

UDK [612.41+611.013.8]:615.014.41+615.072-77+616.155-08

А.М. Гольцев¹, Т.О. Калиниченко^{2*}

Стовбурові клітини пуповинної крові: клінічне застосування алогенного матеріалу, проблеми та перспективи банківського зберігання

UDC [612.41+611.013.8]:615.014.41+615.072-77+616.155-08

A.M. Goltsev¹, T.O. Kalynychenko^{2*}

Umbilical Cord Blood Stem Cells: Clinical Application of Allogeneic Material, Problems and Perspectives of Banking

Реферат: Пуповинна кров (ПК) людини – важливе джерело гемопоетичних стовбурових клітин, що успішно застосовується для алогенної трансплантації під час лікування широкого спектра тяжких захворювань. У роботі проаналізовано ряд актуальних проблем, пов'язаних із функціонуванням суспільних низькотемпературних банків ПК. За результатами світової практики трансплантацій цього унікального біологічного матеріалу обговорюються принципи стандартизації й контролю якості, а також ефективного підбору кріоконсервованої одиниці за запитом трансплантаційного центру. Розглянуто окремі питання щодо розвитку клітинної терапії з застосуванням мезенхімальних стромальних/стовбурових клітин, які походять із тканин фетоплацентарного комплексу, а також методи їхнього низькотемпературного зберігання. Окрему увагу приділено проблемам біомедицинської етики та перспективі створення суспільного банку ПК в Україні, його ролі у розвитку неродинної трансплантації гемопоетичних стовбурових клітин у нашій державі.

Ключові слова: пуповинна кров, гемопоетичні стовбурові клітини, мезенхімальні стромальні стовбурові клітини, алогенна трансплантація, кріоконсервування, суспільні банки пуповинної крові, стандарти, біомедицина етика.

Abstract: Human umbilical cord blood (UCB) is an important source of hematopoietic stem cells (HSCs), successfully used for allogeneic transplantation to treat a wide range of serious diseases. This article discusses a number of topical problems associated with the functioning of public low-temperature banks of UCB. The principles of standardization, quality control and the effective selection of the cryopreserved units at the transplant center's request are considered from the point of view of the world transplantation practice for this unique biological material. The issues related to the trends in therapy using mesenchymal stromal/stem cells from the fetoplacental complex tissues and their cryopreservation are also deliberated. Special attention is paid to the issues of biomedical ethics and the prospects of public UCB bank establishing in Ukraine, its role in the development of the national HSCs unrelated transplantation.

Key words: umbilical cord blood, hematopoietic stem cells, mesenchymal stromal stem cells, allogeneic transplantation, cryopreservation, public umbilical cord blood banks, standards, biomedical ethics.

Трансплантацію гемопоетичних стовбурових клітин (ГСК) успішно застосовують вже протягом 40 років для лікування пацієнтів із тяжкими захворюваннями (різні форми лейкемії, мієлодиспластичний синдром, мієломна хвороба, гемоглобінопатії, злоякісні пухлини, тяжкі комбіновані імунodefіцити, вроджені анемії та вади метаболізму, автоімунні захворювання тощо) [96]. Найефективнішим різновидом трансплантації ГСК є алогенна, особливо для пацієнтів із захворюваннями системи крові. За останні 20 років у Європі та асоційованих країнах застосування такого виду трансплантацій збільшилося у 3,6 рази

Transplantation of hematopoietic stem cell (HSCs) has been used successfully for 40 years to treat the patients with severe diseases (various forms of leukemia, myelodysplastic syndrome, myeloma, hemoglobinopathies, malignancies, severe combined immunodeficiencies, congenital anemias and metabolic disorders, autoimmune diseases *etc.*) [91]. The most effective type of HSCs transplantation is allogeneic one, especially for the patients with the hematologic diseases. Over the last 20 years, the use of this type of transplantation in Europe and associated countries has increased 3.6 times [92]. To treat the patients with no agreed bone mar-

¹Відділ кріопатофізіології та імунології, Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, м. Харків

²Лабораторія кріоконсервування гемопоетичних клітин, Державна установа «Інститут гематології та трансфузіології НАМН України», м. Київ

¹Department of Cryopathophysiology and Immunology, Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkiv, Ukraine

²Laboratory of Hemopoietic Cell Cryopreservation, State Institution 'Institute of Hematology and Transfusiology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine', Kyiv, Ukraine

*Автор, якому необхідно надсилати кореспонденцію:

вул. М. Берлінського, 12, м. Київ, Україна 04060;
тел.: (+38 044)467-06-14
електронна пошта: kalynychenko_tetiana@ukr.net

*To whom correspondence should be addressed:

12, Maksyma Berlynskoho str., Kyiv, Ukraine 04060;
tel.: +38 044 467 0614
e-mail: kalynychenko_tetiana@ukr.net

Надійшла 10.02.2020

Прийнята до друку 07.09.2020

Received 10, February, 2020

Accepted 07, September, 2020

© 2020 A.M. Goltsev, *et al.* Published by the Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>), which permits unrestricted reuse, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

[97]. Для лікування пацієнтів, які не мають узгодженого донора кісткового мозку або ГСК периферичної крові ані в родині (це близько 70% пацієнтів [56]), ані в реєстрі неспоріднених донорів (за загальними оцінками – 10 000–15 000 пацієнтів на рік [127]), донорська пуповинна кров (ПК) є альтернативним джерелом ГСК [73, 109, 132]. Обмін на інтернаціональному рівні відповідними якісними трансплантами відбувається завдяки ефективній роботі, перш за все, міжнародних пошукових систем, а також національних реєстрів донорів ГСК із громадськими (суспільними) донорськими банками ПК у їхньому складі [26, 70]. Таких установ на сьогодні у світі нараховується більше 130 з понад 790 000 од. кріоконсервованої ПК [127]. Хоча зі впровадженням нових протоколів трансплантації від гаплоидентичних донорів і спостерігається деяке зменшення випадків застосування ПК, зацікавленість у подальшому розширенні та підтримці сектора її кріобанків зростає. Це надає додаткової можливості швидкого підбору відповідного донорського матеріалу майже для всіх пацієнтів, незалежно від расової або етнічної належності [56, 85].

Напрямки клінічного застосування ПК. За весь період застосування гемопоетичних стовбурових клітин ПК було здійснено понад 40 000 трансплантацій, переважно у спеціалізованих центрах Франції, США, Іспанії, Італії та Японії [55]. Загалом, позитивний віддалений результат повного одужання отримано понад у 25 000 пацієнтів, що складає близько 63% [25].

Дітям ПК трансплантують частіше, ніж мобілізовані стовбурові клітини периферичної крові [47, 73]. З 2005 року зросла кількість повідомлень про успішне застосування такого різновиду ГСК також і у дорослих реципієнтів. Цьому сприяє розроблення та впровадження низки таких сучасних технологій, як спеціальні методики експансії гемопоетичних клітин транспланта ПК *ex vivo*, обробка для прискорення нейтрофільного та тромбоцитного приживлення, здійснення трансплантації ПК із паралельною інфузією мобілізованих ГСК периферичної крові від стороннього донора, нові підходи до ведення післятрансплантаційного періоду, використання генетично модифікованих Т-клітин тощо [29, 35, 40, 62, 72, 102]. До поступового підвищення ефективності лікування приводить також вдосконалення режимів кондиціювання та підтримувальної терапії [112, 128], використання подвійних частково підібраних одиниць ПК, застосування нових наукових даних у галузі трансплантаційної імунології [33, 107, 114].

row donor or the one of peripheral blood HSC either in the family (this is about 70% of patients [44]) or in the register of unrelated donors (estimated at 10,000–15,000 patients annually) [126]), the donor umbilical cord blood (UCB) is the alternative source of HSCs [67, 106, 132]. The relevant quality transplants at the international level are exchanged due to the effective work, primarily of international search engines, as well as national registers of HSC donors with public (common) UCB donor banks as their part [10, 62]. Today there are more than 130 such institutions worldwide with more than 790,000 units of cryopreserved UCB [126]. Although the introduction of new transplantation protocols using the haplo-identical donors has seen a slight decline in UCB application, an interest in further expanding and supporting its public cryobank sector is growing, providing additional opportunities for a rapid selection of relevant donor material for almost all the patients, regardless of race or ethnicity [44, 80].

Areas of UCB clinical use. Over 40,000 transplantations have been performed during the period of UCB hematopoietic stem cell use, mostly in referral centers in France, the United States, Spain, Italy and Japan [41]. Totally as a positive long-term outcome more than 25,000 patients completely recovered, that is about 63% [9].

The UCB is transplanted to children more often than the mobilized peripheral blood stem cells [33, 67]. Since 2005, the number of successful reports on using this type of HSCs in adult recipients has also increased. This is facilitated by the development and implementation of a number of modern technologies such as special methods of expansion of hematopoietic cells of the UCB graft *ex vivo*, treatment to accelerate neutrophilic and platelet engraftment, UCB transplantation with simultaneous infusion of the mobilized peripheral blood HSC from a non-related donor, new approaches for post-transplantation period, application of genetically modified T cells, *etc.* [13, 21, 26, 52, 65, 98]. The gradual increase in the treatment effectiveness also results from the improvement of conditioning and maintenance therapy [110, 128], the use of double partially selected units of UCB, application of new scientific data in transplantation immunology [19, 104, 112].

Recent trends in the expansion of cell therapy are the use of HSCs, as well as mesenchymal stromal / stem cells (MSCs) for the patients with a non-hematological profile [92]. Positive immune modulatory and anti-inflammatory effects, as well as the ability to stimulate angiogenesis, have been observed when medical technologies based on these cells



Останніми тенденціями розширення напрямку клітинної терапії є використання ГСК, а також мезенхімальних стромальних/стовбурових клітин (МСК) для пацієнтів негематологічного профілю [97]. Під час використання медичних технологій на основі цих клітин спостерігаються позитивні імуномодулюючі та протизапальні ефекти, а також здатність до стимуляції ангиогенезу [130]. Однак існують також і небажані наслідки, зокрема проонкогенна активність [44, 131]. Усе частіше МСК застосовують у супроводі трансплантацій як для посилення функціональної ефективності ГСК, так і для лікування тяжких форм хвороби «трансплантат проти хазяїна» (ХТПХ) [73, 96].

Встановлено, що МСК із тканин фетоплацентарного комплексу (включно з плаценти, амніону, тканини пуповини (ТП) та ПК) мають кращу здатність до експансії та підвищений потенціал диференціювання, порівняно з аналогічними клітинами з кісткового мозку або жирової тканини [39, 83]. Оскільки у ПК концентрація такого типу клітин є низькою, більш доступним на момент народження джерелом МСК для клінічного застосування вважають ТП [58, 115]. Разом із тим, можливості застосування ПК також постійно розширюються. Її використовують при таких патологіях, як дитячий церебральний параліч, інсульт, серцево-судинні розлади, травми головного мозку тощо [49, 75, 84, 129].

Багато авторів вважають за доцільне збереження ПК у біобанках із міркувань потенційної цінності ТП як для терапевтичних застосувань, так і наукових досліджень [59].

Принципи роботи біобанків для клінічного застосування алогенної ПК. Банк клітин, який працює за встановленими правилами регулювання їхньої діяльності, надає можливості швидкого підбору трансплантатів. Основні зусилля функціонування таких установ зосереджені на забезпеченні якості цього біологічного матеріалу для ефективного приживлення в організмі реципієнта.

Технології кріоконсервування. Об'єктом кріоконсервування є багатокомпонентна клітинна фракція ПК. Процедура підготовки до заморожування передбачає зменшення її об'єму за рахунок видалення плазми та/або еритроцитів за умов збереження більшості ядерних клітин, а також еквілібрацію їх у захисних середовищах [8]. Критерієм вибору оптимального кріопротекторного середовища є забезпечення ефективного захисту клітин за умови мінімізації токсичності впливу основної діючої речовини.

Температури зберігання ядромісних клітин (ЯВК) варіюють у діапазоні від ультранизких

are applied [130]. However, there are also undesirable effects, in particular pro-oncogenic activity [30, 131]. Increasingly, MSCs are used in the course of transplantations, both to enhance the functional effectiveness of HSCs and to treat severe forms of graft-versus-host disease (GVHD) [68, 92].

The MSCs originated from fetoplacental complex tissues (including placenta, amnion, umbilical cord tissue (UCT) and UCB) have been found to have a better ability to expand, as well as an increased differentiation potential, compared to similar cells derived from bone marrow or adipose tissue [25, 78]. Because the concentration of this type of cells in UCB is low, the UCT is considered to be a more accessible source of MSCs for clinical use at birth [39, 113]. However, the possibilities of using the UCB are also constantly expanding. It is used in such pathologies as cerebral palsy, stroke, cardiovascular disorders, brain injuries, etc. [35, 70, 79, 129].

Many authors consider it expedient to preserve the UCB in biobanks for reasons of the UCT potential value for both therapeutic applications and research [49].

Principles of operating of allogeneic UCB biobanks for clinical use. The bank of cells, operating according to the established regulations of their activity, provides the opportunities for a quick selection of grafts. The main efforts of such institutions are focused on ensuring the quality of this biological material for effective engraftment in the recipient's body.

Cryopreservation technologies. The cryopreservation target is the multicomponent cell fraction of UCB. The preparing to freezing involves the volume reduction by removing plasma and / or erythrocytes while preserving most nucleated cells, as well as equilibrating them in protective media [59]. The criteria for the selection of optimal cryoprotective medium is to ensure an effective protection of cells while minimizing the toxicity of the main active substance.

Storage temperatures for nucleated cells (NCs) range from ultra-low ($-156...-196^{\circ}\text{C}$) to low (-80°C) [16, 24, 136]. Currently liquid nitrogen storage technologies are the most common. The use of modern packaging in freezing bags allows the division of one sample into the aliquots, enabling thawing and using a part of the collection. Mini-aliquots of up to 2.5 ml are frozen together with the main UCB unit for further testing of hematopoietic potential, confirmation of quantitative parameters of the graft, extended histotyping, etc.

The choice of cooling program in the presence of a cryoprotective agent (CPA) is based on the de-



(-156...196°C) до низьких (-80°C) [30, 38, 136]. Найбільш розповсюдженими на теперішній час залишаються рідкоазотні технології зберігання. Використання сучасної тари у вигляді мішків для заморожування забезпечує поділ однієї одиниці на аліквоти, що допускає розморожування та застосування частини колекції. Разом із основною одиницею ПК заморожують мініаліквоти об'ємом до 2,5 мл для подальшого тестування гемопетичного потенціалу, підтвердження кількісних параметрів трансплантата, розширеного гісто-типування тощо.

Вибір програми охолодження у присутності того чи того кріопротектора ґрунтується на прагненні досягти оптимальної дегідратації клітин, що залежить від природи кріопротекторних речовин, їхньої молекулярної маси, а також концентрації у складі кріоконсерванта [2].

Мета роботи – створення певних температурно-осмотичних умов, необхідних для стабілізації плазматичних мембран і білків цитоскелета клітини на всіх етапах технологічного процесу [7].

