

А. П. Кухаренко, Г. И. Когут, А. Д. Швед

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ КЛЕТОК КОРДОВОЙ КРОВИ

В обзоре приведены литературные данные о возникновении и развитии идеи использования пуповинной, или кордовой, крови (КК) как альтернативного источника стволовых гемопоэтических клеток для трансплантации пациентам с нарушениями собственного кроветворения. Рассматриваются также результаты экспериментальных исследований трансдукции геноинженерных векторных конструкций в кроветворные клетки КК для дальнейшего их применения в генной терапии и биотехнологии.

Из области цитологических исследований приведены качественные и количественные характеристики дифференцированного потомства предшественников кроветворения в условиях их краткосрочного и длительного культивирования, свидетельствующие о существенном преимуществе КК перед костным мозгом (КМ) при использовании для трансплантации реципиентам с дефектами гемопоэза. Сумма научных, методических и технических данных подтверждает возможность создания национальных банков КК, которые со временем заменят существующие ныне регистры доноров КМ.

В последние годы возникла и быстро реализуется идея использования в качестве источника стволовых гемопоэтических клеток крови, извлекаемой из пуповины и плаценты сразу после ее отхождения. Зарубежные исследователи быстро наращивают темпы всестороннего изучения возможностей применения пуповинной крови в клинических ситуациях, при которых обычно проводились пересадки костного мозга (КМ). Большое содержание стволовых кроветворных клеток в пуповинной крови, простота техники ее получения, возможность заготовки в больших количествах не могли не привлечь внимания специалистов из области генной терапии и биотехнологии, о чем свидетельствуют весьма серьезные, хотя пока и немногочисленные публикации. В отечественной медицинской практике и биологической науке клетки пуповинной крови пока не использовались, а информированность исследователей по этому вопросу остается поверхностной. Учитывая последнее, мы попытались в представленном обзоре суммировать сведения из доступной научной литературы, позволив себе некоторые публикации привести в более широком рассмотрении. Для обозначения пуповинной крови мы использовали принятый в зарубежной литературе термин «кордовая кровь» (КК).

В настоящее время при лечении больных с апластической анемией, лейкоемией, врожденными нарушениями костного мозга, цитотоксической болезнью после рентген- и химиотерапии, а также иммунодефицитными состояниями различного генеза основным методом является трансплантация HLA-совместимого КМ. Печальное дополнение этого списка составляют лица с последствиями радиационного поражения. Однако, поскольку, как известно, КМ содержит клеток значительно больше, чем собственно недифференцированных стволовых клеток, тщательный подбор по HLA-совместимости совершенно необходим для предупреждения отторжения трансплантата. При этом известно, что ввиду гетерогенности HLA-типов доноры для трансплантации КМ могут быть подобраны только для 20—25 % реципиентов [1, 2]. Поэтому множество пациентов погибает, прежде чем для них будет найден гистосовместимый донор КМ [3], а развитие реакции «трансплантат—про-

тив — хозяина» (ТПХ) приводит к гибели более четверти больных после костномозговых трансплантаций [4].

В 1989 г. Броксмайер (США), исследовав более 100 образцов КК, сделал интригующее предположение [5] о том, что неонатальная кровь, остающаяся в плаценте, содержит достаточное количество стволовых кроветворных клеток для того, чтобы быть использованной взамен трансплантаций КМ. Автор, кроме того, допускал возможность забора КК при родах, ее криоконсервирования и хранения до возникновения потребности в собственной пуповинной крови в течение всей жизни конкретного индивида. Вслед за этим английский гематолог Линч [1] с некоторыми предостережениями признал возможность использования КК, отметив, что справедливость этого положения могут доказать только клинические исследования.

Позднее было показано [6, 7], что в КК содержится больше ранних миелоидных клеток-предшественников, чем предполагалось ранее. Было отмечено также, что количество этих предшественников в крови однодневных новорожденных составляет 30—46 % от такового в собственной пуповинной крови каждого из них. Инкубация клеток КК в течение 7 дней в присутствии гемопоэтических колониеформирующих факторов обеспечивала увеличение в 7,9; 2,2 и 2,7 раза соответственно КОЕ-ГМ, БОЕ-Э (эритроидные бурстообразующие единицы) и КОЕ-ГЭММ (гранулоцит, эритроцит, моноцит, мегакариоцит) в сравнении с их начальным количеством. При исследовании 200 образцов КК была показана [8] фенотипическая незрелость содержащихся в ней Т-лимфоцитов, как известно, способствующих проявлению реакции ТПХ. Полученные результаты укрепили надежды на то, что КК может оказаться более подходящей для аллогенных трансплантаций, чем КМ, и даже одного образца КК должно быть достаточно для восстановления кроветворения у взрослого реципиента.

