzałości guza. Powyższe elementy, włączone do klasyfikacji Sekcji Chirurgicznej Amerykańskiej Akademii Pediatricznej (AAPSS – American Academy of Pediatrics Surgical Section), zasadniczo wpływają na szanse przeżycia noworodków z SCT¹.

Wysokie wskaźniki okołourodzeniowej śmiertelności i zachorowalności wynikają z rozwoju u płodów niewydolności krążenia (aż do obrzęku), wystąpienia przedwczesnego porodu, anemii, niewspółmierności porodowej i pęknięcia powłok guza. Uciskanie narządów miednicy i jamy brzusznej, a także układu moczowego również może zwiększać zachorowalność. Bardzo ważna jest zatem identyfikacja grupy płodów z SCT, u których istnieje ryzyko powikłań w okresie okołourodzeniowym, pozwala bowiem zaplanować optymalne postępowanie prenatalne i przeprowadzić właściwe poradnictwo dla rodziców¹⁵⁻¹⁸.

EMBRIOLOGIA, ETIOLOGIA I PATOFIZJOLOGIA

SCT powstaje z prymitywnych, multipotencjalnych komórek węzła Hensena. Fizjologicznie komórki te zanikają, ale jeżeli nie ulegną degeneracji, to dochodzi do powstania potworniaka. Pozagonadalne potworniaki mają tendencję do pojawiania się w pośrodkowej linii ciała, najczęściej w okolicy krzyżowo-guzicznej, ale także w śródpiersiu przednim czy przestrzeni pozaotrzewnowej. Są złożone z mieszanym elementom pochodzącym z 1-3 listków zarodkowych: ektodermy, mezodermy i endodermy.

Potworniaki w zależności od utkania guza można podzielić na dwa typy:

- dojrzałe – łagodne, zawierające wysoko zróżnicowane komórki tworzące tkanki podobne do prawidłowych, dobrze rozwiniętych struktur: nerwowych, naskórka, nabłonka, włosów, zębów, kości, jelit; fragmenty splotów naczyniówkowych odpowiedzialne są za produkcję płynu w strukturach torbielowatych guza
- niedojrzałe – złośliwe, zbudowane z niedojrzałych histologicznie komórek, najczęściej neuronalnych lub nerkowych.

Ze względu na strukturę stosuje się następujący podział guzów:

- typ A – guz dominująco torbielowaty, płynowy. Występuje w 15% przypadków rozpoznanych prenatalnie. Odznacza się skąpym unaczynieniem, które nie wpływa na rozwój płodu, nawet gdy rozpoznanie zostanie postawione w II trymestrze ciąży. Wielowodzie, które zazwyczaj towarzyszy dużym guzom płynowym, bywa spowodowane przesiąkaniem do płynu owodniowego
- typ B – guz torbielowato-lity. Najczęstszy typ SCT, stwierdzany w 71-96% przypadków. Składa się zarówno ze zmian płynowych, jak i z elementów mięsistych
- typ C – guz lity. Najrzadziej występujący, ale ze względu na bogate unaczynienie związany z największym odsetkiem powikłań.

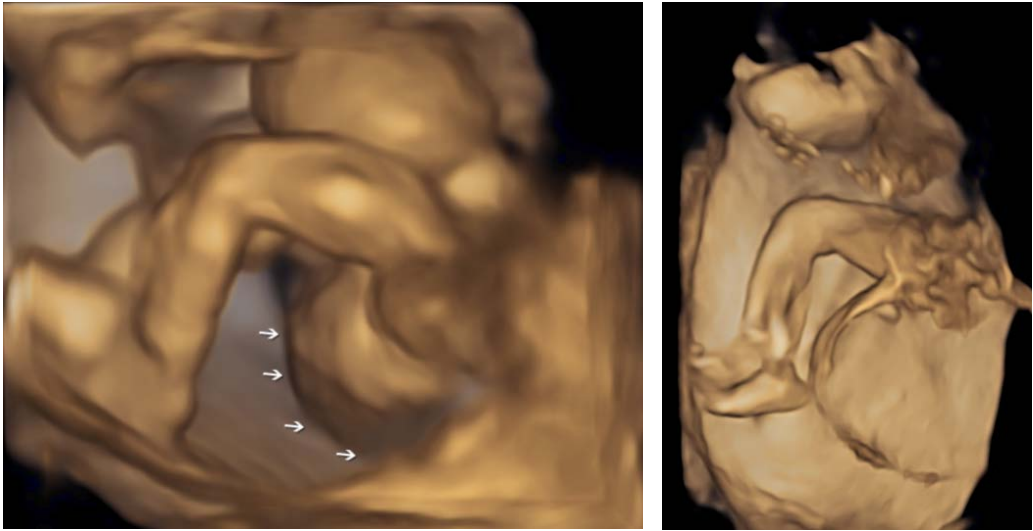
W ocenie rozległości guza stosuje się klasyfikację AAPSS:

- typ I – guz zlokalizowany głównie zewnątrznie
- typ II – guz zlokalizowany głównie zewnątrznie, z dostrzegalną zmianą wewnątrznią
- typ III – guz zlokalizowany głównie wewnątrz ciała, mniejsza część znajduje się na zewnątrz
- typ IV – guz w całości zlokalizowany wewnątrz ciała; w tym rodzaju guza najczęściej obserwuje się transformacje komórek w kierunku charakteru złośliwego.

Typy I i II stanowią 80%, a typ IV 10% przypadków^{1-3,5,6,19}.

PRENATALNE METODY DIAGNOSTYCZNE

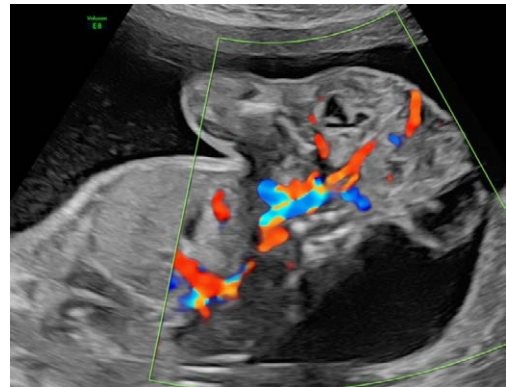
SCT może być uwidoczny już pod koniec I trymestru ciąży²⁰, najczęściej jednak rozpoznaje się go w II trymestrze (ryc. 1-6).



Rycina 1. SCT w obrazowaniu 3D



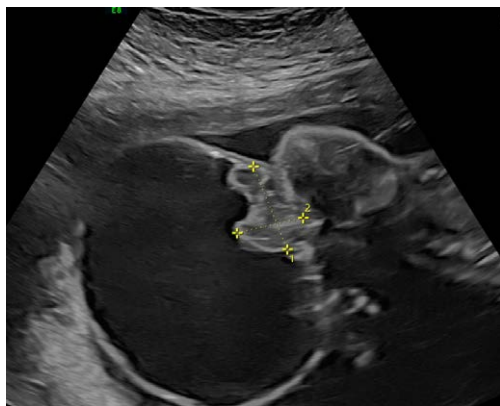
Rycina 2. SCT w obrazowaniu MR



Rycina 3. Dobrze unaczyniony, lity guz o typie SCT w obrazowaniu 2D i CD

W dwuwymiarowym USG stwierdza się egzofitycznie rosnącą strukturę, która wychodzi z okolicy krzyżowej i rozciąga ku dołowi i tyłowi od pośladków płodu (typy I-III), ale może też się ona rozrastać w kierunku jamy ciała płodu – miednicy i jamy brzusznej (typ IV). Ze względu na penetrację do jamy ciała typ IV jest najtrudniejszy do zdiagnozowania^{2,6-9,14,16,17}.

Udział części litej, a zatem dobrze unaczynionej, to ważny czynnik rokowniczy. Za pomocą badania dwuwymiarowego łatwo określić, czy struktura ma charakter płynowy, czy też mięszzowy. Domi-



Rycina 4. Płynowy guz typu SCT



Rycina 5. Obraz SCT po zabiegu założenia shuntu i laserowej koagulacji naczyń odżywczych guza

nująco torbielowaty guz należy diagnozować różnicowo z przepukliną oponowo-rdzeniową. Z kolei SCT o typie IV wymaga odróżnienia od anomalii zwanej fetus in fetu (płód w płodzie). Jeżeli SCT ma charakter płynowy, wówczas konieczna jest diagnostyka różnicowa z innymi zmianami patologicznymi w jamie brzusznej, np. torbielami jajnika lub krezki, zdwojeniem w obrębie przewodu pokarmowego albo układu moczowego, wodomaciczem, płynową postacią neuroblastomy, a także naczyniakami limfatycznymi lub krwionośnymi^{2,6-9,14,16,17}.

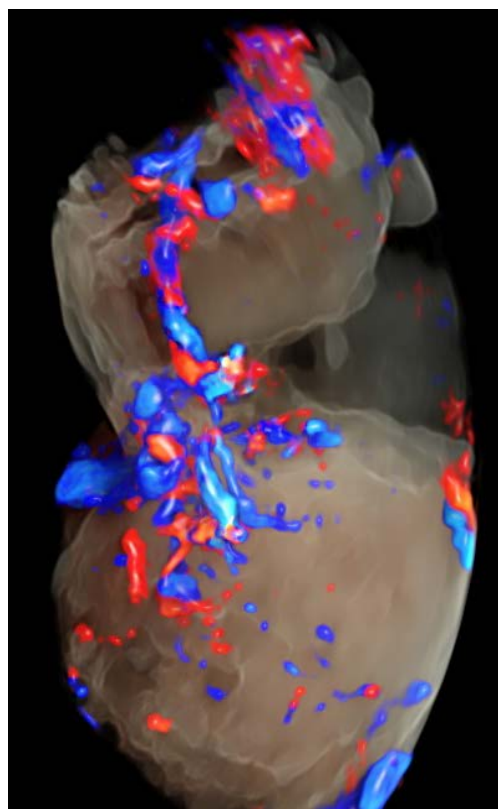
Trójwymiarowa wizualizacja guza bywa pomocna w prezentacji patologii rodzicom i ułatwia prowadzenie poradnictwa (ryc. 1).

Czynniki prognostyczne dla płodów z SCT przedstawiono w tabeli 1.

Diagnostykę różnicową dla płodów z SCT przedstawiono w tabeli 2.

Mechanizm powstawania częstego u płodów z SCT wielowodzia pozostaje nieznany, przypuszcza się jednak, że pojawia się ono wtórnie do hiperfiltracji nerkowej, spowodowanej zwiększonym obciążeniem wstępnym wynikającym ze zwiększenia objętości krwi krążącej¹⁸.

Techniki dopplerowskie (CD – colour doppler, PD – power doppler) uzupełnione o obrazowanie 3D umożliwiają określenie stopnia unaczynienia guza. Na podstawie oceny zmiennych przepływu (PW, CW) można uzyskać nie tylko wskaźniki w naczyniach guza, ale także w naczyniach obwodowych i wewnątrzsercowych – łącznie opisują one wydolność układu krążenia u płodów z SCT^{18,20,21}.



Rycina 6. Olbrzymi, dobrze unaczyniony guz typu SCT w obrazowaniu 3D i CD

Tabela 1. Czynniki prognostyczne w badaniu USG u płodów z SCT

	Niskie ryzyko	Pośrednie ryzyko	Wysokie ryzyko
Morfologia guza w USG	Typ A (torbielowaty)	Typ B (torbielowato-lity)	Typ C (lity)
Wielkość guza	<5 cm	5–10 cm	>10 cm
Wady towarzyszące	Nie	Zastój w UKM	Rozszczep kręgosłupa Anomalie chromosomowe
Wiek ciążowy w chwili porodu	>32 t.c.	28–32 t.c.	<28 t.c.
Ocena układu sercowo-naczyniowego	W normie	Przerost mięśnia sercowego	Upośledzenie funkcji mięśnia sercowego Nieprawidłowe przepływy obwodowe (DV, UMB V)

t.c. – tydzień ciąży; DV (ductus venosus) – przewód żylny; UKM – układ kielichowo-miedniczkowy; UMB V (umbilical vein) – żyła pępowinowa

Tabela 2. Diagnostyka różnicowa u płodów z SCT

	SCT	Myelomeningocele	Fetus in fetu
Zróznicowane tkanki pochodzące z 3 listków zarodkowych	+	–	+
Obecność narządów, dużych części ciała	+/-	–	+/-
Widoczne kręgi i dwustronna symetria	–	–	+
Zmiany w OUN: objaw cytryny, objaw banana	–	+	–

Diagnostykę SCT należy uzupełnić o MR (ryc. 2), który jest pomocny, zwłaszcza w ocenie zakresu wewnątrzbrzuszej penetracji guza, wrastania zmiany do kanału rdzeniowego oraz w badaniu krwawień wewnątrz guza²². MR dokładniej od USG obrazuje wtórne następstwa inwazji guza do jam ciała, takie jak wodonercze czy wodomacicze. Większa rozdzielczość MR umożliwia także dokładniejszą ocenę anatomii guza, co pozwala na przeprowadzenie lepszego poradnictwa dla rodziców i ustalenie wstępnego planu operacyjnego z chirurgiem dziecięcym. MR stosuje się również do odróżnienia SCT od fetus in fetu, ponieważ lepiej obrazuje liczne zwapnienia, bardziej charakterystyczne dla fetus in fetu^{21,23}.

Pomiar stężenia α -fetoproteiny w płynie owodniowym i w surowicy ciążarnej ma pewne znaczenie, ale wskaźnik ten wykorzystywany jest głównie w okresie postnatalnym. Badanie w surowicy dziecka pozwala na monitorowanie ewentualnej wznowy guza^{6,16,17,24}.