Під час заморожування з непроникальними у клітину кріопротекторами-полімерами (полівінілпіролідон (повідон, ПВП), поліетиленоксид (ПЕО), поліетиленгліколь (ПЕГ)) використовують відносно швидке охолодження, що забезпечує зменшення дії осмотичного стресу, викликаного значною дегідратацією [3, 13]. Навпаки, за умов використання в середовищі для заморожування проникальної у клітину речовини (наприклад, диметилсульфоксиду (ДМСО)) виникає потреба у виборі повільних швидкостей охолодження, що створює умови для дегідратації клітин і зниження вірогідності утворення внутрішньоклітинних кристалів льоду [2, 17]. У роботі G. Chen та співавторів [38] теоретично доведено, що під час заморожування та відігріву головною причиною загибелі клітин є процеси, які відбуваються за температури -15...-60°C як на етапі охолодження, так і при розморожуванні.

Для мононуклеарів ПК було розроблено спеціальні програми поетапного повільного заморожування, хоча раніше створені для ГСК кісткового мозку технології також виявилися ефективними [16]. Через свою високу захисну ефективність сьогодні ДМСО залишається найбільш широко вживаним кріопротектором при зберіганні ГСК. Зазвичай для ПК застосовують його 5–10% концентрації [23, 32, 64, 111, 119]. Під час вибору концентрації ДМСО необхідно враховувати його токсичність відносно клітин трансплантата та організму реципієнта. Наслідки цього впливу на клітину (її метаболізм, ферментативну актив-

сире to achieve optimal dehydration of cells, which depends on the nature of cryoprotective substances, their molecular weight, as well as the concentration as a part of cryopreservative [14].

The purpose of this work was to create certain temperature and osmotic conditions necessary for the stabilization of plasma membranes and the cell cytoskeleton proteins at all the stages of the technological process [46].

When freezing with the cell-impermeable polymer CPAs (polyvinylpyrrolidone (povidone, PVP), polyethylene oxide (PEO), polyethylene glycol (PEG)) there are applied the relatively rapid cooling, which reduces the effect of osmotic stress caused by significant dehydration [15, 100]. On the contrary, when the penetrating into a cell substance is used in a freezing medium (*e. g.*, dimethyl sulfoxide (DMSO)) the slow cooling rates, which create conditions for dehydration of cells and reduce the likelihood of intracellular ice crystals should be chosen [14, 99]. As reported by G. Chen et al. [24] it has been theoretically proven that during freezing and warming the processes occurring at a temperature of -15...-60°C both during cooling and thawing are the main cause of cell death.

Special step-by-step freezing protocols have been developed for UCB mononuclear cells, although the previously developed bone marrow HSC technologies have also been shown to be effective [127]. Due to its high protective efficiency, today DMSO remains the most widely used CPA to store the HSCs. Usually 5–10% concentration is used for UCB [6, 18, 54, 109, 118]. When choosing the DMSO concentration, it is necessary to take into account its toxicity to the graft cells and the recipient organism. The outcomes of this effect on the cell (its metabolism, enzymatic activity, cell cycle, apoptosis processes) are dose-dependent on both the concentration and exposure duration [46]. The hyperosmotic nature of DMSO solutions, which increases with a rise in concentration, threatens to damage the thawed cells under rapid infusion into the blood isoosmotic medium [47].

The general responses of the recipient's body to DMSO are associated with the release of histamine, the impact on the central limbic-hypothalamic pathways. Adverse responses can vary in severity: from mild (nausea, vomiting, headache, flushing, chest tightness, hypotension, bradycardia, and abdominal cramps) to severe reactions (anaphylaxis, hypertension, arrhythmia, cardiac and respiratory arrest, multi-organ failure and neurological complications) [2, 51, 115] The frequency and severity of complications depend on the DMSO dose received by the patients



ність, клітинний цикл, процеси апоптозу) є дозозалежними як від концентрації, так і від тривалості експозиції [57]. Гіперосмотичність розчинів ДМСО, яка зростає зі збільшенням концентрації, загрожує пошкодженням розморожених клітин за умов швидкої інфузії у ізоосмотичне середовище крові [116].

Загальні реакції організму реципієнта на ДМСО пов'язані з викидом гістаміну, впливом на центральні лімбіко-гіпоталамічні шляхи. Побічні реакції можуть мати різний ступінь прояву: від м'яких (нудота, блювота, головний біль, почервоніння, напруженість у грудях, гіпотензія, брадикардія та абдомінальні коліки) до серйозних реакцій (анафілаксія, гіпертензія, аритмія, зупинка серця та дихання, мультиорганна недостатність і неврологічні ускладнення) [19, 61, 116]. Частота та тяжкість ускладнень залежить від дози ДМСО, що отримують пацієнти при трансплантації розморожених ГСК. Так, за висновком супровідного статистичного аналізу European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT), проведеного за даними 64 європейських центрів трансплантації крові та кісткового мозку [89], ступінь прояву побічних ефектів у пацієнтів із мієломою та лімфомою після автотрансплантацій ГСК залежав від отриманої дози ДМСО (як загальної (у 1 мл), так і розрахованої у 1 мл/кг маси тіла реципієнта). При цьому максимально допустимою добовою дозою ДМСО вважають 1 мл/кг [50, 68]. Для запобігання побічній дії сповільнюють швидкість інфузії або розподіляють дозу на аліквотне введення протягом кількох діб [116].

Основними технологічними можливостями зменшення токсичного впливу ДМСО є зниження його концентрації у криоконсерванті, застосування ручних або апаратних методик видалення речовини зі складу розмороженого трансплантата [36, 111, 116, 137]. Суттєвими недоліками застосування традиційних ручних методів є вагома втрата гемопоетичного потенціалу, пролонгація терміну приживлення тромбоцитів, можливе злипання клітин, часові затрати [77, 124]. При застосуванні сучасних допоміжних пристроїв не можливо уникнути значних витрат на обладнання, матеріали (трансфузійні розчини (фосфатний буфер, декстран-40 тощо), препарати крові (5% альбумін людини), систем тощо) [31, 95]. Тому питання щодо необхідності та доцільності здійснення таких маніпуляцій із трансплантатом залишається відкритим, оскільки не розроблено спеціальних вимог регуляторних органів щодо обов'язковості здійснення підготовчих до трансплантації ГСК процедур, пов'язаних із видаленням ДМСО. Прийняття рішень про їхнє застосування (у виг-

transplanted with thawed HSCs. Thus, according to the covering statistical analysis of the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT), performed at 64 European blood and bone marrow transplant centers [84], the degree of side effects in the patients with myeloma and lymphoma after HSC autotransplantation depended on the received DMSO dose (both total (in ml) and calculated in ml / kg of the recipient body weight). The maximum allowable daily dose of DMSO is considered to be 1 ml / kg [36, 58]. To prevent side effects, the infusion rate is slowed down or the dose is divided into aliquots over several days [115].

The main technological opportunities of reducing the toxic effects of DMSO are the decrease of its concentration in the cryopreservative, the use of manual or hardware methods of removing the substance from the thawed graft [22, 109, 115, 137]. Strong disadvantages of using traditional manual methods are a significant loss of hematopoietic potential, prolonged term of platelet engraftment, possible cell adhesion, time costs [72, 123]. With the use of modern auxiliary devices the significant costs for equipment, materials (transfusion solutions, phosphate buffer, dextran-40, *etc.*), blood products (5% human albumin), systems, *etc.*) are hardly to be avoided [17, 90]. Therefore, the question of the necessity and expediency of such manipulations with the graft remains open, as there are no special requirements of regulatory authorities on the mandatory implementation of preparatory procedures for HSC transplantation, associated with the DMSO removal. Decisions on their application (as own rules and guidelines) are left to the discretion of clinical institutions [115]. Thus, the inclusion of the stage of DMSO removal in the thawing procedure may be recommended in some transplantations if there is a high risk of serious complications for a particular patient [2].

Alternative cryoprotective agents include ethylene glycol, 1,2-propylene glycol, polyethylene oxide (PEO-1500, PEO-400), PVP, hydroxycellulose, disaccharides (sucrose, maltose, trehalose), as well as macromolecules of dextran, hydroxyethyl starch, *etc.* They are used as basic CPAs and in combination with low doses of DMSO [7, 24, 43, 94, 118]. Thus, over the past two decades, much attention has been paid to a disaccharide such as trehalose, due to its unique properties to promote the formation of vitreous ice, as well as maintaining thermodynamic stability of cell membranes, ability to inhibit lipid phase transition and lipid separation during freezing [29, 122]. In particular, this sugar having the molecular formula $C_{12}H_{22}O_{11}$, which is present not only in fungi, baker's yeast, but also in algae and lichens, has been recog-



ляді власних правил і настанов) покладається на розсуд клінічних закладів [116]. Так, включення процедури видалення ДМСО після розморожування зразка ПК може бути рекомендованим у окремих випадках її трансплантації при існуванні високого ризику серйозних ускладнень для конкретного пацієнта [19].

Серед альтернативних кріопротекторних агентів використовують етиленгліколь, 1,2-пропіленгліколь, поліетиленоксид (ПЕО-1500, ПЕО-400), ПВП, гідроксицелюлозу, дисахариди (сахарозу, мальтозу, трегалозу), а також макромолекули декстрану, гідроксиетилового крохмалю тощо. Їх застосовують як основні кріопротектори, так і в комбінації з низькими дозами ДМСО [1, 4, 12, 38, 119]. Так, протягом останніх двох десятиліть багато уваги було приділено такому дисахариду, як трегалоза, яка володіє унікальними властивостями: сприяє ефективності формування склоподібного стану льоду, підтримує термодинамічну стабільність клітинних мембран, пригнічує ліпідний фазовий перехід та розділення ліпідів під час заморожування [43, 123]. Зокрема, цей цукор із молекулярною формулою $C_{12}H_{22}O_{11}$, який присутній не тільки у грибах, пекарських дріжджах, а й у водоростях і лишайниках, було визнано нетоксичним та ефективним кріопротектором для ГСК, зокрема й для ПК [30, 81, 90]. Водночас було виявлено, що позитивний ефект зменшення площі кристалів льоду обмежений певною концентрацією трегалози, збільшення якої у понад 100 мМ підсилює осмотичний тиск [118]. Деякі автори вважають, що трегалоза навіть може стати заміником ДМСО при кріоконсервуванні та трансплантації ПК [90], тому надалі розробляються методи внутрішньоклітинного введення зазначеної речовини. [18].

До інших речовин натурального походження, що є ефективними при кріоконсервуванні кровотвірних клітин, варто віднести гідроксиетиловий крохмаль (ГЕК). Як в експериментальних умовах, так і за умов клінічної трансплантації було підтверджено однозначну користь від доповнення основного кріопротектора (ДМСО) деякими підтипами ГЕК. Виявилося, що його сполуки мають переваги швидкого кліренсу в нирках [122].

Використання у клітинній терапії окремих елементів ТП зобов'язує до короткого висвітлення можливостей їхнього зберігання у кріобанках ПК. Слід зазначити, що загалом МСК проявляють стійкість до дії факторів кріоконсервування [79]. Однак, було встановлено, що заздалегідь виділені з тканини пуповини МСК безпосередньо після відігріву демонструють суттєво знижений імунотулюючий терапевтичний потенціал, який називають «ефектом кріопотрясіння» [87]. Така

низає як не-токсична і ефективна CPA для ГСК, включаючи UCB [16, 76, 85]. At the same time, the positive effect of reducing the area of ice crystals was found to be limited by a certain concentration of trehalose, an increase of which of more than 100 mM increased the osmotic pressure [117]. Some authors believe that trehalose may even be a substitute for DMSO during cryopreservation [85], so further methods of intracellular administration of this substance are being developed. [1].

Other substances of natural origin which are effective for cryopreservation of hematopoietic cells include hydroxyethyl starch (HEC). Both in the experiments and in clinical transplantation, the unambiguous benefit of supplementing the main CPA (DMSO) with some subtypes of HEC was confirmed. Its compounds have been shown to have the advantage of rapid renal clearance [121].

The use of individual elements of UCT in cell therapy requires a brief coverage of their storage in UCB cryobanks. It should be noted that in general, the MSCs are resistant to cryopreservation factors [74]. However, it has been found that MSCs pre-isolated from umbilical cord tissue immediately after warming show a significantly reduced immune modulatory therapeutic potential, which is called as the 'cryo stun effect' [82]. This problem may also result from the effects of procedures to separate the MSCs from other UCT cells for which the protocols based on enzymatic, mechanical, or culture techniques have been developed [78]. An alternative selection strategy was cryopreservation of the whole UCT with isolation and expansion of cells after thawing [5], as well as the use of tissue engineering to create the transplant biocompatible materials in the form of alginate microspheres [63]. To achieve the treatment effectiveness through the accumulation of a therapeutically effective dose of cells (ranging from 15–60 million cells per dose), the modern methods of expansion in tissue culture are used [78].

Different storage protocols at the temperature of liquid nitrogen or its vapors have been developed for MSCs derived from UCB and UCT. In most of them, as for HSC, 5–10% DMSO and freezing with a slow rate of 1–5 deg / min to a temperature of $-80...-100^{\circ}C$ are used [8, 23, 42]. Although there are other options with 5–40% ethylene glycol, 35% 1,2-propylene glycol, 5% glycerol with the addition of 5–6% sucrose, 1% polyvinyl alcohol, 20% fetal bovine serum [73, 108].

Conditions that provide rapid warming of the frozen UCB and UCT cells help to prevent the recrystallization of ice, as well as to minimize the cytotoxic effects of CPAs [14].



проблема може також бути наслідком впливів процедур відокремлення МСК від інших клітин ТП, для яких розроблено протоколи на основі ферментативних, механічних або культуральних методик [83]. Альтернативною стратегією вибору стало кріоконсервування цільної ТП із виділенням та експансією клітин вже після розморожування [22], а також використання технологій тканинної інженерії для створення трансплантаційних біосумісних матеріалів у вигляді альгінатних мікросфер [71]. Для досягнення ефективності лікування через накопичення терапевтично ефективної дози клітин (що складає від 15–60 млн клітин на дозу) використовують сучасні методики експансії у культурі тканини [83].

Для МСК із ПК та ТП розроблено різні протоколи зберігання за температури рідкого азоту або його парів. У більшості з них, як і для ГСК, використовується 5–10% ДМСО та заморожування з повільною швидкістю 1–5 град/хв до температури –80...–100°C [5, 24, 37]. Хоча існують й інші варіанти з застосуванням 5–40% етиленгліколю, 35 % 1,2-пропіленгліколю, 5% гліцерину з додаванням 5–6% сахарози, 1% полівінілового спирту, 20% фетальної телячої сироватки [79, 110].

Умови, які забезпечують швидкий відігрів заморожених клітин ПК і ТП, сприяють запобіганню рекристалізації льоду, а також мінімізації цитотоксичного впливу кріопротектора [2].

Принципи стандартизації. Збільшення частки аlogenної трансплантації у структурі світової трансплантаційної діяльності з активним міжнародним обміном трансплантаційним матеріалом зумовлює необхідність у застосуванні надійних систем забезпечення якості, а також відповідних законодавчих і регуляторних правил [70, 117].