Недавно были представлены серьезные аргументы в пользу преимущества КК как источника стволовых гемопоэтических клеток для трансплантаций взрослым реципиентам [9], а также предложены методы определения способности этих клеток к приживлению и сравнительной оценки КК и КМ как источников их получения. Способность к приживлению образцов КМ принято оценивать, определяя в них количество КОЕ-ГМ. Эти клетки, однако, обеспечивают клеточную генерацию на короткий промежуток времени после трансплантации и не могут точно отражать содержания в образце КМ более ранних клеток, обуславливающих долговременный гемопоэз. В КМ клетки, способные к длительному приживлению, составляют лишь малую часть фракции $CD34^+ CD38^-$, и множество из них находится в состоянии покоя, из которого их обычно выводят, помещая в специальные условия. При анализе характера колониеобразования при культивировании костномозговых клеток было обнаружено, что около половины ранних колониеобразующих клеток вырабатывают аутокринный трансформирующий ростовой фактор бета₁ (TGF-бета₁), как известно [10], ингибирующий пролиферацию ГМ-колониобразующих клеток и препятствующий их включению в клеточный цикл с помощью оптимальных концентраций ростовых факторов. Чтобы определить способность к пролиферации и образованию ранних предшественников в долговременных культурах, авторы для нейтрализации действия TGF-бета₁ при культивировании клеток КК и КМ в стандартный цитокиновый «коктейль» добавляли либо антисмысловой олигонуклеотид, комплементарный мРНК TGF-бета₁ (принципы антисмыслового регулирования экспрессии генов см. в обзорах [11, 12]), либо TGF-бета₁-антисыворотку. Такая аранжировка эксперимента позволила установить, что доля клеток $CD34^+ CD38^-$ составляет 4 % от всей $CD34^+$ -фракции КК против 1 % для донорского КМ, т. е. КК сравнительно более обогащена стволовыми клетками. Сравнение продукции различных типов клеток фракции $CD34^+ CD38^-$ из КМ и КК продемонстрировало, что при равном числе КОЕ-ГЭММ у последней показатель КОЕ-ГМ превосходил в два раза, BFU-E — в три

раза численность аналогичной клеточной популяции из КМ. Было показано также, что в КМ содержится несколько больше CD34⁺ CD38⁺-клеток, чем в КК, что должно выражаться в существенно большем показателе поздних КОЕ-ГМ ($10,7 \cdot 10^6$ против $2,5 \cdot 10^6$). Однако, как следует из экспериментов, размеры ГМ-колоний CD34⁺-клеток из КК значительно превосходили таковые для того же типа клеток из КМ. То есть, больший ростовой потенциал первых может компенсировать превосходящее количество последних. Полученные результаты позволили исследователям удостовериться в том, что способность к длительному приживлению гемопоэтических клеток из 100—200 мл КК существенно больше, чем из обычно применяемого объема КМ для трансплантаций взрослым реципиентам.

Успехи первых попыток использования КК при прогрессирующей лейкемии [13], после терапевтической миелосупрессии [14], для лечения анемии Фалькони [15, 16] и связанной с X-хромосомой лимфопролиферативной болезни [17] привлекли к себе внимание специалистов, и к началу текущего года только в детской практике в мире было произведено 35 трансфузий детям в возрасте от 10 месяцев до 16 лет [18], как сообщает проф. Харрис из Ракового Центра штата Аризона. Анализируя проблему, он отмечает, что в настоящее время 26 из 31 пациента, получившего КК, живы (некоторые уже более 5 лет), в хорошем состоянии и без признаков реакции ТПХ. Высказывается мнение о том, что дальнейшие исследования должны предоставить убедительные доказательства меньшей опасности развития ТПХ после трансплантаций КК в сравнении с подобными последствиями после трансплантаций КМ, а также отсутствия необходимости в строгом HLA-типировании для достижения успеха при трансплантациях КК. На начало 1994 г. планируется проведение трансплантаций КК взрослым реципиентам и преимущественно между неродственными лицами. Сообщается также о том, что в университете штата Аризона основан банк КК с целью обеспечения пересадками стволовых клеток лиц, для которых нет подходящего донора КМ. Университет намерен увеличивать масштабы своего банка для повышения шансов проведения трансплантаций КК, особенно для пациентов из этнических меньшинств. Проф. Харрис убежден, что в предстоящие несколько лет использование КК многократно возрастет, и благодаря возможности легкого получения большого количества материала (в США ежегодно происходит около 4 млн родов) и меньшей опасности осложнений после трансплантаций КК окончательно вытеснит пересадки КМ. С возникновением больших банков КК (таких как в университете штата Аризона) станет возможным подбор для лиц из этнических меньшинств или смешанной этнической наследственности подходящего источника стволовых кроветворных клеток. В настоящее время очень мало таких людей представлено в регистре доноров КМ, поэтому шанс отыскать гистосовместимый КМ для этой категории реципиентов почти ничтожный. В заключение высказывается уверенность в том, что в очень недалеком будущем проблема поиска доноров КМ и серьезные осложнения после трансплантаций останутся отдаленным воспоминанием и в немалой степени благодаря КК, которая некогда уходила в отбросы.