SCT wcześniej rozpoznany w USG (np. pod koniec I trymestru), dużych rozmiarów, o litej budowie, szybko rosnący, bogato unaczyniony, przechwytyjący znaczną objętość krwi płodu związany jest z ryzykiem wystąpienia zaburzeń hemodynamicznych, niewydolności krążenia, a nawet obumarcia płodu. Rokowanie zależy przede wszystkim od stopnia unaczynienia guza i wydolności układu krążenia. Znaczne powiększenie łożyska naczyniowego prowadzi do wysokiego rzutu sercowego, niewydolności krążenia, a w końcowym stadium – do nieimmunologicznego obrzęku płodu. Podstawowym czynnikiem wpływającym na śmiertelność płodów z SCT jest stopień zaawansowania niewydolności

krażenia. Z tego względu niezbędnym narzędziem monitorowania jest echokardiografia płodowa^{7,15,16,18,19,25,27}.

Patomechanizm zaburzeń w układzie krążenia u płodów z SCT, zasady monitorowania echokardiograficznego oraz ewentualne leczenie wpływające na wydolność krążenia omówiono w rozdziale poświęconym tachyarytmii.

Oprócz bezpośredniej oceny stanu wydolności krążenia u płodów z SCT rokownicze znaczenie ma również pośrednie określenie wielkości guzów litych jako potencjalny parametr rozległości łożyska naczyniowego SCT. Rodriguez i wsp. zdefiniowali wskaźnik wielkości guza, który ma znaczenie predykcyjne dla przeżywalności przy dokonaniu pomiaru przed 24 tygodniem ciąży. Autorzy porównywali orientacyjną masę płodu wyznaczoną na podstawie powszechnie przyjętych kalkulatorów z orientacyjną objętością guza obliczaną przy zastosowaniu USG lub MR. W efekcie sformułowali wskaźnik objętości guza do szacowanej masy płodu (TFR – tumor volume to fetal weight ratio). Jeśli jest on równy 0,12 lub mniejszy, oznacza pomyślniejsze rokowanie, natomiast przekroczenie 0,12 prognozuje niekorzystne losy ze 100% czułością i 83% swoistością. Wszystkie płody, u których w kolejnych tygodniach rozwinął się obrzęk nieimmunologiczny, miały TFR większy od 0,12. Wskaźnik ten pozwala zatem identyfikować płody z SCT wysokiego ryzyka, zarówno dla potrzeb postępowania terapeutycznego, jak i prowadzenia poradnictwa dla rodziców²⁸.

Jak wcześniej wspomniano, prenatalnie rozpoznany SCT wiąże się z licznymi powikłaniami nie tylko u płodu, ale także u ciężarnej. W większości przypadków między 22 a 34 tygodniem ciąży obserwuje się intensywny wzrost guza i progresję wielowodzia, co prowadzi do znacznego powiększenia macicy. Wystąpienie obrzęku nieimmunologicznego u płodów z SCT niemal w 100% skutkuje wewnątrzmacicznym obumarciem. Niekorzystnym czynnikiem rokowniczym, prowadzącym gwałtownie do śmierci dziecka, jest powiększenie i obrzęk łożyska. Mechanizm, w którego wyniku dochodzi do niewydolności krążenia u płodu, może prowadzić także do pogrubienia łożyska, nieprawidłowych przepływów w żyłę pępowinowej, a następnie do objawów zespołu lustrzanego (mirror syndrome) lub zespołu HELLP u ciężarnej. Położnicze komplikacje u ciężarnej obejmują również: dyskomfort związany z wielowodziem, niepowściągliwe wymioty, stan przedrzucawkowy, zaburzenia tolerancji glukozy i zagrożenie przedwczesnym porodem. Dlatego interwencję zabiegową u płodu zaleca się, zanim rozwinie się stan przedrzucawkowy^{9,25-27}.

CEL I METODY TERAPII

Istnieje kilka rodzajów wewnątrzmacicznej terapii SCT u płodów^{8,14,24,29-35}.

Amnioredukcja obniża ryzyko przedwczesnego porodu i poprawia komfort ciężarnej. Jeśli SCT składa się głównie ze zmian płynowych i torbielowatych, to aspiracja z nich płynu istotnie zmniejsza rozmiar guza. Żeby uniknąć wielokrotnego przeprowadzania tej procedury, stosuje się shunty odbarczające (ryc. 5).

Wobec niezadowalającej skuteczności leczenia objawowego należy rozważyć terapię przyczynową, czyli ograniczenie dodatkowego patologicznego łożyska naczyniowego.

Zdecydowanie złe rokowanie płodów z SCT z obrzękiem nieimmunologicznym i obrzękiem łożyska przyczyniło się do podjęcia prób resekcji guza jeszcze w trakcie życia płodowego (technika zabiegu – tab. 3). Na świecie do tej pory wykonano kilkanaście interwencji chirurgicznych u płodów z otwarciem jamy macicy (dane z PubMed, MEDLINE). Pierwszą, zakończoną powodzeniem resekcją SCT u płodu opisali Adzick i wsp. Pomimo wielowodzia, obrzęku łożyska i objawów zagrażającej niewydolności krążenia pojawiającej się wraz z szybką progresją guza podjęto decyzję o jego usunięciu w 26 tygodniu ciąży. Poród nastąpił 3 tygodnie po zabiegu, a w wieku 2 miesięcy dziecku usunięto kość guziczną. Mimo że doświadczenia kliniczne są wciąż nieduże, to dla płodów z SCT i jawną niewydolnością krążenia objawiającą się obrzękiem nieimmunologicznym oraz obrzękiem łożyska resekcja guza z otwarciem jamy macicy pozostaje jedyną realną metodą dającą szansę na przeżycie. Takie postępowanie wiąże się jednak z wysokim ryzykiem powikłań zarówno dla ciężarnej, jak i dla płodu, z powodu dużego, traumatyzującego nacięcia macicy^{7,15}.

Tabela 3. Technika zabiegu operacyjnego na płodzie (open surgery) – częściowa resekcja guza (debulking)

Etap	Działanie
1.	Znieczulenie ciężarnej – miejscowe, krótkotrwałe dożylnie lub podpajęczynówkowe
2.	Przygotowanie pola zabiegowego, odkażenie powłok brzusznych
3.	Otwarcie jamy brzusznej, wytoczenie ciężarnej macicy i okrycie jej ciepłymi i mokrymi chustami – ważne jest zachowanie odpowiedniej wilgotności i temperatury tego narządu
4.	Otwarcie macicy: po ponownym zlokalizowaniu guza śródoperacyjnym badaniem USG i po niewielkim nacięciu macicy odsysa się płyn owodniowy do przygotowanych sterylnych pojemników i pod kontrolą USG poszerza się nacięcie macicy przy użyciu staplera hemostatycznego tak, aby odstąpić miejsce, w którym zlokalizowany jest guz okolicy krzyżowej
5.	Dokładne uwidocznienie zmiany u płodu, założenie taśmy uciskającej wokół podstawy guza (kontrola krwawienia), okrężne nacięcie skóry płodu na wysokości szypuły i etapowe oddzielenie obwodowej części guza od jego części proksymalnej (użycie staplera, LigaSure lub noża harmonicznego)
6.	Zamknięcie skóry nad guzem. Zamknięcie macicy: • warstwowe zszycie uprzednio rozciętej macicy • uzupełnienie płynu owodniowego • podanie do worka owodniowego antybiotyku o szerokim spektrum działania • warstwowe zamknięcie powłok brzusznych

Do interwencji chirurgicznych w trakcie życia płodowego należy kwalifikować przypadki, w których dostępne metody diagnostyczne sugerują złe rokowanie, a korzyści z zabiegu są większe niż ryzyko przedwczesnego porodu. Mechanizm, w którym dochodzi do niewydolności krążenia u płodu, może prowadzić także do pogrubienia łożyska, nieprawidłowych przepływów w żyłę pępowinowej, a następnie do objawów zespołu lustrzanego (mirror syndrome) u ciężarnej. Z tego powodu interwencję zabiegową zaleca się przed rozwinieniem stanu przedrzucawkowego. Resekcja guza u płodu powoduje ustępowanie u niego objawów niewydolności krążenia, ale nie wpływa na przebieg mirror syndrome, który jest procesem nieodwracalnym^{15,25,31,32,36,37}.

Alternatywne dla resekcji guza z otwarciem jamy macicy są techniki minimalnie inwazyjne wykonywane pod kontrolą USG, takie jak przezskórne zamknięcie naczyń guza na drodze laserowej koagulacji, radioabłacji, termokoagulacji lub embolizacji naczyń z wykorzystaniem coils albo alkoholu. Mają one ograniczyć wzrastanie guza, a co za tym idzie – zahamować rozwój objawów niewydolności krążenia, a nawet spowodować regresję obrzęku u płodu. Postępowanie takie również wiąże się z powikłaniami dla ciężarnej i płodu oraz z ryzykiem przedwczesnego porodu, ale w wielu przypadkach istotnie poprawia losy pourodzeniowe.

Obecnie stosuje się dwie techniki zamknięcia naczyń guza:

- **śródmiaższową** – oddziaływanie narzędzia jest nakierowane na masę guza
- **naczyniową** – oddziaływanie narzędzia jest nakierowane bezpośrednio na naczynie odżywcze guza^{26,29,30,33,35,38}.

Sananes i wsp. w metaanalizie piśmiennictwa uzupełnionej doświadczeniami własnymi wykazali wyższość metody naczyniowej nad śródmiaższową. W grupie płodów, u których bezpośrednio zamknięto naczynie odżywcze guza, odnotowano wyższy odsetek regresji obrzęku nieimmunologicznego (75% v. 33,3%), późniejsze zakończenie ciąży (29,4 t.c. v. 27,1 t.c.) oraz większą przeżywalność (63,6% v. 40,9%)³³.

W literaturze nadal nie ma zgodności co do optymalnej metody w przypadku dużych, szybko rosnących SCT powikłanych pełnoobjawową niewydolnością krążenia z obrzękiem płodu włącznie. Van Mieghem i wsp. opisują 55% przeżywalność po resekcji guza z otwarciem jamy macicy i 30–45% przeżywalność po wdrożeniu różnego rodzaju metod minimalnie inwazyjnych. Jednakże przy zastosowaniu techniki z bezpośrednim zamknięciem naczyń odżywczych guza przeżywalność rośnie do 63,9%³⁵.

Chociaż przezskórną ablację naczyń guza uważa się za procedurę małoinwazyjną, to może się ona wiązać z powikłaniami. Zarówno śródmiąższowa laserowa ablacja czy radioablacja guza, jak i embolizacja alkoholem mogą powodować martwicę guza i krwawienie, a elementy rozpadu guza w postaci zatorów czasami prowadzą do powstania ognisk niedokrwienia w sercu lub mózgu. Powyższe techniki mogą również wywoływać odpowiedź zapalną z rozpadu guza, co nasila objawy obrzęku i prowadzi do śmierci płodu. Ryzyko tego typu powikłań można ograniczyć przez zastosowanie powolnej, stopniowej redukcji unaczynienia guza metodami bezpośredniego, nawet kilkukrotnego, zamykania naczyń odżywczych guza na drodze laserowej ablacji pod kontrolą USG. Zarówno radioablacja, jak i embolizacja alkoholem niosą element oddziaływania śródmiąższowego, które przyczynia się do wystąpienia opisanych powyżej powikłań^{26,29,30,33,38}.

U płodów z objawami niewydolności krążenia niezależnie od decyzji o postępowaniu inwazyjnym można zastosować leczenie objawowe – przezłożyskową farmakoterapię wspomagającą wydolność krążenia z zastosowaniem digoksyn¹⁸.

W niektórych ośrodkach stosuje się procedurę EXIT z jednoczesną resekcją SCT, aby zapobiec krwawieniu (czasem skrwawieniu) do guza w czasie porodu, co stanowi częstą przyczynę śmierci noworodków z SCT³⁹.

W przypadku dużych, litych guzów u płodów z objawami zagrażającej niewydolności krążenia jedną z metod postępowania jest przedwczesne zakończenie ciąży, zanim rozwinię się źle rokująca, jawna niewydolność krążenia; pozwala to na wdrożenie wielokierunkowych, intensywnych metod leczenia noworodka. W pewnej grupie metoda ta poprawia odsetek przeżywalności, ale generuje powikłania wcześniactwa i, przede wszystkim, nie może być zastosowana przed osiągnięciem zdolności do życia^{25,40}.

POSTĘPOWANIE OKOŁOPORODOWE

Poród płodu z rozpoznany SCT powinien odbywać się w ośrodku specjalistycznym w obecności neonatologów i chirurgów dziecięcych.

Okołoporodowa ocena USG jest istotna, ażeby zaplanować sposób rozwiązania. W przypadku guzów płynowych o rozmiarze poniżej 5 cm może się ono odbyć naturalnie. Należy pamiętać, że wytwarzanie płynu wewnątrz guza bywa przyczyną jego dużych wymiarów, które będą stanowiły przeszkodę porodową. Prenatalna aspiracja płynu ze zmian torbielowatych w przypadkach guzów większych niż 5 cm również pozwala na zakończenie ciąży drogami natury^{3,9}.

Poród płodów z guzami litymi powinien odbywać się drogą cięcia cesarskiego nie tylko ze względu na potencjalną niewspółmierność porodową, ale także aby nie dopuścić do uszkodzenia tkanki guza, ponieważ materiał zakrzepowy uwolniony z uszkodzonych naczyń może wywołać kaskadę rozsianego wykrzepiania wewnątrznaczyniowego u płodu lub noworodka. Po porodzie u noworodka guz o typie SCT powinien być traktowany z dużą ostrożnością – należy unikać mechanicznego uszkodzenia jego powierzchni, gdyż owrzodzenie obarczone jest ryzykiem wywołania zagrażającego życiu krwawienia^{2,9,39}.