Згідно з рекомендаціями Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ) відповідальність за гарантування сприятливих умов для донорства, зберігання, використання клітин і тканин людини, а також контроль у цій сфері несуть національні органи охорони здоров'я [76]. Вимоги до національних законодавств країн-членів ЄС у цій сфері заявлені директивами Європейського парламенту та Ради Європи (2004/23/EC, 2006/17/EC, 2006/86/EC, Commission Directive (EU) 2015/565 of 8 April 2015 amending Directive 2006/86/EC) [41, 42, 45]. Окрім того, у 2019 році опубліковано 4-е видання «Рекомендацій із якості та безпеки тканин та клітин, призначених для застосування людині». Викладені у посібнику загальні європейські стандарти засновані на досвіді та спеціальних знаннях Європейського директорату з якості у медицині та охороні здоров'я (the European Directorate for the Quality of Medicines and HealthCare (EDQM,

Principles of standardization. The growing share of allogeneic transplantation in the world transplantation activities with an active international exchange of transplantation material necessitates the use of reliable quality assurance systems, as well as appropriate legislative and regulatory rules [62, 116].

According to the World Health Organization (WHO) recommendations, the responsibility for ensuring favorable conditions for the donation, storage, use of human cells and tissues, as well as control in this area rests with national health authorities [71]. Requirements to the national legislation of the EU member states in this area are stated in the directives of the European Parliament and the Council of Europe (2004/23 / EC, 2006/17 / EC, 2006/86 / EC, Commission Directive (EU) 2015/565 of 8 April 2015 amending Directive 2006/86 / EC) [27, 28, 31]. In addition, in 2019, the 4th Edition of the Guide to the quality and safety of tissues and cells for human application was published. The general European standards set out in the manual are based on the experience and expertise of the European Directorate for Quality Medicine and Health Care (EDQM, Council of Europe) [125] and are recommended for the non-EU countries, but take into account its requirements (in particular, this is relevant for Ukraine).

Specially established international institutions are involved into the issues of security interests, transparency, promotion of new technologies, analysis of global results in this field. For example, the World Marrow Donor Association (WMDA) has today become the largest association of organizations and individuals promoting global collaboration and best practices for stem cell donors and patients underwent transplantation [134]. The Worldwide Network for Blood and Marrow Transplantation (WBMT) has a formal relationship with the WHO in this area. Since 2007, the founding members of WBMT area as follows: WMDA, the European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT), the Center for International Blood and Bone Marrow Transplantation (CIBMTR), as well as the Asia-Pacific Blood and Marrow Transplantation Group (APBMT).

In 2017, the WMDA merged the powers of the Bone Marrow Donors Worldwide (BMDW) service and the NetCord Foundation. Today, the association represents a global database of more than 36.5 million HSC donors, as well as cryopreserved UCB units [134]. The main mission of WMDA is to promote international cooperation of registries on the exchange of HSC products for unrelated transplantation [73, 95]. Its accreditation program covers all the aspects of the operation of HSC registers and



Council of Europe)) [126] і рекомендовані для держав, які не входять до ЄС, але беруть до уваги його вимоги (зокрема це актуально і для України).

Інтересами безпеки, прозорості, просування нових технологій, аналізом глобальних результатів у цій сфері опікуються спеціально створені міжнародні інституції. Так, Всесвітня асоціація донорів кісткового мозку (The World Marrow Donor Association (WMDA)) стала сьогодні найбільшим об'єднанням організацій та осіб, які пропагують світову співпрацю та найкращі практики на користь донорів стовбурових клітин і пацієнтів із трансплантацією [134]. Офіційні стосунки з ВООЗ у цій сфері має неприбуткова наукова організація – Всесвітня мережа з трансплантації крові та кісткового мозку (the Worldwide Network for Blood and Marrow Transplantation (WBMT)). З 2007 року членами-засновниками WBMT вважаються: WMDA, Європейське товариство з трансплантації крові та кісткового мозку (the European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT)), Центр міжнародних досліджень із трансплантації крові та кісткового мозку (the Center for International Blood & Marrow Transplant Research (CIBMTR)), а також Азійсько-Тихоокеанська група з трансплантації крові та кісткового мозку (the Asian Pacific Blood and Marrow Transplantation Group (APBMT)).

У 2017 році WMDA об'єднала повноваження сервісу Всесвітньої мережі донорів кісткового мозку (the Bone Marrow Donors Worldwide (BMDW)) та фонду NetCord. На сьогодні асоціація представляє глобальний банк даних із понад 36,5 млн донорів ГСК, а також криоконсервованих одиниць ПК [134]. Основною місією WMDA є сприяння міжнародному співробітництву реєстрів з обміну продуктами ГСК із метою неспорідненої трансплантації [78, 99]. Програма її акредитації охоплює всі аспекти роботи реєстрів ГСК та гарантує якість на міжнародному рівні [135]. Тісна співпраця з іншими професійними організаціями надає підтримку та сприяє просуванню спеціальних програм акредитації, заснованих на їхніх стандартах [104]. Згідно з рекомендаціями «International Standards for Cord Blood Collection, Banking, and Release for Administration» NetCord-FACT містить необхідні керівні принципи щодо всіх технологічних етапів у роботі банків ПК, установ та осіб, які здійснюють донорський менеджмент, збирання, обробку, тестування, криоконсервування, зберігання, створюють перелік, а також тих, хто здійснює пошук, відбір, бронювання, випуск та розповсюдження або надання послуг підтримки у виконанні таких процедур. При цьому технології, які застосовуються у кожному окремому

гарантує якість на міжнародному рівні [135]. Close cooperation with other professional organizations provides the support and promotion of special accreditation programs based on their standards [101]. Thus, NetCord-FACT (the US Foundation for the Accreditation of Cellular Therapy) International Standards for Cord Blood Collection, Banking, and Release for Administration contains the mandatory guidelines for all the technological stages in the operation of UCB banks, institutions and individuals, performing donor's management, collection, processing, testing, cryopreservation, storage, creating a list, as well as those who search, select, book, issue and distribute or provide support services in performing such procedures. In this case, the technologies used in each individual bank should not violate the basic guidelines and requirements for standard operating procedures set out in this document. From January 15, 2020, the seventh edition of these standards is in force [37]. It should be noted that the accreditation of UCB banks in terms of collection, storage and distribution is also performed by the American Blood Bank Association (AABB) [119].

In Europe, the official body for voluntary professional accreditation in the field of HSC transplantation and cell therapy is the Joint Accreditation Committee of the International Society for Cellular Therapy and EBMT (JACIE). This institution is considered an analogue of FACT and actively cooperates with it to support the functioning of a single set of international quality standards [56]. They are applied to all the stages of collection, processing, storage and administration of cell therapy products, including removal or enrichment of various cell populations, expansion of hematopoietic cell populations, and cryopreservation [38]. These standards concern only the administration of a cell product derived from umbilical cord / placental blood and, if necessary, to its preparing directly for administration using clinical and / or treatment standards. They do not apply to the collection, treatment or storage of cells the standards of which, as noted above, are contained in the current edition of the NetCord-FACT International Standards for Cord Blood Collection, Banking, and Release for Administration.

All the listed international standards are important to provide flexibility of norms taking into account national regulatory rules [116]. Compliance with the latest developments requires constant updating, so the standards are regularly reviewed through public discussion with a wide range of experts.

Evaluation of the UCB quality as a transplantation unit. One of the most important areas of banking



банку, не повинні порушувати основних керівних принципів і вимог до стандартних операційних процедур, закріплених у цьому документі. З 15 січня 2020 року діє сьома редакція згаданих стандартів [51]. Слід зазначити, що акредитацією банків ПК у частині збору, зберігання і розподілу займається також Американська асоціація банків крові (AABB) [120].

На європейському просторі офіційним органом із питань добровільної професійної акредитації у галузі трансплантації ГСК і клітинної терапії є Спільний комітет із акредитації ISCT-Europe & EBMT (The Joint Accreditation Committee of the International Society for Cellular Therapy and EBMT) – JACIE. Ця інституція вважається аналогом FACT та активно з нею співпрацює для підтримки функціонування єдиного набору міжнародних стандартів якості [66]. Вони застосовуються до всіх етапів збору, обробки, зберігання та введення продуктів клітинної терапії, включно з видаленням або збагаченням різних клітинних популяцій, розширенням популяцій гемопоетичних клітин, а також кріоконсервуванням [52]. Ці стандарти стосуються тільки введення клітинного продукту, отриманого з пуповинної/плацентарної крові та, у разі необхідності, – підготовки його безпосередньо до введення із застосуванням клінічних та/або стандартів обробки. Вони не поширюються на збір, обробку або зберігання клітин, стандарти яких, як було зазначено вище, містяться у поточній редакції NetCord-FACT International Standards for Cord Blood Collection, Banking, and Release for Administration.

Важливо, що всі перелічені міжнародні стандарти забезпечують гнучкість норм із врахуванням національних регуляторних правил [117]. Відповідність останнім розробкам вимагає постійної актуалізації, тому стандарти регулярно переглядаються шляхом публічного обговорення за участю широкого кола спеціалістів.

Оцінка якості ПК як трансплантаційної одиниці. Одним із найважливіших напрямків роботи банківських установ для зберігання ПК є контроль якості продукції. На початковому (підготовчому) етапі (до кріозберігання) причинами вибракування зразків є низька клітинність, порушення вимог стерильності, виявлення маркерів контамінації збудниками трансмісивних інфекцій, проблеми, пов'язані з порушенням технології заготівлі (наявність ознак зсідання або велике розведення крові, забруднення материнською кров'ю).

Останнім часом істотно посилюються нормативи, які діють на стадії відбору ПК для зберігання. Відбувається переорієнтація цілей банківської діяльності залежно від норм зберігання пев-

institutions for UCB storage is the product quality control. At the initial (preparatory stage for cryopreservation) the reasons for the samples rejection are as follows: low cellularity, violation of sterility requirements, detection of contamination markers by pathogens of transmissible infections, problems associated with violation of procurement technology (signs of clotting or high dilution of blood).

Recently, the standards being in force at the stage of selection of UCB for storage have been significantly strengthened. There is a reorientation of the banking goals from the norms of storage of a certain number of UCB units in the country to the quality level of graft procurement only with a high probability of use [111]. Thus, it is recommended to select the UCB units for storage of not less than 1×10^9 NCs [87] with an advantage for large samples and content over $(1.25-1.50) \times 10^9$ NCs. Although the number of rejected samples increases up to 50%, such a strategy takes into account the request of transplant centers and reduces the cost of preserving samples [12]. However, the likelihood of using a UCB unit depending on the level of typing and the frequency of the haplotype in a population should also be considered [111].

After selecting the material for a bank storage, its ABO and rhesus are determined, the cells are pre-typed according to the histocompatibility system for inclusion in the data register and the possibility of preliminary search for a donor material is provided. Additional aliquots as satellites are stored for further selection steps that specify the result.

Today, the basic tests for the characterization of a UCB graft are the total content of nuclear cells, their viability, the content of colony-forming progenitors of hematopoiesis, as well as CD34⁺ cells. These comprehensive data are both indirect evidence of the biological potential of hematopoietic tissue and a basis for further selection of a UCB unit for transplantation.

Although the number of CD34⁺ cells could be the most accurate marker of HSCs, as well as progenitor cells, the difference in detection methodologies and their availability is a serious obstacle to inter-laboratory comparison [53]. This is probably the reason why, according to clinical studies, the content of viable CD34⁺ cells is weakly correlated with the graft functional efficiency [93]. To assess the viability of HSC CD34⁺, the International Society for Cellular Therapy recommends flow cytometry using the dye 7-AAD [77]. A solution to the problem of overcoming the variability of the results obtained by different laboratories was a platform proposed by one of the international professional organizations working in the field of chemotherapy and transplant engineering, *i. e.* the International So-



ної кількості одиниць ПК по країні на якісний рівень заготівлі трансплантатів тільки з високою ймовірністю використання [113]. Так, рекомендується відбір одиниць ПК для зберігання не менше як 1×10^9 ЯВК [92] із перевагою для великих за об'ємом зразків і вмістом понад $(1,25-1,50) \times 10^9$ ЯВК. Попри те, що кількість вибракованих зразків зростає до 50%, така стратегія враховує запит трансплантаційних центрів і знижує вартість збереження зразків [28]. Щоправда, слід зважати також і на вірогідність використання одиниці ПК залежно від рівня типування та частоти гаплотипу у тій чи тій популяції [113].

Після відбору матеріалу для банківського зберігання визначають його АВО- та резус-належність, здійснюють попереднє типування клітин за системою гістосумісності для включення до реєстру даних і забезпечення можливості попереднього пошуку донорського матеріалу. На подальші кроки підбору, що конкретизують результат, розраховане зберігання додаткових аліквот у супутниках.

На сьогодні базовими тестами для характеристики трансплантата ПК є загальний вміст ядерних клітин, їхня життєздатність, вміст колонієутворюючих попередників гемопоєзу, а також CD34⁺-клітин. Ці комплексні дані є як опосередкованим свідченням про біологічний потенціал ПК, так і підставою для подальшого відбору одиниці ПК для трансплантації.

Попри те, що кількість CD34⁺-клітин могла б стати найбільш точним маркером ГСК, а також клітин-попередників, різниця у методологіях визначення, а також їхня доступність є серйозною перешкодою для міжлабораторного порівняння [63]. Вірогідно, це є причиною того, що за даними клінічних досліджень вміст життєздатних CD34⁺-клітин слабо корелює з функціональною ефективністю трансплантата [98]. Для оцінки життєздатності CD34⁺ ГСК Міжнародне товариство з клітинної терапії (the International Society for Cellular Therapy) рекомендує проточну цитометрію з використанням барвника 7-AAD [82]. Варіантом вирішення проблеми подолання варіабельності результатів, отриманих різними лабораторіями, стала платформа, запропонована однією з міжнародних професійних організацій, що працюють у сфері гемотерапії та трансплантаційної інженерії – the International Society of Hematotherapy and Graft Engineering (ISHAGE) [133].

Крім того, простим і доступним способом оцінки якості трансплантата вважають визначення вмісту гранулоцитарно-макрофагальних клітин-попередників гемопоєзу у короткостроковій (до 14 діб)

ciety of Hematotherapy and Graft Engineering (ISHAGE) [133].

In addition, determining the content of granulocyte-macrophage hematopoietic progenitor cells in short-term (up to 14 days) tissue culture *in vitro* is considered as a simple and affordable way to evaluate the graft [37, 88]. A special method of predicting the cryosensitivity level of the UCB unit due to the risk of loss of these cells is to assess the activity of prooxidant processes before treatment [60]. Due to the complexity of interlaboratory comparison of the results obtained in tissue culture [83, 99], today most UCB banks are limited to a simple combination of indices such as the total content of NCs and the obtained unit volume [57].

The search for new effective forms of evaluation of UCB units after thawing goes on. The content of granulocyte-macrophage progenitor cells of hematopoiesis remains one of the most important criteria for maintaining the quality after cryopreservation [37]. It is also proposed to carry out mandatory control of HSC for metabolic viability and functional activity for self-healing and differentiation [103]. The main disadvantages that prevent the widespread introduction of this method are complexity and high cost. The feasibility of re-determining the content of CD34⁺ cells in thawed graft is considered questionable, as most of them tolerate cryopreservation, regardless of the preservation of the whole fraction of NCs after thawing [102]. In this case, the viability is controlled by the 7-AAD dye absorption in the entire population of NCs (without a separate isolation of CD34⁺ cells). A more in-depth assessment of quality includes the study of apoptosis stages using double staining (Ann V and Pi or 7-AAD) [124]. However, recent results of analysis of peripheral blood stem cell transplantations to the patients with hematological diseases after pre-conditioning, published by the researchers at the Dana Farber Cancer Institute (Boston, USA), confirmed that the total number of NCs is more actual prognostic variable for survival (both total and relapse-free) than the dose of CD34⁺ cells [75].