Еще ранее французские гематологи, проведя обширные исследования [16] по получению, криоконсервированию КК, анализу ее клеточного состава и клиническому применению, отмечали преимущества, которые обеспечат банки КК для этнических меньшинств, нуждающихся в трансплантациях КМ, поскольку разнообразие по гаплотипу настолько велико, что вероятность подбора подходящего донора КМ для этой категории реципиентов практически ничтожна.

Эксперименты английских исследователей по длительному культивированию клеток *in vitro* с высокой степенью достоверности показали [19, 20], что качество и количество гемопоэтических клеток из КК существенно превосходят таковые для клеток из КМ, а средний объем КК, составляющий 117 мл (по 132 образцам), содержит достаточное

число стволовых клеток для трансплантации взрослому пациенту с лейкемией или другими гемопоэтическими нарушениями. Авторы приходят к выводу о необходимости создания банка криоконсервированной КК, который будет иметь ряд преимуществ перед существующими в настоящее время регистрами доноров КМ, поскольку 1) исключается требующий времени поиск подходящего донора); 2) устраняется необходимость проведения травматичной операции по забору КМ; 3) тестирование по гистосовместимости может быть многократно ускорено благодаря новым методикам HLA-типирования [21, 22]; 4) КК содержит больше незрелых Т-клеток, чем КМ взрослого донора; 5) КК содержит высокую хелпер-супрессорную активность, за счет чего снижается вероятность развития болезни ТПХ.

Перспектива широкого клинического использования КК потребовала решения ряда проблем препаративного характера. Была показана [23] возможность длительного хранения криоконсервированной КК без снижения количества гемопоэтических предшественников, что подтвердилось и при клиническом применении КК после хранения в замороженном состоянии [15, 16]. В то же время физические факторы при разделении клеток центрифугированием КК в градиенте плотности снижали количество колониеобразующих клеток [23]. Однако при оптимально подобранных условиях градиентного центрифугирования колониеобразующая способность предшественников не изменялась [24], при этом отмечена большая сохранность после такой процедуры клеток КК, чем КМ.

При трансфузии КК существует возможность развития реакции вследствие АВО-групповой несовместимости между реципиентом и донором КК, особенно при наличии у пациента высоких титров изоагглютининов. Естественно, для предупреждения такой опасности следовало бы удалять из препаратов КК неядерные формы, однако все опробованные способы удаления эритроцитов приводили к потере 50—90 % предшественников гемопоэза [5], что послужило основанием для рекомендации отказаться от любых манипуляций с КК как до, так и после криоконсервации. Тем не менее, недавно был предложен простой способ [25] удаления эритроцитов с помощью центрифугирования КК в 3 %-м растворе желатина. Обработанная по этому способу КК была использована для восстановления кроветворения у 8-летней девочки после сублетальной химиотерапии по поводу острого лимфобластного лейкоза. Авторы не отметили у больной никаких осложнений, связанных с трансфузией КК, а наблюдение в течение 9 месяцев показало полное восстановление гемопоэза и отсутствие рецидива, что устранило необходимость в повторных курсах химиотерапии.

Интригующую перспективу американские исследователи видят в использовании клеток КК для целей генной терапии врожденных генетических заболеваний, СПИДа и биотехнологии. В плане применения клеток КК для генной терапии недавно были опубликованы [26] убедительные результаты по введению *in vitro* ретровирусных молекулярных векторов в клетки КК. Была показана существенно более высокая эффективность переноса генов в коммитированные клетки-предшественники КК в сравнении с клетками КМ от взрослого донора. Вслед за этим появилось сообщение [27] о высокой эффективности генной трансдукции в высокоочищенные стволовые клетки (и предшественники) из КК. Более того, авторам удалось осуществить процедуру переноса генетической векторной конструкции на уровне единичной изолированной клетки CD34³⁺. Исследователи видят в этом перспективу для введения нужного генетического материала в различные подтипы стволовых клеток (или предшественников), распознавание и выделение которых по антигенному составу возможно уже сегодня.