Postnatalne rozpoznanie wady zwykle, z uwagi na lokalizację i wielkość zmiany, jest łatwe. Wyjątek stanowią guzy typu IV wg klasyfikacji AAPSS (położenie wewnątrzmiędnicze). Badanie USG/MR pozwala określić stopień penetracji guza do jamy brzusznej i kanału miednicy oraz jego unaczynienia. W celu oceny wydolności krążenia noworodka zaleca się również wykonanie badania echokardiogra-

ficznego. Jeżeli stan dziecka jest stabilny, wówczas przeprowadza się planową resekcję SCT (zwykle w pierwszych tygodniach życia). W przypadku objawów uszkodzenia/pęknięcia guza lub postępującej niewydolności krążenia związanej z bogatym ukrwieniem zmiany zabieg chirurgiczny należy wykonać w trybie pilnym. Polega on na usunięciu całego guza, łącznie z jego częścią wewnątrzmiędniczną i fragmentem kości ogonowej, oraz odtworzeniu struktur mięśniowych krocza i pośladków. W celu zmniejszenia krwawienia śródoperacyjnego, zwłaszcza w guzach olbrzymich, bogato unaczynionych, zabieg należy wykonywać z zachowaniem szczególnie dokładnej hemostazy, dążąc do podwiązania naczyń krzyżowych przysiódkowych, stanowiących główne naczynia odżywcze zmiany.

Rokowanie odległe dla noworodków po resekcji SCT zwykle jest dobre (ryc. 7). Dzieci takie wymagają jednak stałej, wieloletniej kontroli w ramach monitorowania ewentualnej wznowy (określenie markerów guzów onkogennych, tj. stężeń α -fetoproteiny i β -HCG). W okresie niemowlęcym należy również przeprowadzić u nich ocenę czynnościową odbytu oraz pęcherza moczowego, u części bowiem utrzymują się objawy niewydolności tych narządów – cechy neurogennego uszkodzenia zwieraczy. Rokowanie dzieci po operacji SCT może być niepewne w przypadku guzów niedojrzałych zawierających elementy tkanek nowotworowych o charakterze złośliwym, np. carcinoma embryonale, yolk sac tumor.



Rycina 7. Stan po resekcji guza o typie SCT (zaraz po zabiegu i u dziecka w wieku 12 miesięcy)

W oparciu o powyższe piśmiennictwo oraz własne doświadczenia w naszym ośrodku opracowano kryteria postępowania w przypadku płodu z rozpoznaniem SCT.

Kryteria graniczne kwalifikacji do zabiegu to:

- ciąża 20–32 tydzień – SCT wadą izolowaną:
 - poniżej 20 tygodnia ciąży – zwykle płód nie kwalifikuje się do operacji
 - powyżej 32 tygodnia ciąży – płód jest zdolny do życia i może być operowany po urodzeniu
- pojedynczy płód o prawidłowym karyotypie, bez istotnych wad dodatkowych
- zagrażająca lub rozpoczynająca się niewydolność krążenia płodu
- korzystne położenie łożyska i płodu
- brak matczynych czynników ryzyka porodu przedwczesnego.

Przyjmuje się następujące przeciwwskazania do operacji:

- guz typu III lub IV (głównie w lokalizacji przedniej)
- stan przedrzucawkowy u matki
- inne choroby matki zwiększające ryzyko operacji i znieczulenia
- ciąża mnoga.

W przypadku SCT litych stosuje się metodę laserowej ablacji naczyń odżywczych guza pod kontrolą USG. Technika terapeutyczna zakłada endoskopową koagulację odżywczych naczyń guza uwidocznionych w USG za pomocą CD i PD. Obrazy dużego, litego, dobrze unaczynionego guza przed laseroterapią naczyń odżywczych i po zabiegu przedstawiono na rycinach 6 i 8.

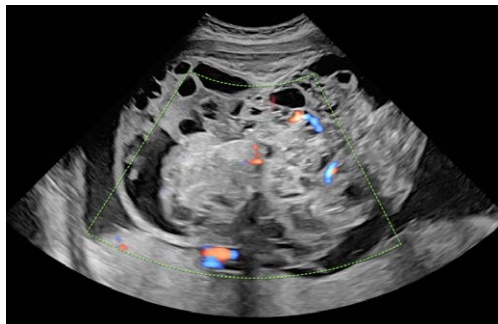
W przypadku dużych guzów płynowych zakłada się shunty odbarczające do największych przestrzeni płynowych. Duży płynowy guz przed założeniem shuntu i po zabiegu przedstawiono na rycinach 4 i 5.

Monitorowanie po zabiegu ma za zadanie ocenić wydolność krążenia płodu, ilość płynu owodniowego (PROM), stan szyjki macicy, zagrożenie porodem przedwczesnym.

Guzy krzyżowo-ogonowe, zarówno te, które były poddawane prenatalnie jakimkolwiek zabiegom, jak i te, które były jedynie monitorowane, stanowią wskazanie do zabiegu chirurgicznego w 1–2 dobie po porodzie. Rozwiązanie ciąży w większości przypadków przeprowadza się drogą cięcia cesarskiego.

PODSUMOWANIE

Na podstawie danych z piśmiennictwa i doświadczeń własnych można przyjąć, iż jeśli u płodu z SCT dokonano stymulacji dojrzałości płuc, a rozwiną się objawy niewydolności krążenia, obrzęk płodu i łożyska, to należy ciążę ukończyć. Jeżeli objawy jawnej niewydolności krążenia rozwiną się przed 28 tygodniem ciąży, to należy rozważyć zastosowanie inwazyjnych technik zmniejszających wielkość guza albo ograniczających jego unaczynienie.



Rycina 8. Skąpe unaczynienie w obrazowaniu CD – stan po laseroterapii naczyń odżywczych guza

Piśmiennictwo

- Altman RP, Randolph JG, Lilly JR. Sacrococcygeal teratoma: American Academy of Pediatrics Surgical Section Survey-1973. *J Pediatr Surg* 1974;3:389–98.
- Ayed A, Tonks AM, Lander A, et al. A review of pregnancies complicated by congenital sacrococcygeal teratoma in the West Midlands region over 18-year period: population -based cohort study. *Prenat Diagn* 2015;111037–47.
- Flake AW, Harrison MR, Adzick NS, et al. Fetal sacrococcygeal teratoma. *J Pediatr Surg* 1986;7:563–6.
- Yoneda A, Usui N, Taguchi T, et al. Impact of the histological type on the prognosis of patients with prenatally diagnosed sacrococcygeal teratomas: the results of a nationwide Japanese survey. *Pediatr Surg Int* 2013;11:1119–25.
- Flake AW. Fetal sacrococcygeal teratoma. *Semin Pediatr Surg* 1993;2:113–20.
- Graf JL, Albanese CT. Fetal sacrococcygeal teratoma. *World J Surg* 2003;1:84–6.
- Gucciardo L, Uyttendaele A, De Wever I, et al. Prenatal assessment and management of sacrococcygeal teratoma. *Prenat Diagn* 2011;7:678–88.
- Hedrick HL, Flake AW, Crombleholme TM, et al. Sacrococcygeal teratoma: prenatal assessment, fetal intervention, and outcome. *J Pediatr Surg* 2004;3:430–8.
- Wilson RD, Hedrick H, Flake AW, et al. Sacrococcygeal teratomas: prenatal surveillance, growth and pregnancy outcome. *Fetal Diagn Ther* 2009;1:15–20.
- Atis A, Kaya B, Acar D, et al. A Huge Fetal Sacrococcygeal Teratoma with a Vascular Disruption Sequence. *Fetal Pediatr Pathol* 2015;4:212–5.
- Dalal SS, Berry T, Pimentel VM. Prenatal Sacrococcygeal Teratoma Diagnosed in a Fetus with Partial Trisomy 13q22. *Case Rep Obstet Gynecol*. 2019;2019:2892869.
- Kirks DR, Merten DF, Filston HC, et al. The Currarino triad: complex of anorectal malformation, sacral bony abnormality, and presacral mass. *Pediatr Radiol*. 1984;4:220–5.

13. Grammatikopoulou I, Kontomanolis EN, Chatzaki E, et al. Immature malignant sacrococcygeal teratoma: case report and review of the literature. *Clin Exp Obstet Gynecol* 2013;3:437-9.
14. Hedric HL, Flake AW, Crombleholme TM et al. Sacrococcygeal teratoma: prenatal assessment, fetal intervention, and outcome. *J Pediatr Surg* 2004;3:430-8.
15. Adzick NS, Crombleholme TM, Morgan MA, et al. A rapidly growing fetal teratoma. *Lancet* 1997;9051:538.
16. Akinkuotu AC, Coleman A, Shue E, et al. Predictors of poor prognosis in prenatally diagnosed sacrococcygeal teratoma: A multiinstitutional review. *J Pediatr Surg* 2015;5:771-4.
17. Arisoy R, Erdogdu E, Kumru P, et al. Prenatal diagnosis and outcomes of fetal teratomas. *J Clin Ultrasound* 2016;2:118-25.
18. Respondek-Liberska M, Janiak K, Forys S. Fetal echo and cardiovascular profile score (CVS) as a prognostic risk factor in fetal sacrococcygeal teratoma (SCT). *Ultrasound Obstet Gynecol* 2005;26:339 (abstract book).
19. Coleman A, Shaaban A, Keswani S, et al. Sacrococcygeal teratoma growth rate predicts adverse outcomes. *J Pediatr Surg* 2014;6:985-9.
20. Roman AS, Monteagudo A, Timor-Tritsch I, et al. First-trimester diagnosis of sacrococcygeal teratoma: the role of three-dimensional ultrasound. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2004;6:612-4.
21. Wohlmuth C, Bergh E, Bell C, et al. Clinical Monitoring of Sacrococcygeal Teratoma. *Fetal Diagn Ther* 2019; Mar 20:1-8. doi: 10.1159/000496841.
22. Perrone EE, Jarboe MD, Maher CO, et al. Early Delivery of Sacrococcygeal Teratoma with Intraspinal Extension. *Fetal Diagn Ther* 2018;1:72-6.
23. Gebb JS, Khalek N, Qamar H, et al. High Tumor Volume to Fetal Weight Ratio Is Associated with Worse Fetal Outcomes and Increased Maternal Risk in Fetuses with Sacrococcygeal Teratoma. *Fetal Diagn Ther* 2019;2:94-101.
24. Partridge EA, Canning D, Long C, et al. Urologic and anorectal complications of sacrococcygeal teratomas: prenatal and postnatal predictors. *J Pediatr Surg* 2014;1:139-42.
25. Ibele A, Flake A, Shaaban A. Survival of a profoundly hydropic fetus with a sacrococcygeal teratoma delivered at 27 weeks of gestation for maternal mirror syndrome. *J Pediatr Surg* 2008;8:e17-20.
26. Ruano R, Duarte S, Zugaib M. Percutaneous laser ablation of sacrococcygeal teratoma in a hydropic fetus with severe heart failure - too late for a surgical procedure? *Fetal Diagn Ther* 2009;1:26-30.
27. Rychik J, Tian Z, Cohen MS, et al. Acute cardiovascular effects of fetal surgery in the human. *Circulation* 2004;110:1549-56.
28. Rodriguez MA, Cass DL, Lazar DA, et al. Tumor volume to fetal weight ratio as an early prognostic classification for fetal sacrococcygeal teratoma. *J Pediatr Surg* 2011;46:1182-5.
29. Baumgarten HD, Gebb JS, Khalek N, et al. Operative fetoscopy: new perspective in fetal therapy? *Prenat Diagn* 1997;17:1247-60.
30. Hecher K, Hackeloer BJ. Intrauterine endoscopic laser surgery for fetal sacrococcygeal teratoma. *Lancet* 1996;8999:470.
31. Hirose S, Farmer DL. Fetal surgery for sacrococcygeal teratoma. *Clin Perinatol* 2003;30:493-506.
32. Kitagawa H, Pringle KC. Fetal surgery: a critical review. *Pediatr Surg Int* 2017;4:421-33.
33. Sananes N, Javadian P, Schwach Werneck Britto I, et al. Technical aspects and effectiveness of percutaneous fetaltherapies for large sacrococcygeal teratomas: cohort study and literature review. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2016;6:712-9.
34. Sydorak RM, Albanese CT. Minimal access techniques for fetal surgery. *World J Surg* 2003;1:95-102.
35. Van Mieghem T, Al-Ibrahim A, Deprest J, et al. Minimally invasive therapy for fetal sacrococcygeal teratoma: case series and systematic review of the literature. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2014;6:611-9.
36. Keswani SG, Crombleholme TM, Rychik J, et al. Impact of continuous intraoperative monitoring on outcomes in open fetal surgery. *Fetal Diagn Ther* 2005;4:316-20.
37. Wilson RD. Prenatal evaluation for fetal surgery. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2002;2:187-93.
38. Paek BW, Jennings RW, Harrison MR, et al. Radiofrequency ablation of human fetal sacrococcygeal teratoma. *Am J Obstet Gynecol* 2001;3:503-7.
39. Hedrick HL, Adzick NS, Flake AW. Preemptive Delivery and Immediate Resection for Fetuses with High-Risk Sacrococcygeal Teratomas. *Fetal Diagn Ther* 2019;3:137-44.
40. Royball JL, Moldenhauer JS, Khalek N, et al. Early delivery as an alternative management strategy for selected high-risk fetal sacrococcygeal teratomas. *J Pediatr Surg* 2011;46:1325-32.

Wytrzewienie wrodzone

ANNA PIASECZNA-PIOTROWSKA, MARTA ZELGA, KRZYSZTOF SZAFLIK

DEFINICJA I KRYTERIA DIAGNOSTYCZNE WYTRZEWIENIA

Definicja

Wytrzewienie wrodzone, inaczej wrodzony rozszczep powłok brzusznych (gastroschisis od gastro – „żołądek” i schisis – „otwarcie, pęknięcie”), jest wadą wrodzoną powłok polegającą na przemieszczeniu jelit poza jamę brzuszną noworodka przez ubytek w jej powłokach, znajdujący się zwykle na prawo od prawidłowo wykształconej pępowiny. Wytrzewione jelita nie są pokryte workiem/błoną. Poza jamą brzuszną mogą się znajdować również: żołądek, gonady i (niezwykle rzadko) wątroba^{1,2}.