Selection of UCB graft for a specific recipient. There is no doubt that the effective restoration of the recipient's hematopoiesis is one of the most important criteria for successful engraftment of HSC transplant. Herewith an important factor in potential success is the careful selection of a donor-recipient pair for human leukocyte antigen (HLA) antigens. International standards for immunogenetic testing of the HSC donor and recipient are basic for compiling internal protocols of allogeneic transplantation [34, 135]. First, at the request of the trans-



культури тканини *in vitro* [51, 93]. Спеціальною методикою прогнозування рівня кріочутливості одиниці ПК через ризик втрати цих клітин є оцінка активності прооксидантних процесів до початку його обробки [9]. Через складність міжлабораторного порівняння результатів, отриманих у культурі тканини [88, 103], на сьогодні більшість банків ПК обмежуються простою комбінацією таких показників, як загальний вміст ЯВК та об'єм отриманої одиниці [67].

Неприпиняється пошук нових ефективних форм оцінки одиниць ПК після розморожування. При цьому вміст гранулоцитарно-макрофагальних клітин-попередників гемопоезу залишається одним із найважливіших критеріїв збереження якості після кріозберігання [51]. Пропонується також здійснювати обов'язковий контроль ГСК на метаболічну життєздатність і функціональну активність щодо самовідновлення та диференціювання [106]. Основними вадами, що перешкоджають широкому впровадженню зазначеного методу, є складність та висока вартість. Доцільність повторного визначення вмісту CD34⁺-клітин у розмороженому трансплантаті вважається сумнівною, оскільки більшість із них добре переносять кріоконсервування, незалежно від збереженості цілої фракції ЯВК після розморожування [105]. У цьому разі контроль життєздатності здійснюється за поглинанням барвника 7-AAD у всій популяції ЯВК (без окремого виділення CD34⁺-клітин). Більш поглиблена оцінка якості включає дослідження стадій апоптозу з використанням подвійного фарбування (Ann V та Pi або 7-AAD) [125]. Разом із тим, нещодавні результати аналізу трансплантацій стовбурових клітин периферичної крові пацієнтам із онкогематологічними хворобами після кондиціювання низької інтенсивності, опубліковані науковцями Інституту раку Dana Farber (Бостон, США) підтвердили, що загальна кількість ЯВК є більш актуальною прогностичною змінною для виживаності (як загальної, так і безрецидивної), ніж доза CD34⁺-клітин [80].

Відбір трансплантата ПК для конкретного реципієнта. Не викликає сумніву, що ефективне відновлення гемопоезу реципієнта є одним із найважливіших критеріїв успішного приживлення трансплантата ГСК. При цьому важливим фактором потенційного успіху є ретельний підбір пари донор-реципієнт за антигенами лейкоцитів людини (human leukocyte antigen (HLA)). Для складання внутрішніх протоколів алогенної трансплантації базовими є міжнародні стандарти імуногенетичного обстеження донора та реципієнта ГСК [48, 135]. Спочатку, за запитом трансплантаційного центру на пошук донора, проводять попередній

plant center to search for a donor, a preliminary selection (at least two (-A and -B) or three (-A, -B, -DRB1) loci) is conducted, then an additional screening step of selection of 'low' or 'average' resolution for -DRB1, -DRB2, -C loci is carried out. According to the new WMDA standards for determining pair compatibility at the allele level, the last step is to perform confirmatory typing of donor material (HLA-A, -B, -C, -DRB1 Confirmatory Typing) by verifying a 'high' resolution [120].

As various data demonstrate, the minimum dose threshold for a single transplantation is $(2.0-3.0) \times 10^7$, and for double transplantation it made $(1.5-2.0) \times 10^7$ per kg of the recipient's weight of each of the UCB units [4, 39]. In particular, the Eurocord working group does not recommend the use of units, containing less than 3×10^7 NCs per 1 kg of the recipient's weight (according to the data obtained before freezing) [40, 105]. At the same time, increasing the degree of non-compliance with the HLA system will to some extent enhance the risk of developing immune conflict in the recipient's body. That is why the degree of HLA compatibility is a crucial factor in deciding whether a specimen is suitable for transplantation. A variant of low or medium level of histocompatibility for HLA-A, -B in a compound with high for -DRB1, regardless of the dose of cells [11], was acceptable. On the other hand, the need for the dose of NCs depends on the degree of HLA mismatch between the UCB donor and the patient [32]. Thus, the variants of the combined difference of HLA class I and II in the donor-recipient pair was found to require the use of high doses of CD34⁺ cells in the UCB and were associated with severe manifestations of GCHD (degree III-IV) in the post-transplantation period. For cases with one discrepancy, the total dose was from 2.5×10^7 NCs / kg and above, for patients with two discrepancies that was from 5×10^7 NCs / kg and above [11]. That is, the numbers increase with rising differences in the histocompatibility of donor-recipient pairs, as well as with the disease nature, form, and stage. As a result (based on the cell dose threshold of 2.5×10^7 / kg), for the needs of a recipient weighing 50 kg, the minimum cellularity of the sample should be after treatment at least 12.5×10^7 NCs [86].

The dose of cells and the HLA compatibility degree are prognostic factors that are critical in all pathologies, but in diseases of non-malignant nature there is a need for a higher dose of cells. Today, the content of viable CD34⁺ cells is taken into account (for malignant diseases after thawing about $1.0-1.2 \times 10^5$ / kg, for non-malignant this is more than 1.7×10^5 / kg), but, according to the consensus



підбір (мінімум за двома (-A та -B) або трьома (-A, -B, -DRB1) локусами), потім здійснюють додатковий скринінговий крок відбору «низької» або «середньої» дозвільної здатності за -DRB1, -DRB2, -C локусами. Відповідно до нових стандартів WMDA з визначення сумісності пари на рівні алелі останнім кроком є виконання підтверджуючого типування донорського матеріалу (HLA-A, -B, -C, -DRB1 Confirmatory Typing) шляхом верифікації «високої» дозвільної здатності [121].

За різними даними, мінімальний поріг дози ЯВК для одиначної трансплантації складає $(2,0-3,0) \times 10^7$, а при подвійній – $(1,5-2,0) \times 10^7$ на 1 кг маси тіла реципієнта кожної з одиниць ПК [22, 53]. Зокрема, робоча група Єврокорду не рекомендує до використання одиниці, які містять менше 3×10^7 ЯВК на 1 кг маси тіла реципієнта (за даними, отриманими до заморожування) [54, 108]. Водночас збільшення ступеня невідповідності за системою HLA буде в тій чи тій мірі підвищувати ризик розвитку імунного конфлікту в організмі реципієнта. Саме тому ступінь HLA-сумісності є вирішальним фактором для прийняття рішення про придатність зразка до трансплантації. Прийнятним виявився варіант низького або середнього рівня гістосумісності за HLA-A, -B у сполучі з високим за -DRB1, незалежно від дози клітин [27]. З іншого боку, сама потреба у дозі ЯВК залежить від ступеня невідповідності HLA між донором ПК і пацієнтом [46]. Так, було встановлено, що варіанти поєднаної розбіжності HLA I та II класів у парі донор-реципієнт потребують застосування високих доз CD34⁺-клітин у ПК і асоціюються з тяжкими проявами ХТПХ (III–IV ступеня) у післятрансплантаційному періоді. Для випадків із однією невідповідністю сумарна доза становить від $2,5 \times 10^7$ ЯВК/кг і вище, для пацієнтів із двома невідповідностями – від 5×10^7 ЯВК/кг і вище [27]. Тобто цифри зростають зі збільшенням розбіжностей щодо гістосумісності пар донор-реципієнт, а також пов'язані з характером, формою та стадією захворювання. За підсумком (з розрахунку порогу клітинної дози $2,5 \times 10^7$ /кг) для потреб реципієнта з масою тіла 50 кг мінімальна клітинність зразка повинна бути не менше $12,5 \times 10^7$ ЯВК [91].

Доза клітин і ступінь сумісності за системою HLA є прогностичними факторами, які мають критичне значення при всіх патологіях, але при захворюваннях незлоякісної природи існує потреба у більш високій дозі клітин. На сьогоднішній показник вмісту життєздатних CD34⁺-клітин береться до уваги (для злоякісних захворювань після розморожування близько $1,0-1,2 \times 10^5$ /кг, для незлоякісних – понад $1,7 \times 10^5$ /кг), але, за рекоменда-

recommendations of experts on the general strategy of selecting the donor samples of UCB, while it can not replace the criterion of the NCs content, which is considered the main one when calculating the cell dose of UCB graft [53].

One of the algorithms for selecting a UCB graft was a recently proposed Apgar UCB scoring [89]. This is a comprehensive analysis of multiple characteristics of the harvested material, namely: calculation of scores on the results of hematopoietic tissue testing before freezing (by the content of colony-forming units, NCs, CD34⁺ cells and UCB volume), as well as after thawing (by the content of colony forming units, NCs, CD34⁺ cells and mononuclear cells). As I. N. Rich believes [103], such an evaluation system is of prognostic value for the initial clinical outcome in terms of neutrophil engraftment. This method disadvantage is the lack of evidence of indirect prognosis with long-term transplantation results.

It is worth noting that for the patients with malignancies for whom no HLA-compatible donor has been found, a dual UCB transplantation may also be an acceptable option. Despite the relative increased risk of early mortality due to delayed engraftment and the development of an acute graft-versus-host disease [97], probable protection against recurrence is a major advantage of this type of transplantation (due to the pronounced graft-versus-leukemia effect) [20]. A double UCB graft is considered to be promising when the level of coincidence in the HLA system of each of the units in relation to the recipient is from 4/6 and above, and the content of NCs totally (for two units) is not less than 3.5×10^7 / kg [53]. This also takes into account the presence of bank accreditation, the dose of CD34⁺ cells (total 1.8×10^5 / kg), ABO compliance (V Rocha on behalf of Eurocord, personal recommendation), the presence of HLA antibodies, the degree of erythrocyte removal.

Ethical issues. The rapid development of stem cell research has significantly increased the importance of special advisory bodies on biomedical ethics, the involvement of professional associations in addressing the ethical issues and, in general, necessitated stronger control of biotechnology by regulatory authorities.

Unlike most other biotechnologies, the use of stem cell-based drugs, HSC transplantation from the sources such as bone marrow, stimulated donor peripheral blood, and UCB to replace the recipient's lymphohemopoiesis with a donor one is the current standard of care for severe diseases. The introduction of this expensive high-tech multidis-



ціями фахівців щодо загальної стратегії відбору донорських зразків ПК, поки що не може підняти критерій вмісту ЯВК, який вважають основним під час розрахунків клітинної дози трансплантації ПК [63].

Одним з алгоритмів відбору трансплантації ПК стала запропонована нещодавно система оцінки під назвою «Апгар ПК» [94]. Це комплексний аналіз множинних характеристик заготовленого матеріалу, а саме: підрахунок балів за результатами тестування ПК до заморожування (за вмістом колонієутворюючих одиниць, ЯВК, CD34⁺-клітин та об'ємом ПК), а також після розморожування (за вмістом колонієутворюючих одиниць, ЯВК, CD34⁺-клітин і мононуклеарів). На думку I. N. Rich [106], така система оцінки має прогностичну цінність для початкового клінічного результату у частині нейтрофільного приживлення. При цьому недоліком методу вважається недоведеність прямих зв'язків прогнозу з віддаленими результатами трансплантації.

Варто зазначити, що для пацієнтів зі злоскісними захворюваннями, для яких не знайдено HLA-сумісного донора, цілком прийнятним варіантом може стати також подвійна трансплантація ПК. Попри відносно підвищення ризику ранньої смертності у результаті затримки приживлення та розвитку гострої хвороби «трансплантат проти хазяїна» [101], ймовірний захист від рецидиву є основною перевагою такого виду трансплантації (у зв'язку з виразним ефектом «трансплантат проти лейкоїї») [34]. Подвійний трансплантат ПК розглядається у якості перспективного у випадку, коли рівень співпадіння за системою HLA кожної з одиниць по відношенню до реципієнта складає від 4/6 і вище, а вміст ЯВК сумарно (за двома одиницями) є не менше $3,5 \times 10^7/\text{кг}$ [63]. При цьому також враховують наявність акредитації банку, дозу CD34⁺-клітин (сумарно $1,8 \times 10^5/\text{кг}$), АВ0-відповідність (V Rocha від імені Eurocord, особиста рекомендація), наявність HLA-антитіл, ступінь видалення еритроцитів.

Етичні питання. Швидкі темпи розвитку досліджень «стовбурової клітини» значно підвищили вагомість діяльності спеціальних консультативних органів із біомедичної етики, залучення професійних асоціацій до вирішення етичних питань та, загалом, викликали необхідність у підсиленні контролю сфери біотехнологій з боку регулюючих органів.

На відміну від більшості інших біотехнологій використання препаратів на основі «стовбурових клітин», трансплантація ГСК із таких джерел як кістковий мозок, стимульована периферична кров

дисциплінарної медичної технології є можливою лише в контексті добре встановленої інфраструктури та інституційної підтримки на державному рівні [71]. Одним з найважливіших факторів у підтримці національних реєстрів донорів UCB та банків є соціальна атмосфера, спрямована на просування вільної HSC донації до потреб суспільства.

Державні UCB збереження програми дотримуються базових етичних принципів, загальних для будь-якої донації, включаючи: анонімність, доступність крові для всіх, хто її потребує; відсутність матеріальної мотивації для донації; добровільність, солідарність між донором та реципієнтом [55, 61]. Але головним застереженням є те, що приватна послуга в UCB банках є неефективною з точки зору суспільної користі в галузі публічного здоров'я [81]. Ці реальності вимагають неумовної дотримання принципу надавати перевагу альтруїстичній UCB донації в інтересі суспільства в публічних банках над автологічною приватною зберіжкою. Інші пріоритетні рішення включають: необхідність чіткої регуляції прав власності, формулювання правил для згоди донора, з урахуванням інтересів новонародженого та членів родини, конфіденційності медичної та соціальної інформації; розвиток форм повідомлення родині донора щодо перспектив використання матеріалу, *etc.* [55, 62, 96, 120].

Державна підтримка досліджень трансплантації, включаючи розвиток біотехнологій, залучення висококваліфікованих спеціалістів у цю галузь є реальним шляхом вирішення проблем, пов'язаних з лікуванням найважчих захворювань. Оцінки впровадження таких рятувальних технологій повинні враховувати ряд важливих факторів, які сильно впливають як на швидкі клінічні результати, так і на довгострокові перспективи пацієнтів. Це стосується вирішення проблеми балансу між належним якістю процедурно-орієнтованих технологій та економії витрат на їх впровадження [50]. З досвіду інших країн, впровадження ефективного національного HSC трансплантатної програми забезпечує значні економії публічних коштів у довгостроковій перспективі, зокрема через зменшення потреби громадян у спеціалізованій медичній допомозі за кордоном [3]. Одночасно, ефективна робота реєстрів донорів та публічних UCB банків з членством в міжнародних донорських системах є безпосереднім шляхом задоволення клінічних потреб у якості трансплантатного матеріалу.