Проф. Броксмайер уже применил стволовые клетки КК в двух генотерапевтических процедурах для лечения злокачественного комбинированного иммунодефицита (SCID) — врожденного заболевания, связанного с отсутствием фермента аденозиндезаминазы (ADA). Летом

1993 г. исследователи использовали ретровирус человека для переноса копии нормального гена ADA в стволовые клетки, выделенные из КК двух детей с этим заболеванием. Измененные клетки были затем трансплантированы детям, и в их организме появился отсутствовавший ранее фермент [2].

Несколько ранее французские ученые [28—30] для предупреждения развития врожденного иммунодефицита использовали интактные гемопоэтические клетки эмбриональной печени человека (ЭПЧ), также содержащие значительное количество стволовых кроветворных клеток [31]. Внутритробное введение в лупочную вену плода с пренатально установленным диагнозом наследственного иммунодефицита гемопоэтических клеток ЭПЧ от эмбриона без генетических нарушений обеспечивало приживание этих клеток в организме плода и нормальную функцию иммунной системы у новорожденных. Многолетние наблюдения за детьми убедили исследователей в стойкости полученного эффекта. Таким образом, для целей генной терапии наследственно обусловленных заболеваний в некоторых случаях возможно использование даже неизмененных стволовых кроветворных клеток, содержащих нормально функционирующий ген.

В последние годы интенсивно разрабатывается техника трансдукции в клетки млекопитающих экзогенного генетического материала с использованием в качестве вектора аденоассоциированного вируса (ААВ) человека. Преимущества ААВ как вектора состоят в отсутствии патогенных свойств, мутагенных и онкогенных потенций, достаточной векторной емкости, сайтспецифическом характере интеграции в геном хозяина и др. [32, 33]. Используя ААВ как вектор, предпринимались также попытки создания в гемопоэтических клетках анти-ВИЧ внутриклеточного иммунитета с помощью антисмысловых РНК [34], введения в эритроидных клетках синтеза и регуляции экспрессии альфа- и гамма-глобинов [35, 36]. Поэтому неудивительно, что в одной из первых работ по трансдукции рекомбинантных генетических конструкций в клетки КК в качестве вектора использован геном ААВ [37]. В работе показана не только высокая эффективность трансдукции в зрелые и незрелые предшественники гемопоэза из КК, но обнаружено также существенное преимущество ААВ-вектора перед таковыми ретровирусной природы. Суть его состоит в том, что ААВ способен (видимо, в силу своей принадлежности к вирусам человека: известно, что около 90 % человеческой популяции серопозитивно по ААВ при отсутствии каких-либо патологических проявлений) интегрировать в геном гемопоэтических клеток без предшествующей стимуляции последних ростовыми факторами, что необходимо для трансдукции ретровирусных векторов [26]. Обнаруженный факт позволит в дальнейшем с помощью обработки определенными ростовыми факторами стволовых гемопоэтических клеток, несущих в себе ААВ-векторную конструкцию, осуществить дифференцировку соответствующего ростка кроветворения, зрелое потомство которого будет содержать трансдуцированный генетический материал специфического свойства — либо определяющий устойчивость к возбудителям инфекций (например ВИЧ), либо продуцирующий определенные гормоны, ферменты, факторы и пр., что в совокупности будет способствовать значительному расширению показаний и возможностей для генной терапии.

Интересно, что у больных злокачественным комбинированным иммунодефицитом трансплантации гистонесовместимого КМ или клеток ЭПЧ не вызвали иммунологических реакций типа ТПХ [38, 39]. Недавно показано [40], что повышенный синтез интерлейкина-10 у таких больных действует как антигенспецифический супрессорный фактор, лишаяющий донорские Т-клетки способности распознавать HLA-антигены реципиента. Это обстоятельство, во-первых, освобождает клинициста от излишней строгости в HLA-типировании при трансплантации аллогенного материала для целей генной терапии у больных SCID, во-вторых, в дальнейшем, возможно, даст ему средство для предупрежде-

ния или снижения тяжести реакции ТПХ и профилактики отторжения аллотрансплантата.

В контексте терапевтического использования стволовых кроветворных клеток представляется уместным привести также данные экспериментальных исследований [41], где показано, что фракционированное ионизирующее облучение лимфоидных органов и тканей мышей вызывало развитие аутоиммунной патологии в виде гастритов, тиреоидитов, эпидидимитов и/или орхитов. Радиационно обусловленное поражение органов не являлось первопричиной аутоиммунных заболеваний, поскольку локальное их облучение не приводило к развитию этой патологии, а экранирование органов не защищало их от поражения, если облучение приходилось на лимфоидную ткань. В результате тотального облучения лимфоидной ткани у животного исчезало большинство зрелых тимоцитов и периферических Т-клеток, а введение им клеток селезенки, тимоцитов или КМ от необлученных животных предотвращало развитие аутоиммунной патологии. Приведенные результаты модельных экспериментов наводят на мысль о возможности и необходимости осуществления клинических исследований с использованием стволовых клеток КК и для лечения контингента с радиационно индуцированными нарушениями иммунной системы.

