

## Инфицированность пуповинной крови и эмбрионов ранних сроков гестации и гемопоэз в эмбриональной печени

UDC 616/618

G.S. LOBYNTSEVA\*, I.V. VOROZHKA, A.V. SITNIKOVA

## Infection of Cord Blood and Embryos at Early Gestation Terms and Hemopoiesis in Embryonic Liver

Методом ПЦР исследованы образцы плаценты, материнской и пуповинной крови. Общее количество инфицированных образцов пуповинной крови составило 5,4%, плаценты – 20%. В анамнезе рожениц сведений о наличии данных инфекционных заболеваний не было. Исследование абортивных эмбрионов показало, что 47% поражено различными видами инфекций, которые определяются уже на 6–10 неделе развития. Изучен клеточный состав популяции гемопоэтических клеток, выделенных из эмбриональной печени плодов 7–12 недель гестации, и установлено его изменение при появлении внутриутробных инфекций.

**Ключевые слова:** пуповинная кровь, эмбрионы, вирусные и урогенитальные инфекции, эмбриональный гемопоэз, клеточный состав.

Методом ПЦР досліджено зразки плаценти, материнської та пуповинної крові. Загальна кількість інфікованих зразків пуповинної крові склала 5,4%, плаценти – 20%. В анамнезі породіль відомостей про наявність даних інфекційних захворювань не було. Дослідження абортивних ембріонів показало, що 47% уражено різними видами інфекцій, які виявляються вже на 6–10 тижні розвитку. Вивчен клітинний склад популяції гемопоетичних клітин, вилучених із ембріональної печінки плодів 7–12 тижнів гестації, та встановлено його зміну при появі внутрішньоутробних інфекцій.

**Ключові слова:** пуповинна кров, ембріони, вірусні та урогенітальні інфекції, ембріональний гемопоез, клітинний склад.

With PCR there were studied the samples of placenta, maternal and cord blood. The total number of infected samples for cord blood made 5.4% and 20% for placenta. There were no data on the presence of infectious diseases in anamnesis of parturient women. The investigation of abortive embryos has shown that 47% were differently infected, and they can be found even at 6–10 developmental weeks. There was studied the cell composition of hemopoietic cell population isolated from embryonic liver of 7–12 gestation weeks' fetuses and its change was established when revealing the intrauterine infections.

**Key-words:** umbilical cord blood, embryos, viral and urogenital infections, embryonic hemopoiesis, cell composition.

Источниками стволовых клеток, применяемых в трансплантологии, являются костный мозг, пуповинная кровь, плацента и абортивные эмбрионы ранних сроков гестации. Чистота получаемых препаратов гарантирует их качественное использование в клинике. Однако уровень инфекционного заражения населения очень высок, особенно распространены урогенитальные инфекции среди молодых людей детородного возраста, которые являются потенциальными донорами стволовых клеток. Согласно рекомендациям МОЗ Украины необходимо обследовать донорскую кровь на наличие инфекционной флоры (гепатиты В и С, ВИЧ 1/2, трепонема) методом иммуноферментного анализа (ИФА), поэтому мы провели более широкие исследования пуповинной крови с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) (Наказ МОЗ Украины “Про інфекційну безпеку донорської крові та її компонентів” №385 від 11.09.2005 р.; “Застосування полімеразної ланцюгової реакції для виявлення збудників інфекційних

захворювань людини”. Метод. вказівки МВ 9.9.5.101-2003).

Ранее считалось, что наиболее частые возбудители внутриутробных инфекции – цитомегаловирусы, вирусы простого герпеса 1 и 2 типов, возбудители токсоплазмоза и краснухи. Однако результаты последних исследований во многом изменили представления как об этиологической структуре внутриутробной инфекции, так и о частоте внутриутробного инфицирования в целом.

Цель работы – определение инфекционного агента в образцах аутологичной кордовой крови и плаценте, поступивших на длительное хранение в криобанк согласно договора с пациентами с помощью ПЦР и ИФА (Ліцензія Міністерства охорони здоров'я України №118962, 2004 р.).