Нещодавно, сьогодні одним з найбільших проблем спеціалізованої медичної допомоги в Україні є впровадження аллогенної несімейної трансплантації, як свідчать офіційні статистичні дані [92]. Для її швидкого впровадження необхідні всі умови як професійної, так і інституційної природи: сильна наукова



донора та ПК із метою заміни лімфогемопоезу реципієнта донорським є діючим стандартом медичної допомоги при тяжких захворюваннях. Впровадження цієї дороговартісної високотехнологічної багатодисциплінарної медичної технології можливе тільки в умовах налагодженої інфраструктури та інституційної допомоги на державному рівні [76]. Одним із найважливіших чинників підтримки національних реєстрів донорів і банків ПК є соціальна атмосфера, спрямована на популяризацію безоплатного донорства ГСК на потребу суспільства.

Державні програми збереження ПК дотримуються основних спільних для будь-якого донорства етичних принципів, серед яких: анонімність, доступність ПК крові для всіх, хто має у ній потребу; відсутність матеріальної мотивації донорства; добровільність, узгодженість між донором і реципієнтом [65, 69]. Але основним застереженням є те, що приватне обслуговування у банках ПК неефективне з точки зору суспільної користі у сфері громадської охорони здоров'я [86]. Такі реалії вимагають безумовного дотримання принципу надання переваги альтруїстичному донорству ПК в інтересах суспільства у публічних банках над автологічним приватним зберіганням. До інших проблем першочергового вирішення належать: необхідність чіткої регуляції права власності, формулювання правил надання згоди з дефініцією донора, врахування інтересів новонародженого й членів його сім'ї, порядку конфіденційності даних медичної та соціальної інформації; розробка форм повідомлення родини донора щодо перспектив використання матеріалу тощо [65, 70, 100, 121].

Державне сприяння науково-дослідній діяльності у галузі трансплантації, зокрема і з розробки біотехнологій, залучення висококваліфікованих фахівців із цієї сфери є реальним шляхом для вирішення проблем, пов'язаних із лікуванням найтяжчих захворювань. При складанні кошторисів впровадження таких технологій збереження життя необхідне врахування низки важливих факторів, які можуть суттєвим чином впливати як на швидкі клінічні результати, так і на віддалені перспективи для пацієнтів. Це стосується вирішення проблеми збалансованості між належною якістю процедур та економією витрат на їхнє здійснення [59]. З досвіду інших країн впровадження ефективної національної програми трансплантації ГСК забезпечує суттєве заощадження державних коштів у довгостроковій перспективі, зокрема і через зниження потреби громадян у спеціалізованій медичній допомозі закордоном [20]. Водночас ефективна робота реєстрів донорів і суспільних банків ПК

traditions, schools, historical experience and modern practice of successful transplantations, professional teams of specialists, providing the whole process (from establishing the cryobanks technologies to the operation of advanced transplantation centers) [45, 64, 66, 69, 107], which is a significant potential for launching a national HSC transplantation program with an effective register of non-family donors and a public bank of a histotyped UCB in its composition, of course, provided effective state support.

Conclusion

Human umbilical cord blood is one of the sources of HSCs, which is successfully used for transplantation. The world experience of low-temperature banks of this material underwent histotyping testifies to the extraordinary social importance of such institutions for providing the necessary donor material in certain clinical situations (in the absence of HLA-compatible bone marrow HSC or stimulated peripheral blood, in the absence of time to find a suitable donor). Adherence to the principle of accessibility for all potential recipients provides the greatest social value of the UCB, which is stored in public banks. This is achieved through the government support and promotion of free UCB donation for the needs of seriously ill patients.

In order to ensure the development of the national direction of non-family HSC transplantation, it is necessary to establish a national public bank UCB as part of an effective all-Ukrainian register of HSC donors. Keeping the international material quality standards during independent examinations is a guarantee of efficiency and demand for the products both nationally and internationally.

A number of issues related to the storage bank of UCB still remain far from being resolved. In particular, the most promising area of improving the quality assessment tools is testing the repopulation capacity of the graft to achieve a high reliability and reproducibility of the methods. The tendency to increase the threshold quantitative quality criteria for UCB units that fall into cryopreservation, increases the chances of their rapid use for public purposes.

References

1. Abazari A, Meimetis LG, Budin G, et al. Engineered trehalose permeable to mammalian cells. PLOS ONE [Internet]. 2015 June 26 [cited 2017 Aug 15];10(6):e0130323. Available from: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0130323>.



із членством у міжнародних донорських системах є прямим шляхом для задоволення клінічних потреб у якісному трансплантаційному матеріалі.

На жаль, сьогодні однією з найбільших проблем спеціалізованої медичної допомоги в Україні залишається впровадження алогенної неродинної трансплантації, про що свідчить і офіційна статистика [97]. Для її найшвидшого вирішення є всі передумови як професійного, так й інституційного характеру: сильні наукові традиції, школи, історичний досвід і сучасна практика успішних трансплантацій, професійні команди фахівців, які забезпечують увесь процес (від створення технологій для кріобанків до функціонування розвинених центрів трансплантації [6, 10, 11, 14, 15], що є значним потенціалом для запуску національної програми з трансплантації ГСК із дієвим реєстром неродинних донорів і суспільним банком гістотипованої ПК у його склад, звісно, за умови ефективною державної підтримки.

Заключення

Пуповинна кров людини є одним із джерел ГСК, що успішно застосовується для трансплантації. Світовий досвід функціонування низькотемпературних банків цього гістотипованого матеріалу засвідчує надзвичайну суспільну значущість таких установ для надання необхідного донорського матеріалу у певних клінічних ситуаціях (за відсутності HLA-сумісного донора ГСК кісткового мозку або стимульованої периферичної крові в умовах нестачі часу для пошуку відповідного донора). Дотримання принципу доступності для всіх потенційних реципієнтів забезпечує найбільшу соціальну цінність ПК, що зберігається у суспільних банках. Це досягається через державну підтримку та популяризацію безоплатного донорства ПК для потреб тяжко хворих пацієнтів.

З метою забезпечення розвитку вітчизняного напрямку неродинної трансплантації ГСК є необхідним створення національного суспільного банку ПК у складі дієвого всеукраїнського реєстру донорів ГСК. Дотримання міжнародних стандартів якості матеріалу під час проведення незалежних експертиз є запорукою ефективності роботи та задоволеності продукції як на національному, так і на міжнародному рівнях.

Низка проблем, пов'язаних із банківським зберіганням ПК, все ще залишається далекими від остаточного вирішення. Зокрема, найперспективнішим напрямком вдосконалення засобів оцінки якості є тестування репопуляційної спроможності трансплантата з досягненням високої надійності та відтворюваності методів. Тенденція до підви-

- Akkok CA, Holte MR, Tangen JM, et al. Hematopoietic engraftment of dimethyl sulfoxide-depleted autologous peripheral blood progenitor cells. *Transfusion*. 2009;49(2):354–61.
- Aljurf M, Weisdorf D, Hashmi S, et al. Worldwide Network for Blood and Marrow Transplantation recommendations for establishing a hematopoietic stem cell transplantation program in countries with limited resources, part II: clinical, technical, and socioeconomic considerations. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2019;25(12):2330–7.
- Anand S, Thomas S, Corbet K, et al. Adult umbilical cord blood transplantation using myeloablative thiotepa, total body irradiation, and fludarabine conditioning. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2017;23(11):1949–54.
- Arutyunyan I, Fatkhudinov T, Sukhikh G. Umbilical cord tissue cryopreservation: a short review. *Stem Cell Res Ther* [Internet]. 2018 Sep 15 [cited 2019 Nov 20];9(1):236. Available from: <https://stemcellres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13287-018-0992-0>
- Awan M, Buriak I, Fleck R, et al. Dimethyl sulfoxide: a central player since the dawn of cryobiology, is efficacy balanced by toxicity? *Regen Med*. 2020;15(3):1463–91.
- Babichuk LA, Mykhailova OO, Ryazantsev VV, et al. Cryopreservation of cord blood nucleated cells using non-penetrating cryoprotectant PEO–1500. *Probl Cryobiol Cryomed*. 2016;26(1):24–34.
- Badowski M, Muise A, Harris DT. Mixed effects of long-term frozen storage on cord tissue stem cells. *Cytotherapy*. 2014;16(9):1313–21.
- Ballen K. Update on umbilical cord blood transplantation. *F1000Res* [Internet]. 2017 Aug 24 [cited 2018 Feb 14];6:1556. Available from: <https://f1000research.com/articles/6-1556/v1>.
- Barker JN, Byam CE, Kernan NA, et al. Availability of cord blood extends allogeneic hematopoietic stem cell transplant access to racial and ethnic minorities. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2010;16(11):1541–8.
- Barker JN, Scaradavou A, Stevens CE. Combined effect of total nucleated cell dose and HLA match on transplantation outcome in 1061 cord blood recipients with hematologic malignancies. *Blood*. 2010;115(9):1843–9.
- Bart T, Boo M, Balabanova S, et al. Impact of selection of cord blood units from the United States and Swiss registries on the cost of banking operations. *Transfus Med Hemother*. 2013;40(1):14–20.
- Bautista G, Cabrera JR, Regidor C, et al. Cord blood transplants supported by co-infusion of mobilized hematopoietic stem cells from a third-party donor. *Bone Marrow Transplant*. 2009;43(5):365–73.
- Belous AM, Grishchenko VI. [Cryobiology]. Kyiv: Naukova Dumka; 1994. 432 p. Russian.
- Belous AM, Shrago MI, Pushkar NS. [Cryopreservatives]. Kyiv: Naukova Dumka; 1979. 200 p. Russian.
- Bissoyi A, Pramanik K. Effects of non-toxic cryoprotective agents on the viability of cord blood derived MNCs. *Cryo Letters*. 2013;34(5):453–65.
- Brady C, Armitage S, Freed B, et al. How transplant centers deal with the dextran shortage: recommendations for comparing alternatives. *Transfusion*. 2016;56(11):2657–61.
- Broxmeyer HE, Douglas GW, Hangoc G, et al. Human umbilical cord blood as a potential source of transplantable hematopoietic stem/progenitor cells. *Proc Natl Acad Sci USA. Medical Sciences*. 1989; 86:3828–32.
- Brunstein CG, Fuchs EJ, Carter SL, et al. Alternative donor transplantation after reduced intensity conditioning: results of parallel phase 2 trials using partially HLA-mismatched related bone marrow or unrelated double umbilical cord blood grafts. *Blood*. 2011;118(2):282–8.
- Brunstein CG, Gutman JA, Weisdorf DJ, et al. Allogeneic hematopoietic cell transplantation for hematologic malignancy:



щення порогових кількісних критеріїв якості для одиниць ПК, які потрапляють на криозберігання, сприяє збільшенню шансів якнайшвидшого їхнього використання для суспільних потреб.

Література

1. Бабийчук ЛА, Михайлова ОА, Рязанцев ВВ, и др. Криоконсервирование ядросодержащих клеток кордовой крови под защитой непроницающего криопротектора ПЗО–1500. Проблемы криобиологии и криомедицины. 2016;26(1):24–34.
2. Белоус АМ, Грищенко ВИ. Криобиология. Киев: Наукова думка; 1994. 432 с.
3. Белоус АМ, Шраго МИ, Пушкарь НС. Криоконсерванты. Киев: Наукова думка; 1979. 200 с.
4. Гольцев АН, Волина ВВ, Останков МВ, и др. Влияние криоконсервирования на функциональные свойства ядросодержащих клеток лейкоконцентрата кордовой крови человека. Проблемы криобиологии. 2010;20(1):66–72.
5. Гольцев АН, Гаевская ЮА, Дубрава ТГ, Останков МВ. Влияние криоконсервирования на функциональный статус стволовых кроветворных и мезенхимальных клеток костного мозга животных с аутоиммунной патологией. Проблемы криобиологии и криомедицины. 2016;26(1):63–72.
6. Грищенко ВИ. Достигновения и перспективы развития криобиологии и криомедицины в Украине. Проблемы криобиологии. 2005; 15(3):231–40.
7. Гулевский АК, Бондаренко ВА, Белоус АМ. Барьерные свойства биомембран при низких температурах. Киев: Наукова думка; 1988. 208 с.
8. Калиниченко ТА, Аношина МЮ, Балан ВВ. Преимущества криоконсервирования гемопоэтической ткани пуповинной крови с применением оптимизированного метода снижения объема образца. Гематология. Трансфузиология. Восточная Европа. 2017;3(4):734–43.
9. Калиниченко ТО. Прогностична оцінка рівня криочутливості гемопоетичної тканини пуповинної крові за маркерами активності прооксидантних процесів. ScienceRise: Medical Science. 2018;(5):52–8,70–2.
10. Киндзельский ЛП, Зверкова АС, Сивкович СА, и др. Раздел 3.3. Подсадка костного мозга при цитостатической болезни. В: Киндзельский ЛП, Зверкова АС, Сивкович СА, и др, редакторы. Острая лучевая болезнь в условиях чернобыльской катастрофы. Киев: «Телеоптик»; 2002. с. 188–99.
11. Лаврик СС. Консервирование костного мозга. Киев: Здоров'я; 1975. 128 с.
12. Перехрестенко ПМ, Сивкович СО, Глухенька ГТ, та інш. Застосування криоконсервованої кордової крові при лікуванні хворих на злоякісну лімфому. Лікарська справа. 2002;(2):76–80.
13. Пушкарь НС, Белоус АМ, Цуцаева АА, и др. Низкотемпературное консервирование костного мозга. Киев: «Наукова думка»; 1976. 288 с.
14. Романова АФ. Глава 5. Трансплантация алогенного костного мозга в комплексном лечении больных гипо- и апластической анемией. В: Романова АФ. Гипопластическая и апластическая анемия. Киев: Здоров'я; 1982; с. 78–122.
15. Хоменко ВІ, Бичков ВВ, Бази́ка ДА. Стан розвитку трансплантації гемопоетичних стовбурових клітин у Європі та світі. Лікарська справа. 2014;(7–8):117–21.
16. Цуцаева АА, Цыганенко АЯ, Желтякова ИА, и др. Влияние гипотермического хранения на свойства ядерных компонентов и плазмы кордовой крови человека. Проблемы криобиологии. 2006;16(1):45–55.
- relative risks and benefits of double umbilical cord blood. Blood. 2010;116(22):4693–9.
21. Brunstein CG, Miller JS, Cao Q, et al. Infusion of ex vivo expanded T regulatory cells in adults transplanted with umbilical cord blood: safety profile and detection kinetics. Blood. 2011;117(3):1061–70.
22. Castillo N, García-Cadenas I, García O, et al. Few and nonsevere adverse infusion events using an automated method for diluting and washing before unrelated single cord blood transplantation. Biol Blood Marrow Transplant. 2015;21(4):682–7.
23. Chatzistamatiou TK, Papassavas AC, Michalopoulos E, et al. Optimizing isolation culture and freezing methods to preserve Wharton's jelly's mesenchymal stem cell (MSC) properties: an MSC banking protocol validation for the Hellenic Cord Blood Bank. Transfusion. 2014; 54(12):3108–20.
24. Chen G, Yue A, Ruan Zh, et al. Comparison of the effects of different cryoprotectants on stem cells from umbilical cord blood. Stem Cells International [Internet]. 2016 [cited 2017 Dec 20];2016: Article ID 1396783. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/sci/2016/1396783/>
25. Choudhery MS, Badowski M, Muise A, Harris DT. Comparison of human mesenchymal stem cells derived from adipose and cord tissue. Cytotherapy. 2013;15(3):330–43.
26. Cohen S, Roy J, Lachance S, Delisle J–S, Marinier A, Busque L, et al. Hematopoietic stem cell Transplantation using single UM171–expanded cord blood: a single–arm, phase 1–2 safety and feasibility study. Lancet Haematol. 2020 Feb;7(2):e134–e145.
27. Commission Directive 2006/17/EC of 8 February 2006 implementing Directive 2004/23/EC of the European Parliament and of the Council as regards certain technical requirements for the donation, procurement and testing of human tissues and cells (Text with EEA relevance) [Internet]. EUR–Lex. Access to European Union Law; 2019 [cited 2019 Dec 16]. Available from: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=celex%3A32006L0017>.
28. Commission Directive (EU) 2015/565 of 8 April 2015 amending Directive 2006/86/EC as regards certain technical requirements for the coding of human tissues and cells (Text with EEA relevance) [Internet]. EUR–Lex. Access to European Union Law; 2019 [cited 2019 Dec 16]. Available from: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=celex:32015L0565>
29. Crowe J, Crowe L, Oliver A, et al. The trehalose myth revisited: introduction to a symposium on stabilization of cells in the dry state. Cryobiology. 2001;43(2):89–105.
30. Cuende N, Rasko JEJ, Koh MBC, et al. Cell, tissue and gene products with marketing authorization in 2018 worldwide. Cytotherapy. 2018;20(11):1401–13.
31. Directive 2004/23/EC of the European Parliament and of the Council of 31 March 2004 on setting standards of quality and safety for the donation, procurement, testing, processing, preservation, storage and distribution of human tissues and cells [Internet]. EUR–Lex. Access to European Union Law; 2019 [cited 2019 Dec 16]. Available from: <https://eur-lex.europa.eu/eli/dir/2004/23/oj>.
32. Eapen M, Klein JP, Ruggeri A, et al. Impact of allele-level HLA matching on outcomes after myeloablative single unit umbilical cord blood transplantation for hematologic malignancy. Blood. 2014;123(1):133–40.
33. Eapen M, Rubinstein P, Zhang MJ, et al. Outcomes of transplantation of unrelated donor umbilical cord blood and bone marrow in children with acute leukaemia: a comparison study. Lancet. 2007;369(9577):1947–54.
34. European Federation for Immunogenetics. Standards for histocompatibility & immunogenetics testing. Version 7.0 [Internet]. Effective from 1st January 2018 [cited 2018 Feb 25]; 40 p. Available from: <https://www.efi-web.org/efi-committees/standards-committee.html#c273>.