В качестве источника стволовых гемопоэтических клеток применяется также ЭПЧ, на ранних стадиях онтогенеза выполняющая роль кроветворного органа. В уже упоминавшейся работе [31] экспериментально доказано, что количество ядерных клеток, которые могут быть получены из печени эмбриона на 8—16-й неделе развития, составляет 10^7 — 10^8 . Сравнимые порядки величин характерны и для КК, и для КМ. Однако способность ядерных клеток к продукции CD34⁺-клона существенно уменьшалась с увеличением возраста их источника (ЭПЧ, КК или КМ), поэтому исследователи пришли к заключению, что гемопоэтические клетки из ЭПЧ и КК имеют значительные преимущества перед клетками из КМ взрослого донора при использовании как в целях генной терапии, так и для трансплантации пациентам с различными, в настоящее время фатальными, патологиями.

ЭПЧ как орган самого раннего кроветворения следует признать наиболее подходящим источником стволовых гемопоэтических клеток, и в ряде стран эти клетки успешно применяли как в здравоохранении, так и для решения различных исследовательских задач [42, 43]. Однако есть государства, в которых подобные работы не находят поддержки и даже осуждаются. Так, например, в США использование эмбриональных тканей человека длительное время было запрещено, и продолжительно дискутировалось в прессе [44—49], пока административные власти законодательно не расширили возможности проведения таких работ.

Под строгим государственным и общественным контролем осуществляется использование эмбриональных тканей человека и в Великобритании [50, 51]. И хотя в некоторых научных центрах за рубежом проводятся исследования с использованием клеток ЭПЧ, вряд ли можно ожидать, что последние будут иметь широкое применение в практической медицине, поскольку КК как альтернативный источник стволовых кроветворных клеток приобретает все больше сторонников и не встречает столь широкого противодействия по различным этическим и религиозным мотивам.

Первые успехи стимулировали клинику всего мира к наращиванию усилий по заготовке и хранению КК для более широкого применения. Так, д-р П. Рубинштейн из Ньюйоркского гематологического Центра в конце 1992 г. получил грант на 4,5 млн долларов для создания банка КК объемом 5000 образцов и за первую половину 1993 г. 400 образцов уже были приготовлены [52]. Гематологи Дж. Хаус, Е. Глакман и Б. Бредлей прилагают усилия для создания аналогичного банка в рамках Европейского Сообщества за счет привлечения как государственных ассигнований, так и частного капитала [53].

В то же время две коммерческие компании Biocyte и Cyto-Cell International (США) вкладывают капиталы в разработку технических систем для получения, криоконсервирования и длительного хранения КК [2].

Привлекает внимание управляемая компьютером автоматизированная система хранения криоконсервированных препаратов фирмы Cyto-Cell, способная хранить 35 000 образцов кордовой крови и, как оценивают эксперты по криоконсервированию, являющаяся собой количественный скачок в технологии низкотемпературного хранения [54]. «Эта система представляет собой до сих пор недостижимый уровень криоконсервирования,» — сказал А. Фринч, директор Ирландской лаборатории тканевого типирования [2]. Эти оценки достоинств системы Cyto-Cell, по-видимому, не являются преувеличением, поскольку она оснащена к тому же лазерным механизмом поиска и извлечения из хранилища индивидуального образца крови. Это исключает повреждение остальных образцов вследствие экспонирования на теплом воздухе в процессе поиска, что неизбежно при эксплуатации любой другой из известных систем того же назначения.

Американские специалисты утверждают [2], что устранение необходимости в КМ для трансплантаций резко снизит стоимость лечения больных. Сегодня стоимость трансплантации КМ между совместимыми партнерами составляет 15 000 долларов, а обращение в национальный донорский регистр США добавляет к этой сумме еще 5 000. Трансплантация КК стоит 2 000 долларов и может быть проведена даже в амбулаторных условиях.

Таким образом, существующие в мире научные, методические и технические предпосылки способствуют открытию новой главы в трансплантологии — трансфузии КК, а у специалистов в области биотехнологии и генной терапии появился неиссякаемый источник стволовых кроветворных клеток человека для развития своих исследований и технологий. А с учетом того, что значительный контингент населения Украины вследствие радиационно обусловленных нарушений кроветворной, иммунной систем и генетического аппарата уже сегодня нуждается в комплексном лечении, включающем трансплантацию стволовых гемопоэтических клеток, очевидной представляется задача безотлагательного создания национального банка таких клеток, способного заготавливать, тестировать, криоконсервировать и хранить КК в количествах, достаточных для удовлетворения потребностей лечебных учреждений страны.