Częstość występowania tej wady wynosi 1,1–5,1 na 10 000 żywych urodzeń, przy czym w ostatnich latach obserwuje się jej wzrost³. W piśmiennictwie istnieją pojedyncze doniesienia o rodzinnym występowaniu tej patologii i współistnieniu aberracji chromosomalnych. Czynniki sprzyjającymi wytrzewieniu są młody wiek matki (w 74% pierwotki) i palenie papierosów^{4,5}. Powikłania dla płodu obejmują m.in.: wewnątrzmaciczne ograniczenie wzrastania płodu (IUGR – intrauterine growth restriction), małowodzie, przedwczesny poród i wewnątrzmaciczne obumarcie. Ponadto procesy toczące się w wytrzewionych jelitach mogą doprowadzić do powstania zwężeń/niedrożności jelit i perforacji, a procesy niedokrwiennie – do ich obumarcia/martwicy, w konsekwencji zaś do rozwinięcia się zespołu krótkiego jelita⁶.

Etiopatogeneza wady pozostaje nieznana. Zgodnie z teorią naczyniową ubytek w powłokach brzusznych powstaje w następstwie niedokrwienia i martwicy somatopleury w okolicy pępowiny, jej pęknięcia oraz wytrzewienia jelit. Przyczynami niedokrwienia mogą być⁷:

- przedwczesny zanik jednej z dwóch tętnic pępkowo-krezkowych łączących pęcherzyk żółtkowy z aortą grzbietową we wczesnym okresie embrionalnym
- przedwczesna inwolucja prawej żyły pępkowej.

Inne brane pod uwagę teorie powstawania wady zakładają nieprawidłowości budowy somatopleury związane z zaburzeniem migracji brzuszno-bocznej, mezenchymą lub brakiem mezenchymy, ektoblastycznej warstwy somatopleury⁷.

Poza ubytkiem w powłokach jama brzuszna jest zwykle rozwinięta prawidłowo, a jej objętość zależy od ilości wytrzewionych jelit (im więcej jelit poza nią, tym jest mniejsza). Znajdujące się poza jamą brzuszną jelita pływają w płynie owodniowym i cechują się uszkodzeniami różnego stopnia: od niewielkiego obrzęku elastycznej lśniącej ściany do konglomeratu pętli jelitowych o obrzękniętej, pogrubiałej, sztywnej, zmienionej zapalnie ścianie pokrytej włóknikiem.

Jak wynika z piśmiennictwa, zmiany zapalne jelit są spowodowane:

- toksycznym wpływem zawartych w płynie owodniowym substancji, takich jak składniki moczu⁸, enzymy trawienne zawarte w wydalanej przez płód smółce⁹ i osiagających stężenie przekraczające poziom progowy, powyżej którego następuje indukcja procesu zapalnego
- toksycznym działaniem cytokin produkowanych przez neutrofile aktywowane podczas kontaktu z enzymami zawartymi w smółce¹⁰
- zmianami składu płynu owodniowego (objętości, gęstości, stężeń potasu, chloru i mocznika); małowodzie towarzyszące wytrzewieniu może również pośrednio nasilać zmiany zapalne w ścianie wytrzewiowych jelit, ponieważ powoduje zagęszczenie ww. składników wydalanych do płynu owodniowego^{9,11}
- niedokrwieniem jelit w wyniku ciasnoty w miejscu ich wytrzewienia (zwężenie/zamykanie otworu – closing gastroschisis) lub nasilenia obrzęku krezki w miejscu jej przechodzenia przez otwór¹¹⁻¹³.

Wytrzewieniu towarzyszy niedokonany zwrot jelit ze zwykle punktowym przyczepem krezki. Z klinicznego punktu widzenia wyróżnia się 2 postacie/typy wytrzewienia:

- proste
- powikłane.

W przypadku prostego wytrzewienia wadzie, poza niedokonanym zwrotem jelit i ewentualnymi zmianami zapalnymi, nie towarzyszą inne zaburzenia związane z przewodem pokarmowym. Wskaźnik przeżycia dzieci w tej grupie przekracza 95%¹⁴. W wytrzewieniu powikłanym (10–25% przypadków) wadzie towarzyszą zwężenia lub całkowita niedrożność przewodu pokarmowego, skręt krezki, perforacje lub niedokrwienie i martwica jelit^{6,14-16}. Ten typ wady i towarzyszące mu powikłania ze strony układu pokarmowego wpływają na opóźnienie karmienia enteralnego, konieczność powtórnych operacji, wydłużenie pobytu w szpitalu i niższy wskaźnik przeżycia (70–80%)^{16,17}.

Kryteria diagnostyczne

Badanie ultrasonograficzne (USG – ultrasonography) jest najlepszym narzędziem w diagnostyce wytrzewienia u płodu, ale jego wartość w dużym stopniu zależy od doświadczenia i wiedzy osoby wykonującej. Przy stawianiu wczesnej diagnozy wrodzonego wytrzewienia należy mieć na uwadze okres fizjologicznej przepukliny brzusznej, kiedy pierwotne pętle jelitowe znajdują się i rozwijają poza jamą brzuszną, otoczone nieodkniętymi fałdami brzuszными (5–11 tydzień ciąży)⁷. Prenatalne rozpoznanie i diagnostyka różnicowa tej wady możliwe są pod koniec I trymestru ciąży, w 11–14 jej tygodniu^{6,17}. Doniesienia w piśmiennictwie wskazują, że ok. 20% płodów w 12 tygodniu ciąży cechuje się wciąż obecnością fizjologicznej przepukliny. Dlatego też podejrzenie wytrzewienia w obrazie USG w I trymestrze powinno być stawiane z dużą ostrożnością i zweryfikowane w kolejnych badaniach^{6,7}.

Charakterystyczny obraz wrodzonego wytrzewienia w USG to pętle jelit swobodnie pływające w płynie owodniowym poza jamą brzuszną, często przypominają one plaster miodu (ryc. 1). Miejscem wyjścia trzewi poza jamę brzuszną jest otwór zwykle znajdujący się na prawo od prawidłowo wykształconej pępowiny. W diagnostyce różnicowej należy brać pod uwagę przepuklinę pępowinową (omphalocele) i przepuklinę sznura pępowinowego (tab. 1). Wytrzewienie najczęściej dotyczy dwunastnicy, jelita czczego, krętego oraz części okrężnicy (ryc. 2). Jeśli wada obejmuje tylko pojedyncze pętle jelitowe, to istnieje ryzyko mylnej jej interpretacji jako konglomeratu pępowinowego. W takiej sytuacji niezwykle pomocna jest ultrasonografia dopplerowska kodowana kolorem.

Diagnostyka ultrasonograficzna we wrodzonym wytrzewieniu obejmuje:

- uwidocznienie luźno balotujących pętli jelit w płynie owodniowym, przed ścianą przednią brzuszka płodu, często przypominających obraz plastru miodu
- określenie rozmiarów wytrzewienia i zmian w obrębie ściany wytrzewionych i pozostających w jamie brzusznej jelit



Rycina 1. Wytrzewienie – wolne pętle pływające w płynie owodniowym



Rycina 2. Wytrzewienie – jelito cienkie i dwunastnica

Tabela 1. Diagnostyka różnicowa wytrzewienia			
	Wytrzewienie	Przepuklina pępowinowa	Przepuklina sznura pępowinowego
Worek przepuklinowy	Brak	Obecny	Obecny
Umieszczenie ubytku w powłokach brzusznych	Po stronie prawej od pępowiny	W miejscu pierścienia pępkowego	W miejscu pierścienia pępkowego
Wielkość ubytku w powłokach	Niewielka	Zwykle średnica powyżej 4 cm	Zwykle średnica poniżej 4 cm
Położenie pępowiny	Prawidłowe	Na szczycie worka przepuklinowego	Na szczycie worka przepuklinowego
Przemieszczone trzewia	Jelito cienkie i część grubego (rzadko żołądek, dwunastnica)	Wątroba, często kulista, jelito cienkie, grube, czasem śledziona, gonady	Zwykle pojedyncze pętle jelitowe
Wygląd przemieszczonych jelit	Zmiany zapalne ściany o różnym stopniu nasilenia	Prawidłowy (bez cech zapalnych)	Prawidłowy (bez cech zapalnych)
Wielkość jamy brzusznej	Zwykle prawidłowa	Mała	Zwykle prawidłowa
Wady towarzyszące	Bardzo rzadko	Często (40–60%)	Rzadko
Niedrożność przewodu pokarmowego	Obecna w 10–25% przypadków	Rzadko	Rzadko
Rokowanie	Dobre	Poważne	Dobre

- pomiar obwodu brzuszka płodu (AC – abdominal circumference)
- ocenę objętości płynu owodniowego (małowodzie/wielowodzie)
- współistnienie anomalii towarzyszących – bardzo rzadko, jedynie w 5% przypadków.

POSTĘPOWANIE DIAGNOSTYCZNO-TERAPEUTYCZNE

Rozpoznanie wytrzewienia stanowi wskazanie do dalszego ultrasonograficznego monitorowania ewolucji zmian zachodzących w:

- wytrzewionych trzewiach (postępujące zmiany zapalne, poszerzenia w obrębie pętli wytrzewionych)
- jelitach pozostających wewnątrzbrzusznie (poszerzenia, rozstrzeń żołądka)
- obrębie ubytku w powłokach (szybkie zmniejszanie się średnicy ubytku może prowadzić do zmian niedokrwiennych, martwiczych wytrzewionych jelit – closing gastroschisis).

W ostatnich latach w literaturze ukazało się wiele doniesień wskazujących, że niektóre zmiany widoczne w obrazie prenatalnego badania USG płodu z wytrzewieniem można uznać za czynniki rokownicze. Zaliczamy do nich^{6,16,18–23}:

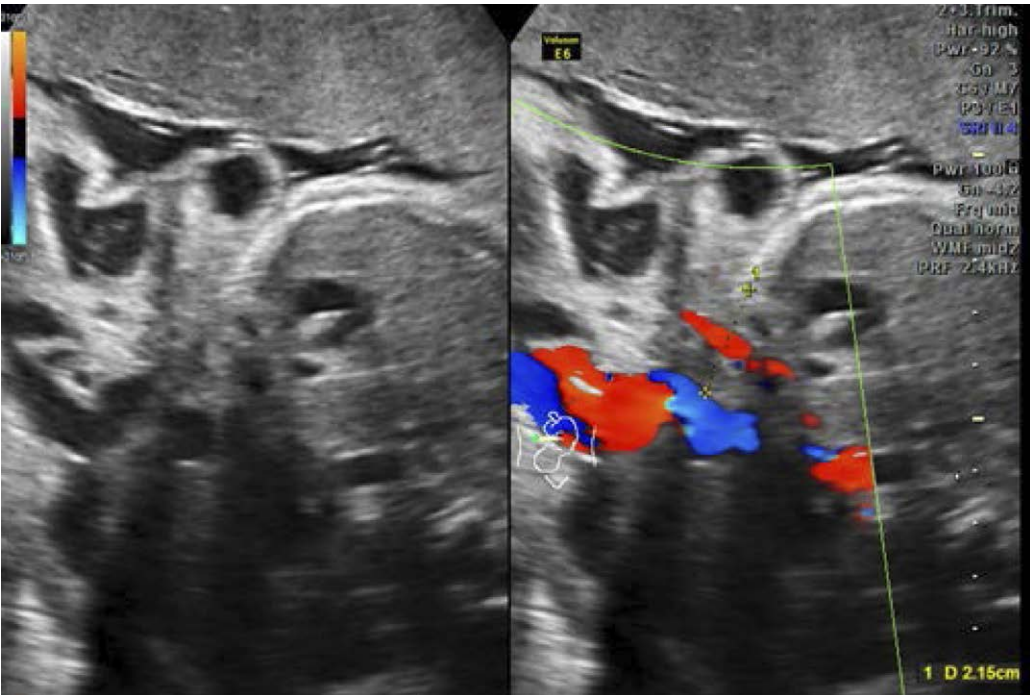
- obecność poszerzonych wewnątrzbrzusznych pętli jelitowych (>6 mm między 28 a 32 t.c.)
- obecność poszerzonych zewnątrzbrzusznych pętli jelitowych (>25 mm)
- obecność rozstrzeni żołądka (32 t.c. – najdłuższy wymiar żołądka >6 cm)
- wielowodzie.

Obecność tych zmian w obrazie USG płodu z wytrzewieniem wiąże się ze złym rokowaniem i ryzykiem komplikacji w okresie postnatalnym, a nawet ze zgonem noworodka^{16,18–23}. Obecność poszerzonych wewnątrzbrzusznych pętli jelitowych (powyżej 14 mm) jest znamienym czynnikiem ryzyka niedrożności jelit i wiąże się z dłuższą hospitalizacją¹⁶. Ponadto objawami sugerującymi współistnienie niedrożności jelit i wytrzewienia są poszerzenia wytrzewionych pętli powyżej 25 mm, rozstrzeń żołądka oraz wielowodzie¹⁶.