### Материалы и методы

Проведен сравнительный анализ инфицированности кордовой крови и абортивных плодов 6–12 недель гестации, полученных с согласия

Институт клеточной терапии, г. Киев, Украина

\* Автор, которому необходимо направлять корреспонденцию: пр. Космонавта Комарова, 3, г. Киев, Украина 03680; тел.: +38(044)206-66-66, факс: +38(044) 206-66-66, электронная почта: info@stemcellclinic.com

Institute of Cell Therapy, Kiev, Ukraine

\* To whom correspondence should be addressed: 3, Komarova prospect, Kiev, Ukraine 03680; tel.: +38 044 2066666, fax: +38 044 2066666, e-mail: info@stemcellclinic.com

женщин во время добровольного прерывания беременности и подготовленных для клинических испытаний (Приказ МЗ СССР №1695 от 30.12.1985: Провести клинические испытания “Метода лечения нарушений гемопоэза различного генеза путем трансфузии криоконсервированных с 5% ДМСО гемопоэтических клеток эмбриональной печени человека”). Образцы хранились в криобанке при  $-196^{\circ}\text{C}$ . Клеточный состав популяции гемопоэтических клеток при наличии и отсутствии инфекций исследован на мазках, окрашенных по Романовскому, под иммерсией при увеличении  $10\times 40$  на микроскопе CX41 Olympus. Микрофотографии образцов сохранены в памяти компьютера.

Пероксидазную активность определяли бензидиновым методом [6].

Для ПЦР-анализа, включающего выделение РНК/ДНК, амплификацию и детекцию результатов, использовали тест-системы производства ЦНИИЭ Роспотребнадзора (АмплиСенси<sup>TM</sup>, Россия), для выделения РНК (гепатит С) – комплект “Рибозоль-А”, ДНК – комплекты “ДНК-Сорб-В” и “Цитолизин”. Детекцию результатов проводили методами гибридизационно-ферментного анализа (ГИФА) (гепатит С и ВИЧ) и электрофореза.

Некоторые образцы дополнительно подвергали ИФА. Стерильность контролировали по классическим микробиологическим методикам (Наказ МОЗ Украины “Про інфекційну безпеку донорської крові та її компонентів” №385 від 11.09.2005 р.).

Достоверность различий между вариантами оценивали по критерию Стьюдента. При уровне значимости  $P < 0,05$  различия считали достоверными.

### Результаты и обсуждение

Договор на длительное хранение в криобанке аутологичной пуповинной крови заключается с

роженицами, у которых не обнаружена патогенная флора. Даже в таких случаях мы выявляем у женщин возбудителей, но не каждый рожденный ребенок будет обязательно инфицирован. Из данных (табл. 1) видно, что из 55 исследованных образцов цитомегаловирус определен в плаценте (7,2%), в кордовой крови новорожденных вирус не выявлен, EBV также не обнаружен в крови, но найден в плаценте (3,6%), РНК вируса гепатита С выявлена в 3,6% кордовой крови и 5,4% плаценты. В анамнезе рожениц сведений о наличии инфекционных заболеваний не было.

Если роды протекали с осложнениями: ранний отход вод, длительное нахождение плода в безводном пространстве, околоплодные воды с запахом и измененным цветом, при бактериологическом контроле кордовой крови и плаценты отмечено присутствие бактериальной флоры, т.е. кровь (6,6%) и плацента (25,5%) были нестерильными.

Многие авторы считают, что урогенитальные и вирусные инфекции попадают гематогенным путем, а бактериальная флора – восходящим (контаминация) при родах. Существует мнение, что для будущего ребенка опасно инфицирование женщины во время беременности, а инфицирование до беременности не представляет угрозы для внутриутробного плода.

Дальнейшие исследования показали возможность попадания вирусов в эмбрион до формирования плаценты.

Мы исследовали abortивные эмбрионы (табл. 2) и установили, что наиболее распространенной инфекцией является микоплазма (*Mycoplasma hominis*) (17%), возбудитель выявляется с 6 по 12 неделю внутриутробного развития в ткани печени, почек, сердца, мозга и кроветворных клетках эмбрионов. Хламидиями поражено 5% эмбрионов, уреаплазмой – 6%, гепатитом С – 4%, EBV – 2,5%,

**Таблица 1.** Выявление инфекционного агента в аутологичной кордовой крови и плаценте (n=55)

	Инфекционный агент													
	CMV		EBV		HCV		HGV		Ureapl. ur.		CMV, Ureapl. ur.		Mycopl. hom., Ureapl. ur.	
	Кр	Пл	Кр	Пл	Кр	Пл	Кр	Пл	Кр	Пл	Кр	Пл	Кр	Пл
Встречаемость	-	+	-	+	-	+	+	-	-	+	-	+	-	+
	-	+	-	+	+	+								
	-	+			+	+								
	-	+												
Количество инфицированных образцов, %	7,2		3,6		5,4		1,8		1,8		1,8		1,8	

Примечание: Кр – кровь; Пл – плацента.