О. П. Кухаренко, Г. І. Когут, А. Д. Швед

НАУКОВО-ПРАКТИЧНЕ ВИКОРИСТАННЯ ГЕМОПОЕТИЧНИХ КЛІТИН КОРДОВОЇ КРОВІ

Резюме

В огляді наведено літературні дані стосовно виникнення і розвитку ідеї використання пуповинної, або кордової, крові (КК) як альтернативного джерела стовбурових гемопоетичних клітин для трансплантації пацієнтам з порушеннями власного кроветворення. Розглядаються також результати експериментальних досліджень трансдукції генноінженерних векторних конструкцій до кроветворних клітин КК для подальшого їх використання в генній терапії і біотехнології.

Із області цитологічних досліджень подано якісні і кількісні характеристики диференційованого потомства попередників кроветворення за умов їх коротко- та довгострокового культивування, що свідчить про суттєву перевагу КК перед кістковим мозком (КМ) при застосуванні для трансплантацій реципієнтам з дефектами гемопоєзу. Сума наукових, методичних і технічних даних підтверджує можливість створення національних банків КК, які з часом замінять існуючі на сьогодні реєстри донорів КМ.

THE SCIENTIFIC AND PRACTICAL USE OF UMBILICAL CORD BLOOD HEMATOPOIETIC CELLS

Summary

The review contains data relating to use of umbilical cord blood as alternative source of hematopoietic stem cells for transplantation in patients with hematopoietic disorders. Experimental results suggest that it is feasible to achieve high efficiency gene transfer into primitive and more mature human umbilical cord blood hematopoietic progenitor cells using various recombinant vector systems. Such cells may have important implications for human gene therapy.

Cytological investigations showed high qualitative and quantitative characteristics of human hematopoietic progenitor cells, suggesting that cord blood may have an essential advantages over bone marrow as the source of transplantable and marrow-repopulating cells. The modern scientific data and technical potentials prove convincingly the feasibility and necessity of setting up a cord blood banks instead of existing bone marrow registries.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Linch D. C., Brent L.* Can cord blood be used? // *Nature*.—1989.—340, N 6236.—P. 676—677.
2. *Alper J.* Two firms tackle cord-blood transplants // *Bio/Technology*.—1994.—12.—P. 23—24.
3. *Howard M. R., Hows J. M., Gore S. M. et al.* Unrelated donor marrow transplantation between 1977 and 1987 at 4 UK centers // *Transplantation*.—1990.—49.—P. 547—553.
4. *Beatty P. G., Hansen J. A., Longton G. M. et al.* Marrow transplantation from HLA matched unrelated donors for treatment of hematologic malignancies // *Ibid.*—1991.—51.—P. 443—447.
5. *Broxmeyer H. E., Douglas G. W., Hangoc G. et al.* Human umbilical cord blood as a potential source of transplantable hematopoietic stem/progenitor cells // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*.—1989.—86.—P. 3828—3832.
6. *Broxmeyer H. E., Hangoc G., Cooper S. et al.* Growth characteristics and expansion of human umbilical cord blood and estimation of its potential for transplantation in adults // *Ibid.*—1992.—89, N 9.—P. 4109—4113.
7. *Broxmeyer H. E., Hangoc G., Cooper S.* Clinical and biological aspects of human umbilical cord blood as a source of transplantable hematopoietic stem and progenitor cells // *Hemotransplantation*.—1992.—Suppl., March.—P. 7—10.
8. *Harris D. T., Schumacher M. J., Locascio J. et al.* Phenotypic and functional immaturity of human umbilical cord blood T lymphocytes // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*.—1992.—89, N 21.—P. 10006—10010.
9. *Cardoso A. A., Ma-Lin Li, Batard P. et al.* Release from quiescence of CD34⁺ CD38⁻ human umbilical cord blood cells reveals their potential to engraft adults // *Ibid.*—1993.—90, N 18.—P. 8707—8711.
10. *Heyworth C. M., Vallance S. J., Whetton A. D., Dexter T. M.* The biochemistry and biology of the myeloid haemopoietic cell growth factors // *J. Cell. Sci.*—1990.—13.—P. 57—74.
11. *Inouye M.* Antisense RNA: its functions and applications in gene regulation — a review // *Gene*.—1988.—72, N 1—2.—P. 25—34.
12. *Stein C. A., Cohen J. S.* Oligodeoxynucleotides as inhibitors of gene expression: a review // *Cancer Res.*—1988.—48.—P. 2659—2668.
13. *Vilmer E., Sterkers G., Rahimy S. et al.* HLA-mismatched cord-blood transplantation in a patient with advanced leukemia // *Transplantation*.—1992.—53.—P. 1155—1159.
14. *Wagner J. E., Broxmeyer H. E., Byrd R. L. et al.* Transplantation of umbilical cord blood after myeloablative therapy: analysis of engraftment // *Blood*.—1992.—79.—P. 1874—1881.
15. *Gluckman E., Broxmeyer H. E., Auerbach A. D. et al.* Hematopoietic reconstitution in a patient with Falconi's anemia by means of umbilical-cord blood from an HLA-identical sibling // *N. Engl. J. Med.*—1989.—321.—P. 1174—1178.
16. *Gluckman E., Devergie A., Thierry D. et al.* Clinical applications of stem cell transfusion from cord blood and rationale for cord blood banking // *Hemotransplantation*.—1992.—Suppl., March.—P. 114—117.
17. *Vowels M. R., Lam-Po-Tang R., Berdoukas V. et al.* Correction of X-linked lymphoproliferative disease by transplantation of cord-blood stem cells // *New Engl. J. Med.*—1993.—329.—P. 1623—1625.
18. *Harris D. T.* Cord blood transplantation: past, present and future // *Clin. Res. News for Arizona Physicians*.—1994.—5, N 1.—P. 90.
19. *Hows J. M., Bradley B. A., Marsh J. C. W. et al.* Growth of human umbilical-cord blood in longterm haemopoietic cultures // *Lancet*.—1992.—340.—P. 73—76.