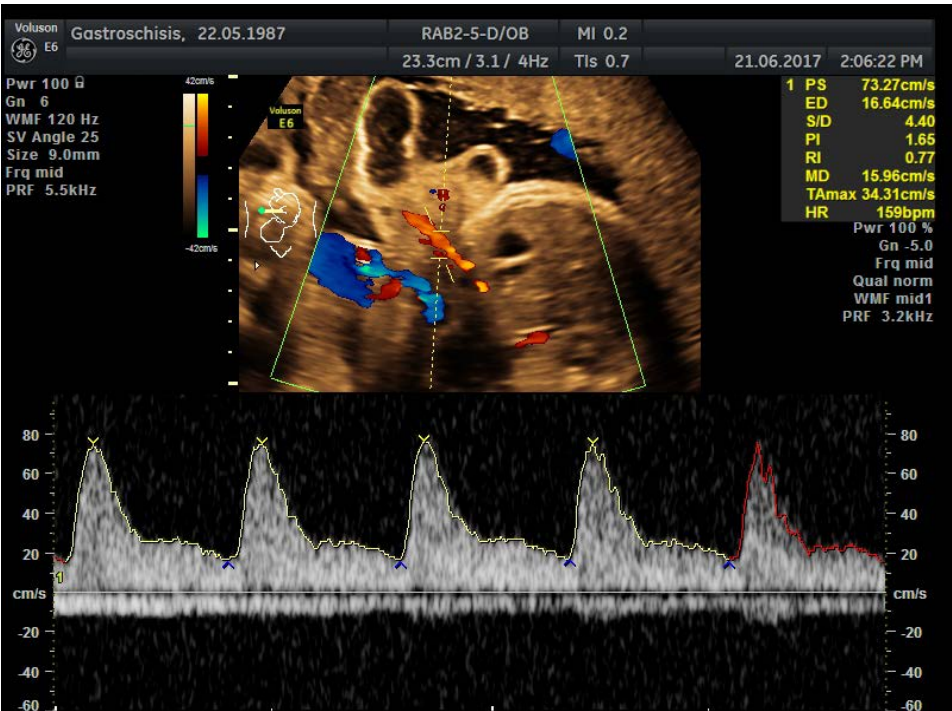
Wiele doniesień wskazuje, że istotny wpływ na stan wytrzewionych jelit mają ilość i skład płynu owodniowego. Zmniejszona ilość płynu (oligohydramnios) stanowi wskazanie do zaplanowania dalszej taktyki postępowania diagnostycznego i terapeutycznego. Małowodzie i wzrastające stężenie cytokin prozapalnych w płynie owodniowym bywają wskazaniem do wymiany płynu owodniowego^{24–26}. Badania eksperymentalne na płodach zwierząt z wytrzewieniem wykazały, że przeprowadzenie tej procedury wiąże się z poprawą stanu wytrzewionych jelit^{27,28}. Stosowanie amniotomii wymiennej u płodów ludzkich z wytrzewieniem nadal budzi pewne kontrowersje. Wiele doniesień wskazuje na korzyści płynące z tego zabiegu^{24,26}, inne zaś na ich brak²⁹. Nie dysponujemy wynikami badań randomizowanych, które mogłyby wyjaśnić sporne kwestie.

Ultrasonograficzne monitorowanie płodów z rozpoznaniem wytrzewieniem obejmuje:

- badanie USG całego płodu w celu wykrycia innych wad rozwojowych
- badanie echokardiograficzne
- ocenę szacunkową ilości płynu owodniowego
- ocenę indeksu płynu owodniowego (AFI – amniotic fluid index) wg Phelana
- monitorowanie ultrasonograficzne stanu wytrzewionych pętli jelitowych (ocena stopnia obrzęku ściany jelit, objawów niedrożności mechanicznej, przepływu dopplerowskiego w ścianie jelit, perystaltyki jelit)
- pomiar przepływu krwi w naczyniach krezkowych wytrzewionych jelit (ryc. 3,4)
- pomiar średnicy ubytku w powłokach (wielkość otworu w powłokach w III tryestrze ciąży wynosi zwykle 2–3 cm. Otwór o rozmiarze ok. 1 cm z towarzyszącym poszerzeniem i obrzękiem oraz zaburzeniem przepływu w naczyniach krezki wytrzewionych jelit obciążony jest ryzykiem wystąpienia niedokrwienia, martwicy wytrzewionych pętli jelitowych (closing gastroschisis) i wymaga rozważenia pilnego rozwiązania ciąży^{30,31}.



Rycina 3. Ultrasonografia dopplerowska kodowana kolorem – w ocenie naczyń kręgowych w wytrzewieniu



Rycina 4. Wytrzewienie – prawidłowe spektrum przepływu w tętnicy krękowej

W skrajnie ciężkich przypadkach, zwłaszcza we wczesnym okresie życia płodowego, może dojść do całkowitego zamknięcia powłok brzusznych i obumarcia, zaniku wytrzewionych trzewi. W jamie brzusznej pozostaje skrajnie niewielka część jelit, co wiąże się z dużym odsetkiem powikłań i zgonów^{30,31}.

Dalsze etapy postępowania diagnostyczno-terapeutycznego:

1. Amniopunkcja diagnostyczna:
 - ocena prognostyczna składu płynu owodniowego (stężenie cytokin prozapalnych)
 - opcjonalnie określenie kariotypu płodu (wady towarzyszące występują tylko w 5% przypadków).
2. Ocena α -fetoproteiny (AFP) w surowicy ciążowej.
3. Kwalifikacja do ewentualnej amniotomii wymiennej płynu owodniowego.

Czas wykonania amniotomii wymiennej:

- I zabieg: 24–26 tydzień ciąży
- II zabieg: 28–30 tydzień ciąży
- III zabieg: 34–36 tydzień ciąży.

Jak wynika z piśmiennictwa, wysokie stężenia AFP i acetylocholinoesterazy w płynie owodniowym to cecha charakterystyczna płodów z przepukliną oponowo-rdzeniową oraz płodów z wadą powłok brzusznych, w szczególności z wytrzewieniem³¹.

Technika amniotomii wymiennej:

- przygotowanie ciążowej: profilaktyczna antybiotykoterapia i tokoliza
- krótkotrwałe znieczulenie dożylnie ciążowej
- przygotowanie zestawu do przetoczenia sztucznego płynu owodniowego: igła 20 G, cewnik, filtr przeciwbakteryjny, łączniki
- wykonanie pod kontrolą USG przezbrzuszną amniopunkcji; pobranie płynu owodniowego do badań morfotycznych, biochemicznych immunologicznych i posiewu; wprowadzenie cewnika polietylenowego do jamy owodniowej i podanie 200–300 ml 0,9% roztworu chlorku sodu lub sztucznego płynu owodniowego o temperaturze 37°C. Objętość podawanego płynu należy ustalić indywidualnie w zależności od: AFI, czasu ciąży oraz wyglądu płynu owodniowego
- w małowodziu trzeba uwzględnić dodatkową ilość płynu do osiągnięcia AFI 10–15 cm
- liczba cykli: 2–3
- po zakończeniu zabiegu ocena czynności serca płodu – w przypadku stwierdzenia zaburzeń lub wystąpienia aktywności skurczowej macicy ciążowa powinna pozostać w szpitalu z zaleceniem tokolizy i ewentualnego podania glikokortykosteroidów
- przy braku innych wskazań do hospitalizacji pacjentkę można następnego dnia wypisać do domu z zaleceniem zgłoszenia się na kontrolę za 7 dni.

POSTĘPOWANIE OKOŁOPORODOWE

W okresie przedporodowym ciążowa poza przygotowaniem ogólnym i wyrażeniem zgody na procedury nie wymaga szczególnego postępowania przygotowawczego.

Termin porodu

W literaturze nie ma jednoznacznego stanowiska co do terminu porodu płodu z wrodzonym wytrzewieniem. Autorzy pojedynczych doniesień sugerują wcześniejsze rozwiązanie ciąży, zwykle ok. 36 tygodnia^{32,33}. Powołują się przy tym na to, że w ostatnich tygodniach ciąży dochodzi do nasilenia zmian w ścianie wytrzewionych jelit, obserwuje się znaczne poszerzenie wytrzewionych jelit w stosunku do wieku ciążowego. Zmiany te wydłużają okres zaburzeń czynnościowych jelit obserwowanych u nowo-

rodków i pogłębiają je. Autorzy ci formułują hipotezę, że wcześniejszy poród pozwoli uniknąć tych negatywnych procesów lub je zmniejszyć. W innych badaniach nie wykazano jednak korzyści z porodów przedwczesnych w tej grupie³⁴⁻³⁶. Argumentami przeciwko hipotezom o korzyściach z wcześniejszego porodu są też wcześniactwo oraz wszystkie powikłania z nim związane, takie jak zaburzenia płucne, motoryki przewodu pokarmowego, odporności, oraz niedojrzałość OUN itp. Wydaje się, że termin porodu płodu z wrodzonym wytrzewieniem powinien być ustalany na podstawie wskazań położniczych. Należy unikać porodu przed 37 tygodniem ciąży, zwłaszcza w przypadku płodów z wytrzewieniem niepowikłanym^{6,32,37}. W każdym przypadku porodu przed 37 tygodniem trzeba ocenić dojrzałość płodu.

Wskazaniem do pilnego rozwiązania ciąży drogą cięcia cesarskiego jest stwierdzenie w obrazie USG narastających objawów zaburzeń ukrwienia wytrzewionych jelit związanych ze zwężeniem ubytku w powłokach – closing gastroschisis^{6,38}.

Droga porodu

Dotychczas nie wykazano związku między drogą porodu a późniejszą zachorowalnością czy śmiertelnością pacjentów z wrodzonym wytrzewieniem^{39,40}. Do niedawna większość doniesień wskazywała, że płody z wrodzonym wytrzewieniem powinny przychodzić na świat drogą cięcia cesarskiego. Poród taki wiązał się głównie z mniejszym ryzykiem uszkodzenia wytrzewionych trzewi oraz brakiem zagrożenia infekcją florą bakteryjną z kanału rodowego. Czy są to wystarczające argumenty? Dodatkowo, zaplanowany poród odbywający się drogą cięcia cesarskiego umożliwiał lepszą koordynację zespołów położniczych, neonatologicznych i chirurgicznych. W ostatnich latach wzrasta jednak liczba doniesień promujących poród siłami natury^{32,41}. W ośrodku reprezentowanym przez autorów poród płodu z wrodzonym wytrzewieniem najczęściej odbywa się drogą cięcia cesarskiego.

POSTĘPOWANIE POSTNATALNE

1. Ocena i przygotowanie noworodka do zabiegu:

- badanie przedmiotowe: wyglądu trzewi i wielkości ubytku w powłokach brzusznych, obecności niedrożności jelit, ich perforacji, wad współistniejących
- zabezpieczenie wytrzewionych jelit – ułożenie na prawym boku, jałowy opatrunek z SF + worek foliowy
- zapewnienie dostępu naczyniowego, monitorowanie czynności życiowych i temperatury
- jak najszybsze zamknięcie powłok: zabieg na bloku porodowym
- zapewnienie prawidłowej wentylacji – prawidłowy transport tlenu + resuscytacja płynowa; wyrównywanie niedoboru elektrolitów
- zapobieganie zakażeniom – antybiotykoterapia
- prawidłowe żywienie (TPN – total parenteral nutrition), jak najszybsze żywienie troficzne PM od pierwszych dni.

2. Leczenie operacyjne:^{6,42-44}

- odprowadzenie trzewi i pierwotne zamknięcie ubytku; optymalny sposób to postępowanie jednoetapowe, bezpośrednio po urodzeniu, jak najszybsze zamknięcie ubytku jeszcze na sali porodowej⁴² (preferowane w ośrodku autorów)
- leczenie operacyjne wieloetapowe – w przypadkach, gdy nie ma warunków umożliwiających pierwotne odprowadzenie trzewi: zastosowanie tworzyw sztucznych (np. Silastic, tegmentum) do czasowego pokrycia jelit (silo) lub zamknięcie powłok tylko skórą, bez plastyki mięśni prostych brzucha (przepuklina brzuszna).

PODSUMOWANIE

W ostatnich latach nastąpiła znaczna poprawa wyników leczenia noworodków z wrodzonym wytrzewieniem, czego dowodzi spadek śmiertelności poniżej 10%. Jest to niewątpliwie zasługa skoordynowanej współpracy doświadczonych specjalistów w zakresie ginekologii, położnictwa, neonatologii i chirurgii dziecięcej. Postęp, jaki dokonał się w diagnostyce prenatalnej, pozwala nie tylko na wczesne wykrycie wady, monitorowanie jej ewolucji i rozwoju płodu, ale również na zaplanowanie miejsca, czasu i drogi porodu w ośrodku mającym doświadczenie w prowadzeniu ciężarnych i ich płodów, a następnie noworodków z wrodzonym wytrzewieniem.