17. Шраго МИ. Глава 2. Криопротекторы. В: Цуцаева АА, редактор. Криоконсервирование клеточных суспензий. Киев: Наукова думка; 1983. с. 12–25.
18. Abazari A, Meimetis LG, Budin G, et al. Engineered trehalose permeable to mammalian cells. PLOS ONE [Internet]. 2015 June 26 [cited 2017 Aug 15];10(6):e0130323. Available from: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0130323>.
19. Akkok CA, Holte MR, Tangen JM, et al. Hematopoietic engraftment of dimethyl sulfoxide-depleted autologous peripheral blood progenitor cells. Transfusion. 2009;49(2):354–61.
20. Aljurf M, Weisdorf D, Hashmi S, et al. Worldwide Network for Blood and Marrow Transplantation recommendations for establishing a hematopoietic stem cell transplantation program in countries with limited resources, part II: clinical, technical, and socioeconomic considerations. Biol Blood Marrow Transplant. 2019;25(12):2330–7.
21. Anand S, Thomas S, Corbet K, et al. Adult umbilical cord blood transplantation using myeloablative thiotepa, total body irradiation, and fludarabine conditioning. Biol Blood Marrow Transplant. 2017;23(11):1949–54.
22. Arutyunyan I, Fatkhudinov T, Sukhikh G. Umbilical cord tissue cryopreservation: a short review. Stem Cell Res Ther [Internet]. 2018 Sep 15 [cited 2019 Nov 20];9(1):236. Available from: <https://stemcellres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13287-018-0992-0>
23. Awan M, Buriak I, Fleck R, et al. Dimethyl sulfoxide: a central player since the dawn of cryobiology, is efficacy balanced by toxicity? Regen Med. 2020;15(3):1463–91.
24. Badowski M, Muise A, Harris DT. Mixed effects of long-term frozen storage on cord tissue stem cells. Cytotherapy. 2014;16(9):1313–21.
25. Ballen K. Update on umbilical cord blood transplantation. F1000Res [Internet]. 2017 Aug 24 [cited 2018 Feb 14];6:1556. Available from: <https://f1000research.com/articles/6-1556/v1>.
26. Barker JN, Byam CE, Kernan NA, et al. Availability of cord blood extends allogeneic hematopoietic stem cell transplant access to racial and ethnic minorities. Biol Blood Marrow Transplant. 2010;16(11):1541–8.
27. Barker JN, Scaradavou A, Stevens CE. Combined effect of total nucleated cell dose and HLA match on transplantation outcome in 1061 cord blood recipients with hematologic malignancies. Blood. 2010;115(9):1843–9.
28. Bart T, Boo M, Balabanova S, et al. Impact of selection of cord blood units from the United States and Swiss registries on the cost of banking operations. Transfus Med Hemother. 2013;40(1):14–20.
29. Bautista G, Cabrera JR, Regidor C, et al. Cord blood transplants supported by co-infusion of mobilized hematopoietic stem cells from a third-party donor. Bone Marrow Transplant. 2009;43(5):365–73.
30. Bissoyi A, Pramanik K. Effects of non-toxic cryoprotective agents on the viability of cord blood derived MNCs. Cryo Letters. 2013;34(5):453–65.
31. Brady C, Armitage S, Freed B, et al. How transplant centers deal with the dextran shortage: recommendations for comparing alternatives. Transfusion. 2016;56(11):2657–61.
32. Broxmeyer HE, Douglas GW, Hangoc G, et al. Human umbilical cord blood as a potential source of transplantable hematopoietic stem/progenitor cells. Proc Natl Acad Sci USA. Medical Sciences. 1989; 86:3828–32.
33. Brunstein CG, Fuchs EJ, Carter SL, et al. Alternative donor transplantation after reduced intensity conditioning: results of parallel phase 2 trials using partially HLA-mismatched related bone marrow or unrelated double umbilical cord blood grafts. Blood. 2011;118(2):282–8.
34. Brunstein CG, Gutman JA, Weisdorf DJ, et al. Allogeneic hematopoietic cell transplantation for hematologic malignancy: relative risks and benefits of double umbilical cord blood. Blood. 2010;116(22):4693–9.
35. Feng M, Lu A, Gao H, et al. Safety of allogeneic umbilical cord blood stem cells therapy in patients with severe cerebral palsy: a retrospective study. Stem Cells Int [Internet]. 2015 [cited 2016 Feb 12]; 2015:325652:7 pages. Available from: <http://dx.doi.org/10.1155/2015/325652>.
36. Fois E, Desmartin M, Benhamida S, et al. Recovery, viability and clinical toxicity of thawed and washed haematopoietic progenitor cells: analysis of 952 autologous peripheral blood stem cell transplantations. Bone Marrow Transplant. 2007;40(9):831–5.
37. Foundation for the Accreditation of Cellular Therapy (FACT), International Netcord Foundation. NetCord–FACT International Standards for Cord Blood Collection, Banking, and Release for Administration, 7th Edition, Oct 15, 2019; [Internet]. [cited 2019 Dec 16]. Available from: <http://www.factwebsite.org/cbstandards/>
38. Foundation for the Accreditation of Cellular Therapy (FACT), Joint Accreditation Committee – ISCT and EBMT (JACIE). International standards for hematopoietic cellular therapy product collection, processing, and administration, 7th Edition, 1 March 2018; [Internet]. EBMT; 2018 [cited 2019 Dec 16]. Available from: <https://www.ebmt.org/sites/default/files/2018-06/FACT-JACIE%207th%20Edition%20Standards.pdf>
39. Gluckman E. Chapter 6. Choice of the donor according to HLA typing and stem cell source. In: Apperley J, Carreras E, Gluckman E, Masszi T, editors. Haematopoietic Stem Cell Transplantation. The EBMT Handbook 6th Edition; Genoa, Italy: Litoprint; 2012. p. 90–105.
40. Gluckman E, Rocha V. Donor selection for unrelated cord blood transplants. Curr Opin Immunol. 2006;18(5):565–70.
41. Gluckman E, Ruggeri A, Volt F, et al. Milestones in umbilical cord blood transplantation. Br J Haematol. 2011;154(4):441–7.
42. Goltsev AN, Gayevskaya YuA, Dubrava TG, Ostankova LV. Effect of cryopreservation on functional status of bone marrow hematopoietic and mesenchymal stem cells in animal with autoimmune pathology. Probl Cryobiol Cryomed. 2016;26(1):63–72.
43. Goltsev AN, Volina VV, Ostankov MV, et al. Effect of cryopreservation on functional properties of human cord blood leukoconcentrate nucleated cells. Problems of Cryobiology. 2010;20(1):66–72.
44. Gragert L, Eapen M, Williams E, et al. HLA match likelihoods for hematopoietic stem-cell grafts in the U.S. registry. N Engl J Med. 2014; 371(14):339–48.
45. Grischenko VI. [Achievements and prospects of cryobiology and cryomedicine development in Ukraine]. Problems of Cryobiology. 2005; 15(3):231–40. Russian.
46. Gulevskii AK, Bondarenko VA, Belous AM. [Barrier properties of biomembranes at low temperatures]. Kyiv: Naukova Dumka; 1988. 208 p. Russian.
47. Hanslick JL, Lau K, Noguchi KK, et al. Dimethyl sulfoxide (DMSO) produces widespread apoptosis in the developing central nervous system. Neurobiol Dis. 2009;34(1):1–10.
48. Harris DT. Banking of adipose- and cord tissue-derived stem cells: technical and regulatory issues. Adv Exp Med Biol. 2016;951:147–54.
49. Harris DT. Stem cell banking for regenerative and personalized medicine. Biomedicine. 2014;2(1):50–79.
50. Hashmi SK, Srivastava A, Rasheed W, et al. Cost and quality issues in establishing hematopoietic cell transplant program in developing countries. Hematol Oncol Stem Cell Ther. 2017;10(4):167–72.
51. Horacek JM, Jebavy L, Jakl M, et al. Cardiovascular changes associated with infusion of hematopoietic cell grafts in oncohematological patients-impact of cryopreservation with dimethylsulfoxide. Exp Oncol. 2009;31(2):121–2.
52. Horwitz ME, Chao NJ, Rizzieri DA, et al. Umbilical cord blood expansion with nicotinamide provides long-term multilineage engraftment. J Clin Invest. 2014;124(7):3121–8.