20. *Howe J. M., Marsh J. C. W., Bradley B. A. et al.* Human cord blood: a source of transplantable stem cells? // Hemotransplantation.—1992.— Suppl. March.— P. 105—108.
21. *Clay T. M., Bidwell J. L., Howard M. R., Bradley B. A.* On behalf of collaborating centres in the IMUST study. PCR-fingerprinting for selection of HLA matched unrelated donors // Lancet.—1991.— 337.— P. 1049—1052.
22. *Betuel H., Gebuhrer L., Souillet G., Philippe N.* HLA typing by serology and by molecular biology of fetal and cord blood cells // Hemotransplantation.—1992.— Suppl. March.— P. 60—63.
23. *Thierry D., Hervatin F., Traineau R. et al.* Hematopoietic progenitors cells in cord blood // Ibid.— P. 101—104.
24. *Charboro P., Newton I., Schaal J. P., Herve P.* The separation of human cord blood by density gradient does not induce a major loss of progenitor cells // Ibid.— P. 109—110.
25. *Pahwa R. N., Fleischer A., Than S., Good R. A.* Successful hematopoietic reconstitution with transplantation of erythrocyte-depleted allogenic human umbilical cord blood cells in a child with leukemia // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.—1994.— 91, N 10.— P. 4485—4488.
26. *Moritz T., Keller D. C., Williams D. A.* Human cord blood cells as a target for gene transfer: Potential use in genetic therapies of severe combined immunodeficiency disease // J. Exp. Med.—1993.— 178, N 2.— P. 529—536.
27. *Lu L., Hiao M., Clapp D. W. et al.* High efficiency retroviral mediated gene transduction into single isolated immature and replatable CD34³⁺ hematopoietic stem/progenitor cells from human umbilical cord blood // Ibid.— N 6.— P. 2089—2096.
28. *Touraine J.-L.* In utero transplantation of fetal liver stem cells in humans // Blood Cells.—1991.— 17.— P. 379—387.
29. *Raudrant D., Touraine J.-L., Rebaude A.* In utero transplantation of stem cells in humans: technical aspects and clinical experience during pregnancy // Hemotransplantation.—1992.— Suppl., March.— P. 98—100.
30. *Touraine J.-L., Raudrant D., Rebaude A.* In utero transplantation of stem cells in humans: immunological aspects and clinical follow up of patients // Ibid.— P. 121.
31. *Lansdorp P. M., Dragowska W., Mayani H.* Ontogeny-related changes in proliferative potential of human hematopoietic cells // J. Exp. Med.—1993.— 178, N 3.— P. 787—791.
32. *Muzyczka N.* Use of adeno-associated virus as a general transduction vector for mammalian cells // Curr. Top. Microbiol. Immunol.—1992.— 158.— P. 98—108.
33. *Nahreini P., Woody M. I., Zhou S. Z., Srivastava A.* Versatile adeno-associated virus 2-based vectors for constructing recombinant virions // Gene.—1993.— 124, N 2.— P. 257—262.
34. *Chatterjee S., Johnson P. R., Wong K. K.* Dual-target inhibition of HIV-1 *in vitro* by means of an adeno-associated virus antisense vector // Science.—1992.— 258.— P. 1485—1488.
35. *Walsh C. E., Liu J. M., Xiao X., Nienhuis A. W. et al.* Regulated high level expression of a human γ -globin gene introduced into erythroid cells by an adeno-associated virus vector // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.—1992.— 89, N 15.— P. 7257—7261.
36. *Ponnazhagan S., Nallari M. L., Srivastava A.* Suppression of human α -globin gene expression mediated by the recombinant adeno-associated virus 2-based antisense vectors // J. Exp. Med.—1994.— 179.— P. 733—738.
37. *Shou S. Z., Cooper S., Kang L. Y.* Adeno-associated virus 2-mediated high efficiency gene transfer into immature and mature subsets of hematopoietic progenitor cells in human umbilical cord blood // Ibid.— N 6.— P. 1867—1875.
38. *Fischer A., Landaus P., Friedrich W. et al.* European experience of bone marrow transplantation for severe combined immunodeficiency // Lancet.—1990.— 336.— P. 850—856.
39. *Bacchetta R., Vandekerckhove B. A. E., Touraine J. L. et al.* Chimerism and tolerance to host and donor in severe combined immunodeficiencies transplanted with fetal liver stem cells // J. Clin. Invest.—1993.— 91.— P. 1067—1072.
40. *Bacchetta R., Bigler M., Touraine J.-L. et al.* High levels of interleukin 10 production *in vivo* are associated with HLA Mismatched hematopoietic stem cells // J. Exp. Med.—1994.— 179, N 2.— P. 493—502.
41. *Sakaguchi N., Miyai K., Sakaguchi S.* Induction of autoimmune disease in mice by high dose fractionated total lymphoid irradiation and its prevention by inoculating normal T cell // J. Immunol.—1994.— 152, N 5.— P. 2586—2595.
42. *Сухих Т. Г., Молнар Е. М., Малайцев В. В., Богданова И. М.* Трансплантация фетальных тканей человека в гематологии // Бюлл. эксперим. биологии и медицины.—1994.— № 4.— С. 375—377.
43. *Gale R. P.* Fetal liver transplants // Hemotransplantation.—1992.— Suppl.— P. 118—120.
44. *Koshland D. E.* Fetal tissue research // Science.—1992.— 256.— N 5065.— P. 1741.
45. *Palca J.* Banking for transplantation research // Ibid.— N 5061.— P. 1274.
46. *Culliton B. J.* Needed: fetal tissue research // Nature.—1992.— 355, N 6358.— P. 295.
47. *US muddles policy on fetal tissue // Ibid.— 358, N 6382.— P. 93.*
48. *Bianchi D. W., Bernfield M., Nathan D. G.* A revived opportunity for fetal research // Ibid.—1993.— 363, N 6424.— P. 12.
49. *Anderson C.* Healy stays, fetal tissue ban goes // Science.—1993.— 259, N 5095.— P. 591.
50. *Using fetal tissue // Nature.—1989.— 340, N 6232.— P. 327—328.*