Piśmiennictwo

1. Baerg J, Kaban G, Tonita J, et al. Gastroschisis: A sixteen-year review. *J Pediatr Surg* 2003;5:771-4.
2. Lepigeon K, Van Mieghem T, Vasseur Maurer S, et al. Gastroschisis - what should be told to parents? *Prenat Diagn* 2014;4:316-26.
3. Alvarez SM, Burd RS. Increasing prevalence of gastroschisis repairs in the United States: 1996-2003. *J Pediatr Surg* 2007;6:943-6.
4. Torfs CP, Katz EA, Bateson TF, et al. Maternal medications and environmental exposures as risk factors for gastroschisis. *Teratology* 1996;2:84-92.
5. Melov SJ, Tsang I, Cohen R, et al. Complexity of gastroschisis predicts outcome: epidemiology and experience in an Australian tertiary centre. *BMC Pregnancy Childbirth* 2018;1:222.
6. Oakes MC, Porto M, Chung JH. Advances in prenatal and perinatal diagnosis and management of gastroschisis. *Semin Pediatr Surg* 2018;5:289-99.
7. Beaudoin S. Insights into etiology and embryology of gastroschisis. *Semin Pediatr Surg* 2018;5:283-88.
8. Klück P, Tibboel D, van der Kamp AW, et al. The effect of fetal urine on the development of the bowel in gastroschisis. *J Pediatr Surg* 1983;1:47-50.
9. Correia-Pinto J, Tavares ML, Baptista MJ, et al. Meconium dependence of bowel damage in gastroschisis. *J Pediatr Surg* 2002;1:31-5.
10. Aktuğ T, Erdağ G, Kargı A, et al. Amnio-allantoic fluid exchange for the prevention of intestinal damage in gastroschisis: an experimental study on chick embryos. *J Pediatr Surg* 1995;3:384-7.
11. Langer JC, Longaker MT, Crombleholme TM, et al. Etiology of intestinal damage in gastroschisis. I: Effects of amniotic fluid exposure and bowel constriction in a fetal lamb model. *J Pediatr Surg* 1989;10:992-7.
12. Langer JC, Bell JG, Castillo RO, et al. Etiology of intestinal damage in gastroschisis. II. Timing and reversibility of histological changes, mucosal function, and contractility. *J Pediatr Surg* 1990;11:1122-36.
13. Tibboel D, Raine P, McNee M, et al. Developmental aspects of gastroschisis. *J Pediatr Surg* 1986;10:865-9.
14. Gamba P, Midrio P. Abdominal Wall defects: prenatal diagnosis, newborn management and long-term outcomes. *Semin Periatr Surg* 2014;5:283-90.
15. Bergholz R, Boettcher M, Reinshagen K, et al. Complex gastroschisis is a different entity to simple gastroschisis affecting morbidity and mortality-a systematic review and meta-analysis. *J Pediatr Surg* 2014;10:1527-32.
16. D'Antonio F, Virgone C, Rizzo G, et al. Prenatal Risk Factors and Outcomes in Gastroschisis: A Meta-Analysis. *Pediatrics* 2015;1:e159-69.
17. O'Connell RV, Dotters-Katz SK, Kuller JA, et al. Gastroschisis: A Review of Management and Outcomes. *Obstet Gynecol Surv* 2016;9:537-44.
18. Andrade WS, Brizot ML, Rodrigues AS, et al. Sonographic Markers in the Prediction of Fetal Complex Gastroschisis. *Fetal Diagn Ther* 2018;1:45-52.
19. Geslin D, Clermidi P, Gatibelza ME, et al. What prenatal ultrasound features are predictable of complex or vanishing gastroschisis? A retrospective study. *Prenat Diagn* 2017;2:168-75.
20. Robertson JA, Kimble RM, Stockton K, et al. Antenatal ultrasound features in fetuses with gastroschisis and its prediction in neonatal outcome. *Aust NZ J Obstet Gynaecol* 2017;1:52-6.
21. Ducellier G, Moussy P, Sahmoun L, et al. Gastroschisis: Prenatal ultrasonography and obstetrical criteria for predicting neonatal outcome. *Gynecol Obstet Fertil* 2016;9:461-7.
22. Abuhamad AZ, Mari G, Cortina RM, et al. Superior mesenteric artery Doppler velocimetry and ultrasonographic assessment of fetal bowel in gastroschisis: a prospective longitudinal study. *Am J Obstet Gynecol* 1997;5:985-90.
23. Nick AM, Bruner JP, Moses R, et al. Second-trimester intra-abdominal bowel dilation in fetuses with gastroschisis predicts neonatal bowel atresia. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2006;6:821-5.
24. Volumenije JL, de Lagausie P, Guibourdenche J, et al. Improvement of mesenteric superior artery Doppler velocimetry by amnio-infusion in fetal gastroschisis. *Prenat Diagn* 2001;13:1171-4.

25. Sapin E, Mahieu D, Borgon J, et al. Transabdominal amnioinfusion to avoid fetal demise and intestinal damage in fetuses with gastroschisis and severe oligohydramnios. *J Pediatr Surg* 2002;35:598–600.
26. Luton D, Guibourdenche J, Vuillard E, et al. Prenatal management of gastroschisis the place of amnioexchange procedure. *Clin Perinatol* 2003;30:551–72.
27. Ashrafi M, Hosseinpour M, Farid M, et al. Evaluation of diluted amniotic fluid effects on histological changes of intestine of rabbit fetus with gastroschisis. *Pediatr Surg Int* 2008;4:421–4.
28. Luton D, de Lagausie P, Guibourdenche J, et al. Influence of amnioinfusion in a model of in utero created gastroschisis in the pregnant ewe. *Fetal Diagn Ther* 2000;4:224–8.
29. Midrio P, Stefanutti G, Mussap M, et al. Amnioexchange for fetuses with gastroschisis: is it effective? *J Pediatr Surg* 2007;5:777–82.
30. Dennison FA. Closed gastroschisis, vanishing Migut and extreme short bowel syndrome: case report and review of the literature. *Ultrasound* 2016;3:170–4.
31. Grosfeld JL, O'Neill JA, Fonkalsrud EW, Coran AG.: *Pediatr. Surg* 2006, 6th ed. Mosby Elsevier, vol 2, 1157–1171
32. Serra A, Fitze G, Kamin G, et al. Preliminary report on elective preterm delivery at 34 weeks and primary abdominal closure for the management of gastroschisis. *Eur J Pediatr Surg* 2008;1:32–7.
33. Hadidi A, Subotic U, Goeppl M, et al. Early elective cesarean delivery before 36 weeks vs late spontaneous delivery in infants with gastroschisis. *J Pediatr Surg* 2008;7:1342–6.
34. Logghe HL, Mason GC, Thornton JG, et al. A randomized controlled trial of elective preterm delivery of fetuses with gastroschisis. *J Pediatr Surg* 2005; 11:1726–31.
35. Harper LM, Goetzinger KR, Biggio JR, et al. Timing of elective delivery in gastroschisis: a decision and cost-effectiveness analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2015;2:227–32.
36. Carnaghan H, Baud D, Lapidus-Krol E, et al. Effect of gestational age at birth on neonatal outcomes in gastroschisis. *J Pediatr Surg* 2016;5:734–8.
37. Mok E, Laberge JM. The significance of intrauterine growth restriction is different from prematurity or the outcome of infants with gastroschisis. *J Pediatr Surg* 2004;8:1200–4.
38. Perrone EE, Olson J, Golden JM, et al. Closing gastroschisis: The good, the bad, and the not-so ugly. *J Pediatr Surg* 2019;1:60–4.
39. Segel SY, Marder SJ, Parry S, et al. Fetal abdominal wall defects and mode of delivery: a systematic review. *Obstet Gynecol* 2001;5 Pt 1:867–73.
40. Salihu HM, Emusu D, Aliyu ZY, et al. Mode of delivery and neonatal survival of infants with isolated gastroschisis. *Obstet Gynecol* 2004;4:678–83.
41. Puligandla PS, Janvier A, Flageole H, et al. Routine cesarean delivery does not improve the outcome of infants with gastroschisis. *J Pediatr Surg* 2004;5:742–5.
42. Petrosyan M, Sandler AD. Closure methods in gastroschisis. *Semin Pediatr Surg* 2018;5:304–8.
43. Chilarski A, Bułhak-Guz H, Grochulska-Cerska H, et al. Gastroschisis: what is the optimal treatment? *Arch Perin Med* 2005;4:36–8.

Komórki macierzyste – przyszłość terapii płodu

RAFAŁ STOJKO, JAKUB STANICZEK, KRZYSZTOF SZAFLIK

WPROWADZENIE

Komórki macierzyste ze względu na zdolności do nieograniczonego podziału oraz różnicowania w inne typy komórek znalazły zastosowanie w terapii wielu chorób, przede wszystkim hematologicznych i nowotworowych, a także w leczeniu oparzeń. Ze względu na wiele źródeł ich pozyskiwania i różnorodne właściwości poszukuje się dla nich nowych zastosowań, m.in. w wewnątrzmacicznej terapii chorób wrodzonych, zdiagnozowanych w życiu płodowym. Próby transplantacji komórek macierzystych in utero są podejmowane w niedoborach odporności, hemoglobinopatiach, chorobach spichrzeniowych, wrodzonej łamliwości kości czy rozszczepie kręgosłupa. Terapia ta, choć bardzo obiecująca na etapie badań naukowych i w modelach zwierzęcych, w praktyce napotyka wiele ograniczeń, które nauka stara się pokonać. Dalszy rozwój transplantacji komórek macierzystych do płodu wymaga zrozumienia złożoności jego układu immunologicznego, osiągnięcia jak najwyższego poziomu chimeryzmu potransplantacyjnego, zapobiegania odrzucaniu przeszczepu oraz ujednolicenia odpowiedniego czasu i techniki procedur przeszczepienia komórek macierzystych (IUT – in utero transplantation)

PODZIAŁ KOMÓREK MACIERZYSTYCH

Komórki macierzyste (SC – stem cells), inaczej zwane komórkami pnia, są to niewyspecjalizowane komórki wyróżniające się zdolnością do nieograniczonej proliferacji, czyli nieograniczonej liczby podziałów oraz umiejętnością różnicowania się w dojrzałe komórki innych typów. Dzięki stałemu namnażaniu i różnicowaniu się są źródłem wyspecjalizowanych komórek budujących organizm. Podział komórek macierzystych przedstawia tabela 1¹⁻⁴.

Podział ze względu na zdolność różnicowania

Ze względu na zdolność różnicowania komórki macierzyste możemy podzielić na:

1. **totipotencjalne** – to komórki, które mogą różnicować się do każdego typu komórek w danym organizmie, co oznacza, że mogą utworzyć cały organizm. Totipotencjalnością wykazują się najmłodsze rozwojowo komórki, zwane blastomerami, które powstają w okresie rozwoju zarodkowego w ciągu pierwszych kilku dni od zapłodnienia
2. **pluripotencjalne** – to komórki mające zdolność różnicowania się do wszystkich rodzajów komórek pochodzących z listków zarodkowych; są to tzw. ludzkie komórki embrionalne pnia, pochodzą z zewnętrznej i z wewnętrznej warstwy blastocysty. Dają początek wszystkim komórkom tkanek i narządów, poza rozrodczymi

Tabela 1. Podział komórek macierzystych

Ze względu na różnicowanie	Ze względu na pochodzenie	
1. Totipotencjalne 2. Pluripotencjalne 3. Multipotencjalne 4. Unipotencjalne	Nieembrionalne: 1. somatyczne (ASCs) 2. płodowe (FSCs) 3. hematopoetyczne (HSCs) 4. nabłonka owodni (hAESC)s 5. łożyskowe (PD-MSCs) 6. płynu owodniowego (AFSCs)	Embrionalne (ESCs)

- 3. **multipotencjalne** – wywodzą się z pojedynczego listka zarodkowego, mogą różnicować się jedynie w komórki o podobnym typie i właściwościach. Przykładem są krwiotwórcze komórki macierzyste obecne również we krwi pępowinowej, pochodzące z mezodermy, zdolne wytworzyć wszystkie komórki krwi oraz inne tkanki, takie jak szpik kostny i mięśnie
- 4. **unipotencjalne** – dają początek jednemu typowi komórek; są nimi dorosłe (somatyczne) komórki macierzyste występujące w wykształconych już tkankach^{2,4-6}.

Podział ze względu na pochodzenie

Ze względu na pochodzenie komórki macierzyste możemy podzielić na embrionalne oraz nieembrionalne.

Embrionalne komórki macierzyste

Embrionalne komórki macierzyste (ESCs – embrional stem cells) stanowią wewnętrzną masę komórek, pochodzącą z epiblastu blastocysty. Są najbardziej wszechstronnymi komórkami, a zakres ich możliwości różnicowania zależy od stadium rozwoju zarodka, z którego pochodzą. Mają one także większy potencjał proliferacyjny niż odpowiadające im komórki pochodzące z tkanek dorosłego organizmu. Ich cechą jest niezróżnicowanie i totipotencjalność, a dzięki aktywności telomerazy – enzymu odpowiadającego za stabilność genomu i żywotność komórek – ESCs są uważane za nieśmiertelne. Pobiera się je wprost z embrionów powstałych przez zapłodnienie in vitro, niewykorzystanych do implantacji bądź klonów tych zarodków. Ograniczeniem w wykorzystaniu tego typu komórek jest częste tworzenie potworniaków w organizmie biorcy^{1,6,7}.

Nieembrionalne komórki macierzyste

Somatyczne, zwane także dorosłymi (ASCs – adult stem cells) komórki znajdują się w tkankach dorosłych organizmów; mają zdolności multi- oraz unipotencjalne. Jako swoiste tkankowo komórki mogą odtworzyć daną tkankę. Wytwarzają jednocześnie dwa rodzaje komórek potomnych: identyczne oraz zróżnicowane pod względem funkcji i morfologii. Proces ten zapewnia stałą liczbę komórek somatycznych. Obecność dorosłych komórek macierzystych potwierdzono m.in. w szpiku kostnym, tkance tłuszczowej, włóknach nerwowych i mięśniowych, miazdze zębów, skórze i krwi obwodowej^{1,2}.

Okoloporodowe (płodowe) komórki macierzyste (FSCs – fetal stem cells) – ze względu na dużą objętość, dobrą dostępność i możliwość manipulacji w środowisku zewnętrznym bez zagrożenia dla płodu mają ogromny potencjał do wykorzystania w terapii komórkowej. Ich źródłem są: krew pępowinowa, płyn owodniowy, łożysko, owodnia, kosmówka, a także tkanka okalająca naczynia pępowinowe (galareta Whartona)^{1,7}. Komórki płodowe dzieli się na dwie kategorie: **hematopoetyczne komórki macierzyste** (HSCs – hematopoietic stem cells) oraz niehematopoetyczne, **mezenchymalne komórki macierzyste** (MSCs – mesenchymal stem cells). Hematopoetyczne komórki macierzyste są prekursorami komórek wszystkich linii hematopoezy, które różnicują się we wszystkie typy komórek

krwi oraz w kierunku hepatocytów. Z kolei mezenchymalne komórki macierzyste mogą się różnicować w komórki pochodzenia mezodermalnego, takie jak osteoblasty, osteocyty, chondrocyty, adipocyty, a także kardiomiocyty oraz komórki nerwowe. Trwają badania nad ich wykorzystaniem w medycynie regeneracyjnej, np. odbudowie wątroby, mięśnia sercowego po zawale, chorobach neurodegeneracyjnych lub cukrzycy^{1,8,12-14}.

Komórki macierzyste znajdujące się na powierzchni owodni, czyli ludzkie komórki macierzyste nabłonka owodni (hAECs – human amnion epithelial stem cells) charakteryzują się właściwościami pluripotencjalnymi. Komórki te budzą duże zainteresowanie badaczy ze względu na umiejętność różnicowania się w trzy linie komórkowe, niewielką immunogenność, cechy przeciwpalne oraz łatwość pozyskiwania^{1,15}.