35. Brunstein CG, Miller JS, Cao Q, et al. Infusion of ex vivo expanded T regulatory cells in adults transplanted with umbilical cord blood: safety profile and detection kinetics. *Blood*. 2011;117(3):1061–70.
36. Castillo N, García-Cadenas I, García O, et al. Few and nonsevere adverse infusion events using an automated method for diluting and washing before unrelated single cord blood transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2015;21(4):682–7.
37. Chatzistamatiou TK, Papassavas AC, Michalopoulos E, et al. Optimizing isolation culture and freezing methods to preserve Wharton's jelly's mesenchymal stem cell (MSC) properties: an MSC banking protocol validation for the Hellenic Cord Blood Bank. *Transfusion*. 2014;54(12):3108–20.
38. Chen G, Yue A, Ruan Zh, et al. Comparison of the effects of different cryoprotectants on stem cells from umbilical cord blood. *Stem Cells International* [Internet]. 2016 [cited 2017 Dec 20];2016: Article ID 1396783. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/sci/2016/1396783/>
39. Choudhery MS, Badowski M, Muise A, Harris DT. Comparison of human mesenchymal stem cells derived from adipose and cord tissue. *Cytotherapy*. 2013;15(3):330–43.
40. Cohen S, Roy J, Lachance S, et al. Hematopoietic stem cell Transplantation using single UM171-expanded cord blood: a single-arm, phase 1–2 safety and feasibility study. *Lancet Haematology*. 2020;7(2):e134–e145.
41. Commission Directive 2006/17/EC of 8 February 2006 implementing Directive 2004/23/EC of the European Parliament and of the Council as regards certain technical requirements for the donation, procurement and testing of human tissues and cells (Text with EEA relevance) [Internet]. EUR-Lex. Access to European Union Law; 2019 [cited 2019 Dec 16]. Available from: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=celex%3A32006L0017>.
42. Commission Directive (EU) 2015/565 of 8 April 2015 amending Directive 2006/86/EC as regards certain technical requirements for the coding of human tissues and cells (Text with EEA relevance) [Internet]. EUR-Lex. Access to European Union Law; 2019 [cited 2019 Dec 16]. Available from: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=celex:32015L0565>
43. Crowe J, Crowe L, Oliver A, et al. The trehalose myth revisited: introduction to a symposium on stabilization of cells in the dry state. *Cryobiology*. 2001;43(2):89–105.
44. Cuende N, Rasko JEJ, Koh MBC, et al. Cell, tissue and gene products with marketing authorization in 2018 worldwide. *Cytotherapy*. 2018;20(11):1401–13.
45. Directive 2004/23/EC of the European Parliament and of the Council of 31 March 2004 on setting standards of quality and safety for the donation, procurement, testing, processing, preservation, storage and distribution of human tissues and cells [Internet]. EUR-Lex. Access to European Union Law; 2019 [cited 2019 Dec 16]. Available from: <https://eur-lex.europa.eu/eli/dir/2004/23/oj>.
46. Eapen M, Klein JP, Ruggeri A, et al. Impact of allele-level HLA matching on outcomes after myeloablative single unit umbilical cord blood transplantation for hematologic malignancy. *Blood*. 2014;123(1):133–40.
47. Eapen M, Rubinstein P, Zhang MJ, et al. Outcomes of transplantation of unrelated donor umbilical cord blood and bone marrow in children with acute leukaemia: a comparison study. *Lancet*. 2007;369(9577):1947–54.
48. European Federation for Immunogenetics. Standards for histocompatibility & immunogenetics testing. Version 7.0 [Internet]. Effective from 1st January 2018 [cited 2018 Feb 25]; 40 p. Available from: <https://www.efi-web.org/efi-committees/standards-committee.html#c273>.
49. Feng M, Lu A, Gao H, et al. Safety of allogeneic umbilical cord blood stem cells therapy in patients with severe cerebral palsy: a retrospective study. *Stem Cells Int* [Internet]. 2015 [cited 2016 Feb 12]; 325652:7. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/sci/2015/325652/>.
50. Hough R, Danby R, Russell N, et al. Recommendations for a standard UK approach to incorporating umbilical cord blood into clinical transplantation practice: an update on cord blood unit selection, donor selection algorithms and conditioning protocols. *Br J Haematol*. 2016;172(3): 360–70.
51. Hunt CJ, Armitage SE, Pegg DE. Cryopreservation of umbilical cord blood: 2. Tolerance of CD34+ cells to multimolar dimethyl sulphoxide and the effect of cooling rate on recovery after freezing and thawing. *Cryobiology*. 2003;46(1):76–87.
52. Isasi R, Dalpe G, Knoppers BM. Fostering public cord blood banking and research in Canada. *Stem Cells Dev*. 2013;22(Suppl 1):29–34.
53. JACIE Accreditation [Internet]. EBMT; 2018 [updated 2018]; [cited 2019 Dec 9]. Available from: <https://www.ebmt.org/jacie-accreditation>.
54. Jaime-Pérez JC, García-Arellano G, Esparza-Sandoval AC. What is the adequate mononuclear cell content for selecting umbilical cord blood units for cryopreservation? *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2016;38(1):88–9.
55. Junior AM, Arrais CA, Saboya R, et al. Neurotoxicity associated with dimethylsulfoxide-preserved hematopoietic progenitor cell infusion. *Bone Marrow Transplant*. 2008;41(1): 95–6.
56. Kalynychenko T, Anoshyna M, Balan V. [Advantages of umbilical cord blood hemopoietic tissue cryopreservation using an unit volume reduction optimized method]. *Hematology. Transfusiology. Eastern Europe*. 2017;3(4):734–43. Russian.
57. Kalynychenko T. [Prognostic assessment of cryosensitivity level for umbilical cord blood hemopoietic tissue with the help of markers of prooxidant activity processes]. *Science-Rise: Medical Science*. 2018;(5):52–8,70–2. Ukrainian.
58. Kalynychenko TO. Ethical issues of research, banking and clinical application of human cord blood hematopoietic stem cells. *Exp Oncol*. 2017;39(3):244.
59. Kalynychenko TO. Umbilical cord blood banking in the worldwide hematopoietic stem cell transplantation system: perspectives for Ukraine. *Exp Oncol*. 2017;39(3):164–70.
60. Katsen-Globa A, Meiser I, Petrenko YuA, et al. Towards ready-to-use 3-D scaffolds for regenerative medicine: adhesion-based cryopreservation of human mesenchymal stem cells attached and spread within alginate-gelatin cryogel scaffolds. *J Mater Sci: Mater Med*. 2014;25:857–71.
61. Khomenko VI, Bychkov VV, Bazyka DA. [State of development of hematopoietic stem cell transplantation in Europe and the world]. *Likars'ka sprava*. 2014;(7–8):117–21. Ukrainian.
62. Kiernan J, Damien P, Monaghan M, et al. Clinical studies of ex vivo expansion to accelerate engraftment after umbilical cord blood transplantation: a systematic review. *Transfus Med Rev*. 2017;31(3):173–82.
63. Kindzelsky LP, Zverkova AS, Sivkovich SA, et al. [Chapter 3. Features of treatment of victims due to the Chernobyl disaster. 3.3. Transfusion of bone marrow in the treatment of cytotoxic disease]. In: Kindzelsky LP, et al. editors. [Acute radiation sickness in the conditions of the Chernobyl disaster]. Kyiv: Teleoptik, 2002. P. 188–99. Russian.
64. Kurtzberg J, Prasad VK, Carter SL, et al. Results of the Cord Blood Transplantation Study (COBLT): clinical outcomes of unrelated donor umbilical cord blood transplantation in pediatric patients with hematologic malignancies. *Blood*. 2008;112(10):4318–27.
65. Kurtzberg J, Prockop S, Teira P, et al. Allogeneic human mesenchymal stem cell therapy (remestemcel-L, Prochymal) as a rescue agent for severe refractory acute graft-versus-host disease in pediatric patients. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2014;20(2):229–35.
66. Lavrik S. [Cryopreservation of bone marrow]. Kyiv: Zdorovia, 1975: 87–95. Russian.



50. Fois E, Desmartin M, Benhamida S, et al. Recovery, viability and clinical toxicity of thawed and washed haematopoietic progenitor cells: analysis of 952 autologous peripheral blood stem cell transplantations. *Bone Marrow Transplant.* 2007;40(9):831–5.
51. Foundation for the Accreditation of Cellular Therapy (FACT), International Netcord Foundation. NetCord–FACT International Standards for Cord Blood Collection, Banking, and Release for Administration, 7th Edition, Oct 15, 2019; [Internet]. [cited 2019 Dec 16]. Available from: <http://www.factwebsite.org/cbstandards/>
52. Foundation for the Accreditation of Cellular Therapy (FACT), Joint Accreditation Committee – ISCT and EBMT (JACIE). International standards for hematopoietic cellular therapy product collection, processing, and administration, 7th Edition, 1 March 2018; [Internet]. EBMT; 2018 [cited 2019 Dec 16]. Available from: <https://www.ebmt.org/sites/default/files/2018-06/FACT-JACIE%207th%20Edition%20Standards.pdf>
53. Gluckman E. Chapter 6. Choice of the donor according to HLA typing and stem cell source. In: Apperley J, Carreras E, Gluckman E, Masszi T, editors. *Haematopoietic Stem Cell Transplantation. The EBMT Handbook 6th Edition*; Genoa, Italy: Litoprint; 2012, p. 90–105.
54. Gluckman E, Rocha V. Donor selection for unrelated cord blood transplants. *Curr Opin Immunol.* 2006;18(5):565–70.
55. Gluckman E, Ruggeri A, Volt F, et al. Milestones in umbilical cord blood transplantation. *Br J Haematol.* 2011;154(4):441–7.
56. Gragert L, Eapen M, Williams E, et al. HLA match likelihoods for hematopoietic stem–cell grafts in the U.S. registry. *N Engl J Med.* 2014;371(14):339–48.
57. Hanslick JL, Lau K, Noguchi KK, et al. Dimethyl sulfoxide (DMSO) produces widespread apoptosis in the developing central nervous system. *Neurobiol Dis.* 2009;34(1):1–10.
58. Harris DT. Banking of adipose- and cord tissue-derived stem cells: technical and regulatory issues. *Adv Exp Med Biol.* 2016;951:147–54.
59. Harris DT. Stem cell banking for regenerative and personalized medicine. *Biomedicine.* 2014;2(1):50–79.
60. Hashmi SK, Srivastava A, Rasheed W, et al. Cost and quality issues in establishing hematopoietic cell transplant program in developing countries. *Hematol Oncol Stem Cell Ther.* 2017;10(4):167–72.
61. Horacek JM, Jebavy L, Jakl M, et al. Cardiovascular changes associated with infusion of hematopoietic cell grafts in oncohematological patients–impact of cryopreservation with dimethylsulfoxide. *Exp Oncol.* 2009;31(2):121–2.
62. Horwitz ME, Chao NJ, Rizzieri DA, et al. Umbilical cord blood expansion with nicotinamide provides long-term multilineage engraftment. *J Clin Invest.* 2014;124(7):3121–8.
63. Hough R, Danby R, Russell N, et al. Recommendations for a standard UK approach to incorporating umbilical cord blood into clinical transplantation practice: an update on cord blood unit selection, donor selection algorithms and conditioning protocols. *Br J Haematol.* 2016;172(3):360–70.
64. Hunt CJ, Armitage SE, Pegg DE. Cryopreservation of umbilical cord blood: 2. Tolerance of CD34⁺ cells to multimolar dimethyl sulphoxide and the effect of cooling rate on recovery after freezing and thawing. *Cryobiology.* 2003;46(1):76–87.
65. Isasi R, Dalpe G, Knoppers BM. Fostering public cord blood banking and research in Canada. *Stem Cells Dev.* 2013;22(Suppl 1):29–34.
66. JACIE Accreditation [Internet]. EBMT; 2018 [updated 2018]; [cited 2019 Dec 9]. Available from: <https://www.ebmt.org/jacie-accreditation>
67. Jaime-Pérez JC, García-Arellano G, Esparza-Sandoval AC. What is the adequate mononuclear cell content for selecting umbilical cord blood units for cryopreservation? *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2016;38(1):88–9.
70. Li J, McDonald CA, Fahey MC, Jenkin G, Miller SL. Could cord blood cell therapy reduce preterm brain injury? *Front Neurol* [Internet]. 2014 Oct 9 [cited 2018 Feb 2];5:200. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fneur.2014.00200/full>.
71. Liso A, Neri M, Maglietta F, et al. Hematopoietic stem cell transplantation: a bioethical lens. *Stem Cells Int* [Internet]. 2017 Jun 27 [cited 2019 Dec 20];2017: Article ID 1286246. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/sci/2017/1286246/>
72. Laroche V, McKenna DH, Moroff G, Schierman T, Kadidlo D, McCullough J. Cell loss and recovery in umbilical cord blood processing: a comparison of postthaw and postwash samples. *Transfusion.* 2005;45(12):1909–16.
73. Lown RN, Shaw BE. 'First do no harm': where do we stand on unrelated hematopoietic cell donor safety? *Expert Rev Hematol.* 2012;5(3):249–52.
74. Marquez–Curtis LA, Janowska-Wieczorek A, McGann LE, Elliott JA. Mesenchymal stromal cells derived from various tissues: biological, clinical and cryopreservation aspects. *Cryobiology.* 2015;71(2):181–97.
75. Martin PS, Li S, Nikiforow S, et al. Infused total nucleated cell dose is a better predictor of transplant outcomes than CD34⁺ cell number in reduced-intensity mobilized peripheral blood allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Haematologica.* 2016;101(4):499–505.
76. Martinetti D, Colarossi C, Buccheri S, et al. Effect of trehalose on cryopreservation of pure peripheral blood stem cells. *Biomed Rep.* 2017;6(3):314–8.
77. Massin F, Huili C, Decot V, et al. Validation of a single-platform method for hematopoietic CD34⁺ stem cells enumeration according to accreditation procedure. *Biomed Mater Eng.* 2015;25(1 Suppl):27–39.
78. Mastrolia I, Foppiani EM, Murgia A, et al. Challenges in clinical development of mesenchymal stromal/stem cells: concise review. *Stem Cells Transl Med.* 2019;8(11):1135–48.
79. Medhekar SK, Shende VS, Chincholkar AB. Recent stem cell advances: cord blood and induced pluripotent stem cell for cardiac regeneration – a review. *Int J Stem Cells.* 2016;9(1):21–30.
80. Milano F, Gooley T, Wood B, et al. Cord–blood transplantation in patients with minimal residual disease. *N Engl J Med.* 2016;375:944–53.
81. Mohr A, Busby H, Hervey T, Dingwall R. Mapping the role of official bioethics advice in the governance of biotechnologies in the EU: the European Group on Ethics' Opinion on commercial cord blood banking. *Science and Public Policy.* 2012;39(1):105–17.
82. Moll G, Geißler S, Catar R, et al. Cryopreserved or fresh mesenchymal stromal cells: only a matter of taste or key to unleash the full clinical potential of MSC therapy? *Adv Exp Med Biol.* 2016;951:77–98.
83. Moroff G, Eichler H, Brand A, et al. Multiple-laboratory comparison of *in vitro* assays utilized to characterize hematopoietic cells in cord blood. *Transfusion.* 2006;46:507–15.
84. Morris C, de Wreede L, Scholten M, et al. Chronic Malignancies and Lymphoma Working Parties of EBMT. Should the standard dimethyl sulfoxide concentration be reduced? Results of a European Group for Blood and Marrow Transplantation prospective noninterventive study on usage and side effects of dimethyl sulfoxide. *Transfusion.* 2014;54(10):2514–22.
85. Motta JPR, Paraguassú-Braga FH, Bouzas LF, Porto LC. Evaluation of intracellular and extracellular trehalose as a cryoprotectant of stem cells obtained from umbilical cord blood. *Cryobiology.* 2014;68(3):343–8.
86. Mueller C, Querol S. Chapter 7. Bone marrow registries and cord blood banks. In: Apperley J, Carreras E, Gluckman E, Masszi T, editors. *Haematopoietic Stem Cell Transplantation.*