51. *Edwards R. G.* Human embryo as a source of cells // Hemotransplantation.— 1992.— Suppl., March.— P. 90—92.
52. *Cortiss J.* Umbilical cord blood may be lifeline for some patients // J. Nat. Canc. Inst.— 1993.— 85, N 14.— P. 1107—1109.
53. *Banking* on umbilical cords // Science.— 1992.— 257.— P. 615.
54. *Leibovit M.* Cryo-cell international, Inc. // The Volume Reversal Survey (June 29, 1993).

Ин-т молекуляр. биологии и генетики

Получено 14.10.94

НАН Украины, Киев

НИИ гематологии и переливания крови МЗ Украины, Киев

ИЗДАТЕЛЬСТВО «НАУКОВА ДУМКА» В 1995 ГОДУ ВЫПУСТИТ В СВЕТ КНИГУ:

Гершензон С. М. РАЗНООБРАЗНОЕ ЗНАЧЕНИЕ МЕЙОЗА ДЛЯ ПРОБЛЕМ ОБЩЕЙ БИОЛОГИИ.— Киев: Наук. думка, 1995.— 10 л.— ISBN 5—12—004657—6.

В монографии рассмотрены достижения современной науки в исследовании мейоза цитологическими, генетическими и молекулярно-биологическими методами. Обсуждается значение этих достижений для понимания репарации мутагенных повреждений ДНК, механизма синхронической конъюгации хромосом, генетической рекомбинации и конверсии генов, и также становление и эволюция мейоза, происхождение и эволюция пола, возникновение многоклеточности.

Для генетиков, цитологов и других специалистов, интересующихся проблемами общей биологии.