выявлено большое количество смешанных инфекций. В общем 47% исследованных эмбрионов заражено различными видами инфекций, которые определяются уже на 6–10-й неделе развития. Это свидетельствует о том, что указанные выше пути проникновения инфекционного агента в данном случае не совсем корректны.

Кроме того, изменения в клетках, вызванные данными возбудителями, могут иметь серьезные последствия для здоровья будущего ребенка. Например, при гепатите С вирус локализуется в печени, оказывая цитопатическое действие, в клетках появляется большое количество вакуолей и многоядерность. При заражении хламидиозом увеличивается количество моноцитов и макрофагов, которые захватывают и фагоцитируют возбудителя.

При исследовании тканей иммуноферментным методом 10–11-недельных эмбрионов, инфициро-

ванных ВИЧ и HCV, были обнаружены антитела к данным возбудителям. В образцах, содержащих хламидии, уреоплазму, микоплазму, антитела выявлены единично на 11–12 неделе.

Дана морфофункциональная характеристика популяции гемопоэтических клеток эмбриональной печени человека разных сроков развития (5–12 недель).

Было выделено несколько возрастных групп женщин и проведено исследование клеточного состава гемопоэтических клеток в вариантах: 1) без определения инфекционного загрязнения в пробах (табл. 3); 2) в чистых препаратах (табл. 4); 3) в образце, пораженном вирусом гепатита С (табл. 5).

При морфологическом и цитохимическом анализе клеточной популяции в первом варианте установлено наличие разнообразных клеток: от недифференцируемых бластов, лимфоцитоподобных клеток до зрелых макрофагов и нейтрофилов.

**Таблица 2.** Выявление инфекционного агента в тканях плодов 6–12 недель гестации (n=200)

Инфекционный агент	Срок гестации (нед.) / количество положительных образцов							%	IgG ИФА
	6	7	8	9	10	11	12		
Гепатит С (HCV)			3			4	1	4	AtHCV – 1
Цитомегаловирус (CMV)				1	1		1	1,5	–
Вирус Эпштейн Барра (EBV)		1		2		2		2,5	–
Вирус иммунодефицита (HIV)					1			0,5	AtHIV
Трепанема (Trep. pallid.)							1	0,5	At нет
Микоплазма, (Mycop. hom.)	2	2	8	4	7	6	5	17	–
Хламидии (Chlam. tr.)		2	1		2	3	2	5	At нет
Уреоплазма (Ureap. ur.)		2	4	2	2	1	1	6	At нет
HCV (CMV)					1			0,5	At нет
HIV, Ureap. ur.							1		
HCV, Mycop. hom.					1			0,5	–
HSV, Ureap. ur.				1				0,5	–
Chlam.tr., Mycop. hom.		1	1		2		1	2,5	–
Mycop. hom., Ureap. ur.			1	1	2	1	2	3	–
Chlam. tr., Ureap. ur.				1				0,5	At нет
HCV, EBV, Mycop. hom.			1					0,5	–
HCV, EBV, Ureap. ur.			1					0,5	AtHCV
HIV, HCV, CMV					1			0,5	AtHIV
Chlam. tr., Mycop. hom., Ureap. ur			1					0,5	–

**Таблица 3.** Клеточный состав популяции гемопоэтических клеток, выделенных из печени эмбрионов 5–12 недель гестации

Клеточные формы	Возраст эмбриона, нед.			
	5–6 (n=5)	7–8 (n=8)	9–10 (n=6)	11–12 (n=5)
Примитивные эритробласты	45,0±3,3	32,0±1,6	29,00±3,96	30,0±1,7
Дифинитивные эритробласты	14,0±1,3	21,0±1,8	57,0±1,8	52,0±5,0
НДБК	17,0±1,5	14,0±0,9	6,0±1,5	6,0±0,6
Лимфоцитоподобные клетки	4,0±0,6	6,0±0,6	3,0±0,4	
Лимфоциты	0	0	0	1,2±0,4
Монобласты				
Моноциты	7,0±0,6	7,0±1,4	2,0±0,5	2,0±0,4
Макрофаги	13,0±1,7	16,0±0,7	3,0±0,7	6,0±1,6
Миелобласты	0	3,00±0,65	0,2±0,01	0,6±0,2
Миелоциты				
Гранулоциты:	0,2±0,04	1,0±0,13	0,20±0,01	1,2±0,4
Мегакариоциты	0,2±0,04	0,80±0,24	0,5±0,2	0,8±0,4