PD-MSCs (placenta-derived mesenchymal stem cells) to komórki macierzyste uzyskane drogą biopsji kosmówkowej bądź po porodzie z łożyska. Stanowią one źródło SCs różnicujących się nie tylko w zakresie mezenchymalnym, ale również śródbłonkowym i neuronalnym. Ze względu na dużą masę w stosunku np. do krwi pępowinowej i łatwość pobrania materiału komórkowego łożysko jest potencjalnie dobrym źródłem SC, należy jednak brać pod uwagę, że zawiera ono nie tylko komórki macierzyste płodowe, lecz także matczyne^{1,9-11}.

Komórki macierzyste pobierane z płynu owodniowego (AFSCs – amniotic fluid stem cells) drogą amniopunkcji dają nadzieję na wykorzystanie ich w terapii in utero. Wykazują właściwości multipotencjalne. Hodowla AFSCs dowiodła zdolności do generowania przez nie komórek linii krwiotwórczych, adipocytów, osteocytów, miocytów, komórek śródbłonka, hepatocytów, chondrocytów i komórek tkanki nerwowej. W badaniach przedklinicznych wykazano, że komórki pobrane z płynu owodniowego na wczesnym etapie rozwoju płodu mogą posłużyć do wewnątrzmacicznej regeneracji zastawek serca^{1,8,16,17}.

Nieembrionalne komórki macierzyste z powyższych źródeł izoluje się z wykorzystaniem immunopowinowactwa w cytofluorymetrze przepływowym^{3,18}.

WYKORZYSTANIE KOMÓREK MACIERZYSTYCH

Zastosowanie komórek macierzystych jest wielokierunkowe, a postęp badań nad ich wykorzystaniem stwarza coraz szersze możliwości w terapii komórkowej oraz medycynie regeneracyjnej. Obecnie stosuje się je przede wszystkim w terapii chorób nowotworowych oraz chorób z autoagresji, a także w leczeniu oparzeń i uszkodzeń skóry. W fazie badań jest udział SC w regeneracji mięśnia sercowego po zawale, komórek wysp Langerhansa w cukrzycy typu I czy motoneuronów uszkodzonego rdzenia kręgowego. W hematologii komórki macierzyste stosuje się do transplantacji z powodzeniem od ponad 50 lat. Sukcesy terapeutyczne sprawiły, że wzrosło zainteresowanie innymi źródłami komórek i możliwościami ich zastosowania. Na podstawie dotychczasowych doświadczeń można nakreślić rozwój terapii genowej i molekularnej oraz wykorzystywanie SC do produkcji białek i czynników wzrostu.

Nowym kierunkiem w wykorzystaniu właściwości komórek macierzystych jest ich przeszczepianie wewnątrzmaciczne w niektórych chorobach zdiagnozowanych prenatalnie. W badaniach nad transplantacjami SC in utero stosuje się różne typy komórek macierzystych. Czynniki sprzyjające wykorzystaniu komórek macierzystych w transplantacjach dopłodowych przedstawiono w tabeli 2^{1,18-21}.

TECHNIKA PRZESZCZEPIANIA KOMÓREK MACIERZYSTYCH

Jak wspomniano, ze względu na obiecujące właściwości immunologiczne wykorzystuje się komórki owodni, będącej źródłem mezenchymalnych komórek macierzystych. Innym rodzajem komórek macierzystych są komórki płodowe wątroby. Ich przewagą jest zmniejszenie częstości występowania choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi (GvHD – graft-versus-host disease) oraz plastyczność w dopasowaniu do rozwijającego się płodu. Niestety zastosowanie tych komórek jest ograniczone ze

Tabela 2. Czynniki sprzyjające praktycznemu wykorzystaniu komórek macierzystych w transplantacjach dopłodowych

Mała masa ciała biorcy ^{18,22,23}
Migracja hematopoetycznych komórek macierzystych ^{24,25}
Tolerancja immunologiczna płodu – specyficzna tolerancja na komórki allogeniczne przed podjęciem pracy przez grasicę płodu ²⁶

względem na utrudnione i zagrażające płodowi ich pozyskiwanie. Źródłem komórek macierzystych wykorzystywanych do IUT jest także krew pępowinowa. Szczególnie wartościowe są te pobierane od rodzeństwa ze względu na dopasowanie przeszczepu w układzie MCH. Źródłem komórek macierzystych jest także szpik kostny pobierany od rodziców bądź rodzeństwa. W celu lepszej tolerancji przeszczepu materiał pozbawiany jest limfocytów T albo wzbogacany o cząsteczki CD 34^{18,24,25,27-30}.

Metody podania komórek macierzystych do płodu nie są uściśnione, jednak większość publikacji zaleca nakłucie żyły pępowinowej jako najlepszy dostęp do krążenia płodu²³. Zabieg powinien zostać wykonany w specjalistycznych centrach przez odpowiednio przeszkolone osoby, przy użyciu wysokiej klasy ultrasonografu. Przeszczepienie komórek macierzystych wykonuje się między 11 a 14 tygodniem ciąży. W tym okresie działanie układu immunologicznego płodu daje największe szanse na powodzenie przeszczepienia^{18,22}.

Pierwszym etapem procedury jest dokładna analiza przedzabiegowa: ocena akcji serca, biometrii, a także łożyska oraz przyczepu pępowiny.

Następnie, nadal pod kontrolą USG, dokonuje się kordocentezy za pomocą igły punkcyjnej. Kolejnym etapem jest podanie komórek macierzystych do żyły pępowinowej. Procedura ta przeważnie nie stanowi zagrożenia dla płodu, jeśli trwa krócej niż 60 sekund. Zarówno przed, jak i po wykonaniu zabiegu transplantacji ocenia się ultrasonograficznie dobrostan płodu poprzez ponowną ocenę akcji serca oraz przepływów dopplerowskich w naczyniach pępowinowych. Należy także rozważyć echokardiografię płodową. Nie jest zalecana profilaktyczna tokoliza ani antybiotykoterapia. U ciężarnych po zabiegu obserwuje się krwawienie z miejsca wkłucia. Pozostają one na obserwacji przez 2 godziny po wykonaniu procedury. Schemat zabiegu przedstawiono w tabeli nr 3³¹.

Tabela 3. Etapy transplantacji komórek macierzystych

Ocena biometrii i akcji serca płodu oraz ocena łożyska
Dezynfekcja skóry brzucha
Dezynfekcja głowicy ultrasonografu, ewentualnie umieszczenie jej w jałowym „rękawie”
Wprowadzenie pod kontrolą USG igły punkcyjnej (22 G lub 25 G) przez powłoki brzuszne
Po uwidocznieniu igły oraz pętli pępowiny okolicy przyczepu wkłucie się w żyłę pępowinową energicznym ruchem
Podanie komórek macierzystych do żyły pępowinowej
Obserwacja krwawienia z miejsca wkłucia
Ocena akcji serca płodu
Ocena przepływów dopplerowskich w tętnicy pępowinowej
Dwugodzinny nadzór nad pacjentką, która powinna pozostać w pozycji leżącej na boku

STRATEGIE TRANSPLANTACJI KOMÓREK MACIERZYSTYCH

Dotychczas przeprowadzone badania na temat IUT nie pozwoliły na konsensus w kwestii najlepszej strategii transplantacji in utero. Najczęściej jednak wykorzystywane są dwa modele postępowania.

Pierwszy z nich to wewnątrzmaciczna transplantacja komórek hematopoetycznych (IUHST – in utero hematopoietic stem cell transplantation). Przeprowadza się ją jedno- lub wielokrotnie, standardowo między 11 a 14 tygodniem ciąży. Istnieją wówczas bardzo dobre warunki mikrośrodowiska płodowego, m.in. aktywna hematopoeza w wątrobie, mała ilość limfocytów T w grasicy i krwi obwodowej, a także niewielka masa płodu. Celem tej procedury jest osiągnięcie terapeutycznego poziomu chimeryzmu potransplantacyjnego. IUHST może się stać alternatywą dla transplantacji poporodowych. Powyższa strategia znalazła zastosowanie w takich chorobach jak ciężki złożony niedobór odporności sprzężony z chromosomem X (X-SCID – X-linked severe combined immunodeficiency), niedokrwistość Fanconiego czy zespół Blooma^{18,23,32–35}.

Drugą strategią jest przeprowadzenie IUHST w pierwszym etapie, a w kolejnym transplantacja komórek hematopoetycznych po urodzeniu (HSCT – hematopoietic stem cell transplantation). Przewagą tego rodzaju postępowania jest uzyskanie tolerancji dla komórek dawcy i zapewnienie odpowiednich warunków chimeryzmu po narodzinach. Zmniejsza to ryzyko odrzucenia przeszczepu przez noworodka. Strategię tę wykorzystuje się w schorzeniach, w których konieczne jest uzyskanie większego poziomu chimeryzmu, np. w zespole adhezji leukocytów czy hemoglobinopatiach^{18,36–38}.

WYKORZYSTANIE KOMÓREK MACIERZYSTYCH

Doświadczenia kliniczne z transplantacjami in utero napotykać wiele ograniczeń. Dotychczas najlepsze wyniki uzyskano w leczeniu niedoborów odporności, szczególnie tych związanych ze zmniejszoną liczbą komórek immunologicznych. Były to m.in. zespół nagich limfocytów czy SCID. W próbach wykorzystania transplantacji in utero w tych chorobach uzyskano częściowy chimeryzm, który okazał się terapeutyczny^{18,39–41}.

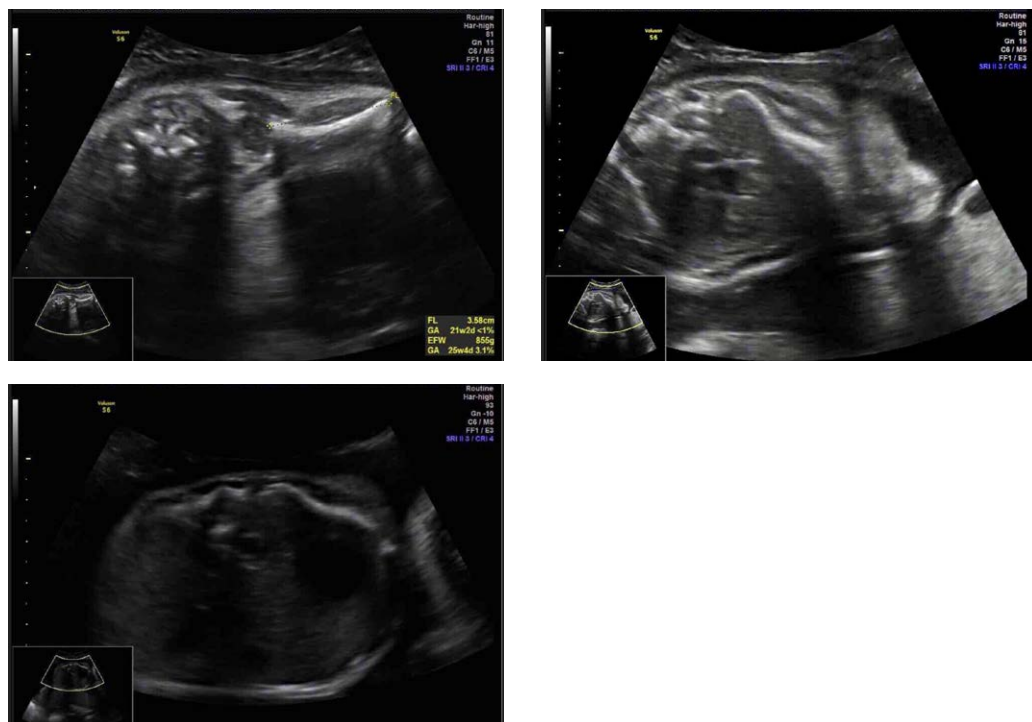
Duże nadzieje wiąże się z leczeniem komórkowym wrodzonej łamliwości kości (OI – osteogenesis imperfecta) (ryc. 1). Leczenie miałoby polegać na allogenicznym przeszczepieniu mezenchymalnych komórek macierzystych, które implantowałyby się i różnicowały w kościach płodu nawet przy niezgodności immunologicznej w układzie HLA. Podejmuje się także próby wykorzystania terapii w chorobach, u których podstawy leży brak konkretnego enzymu, tzw. chorobach spichrzeniowych^{18,42–49}.

NIEPOWODZENIA TERAPII KOMÓRKAMI MACIERZYSTYMI

Próby leczenia niedoborów odporności związanych z zaburzeniem funkcjonowania komórek krwiotwórczych zakończyły się niepowodzeniem. Przykładem mogą być choroba ziarniniakowa lub hemoglobinopatie, takie jak talasemia, anemia sierpowata czy immunizacja antygenu Rh, hemofilia A lub zespół Niemann-Picka^{18,45–48}.

Powyższe niepowodzenia w klinicznym zastosowaniu transplantacji in utero zmuszają do określenia czynników, które ograniczają powodzenie i wykorzystanie tego rodzaju terapii. Ważnym zagadnieniem jest dobór czasu odpowiedniego do wykonania transplantacji, gdyż wiek płodu w chwili wykonania procedury IUT ma niebagatelne znaczenie dla sukcesu terapeutycznego ze względu na specyficzne właściwości immunologiczne płodu na różnych etapach jego rozwoju^{18,23,50}.

Trudności związane z terapią in utero dotyczą także dostępności i wrażliwości nisz hematopoetycznych w organizmie biorcy. To ważne ze względu na fakt, że stopień przyjęcia przeszczepu zależy od liczby komórek dawcy. Prawdopodobnie te trudności można pokonać poprzez zniszczenie komórek hematopoetycznych biorcy na drodze mieloablacji o wysokim profilu selektywności i bezpieczeństwa lub też uwolnienie komórek biorcy do krążenia obwodowego, aby te zwolniły nisze hematopoetyczne dla komórek dawcy^{18,26,51–57}.