В отпечатках и мазках 5–6-недельной печени обнаружен высокий процент недифференцируемых бластных клеток (НБК) (17,0±1,5), которые представлены крупными клетками округлой формы с высоким ядерно-цитоплазматическим отношением. Лимфоцитоподобные клетки составляют 4,0±0,6 %, на 7–8-й неделе развития их количество достоверно не изменялось, на 9–12 неделе число недифференцируемых бластных и лимфоцитоподобных клеток снижалось до 6,0±0,6 и 2,0±0,2% соответственно ( $P < 0,05$ ). По-видимому, это связано с увеличением массы органа и количества гемопоэтических клеток, происходит “разведение” популяции более дифференцированными клетками-предшественниками гемопоэза. Лимфоциты выявлялись единично только на 11–12 неделе развития (1,2±0,4%).

Примитивные эритробластические элементы при выявлении пироксидазной активности давали в зависимости от типа клеток различные оттенки желтого окрашивания (от ярко-желтого в эритробластах I типа до желто-коричневого в эритробластах III типа). Эти клетки представляли почти половину клеточной популяции на 5–6 неделе развития, затем к 7–8 неделе их количество снижалось до 30%. Различие было достоверным на 8–12 неделе. Данная генерация эритроидных клеток заменялась клетками дефинитивного эритропоэза,

которые на 5–6 неделе составляли 14,0±1,3%, а к концу 12 недели – 52,0±5,0% ( $P < 0,05$ ).

На 5–8 неделе развития около 20% клеток были представлены клетками моноцитарно-макрофагального ростка, затем их число достоверно снижалось. Количество моноцитов на 11–12 неделе составляло 2,6±0,4 %, а макрофагов – 6,0±1,7% [4]. На мазках также встречались единичные мегакариоциты и миелобластные элементы.

Таким образом, если не учитывать наличие инфекционной флоры в образцах, усредненная популяция гемопоэтических клеток эмбриональной печени 5–12-недельного возраста представлена клетками эритроидного ряда, находящимися на разной стадии развития, моноцитарно-макрофагальными и в меньшей степени миелоидно-гранулоцитарными клетками.

При анализе препаратов, приготовленных из образцов, в которых методом ПЦР не обнаружено наличие вирусов и урогенитальных инфекций (см. табл. 4), мы не выявили того разнообразия клеток,

который присутствовал в инфицированном препарате. На мазках встречались клетки эритроидного и моноцитарно-макрофагального ростка. Небольшой процент недифференцируемых бластных и лимфоцитоподобных клеток. Клетки миелоидного ростка найдены единично в 11–12-недельных эмбрионах.

Отсутствие раннего гранулопоэза может быть обусловлено тем, что у эмбриона при отсутствии инфекционных агентов нет необходимости в этом типе клеток, а также присутствием ингибиторов пролиферации, выделяемых тканями плода. Однако гемопоэтические клетки-предшественники эмбриональной печени могут дифференцироваться в различные клеточные линии и этот запрет, как мы увидим далее, может быть снят при появлении внутриутробной инфекции.

При наличии вируса гепатита С клеточный состав резко изменился (см. табл. 5): увеличилось количество клеток моноцитарно-макрофагального ростка, появились миелоидные предшественники, зрелые гранулоциты и эозинофилы. Аналогичные результаты получены при анализе мазков из образцов, пораженных другими видами инфекций.

В табл. 5 (в скобках) приведены данные Kelemen et al. [7], из которых видно, что имеются расхождения в клеточном составе эмбриональной печени с результатами, полученными нами. Наличие

гранулоцитов свидетельствует о присутствии патогенной флоры в препаратах, представленных Kelemen для изучения.

### Выводы

Проведенные исследования позволили установить, что некоторые возбудители проникают в эмбрион на ранних сроках гестации до полного формирования плаценты.