Rycina 1. Wygięcie żeber oraz skrócenie kości długich płodu w osteogenesis imperfecta, 31 tydzień ciąży

Przeszkodę w powodzeniu IUT stanowi także trudna do uzyskania przewaga konkurencyjna komórek dawcy nad komórkami biorcy, która jest niezbędna, aby przeszczep został przyjęty. Taką przewagę konkurencyjną udowodniono w przypadku komórek macierzystych płodowych nad komórkami macierzystymi pochodzącymi od dorosłego osobnika. Rozwiązaniem powyższego problemu mogłoby się okazać zwiększenie liczby przeszczepianych komórek dawcy bądź powtarzanie transplantacji^{18,27,52-56}.

Istotnym źródłem ograniczeń jest układ immunologiczny płodu. Dalsze badania nad jego poznaniem są niezbędne do opracowania strategii znoszących wynikające z niego ograniczenia dla terapii in utero. Potwierdzeniem tej tezy jest powodzenie IUT w chorobach związanych z niedoborami odporności lub uzyskanie lepszych efektów terapii poprzedzonej immunosupresją. Istotną przeszkodą dla przyjęcia przeszczepu może być nie tylko układ immunologiczny płodu, ale i matki. Wykazano, że limfocyty T ciężarnej obecne we krwi płodu negatywnie wpływają na powodzenie transplantacji. Naukowcy proponują przeszczepianie płodowi komórek matki bądź komórek pochodzących od osobnika dopasowanego w układzie MHC do matki, a nie do płodu^{18,22,23,53-55,58,59}.

PODSUMOWANIE

Komórki macierzyste niewątpliwie są wielkim odkryciem biologii, wykorzystywanym szeroko w medycynie. Sukces stosowania komórek macierzystych w hematologii zachęcił do badań nad poszerzeniem ich zastosowania w kolejnych dziedzinach medycyny, dlatego stwarzają one wiele nadziei dla terapii coraz większego wachlarza schorzeń, w tym terapii wewnątrzmacicznej płodu. Badania nad wykorzystaniem komórek macierzystych w transplantacjach in utero dążą ku możliwości wczesnego wyleczenia niektórych chorób wykrytych w okresie perinatalnym. Jednakże metoda ta napotyka na istotne ograniczenia w uzyskiwaniu dobrych wyników terapeutycznych. Do przeszkód tych możemy zaliczyć: ograniczone miejsce na komórki dawcy w organizmie płodu, konkurencję komórek dawcy

z komórkami biorcy, a także barierę immunologiczną płodu. Dalsza praca nad pokonaniem tych barier i nowymi strategiami oraz ujednoliceniem procedur transplantacji są konieczne do poprawy klinicznych wyników IUT.

Piśmiennictwo

1. Piskorska-Jasiulewicz M, Witkowska Zimny M. Okołoporodowe źródła komórek macierzystych. *Postępy Hig Med Dosw* 2015;69:327–34.
2. Olszewska-Stonina DM, Styczyński J, Drewa TA, et al. Komórki niezróżnicowane – źródła i plastyczność. *Adv Clin Exp Med* 2006;15:497–503.
3. Ratajczak M, Goździk J. Komórki macierzyste – klucz do długowieczności. *Med Dypł* 2004;13(12):16–25.
4. Tachibana M. Human Embryonic Stem Cells Derived by Somatic Cell Nuclear Transfer. *Cell* 2013;153(6):1228–38.
5. Volarevic V, Ljubic B, Stojkovic P, et al. Human stem cell research and regenerative medicine – present and future. *Br Med Bull* 2011;99:155–68.
6. Roszek K, Komoszyński M. Kontrola i kierunki różnicowania komórek macierzystych krwi pępowinowej oraz ich zastosowanie terapeutyczne. *Postępy Hig Med Dośw* 2008;62:660–7.
7. Gotherstrom C, Ringden O, Tammik C, et al. Immunologic properties of human fetal mesenchymal stem cells. *Am J Obstet Gynecol* 2004;190(1):239.
8. Witkowska-Zimny M, Wróbel E. Perinatal sources of mesenchymal stem cells: Wharton's jelly, amnion and chorion. *Cell Mol Biol Lett* 2011;16:493–514.
9. Delo DM, De Coppi P, Bartsch GJr, et al. Amniotic fluid and placental stem cells. *Methods Enzymol* 2006;419:426–38.
10. Brooke G, Rossetti T, Pelekanos R, et al. Manufacturing of human placenta-derived mesenchymal stem cells for clinical trials. *Br J Haematol* 2009;144(4):571–9. doi: 10.1111/j.1365-2141.2008.07492.x. Epub 2008 Dec 5.
11. Pogozhykh O, Prokopyuk V, Figueiredo C, et al. Placenta and Placental Derivatives in Regenerative Therapies: Experimental Studies, History, and Prospects. *Stem Cells Int*. 2018; 2018: 4837930.
12. Styczyński J, Kałwak K, Ussowicz M, et al. Przeszczepianie krwi pępowinowej w polskich ośrodkach pediatrycznych: raport Polskiej Pediatrycznej Grupy ds. Transplantacji Komórek Krwiotwórczych. *Acta Haematol Pol* 2012;43:265–70.
13. Buzańska L, Jurga M, Domańska-Janik K. Neuronal differentiation of human umbilical cord blood neural stem-like cell line. *Neurodegener Dis* 2006;3:19–26.
14. Prat-Vidal C, Roura S, Farré J, et al. Umbilical cord blood-derived stem cells spontaneously express cardiomyogenic traits. *Transplant Proc* 2007;39:2434–7.
15. Miki T, Lehmann T, Cai H, et al. Stem cell characteristics of amniotic epithelial cells. *Stem Cells* 2005;23:1549–59.
16. Tsai MS, Lee JL, Chang YJ, et al. Isolation of human multipotent mesenchymal stem cells from second-trimester amniotic fluid using a novel two-stage culture protocol. *Hum Reprod* 2004;19:1450–6.
17. Roubelakis MG, Pappa KI, Bitsika V, et al. Molecular and proteomic characterization of human mesenchymal stem cells derived from amniotic fluid: comparison to bone marrow mesenchymal stem cells. *Stem Cells Dev* 2007;16:931–952.
18. Bielec B, Stojko R. Terapia komórkami macierzystymi in utero. *Gin Pol Med. Project* 2015;3(37).
19. Kucia M, Drukała J. Postęp w metodach hodowli komórek dla transplantologii – komórki macierzyste. *Post Biol Kom* 2002;29(2):257–68.
20. Siminiak T, Grygielska B, Jerzykowska P et al. Autologous bone marrow stem cell transplantation in acute myocardial infarction – report on two cases. *Kardiol Pol* 2003;59:502–10.
21. Burns CJ, Persaud SJ, Jones PM. Stem cells therapy for diabetes: do we need to make beta cells? *J Endocrinol* 2004;183:437–43.
22. Flake AW, Zanjani ED. In utero hematopoietic stem cell transplantation: a status report. *JAMA* 1997;278:932–7.
23. Rao SS, Peters SO, Crittenden RB et al. Stem cell transplantation in the normal non-myeloablated host: relationship between cell dose, schedule, and engraftment. *Exp Hematol* 1997;25:114–21.
24. Christensen JL, Wright DE, Wagers AJ et al. Circulation and chemotaxis of fetal hematopoietic stem cell. *PLoS Biol* 2004;2(3):368–77.
25. Wolf NS, Bertoncello I, Jiang D et al. Developmental hematopoiesis from prenatal to young-adult life in the mouse model. *Exp Hematol* 1995;23:142–6.
26. 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;9(Suppl 1):121–6.
27. Muench MO. In utero transplantation: baby steps towards an effective therapy. *Bone Marrow Transplant* 2005;35:537–47.
28. Marcus AJ, Coyne TM, Black IB et al. Woodbury D. Fate of amnion-derived stem cells transplanted to the fetal rat brain: migration, survival and differentiation. *J Cell Mol Med* 2008;12(4):1256–64.
29. Han K, Lee JE, Kwon SJ et al. Human amnion-derived mesenchymal stem cells are a potential source for uterine stem cell therapy. *Cell Prolif* 2008;41:709–25.

30. Rebel VI, Miller CL, Eaves CJ, et al. The repopulation potential of fetal liver hematopoietic stem cell in mice exceeds that of their liver adult bone marrow counterparts. *Blood* 1996;87:3500-7.
31. Le Blanc K, Götherström C, Ringdén O, et al. Fetal mesenchymal stem-cell engraftment in bone after in utero transplantation in a patient with severe osteogenesis imperfecta. *Transplantation* 2005;79(11):1607-14.
32. 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;187:475-82.
33. 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;348:1484-7.
34. Bjorgvinsdottir H, Ding C, Pech N, et al. Retroviralmediated gene transfer of gp91phox into bone marrow cells rescues defect in host defense against *Aspergillus fumigatus* in murine X-linked chronic granulomatous disease. *Blood* 1997;89:41-48.
35. Andrea AD, Grompe M. Molecular biology of Fanconi anemia: implications for diagnosis and therapy. *Blood* 1997;90(5):1725-36.
36. Hayashi S, Hsieh M, Peranteau WH, et al. Complete allogeneic hematopoietic chimerism achieved by in utero hematopoietic cell transplantation and cotransplantation of LLME-treated, MHC-sensitized donor lymphocytes. *Exp Hematol* 2004;32:290-299.
37. Peranteau WF, Hayashi S, Hsieh M et al. High level allogeneic chimerism achieved by prenatal tolerance induction and postnatal non-myeloablative bone marrow transplantation. *Blood* 2002;100:2225-34.
38. Chung YS, Huang CY, Ma MC et al. Cardiac injury protection from mouse bone marrow stromal cells within utero transplantation followed by secondary post natal boost. *Chin J Phys* 2011;54(4):205-18.
39. Touraine JL, Raudrant D, Royo C, et al. In-utero transplantation of stem cells in bare lymphocyte syndrome. *Lancet* 1989;1:1382.
40. Pirovano S, Notarangelo LD, Malacarne F, et al. Reconstitution of T-cell compartment after in utero stem cell transplantation: analysis of T-cell repertoire and thymic output. *Haematologica* 2004;89:450-61.
41. Bartolome J, Porta F, Lafranchi A, et al. B cell function after haploidentical in utero bone marrow transplantation in a patient with severe combined immunodeficiency. *Bone Marrow Transplant* 2002;29:625-8.
42. Le Blanc K, Götherstrom C, Ringden O et al. Fetal mesenchymal stem-cell engraftment in bone after in utero transplantation in a patient with severe osteogenesis imperfecta. *Transplantation* 2005;79:1607-14.
43. Westgren L, Anneren G, Axelsson O et al. Donor chimerism across full allogenic barriers achieved by in utero transplantation of fetal mesenchymal stem cells in a case of osteogenesis imperfecta. *Am J Obstet Gynecol* 2003;189:S215.
44. Götherström C, Westgren M, Shaw SW et al. Pre- and Postnatal Transplantation of Fetal Mesenchymal Stem Cells in Osteogenesis Imperfecta: A Two-Center Experience. *Stem Cells Trans Med* 2013;16:255-64.
45. Westgren M, Ringden O, Eik-Nes S et al. Lack of evidence of permanent engraftment after in utero fetal stem cell transplantation in congenital hemoglobinopathies. *Transplantation* 1996;61:1176-9.
46. Surbek D, Schoeberlein A, Wagner A. Perinatal stem-cell and gene therapy for hemoglobinopathies. *Semin Fetal Neonatal Med* 2008;13:282-90.
47. 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;1:189-90.
48. Sanna MA, Monni G, Ibba RM et al. In utero stem cell transplantation for beta-thalassemia: a case report. *Bone Marrow Transplant* 1999;23:S109.
49. Bieback K., Kluter H.: Mesenchymal stromal cells from umbilical cord blood. *Curr. Stem Cell Res. Ther.* 2007; 2:310-23.
50. Pettersen S, Gendelman M, Murphy KM, et al. In utero hematopoietic stem cell transplantation in canines: Exploring the gestational age window of opportunity to maximize engraftment. *Fetal Diagn Ther* 2013;33:116-21.
51. Peranteau WH, Endo M, Adibe OO, et al. Evidence for an immune barrier after in utero hematopoietic-cell transplantation. *Blood* 2007;109:1331-3.
52. Mintz B, Anthony K, Litwin S. Monoclonal derivation of mouse myeloid and lymphoid lineages from totipotent hematopoietic stem cells experimentally engrafted in fetal hosts. *Proc Natl Acad Sci* 1984;81:7835-9.
53. Götherstrom C, Johnsson AM, Mattsson J et al. Identification of maternal hematopoietic cells in a 2nd trimester fetus. *Fetal Diagn Ther* 2005;20:355-8.
54. Nijagal A, Wegorzewska M, Jarvis E et al. Maternal T cells limit engraftment after in utero hematopoietic cell transplantation in mice. *J Clin Invest* 2011;121:582-92.
55. Nijagal A, Wegorzewska M, Le T et al. The Maternal immune response inhibits the success of in utero hematopoietic cell transplantation. *Chimerism* 2011;2:55-57.
56. Stewart FM, Zhong S, Wu J et al. Lymphohematopoietic engraftment in minimally myeloablated hosts. *Blood* 1998;91:3681-7.
57. Abe T, Masuda S, Tanaka Y et al. Maternal administration of busulfan before in utero transplantation of human hematopoietic stem cells enhances engraftments in sheep. *Exp Hematol* 2012;40:436-44.

58. Nijagal A, Węgorzewska M, Jarvis E et al. Maternal T cells limit engraftment after in utero hematopoietic cell transplantation in mice. *J Clin Invest* 2011;121:582–92.
59. Nijagal A, Węgorzewska M, Le T et al. The Maternal immune response inhibits the success of in utero hematopoietic cell transplantation. *Chimerism* 2011;2:55–7.