Как осуществляется на данном этапе эмбрионального развития механизм защиты эмбриона от инфекции? У здорового человека попадающие в организм вирусы и микроорганизмы не всегда могут быть причиной болезни. Они распознаются и разрушаются в течение нескольких часов благодаря механизмам врожденного иммунитета, которые не являются антигенспецифическими и не требуют длительного периода для их индукции. Эта ранняя фаза ответа на инфекцию помогает сохранять ее под контролем до тех пор, пока антигенспецифические лимфоциты активируются [5].

Пиогенные микроорганизмы (пневмококки, стафилококки, стрептококки и др.) элиминируются благодаря нейтрофилу, иммуноглобулину и комплементу, причем микробы гибнут в нейтрофиле, а комплемент и иммуноглобулины (опсонины) усиливают этот процесс. Внутриклеточные возбудители разрушаются Т-лимфоцитами, НК-клетками и макрофагами, причем эти группы клеток обладают способностью синтезировать цитокины, резко усиливающие их функциональные свойства. Т-лимфоциты появляются у плода на 12-й неделе внутриутробного периода, после этого срока плод способен проявлять слабые реакции гиперчувствительности замедленного типа и отторжения трансплантата [1].

При изучении влияния инфекционных агентов на репродуктивную систему женщин было установлено, что уреоплазмы, микоплазмы, вирус простого герпеса, обнаруженные в эндометрии, вызывают морфофункциональные изменения в его клетках, задержку формирования маточно-плацентарного кровотока, что свидетельствует о восходящем пути инфицирования, т.е. из полости матки, и приводит к неразвившейся беременности [2].

Если произошла имплантация бластоцисты в пораженный инфекцией эндометрий, в инфицированных эмбрионах включается механизм врожденного иммунитета, который запускает в пролиферацию клетки-предшественники грануломоноцитопоэза. При этом увеличивается количество моноцитов, макрофагов, а также стимулируется миелопоэз, отсутствующий в норме на данном этапе развития эмбриона. Появляются гранулоциты и эозинофилы, которые также участвуют в процессе фагоцитоза.

Следовательно, в эмбриональной печени среди недифференцируемых бластных и лимфоцитоподобных клеток присутствуют ранние предшественники гемопоэза, способные пролиферировать и

**Таблица 4.** Клеточный состав популяции эмбриональных кроветворных клеток при отсутствии вирусной и микоплазменной флоры

Клеточные формы	Возраст эмбриона, нед. (n = 3)					
	7	8	9	10	11	12
Эритроциты	33,6	37	18,4	25	21,8	30,3
Примитивные эритробласты	6,1	1,8	3,9	1,2	—	—
Дифференцированные эритробласты, из них:	27,6	38,2	47,2	67,7	59,5	55,0
1 тип (базофильные)	4,2	9,7	12,8	15,0	18,8	14,6
2 тип (полихроматные)	7,1	13,6	19,2	23,4	21,4	22,5
3 тип (нормобласты)	9,2	14,9	15,2	29,3	19,3	17,9
НДБК	2,0	5,2	2,5	0,6	1,6	1,8
Лимфоцитоподобные клетки	—	1,9	1,4	—	—	0,7
Лимфобласты	—	—	—	—	—	—
Лимфоциты	—	—	—	—	—	—
Монобласты	11,2	5,2	5,4	—	8,2	4,3
Моноциты	10,2	2,5	4,4	5,3	1,6	1,4
Макрофаги	2,0	1,2	2,9	0,6	1,0	2,1
Миелобласты	—	—	—	—	0,1	0,3
Миелоциты	—	—	—	—	—	—
Гранулоциты: палочкоядерные сегментоядерные	—	—	—	—	—	—
Эозинофилы	—	—	—	—	—	—
Мегакариоциты	—	—	—	—	—	—



**Таблица 5.** Клеточный состав эмбриональных кроветворных клеток человека при наличии HCV

Клеточные формы	Возраст эмбриона, нед. (n=3)					
	7 (n=3)	8 (n=5)	9 (n=1)	10 (n=6)	11 (n=13)	12 (n=3)
Эритроциты	18,9	35,1	24,6	27,8	16	27,1
Примитивные эритробласты	3,6 (23)	0,8 (9)	1,75 (1,5)	1,5 (0,6)	1,4	0,36 (0)
Проэритробласты	18,9	35,1	24,6	27,8	16	27,1
Дифференцированные эритробласты, из них:	51,3 (75)	43,3 (86)	53,6 (96)	50,0 (98)	43,7	51,2 (97)
1 тип	15,3	13,7	8,8	13	15	10,5
2 тип	24,3	18,4	33,3	25,8	32,7	20,9
3 тип	11,7	11,2	12,3	11,2	6,0	19,8
НДБК	4,5 (0,8)	2,5 (2,3)	7,0 (1,5)	6,4 (0,2)	4,2 –	6,1 (0,7)
Лимфоцитоподные клетки	1,8	0,7	–	0,6	0,4	0,72
Лимфобласты	0,9	–	–	0,15	0,26	–
Лимфоциты	– (0,5)	– (0,04)	– (0,2)	– (0,0)	–	– (0,8)
Монобласты	8,1	0,9	–	1,83	2,53	2,5
Моноциты	–	1,8	–	2,75	2,63	1,08
Макрофаги	4,5 (1,3)	3,0 (1,0)	– (1,2)	1,70 (0,4)	2,20	2,9 (0,02)
Миелобласты	2,7	1,2	–	1,72	1,60	0,72
Миелоциты	1,8	1,2	5,2	0,76	0,96	0,72
Гранулоциты:	– (0,4)	0,7 (1,0)	1,7 (0,8)	1,05 (0,6)	0,88	2,52 (0,15)
палочкоядерные	–	0,4	–	0,30	0,61	0,72
сегментоядерные	–	0,2	–	0,30	0,17	0,36
Эозинофилы	–	0,1	1,7	0,60	0,10	1,44
Мегакариоциты	– (0,02)	0,1 (0,8)	– (0,4)	0,15 (0,4)	–	– (0,9)

**Примечание:** \* – в скобках приведены данные [7].

дифференцироваться в необходимый организму кроветворный росток. По данным авторов [8], они образуют в 30 раз больше колоний, чем клетки кордовой крови, и в 90 раз больше, чем гемопоэтические клетки костного мозга. Кроме того, эмбриональные гемопоэтические клетки обладают высоким потенциалом самовоспроизводства, что имеет большое значение при их клиническом применении [3].

Установлено, что инфекционные агенты могут проникать в эмбрион на ранних стадиях гестации. Присутствие патогенов вызывает изменения в клетках эмбриональной печени, которая в I триместре беременности является основным кроветворным органом. Изменяется направленность дифференцировки гемопоэтических клеток-предшественников. Поэтому при исследовании эмбрио-

нального кроветворения для исключения разногласий в приводимых данных необходимо тщательно подбирать исходный материал с предварительной проверкой наличия патогенной флоры.

Кроме того, важно проводить тщательное микробиологическое обследование молодых пар, планирующих рождение ребенка, чтобы провести лечение до беременности, а не в I триместре, когда имеется внутриутробное инфицирование плода, поскольку проведенная терапия может быть малоэффективной.

### Литература

1. *Гистология* / Под ред. Ю.И. Афанасьева, Н.А. Юриной. – М.: Медицина, 2001. – 744 с.
2. *Краснопольский В.И., Серова В.А., Туманова Н.В. и др.* Влияния инфекционных агентов на репродуктивную систему женщин // Рос. Вестник акушера-гинеколога. – 2005. – 5 с.
3. *Кухарчук А.Л., Радченко В.В., Сирман В.М.* Стволовые клетки: эксперимент, теория, клиника. – Киев: КРС-Медицинские технологии, 2004. – 504 с.
4. *Лобынцева Г.С., Гладких Ю.В., Лобынцев Д.В., Гладких В.Ю.* Стволовые эмбриональные гемопоэтические клетки человека. – Киев: Наук. думка, 2004. – 167 с.
5. *Петров Р.В.* Иммунология. – М., 1987. – 286 с.
6. *Пирс Э.* Гистохимия. – М.: Иностран. лит., 1962. – 962 с.
7. *Kelemen E., Calvo V., Hiedner T.M.* Atlas of human hemopoietic development. – New York: Spinger-Verlag, 1979. – 266 с.
8. *Nicolini F.E., Holyoake T.L., Cashman J.D. et al.* Unique differentiation programs of human fetal liver stem cells shown both *in vitro* and *in vivo* in NOD/SCID mice // Blood. – 1999. – Vol. 94, N8. – P. 2686–2695.

Поступила 14.07.2008