68. Junior AM, Arrais CA, Saboya R, et al. Neurotoxicity associated with dimethylsulfoxide-preserved hematopoietic progenitor cell infusion. *Bone Marrow Transplant.* 2008;41(1):95–6.
69. Kalynychenko TO. Ethical issues of research, banking and clinical application of human cord blood hematopoietic stem cells. *Exp Oncol.* 2017;39(3):244.
70. Kalynychenko TO. Umbilical cord blood banking in the worldwide hematopoietic stem cell transplantation system: perspectives for Ukraine. *Exp Oncol.* 2017;39(3):164–70.
71. Katsen-Globa A, Meiser I, Petrenko YuA, et al. Towards ready-to-use 3-D scaffolds for regenerative medicine: adhesion-based cryopreservation of human mesenchymal stem cells attached and spread within alginate-gelatin cryogel scaffolds. *J Mater Sci: Mater Med.* 2014;25:857–71.
72. Kiernan J, Damien P, Monaghan M, et al. Clinical studies of ex vivo expansion to accelerate engraftment after umbilical cord blood transplantation: a systematic review. *Transfus Med Rev.* 2017;31(3):173–82.
73. Kurtzberg J, Prasad VK, Carter SL, et al. Results of the cord blood transplantation study (COBLT): clinical outcomes of unrelated donor umbilical cord blood transplantation in pediatric patients with hematologic malignancies. *Blood.* 2008;112(10):4318–27.
74. Kurtzberg J, Prockop S, Teira P, et al. Allogeneic human mesenchymal stem cell therapy (remestemcel-L, Prochymal) as a rescue agent for severe refractory acute graft-versus-host disease in pediatric patients. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2014;20(2):229–35.
75. Li J, McDonald CA, Fahey MC, et al. Could cord blood cell therapy reduce preterm brain injury? *Front Neurol* [Internet]. 2014 Oct 9 [cited 2018 Feb 2];5:200. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fneur.2014.00200/full>.
76. Liso A, Neri M, Maglietta F, et al. Hematopoietic stem cell transplantation: a bioethical lens. *Stem Cells Int* [Internet]. 2017 Jun 27 [cited 2019 Dec 20];2017: Article ID 1286246. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/sci/2017/1286246/>
77. Laroche V, McKenna DH, Moroff G, Schierman T, Kadidlo D, McCullough J. Cell loss and recovery in umbilical cord blood processing: a comparison of postthaw and postwash samples. *Transfusion.* 2005;45(12):1909–16.
78. Lown RN, Shaw BE. 'First do no harm': where do we stand on unrelated hematopoietic cell donor safety? *Expert Rev Hematol.* 2012;5(3):249–52.
79. Marquez-Curtis LA, Janowska-Wieczorek A, McGann LE, Elliott JA. Mesenchymal stromal cells derived from various tissues: biological, clinical and cryopreservation aspects. *Cryobiology.* 2015;71(2):181–97.
80. Martin PS, Li S, Nikiforov S, et al. Infused total nucleated cell dose is a better predictor of transplant outcomes than CD34⁺ cell number in reduced-intensity mobilized peripheral blood allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Haematologica.* 2016;101(4):499–505.
81. Martinetti D, Colarossi C, Buccheri S, et al. Effect of trehalose on cryopreservation of pure peripheral blood stem cells. *Biomed Rep.* 2017;6(3):314–8.
82. Massin F, Huili C, Decot V, et al. Validation of a single-platform method for hematopoietic CD34⁺ stem cells enumeration according to accreditation procedure. *Biomed Mater Eng.* 2015;25(1 Suppl):27–39.
83. Mastrolia I, Foppiani EM, Murgia A, et al. Challenges in clinical development of mesenchymal stromal/stem cells: concise review. *Stem Cells Transl Med.* 2019;8(11):1135–48.
84. Medhekar SK, Shende VS, Chincholkar AB. Recent stem cell advances: cord blood and induced pluripotent stem cell for cardiac regeneration – a review. *Int J Stem Cells.* 2016;9(1):21–30.
85. Milano F, Gooley T, Wood B, et al. Cord-blood transplantation in patients with minimal residual disease. *N Engl J Med.* 2016;375:944–53.
86. Mohr A, Busby H, Hervey T, Dingwall R. Mapping the role of official bioethics advice in the governance of biotechnologies in The EBMT Handbook 6th Edition; Genoa, Italy: Litoprint; 2012, p. 109–20.
87. Page KM, Mendizabal A, Betz-Stablein B, et al. Optimizing donor selection for public cord blood banking: Influence of maternal, infant, and collection characteristics on cord blood unit quality. *Transfusion.* 2014;54(2):340–52.
88. Page KM, Zhang L, Mendizabal A, et al. Total colony-forming units are a strong, independent predictor of neutrophil and platelet engraftment after unrelated umbilical cord blood transplantation: a single-center analysis of 435 cord blood transplants. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2011;17(9):1362–74.
89. Page KM, Zhang L, Mendizabal A, et al. The Cord Blood Appar: a novel scoring system to optimize selection of banked cord blood grafts for transplantation (CME). *Transfusion.* 2012;52(2):272–83.
90. Pasha R, Elmoazzen H, Pineault N. Development and testing of a stepwise thaw and dilute protocol for cryopreserved umbilical cord blood units. *Transfusion.* 2017;57(7):1744–54.
91. Passweg JR, Baldomero H, Bader P, et al. Hematopoietic stem cell transplantation in Europe 2014: more than 40000 transplants annually. *Bone Marrow Transplant.* 2016;51(6):786–92.
92. Passweg JR, Baldomero H, Basak GW, et al. European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). The EBMT activity survey report 2017: a focus on allogeneic HCT for nonmalignant indications and on the use of non-HCT cell therapies. *Bone Marrow Transplant.* 2019;54(10):1575–85.
93. Patterson J, Moore CH, Palser E, et al. Detecting primitive hematopoietic stem cells in total nucleated and mononuclear cell fractions from umbilical cord blood segments and units. *J Transl Med* [Internet]. 2015 Mar 18 [cited 2019 Nov 19];13:94 Available from: <https://translational-medicine.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12967-015-0434-z>
94. Perekhrestenko PM, Sivkovych SO, Hlukhenka HT, et al. [The use of cryopreserved cord blood in the treatment of patients with malignant lymphoma]. *Likars'ka sprava.* 2002;(2):76–80. Ukrainian.
95. Petersdorf EW. The World Marrow Donor Association: 20 years of international collaboration for the support of unrelated donor and cord blood hematopoietic cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2010;45(5):807–10.
96. Petrini C. Ethical issues in umbilical cord blood banking: a comparative analysis of documents from national and international institutions. *Transfusion.* 2013;53(4):902–10.
97. Ponce DM, Hilden P, Devlin SM, et al. High disease-free survival with enhanced protection against relapse after double-unit cord blood transplantation when compared with T cell-depleted unrelated donor transplantation in patients with acute leukemia and chronic myelogenous leukemia. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2015;21:1985–93.
98. Popat U, Mehta RS, Rezvani K, et al. Enforced fucosylation of cord blood hematopoietic cells accelerates neutrophil and platelet engraftment after transplantation. *Blood.* 2015;125(19):2885–92.
99. Powell K, Kwee E, Nutter B, et al. Variability in subjective review of umbilical cord blood colony forming unit assay. *Cytometry B Clin Cytom.* 2016;90(6):517–24.
100. Pushkar NS, Belous AM, Tsutsaeva AA, et al. [Low-temperature preservation of the bone marrow]. Kyiv: Naukova Dumka; 1976. 288 p. Russian.
101. Quality of cord blood unit [Internet]. WMDA; 2019 [updated 2019 Dec 9]; [cited 2019 Dec 9]. Available from: <https://statistics.wmda.info/>
102. Reich-Slotky R, Colovai AI, Semidei-Pomales M, et al. Determining post-thaw CD34⁺ cell dose of cryopreserved



- the EU: the European Group on Ethics' Opinion on commercial cord blood banking. *Science and Public Policy*. 2012;39(1): 105–17.
87. Moll G, Geißler S, Catar R, et al. Cryopreserved or fresh mesenchymal stromal cells: only a matter of taste or key to unleash the full clinical potential of MSC therapy? *Adv Exp Med Biol*. 2016;951:77–98.
 88. Moroff G, Eichler H, Brand A, et al. Multiple-laboratory comparison of *in vitro* assays utilized to characterize hematopoietic cells in cord blood. *Transfusion*. 2006;46:507–15.
 89. Morris C, de Wreede L, Scholten M, et al. Chronic Malignancies and Lymphoma Working Parties of EBMT. Should the standard dimethyl sulfoxide concentration be reduced? Results of a European Group for Blood and Marrow Transplantation prospective noninterventional study on usage and side effects of dimethyl sulfoxide. *Transfusion*. 2014;54(10):2514–22.
 90. Motta JPR, Paraguassú-Braga FH, Bouzas LF, Porto LC. Evaluation of intracellular and extracellular trehalose as a cryoprotectant of stem cells obtained from umbilical cord blood. *Cryobiology*. 2014;68(3):343–8.
 91. Mueller C, Querol S. Chapter 7. Bone marrow registries and cord blood banks. In: Apperley J, Carreras E, Gluckman E, Masszi T, editors. *Haematopoietic Stem Cell Transplantation. The EBMT Handbook 6th Edition*; Genoa, Italy: Litoprint; p. 109–20.
 92. Page KM, Mendizabal A, Betz–Stablein B, et al. Optimizing donor selection for public cord blood banking: Influence of maternal, infant, and collection characteristics on cord blood unit quality. *Transfusion*. 2014;54(2):340–52.
 93. Page KM, Zhang L, Mendizabal A, et al. Total colony-forming units are a strong, independent predictor of neutrophil and platelet engraftment after unrelated umbilical cord blood transplantation: a single-center analysis of 435 cord blood transplants. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2011;17(9):1362–74.
 94. Page KM, Zhang L, Mendizabal A, et al. The Cord Blood Apgar: a novel scoring system to optimize selection of banked cord blood grafts for transplantation (CME). *Transfusion*. 2012;52(2):272–83.
 95. Pasha R, Elmoazzen H, Pineault N. Development and testing of a stepwise thaw and dilute protocol for cryopreserved umbilical cord blood units. *Transfusion*. 2017;57(7):1744–54.
 96. Passweg JR, Baldomero H, Bader P, et al. Hematopoietic stem cell transplantation in Europe 2014: more than 40000 transplants annually. *Bone Marrow Transplant*. 2016;51(6):786–92.
 97. Passweg JR, Baldomero H, Basak GW, et al. European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). The EBMT activity survey report 2017: a focus on allogeneic HCT for nonmalignant indications and on the use of non–HCT cell therapies. *Bone Marrow Transplant*. 2019;54(10):1575–85.
 98. Patterson J, Moore CH, Palsler E, et al. Detecting primitive hematopoietic stem cells in total nucleated and mononuclear cell fractions from umbilical cord blood segments and units. *J Transl Med [Internet]*. 2015 Mar 18 [cited 2019 Nov 19];13:94 Available from: <https://translational-medicine.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12967-015-0434-z>
 99. Petersdorf EW. The World Marrow Donor Association: 20 years of international collaboration for the support of unrelated donor and cord blood hematopoietic cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2010;45(5):807–10.
 100. Petrini C. Ethical issues in umbilical cord blood banking: a comparative analysis of documents from national and international institutions. *Transfusion*. 2013;53(4):902–10.
 101. Ponce DM, Hilden P, Devlin SM, et al. High disease-free survival with enhanced protection against relapse after double-unit cord blood transplantation when compared with T cell-depleted unrelated donor transplantation in patients with acute leukemia and chronic myelogenous leukemia. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2015;21:1985–93.
 102. Papat U, Mehta RS, Rezvani K, et al. Enforced fucosylation of cord blood hematopoietic cells accelerates neutrophil and hematopoietic progenitor cells demonstrates high recovery and confirms their integrity. *Vox Sang*. 2008;94(4):351–7.
 103. Rich IN. Improving quality and potency testing for umbilical cord blood: a new perspective. *Stem Cells Transl Med*. 2015;4(9):967–73.
 104. Rocha V, Labopin M, Ruggeri A, et al. Unrelated cord blood transplantation: outcomes after single–unit intrabone injection compared with double–unit intravenous injection in patients with hematological malignancies. *Transplantation*. 2013;95(10):1284–91.
 105. Rocha V, Labopin M, Sanz G, et al. Acute Leukemia Working Party of European Blood and Marrow Transplant Group; Eurocord-Netcord Registry. Transplants of umbilical-cord blood or bone marrow from unrelated donors in adults with acute leukemia. *N Engl J Med*. 2004;351(22):2276–85.
 106. Rodrigues CA, Rocha V, Dreger P, et al. Eurocord-Netcord and the Lymphoma Working Party; Chronic Leukemia Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. Alternative donor hematopoietic stem cell transplantation for mature lymphoid malignancies after reduced-intensity conditioning regimen: similar outcomes with UCB and unrelated donor peripheral blood. *Haematologica*. 2014;99(2):370–7.
 107. Romanova AF. [Chapter 5. Allogeneic bone marrow transplantation in complex treatment of patients with hypo- and aplastic anemia]. In: [Hypoplastic and aplastic anemia]. Kyiv: Zdorovia; 1982.; p. 78–122. Russian.
 108. Roy S, Arora S, Kumari P, Ta M. A simple and serum-free protocol for cryopreservation of human umbilical cord as source of Wharton's jelly mesenchymal stem cells. *Cryobiology*. 2014;68(3):467–72.
 109. Rubinstein P, Dobrila L, Rosenfield RE, et al. Processing and cryopreservation of placental/umbilical cord blood for unrelated bone marrow reconstitution. *Proc Natl Acad Sci USA. Medical Sciences*. 1995;92:10119–22.
 110. Ruggeri A, Rocha V, Masson E, et al. Impact of donor-specific anti-HLA antibodies on graft failure and survival after reduced intensity conditioning–unrelated cord blood transplantation: a Eurocord, Société Francophone d'Histocompatibilité et d'Immunogénétique (SFHI) and Société Française de Greffe de Moelle et de Thérapie Cellulaire (SFGM–TC) analysis. *Haematologica*. 2013;98(7):1154–60.
 111. Sacchi N. Is it time to re–think a sustainable banking model for the Italian Cord Blood Network? *Blood Transfus*. 2018;16(3):221–3.
 112. Sandhu KS, Brunstein C, DeFor T, et al. Umbilical cord blood transplantation outcomes in acute myelogenous leukemia/myelodysplastic syndrome patients aged ≥70 years. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2016;22(2):390–3.
 113. Secco M, Zucconi E, Vieira NM, et al. Multipotent stem cells from umbilical cord: cord is richer than blood! *Stem Cells*. 2008;26(1):146–50.
 114. Shrago MI. [Chapter 2. Cryoprotectants]. In: Tsutsayeva AA, editor. [Cryopreservation of cell suspensions]. Kyiv: Naukova Dumka; 1983. p. 12–25. Russian.
 115. Shu Z, Heimfeld S, Gao D. Hematopoietic SCT with cryopreserved grafts: adverse reactions after transplantation and cryoprotectant removal before infusion. *Bone Marrow Transplant*. 2014;49(4):469–76.
 116. Snowden JA, McGrath E, Duarte RF, et al. JACIE accreditation for blood and marrow transplantation: past, present and future directions of an international model for healthcare quality improvement. *Bone Marrow Transplant*. 2017;52(10):1367–71.
 117. Solocinski J, Osgood Q, Wang M, et al. Effect of trehalose as an additive to dimethyl sulfoxide solutions on ice formation, cellular viability, and metabolism. *Cryobiology*. 2017;75:134–43.



- platelet engraftment after transplantation. *Blood*. 2015; 125(19): 2885–92.
103. Powell K, Kwee E, Nutter B, et al. Variability in subjective review of umbilical cord blood colony forming unit assay. *Cytometry B Clin Cytom*. 2016;90(6):517–24.
 104. Quality of cord blood unit [Internet]. WMDA; 2019 [updated 2019 Dec 9]; [cited 2019 Dec 9]. Available from: <https://statistics.wmda.info/>
 105. Reich-Slotky R, Colovai AI, Semidei-Pomales M, et al. Determining post-thaw CD34⁺ cell dose of cryopreserved haematopoietic progenitor cells demonstrates high recovery and confirms their integrity. *Vox Sang*. 2008;94(4):351–7.
 106. Rich IN. Improving quality and potency testing for umbilical cord blood: a new perspective. *Stem Cells Transl Med*. 2015; 4(9):967–73.
 107. Rocha V, Labopin M, Ruggeri A, et al. Unrelated cord blood transplantation: outcomes after single-unit intrabone injection compared with double-unit intravenous injection in patients with hematological malignancies. *Transplantation*. 2013;95(10):1284–91.
 108. Rocha V, Labopin M, Sanz G, et al. Acute Leukemia Working Party of European Blood and Marrow Transplant Group; Eurocord–Netcord Registry. Transplants of umbilical-cord blood or bone marrow from unrelated donors in adults with acute leukemia. *N Engl J Med*. 2004;351(22):2276–85.
 109. Rodrigues CA, Rocha V, Dreger P, et al. Eurocord-Netcord and the Lymphoma Working Party; Chronic Leukemia Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. Alternative donor hematopoietic stem cell transplantation for mature lymphoid malignancies after reduced-intensity conditioning regimen: similar outcomes with UCB and unrelated donor peripheral blood. *Haematologica*. 2014;99(2):370–7.
 110. Roy S, Arora S, Kumari P, Ta M. A simple and serum-free protocol for cryopreservation of human umbilical cord as source of Wharton's jelly mesenchymal stem cells. *Cryobiology*. 2014;68(3):467–72.
 111. Rubinstein P, Dobrila L, Rosenfield RE, et al. Processing and cryopreservation of placental/umbilical cord blood for unrelated bone marrow reconstitution. *Proc Natl Acad Sci USA. Medical Sciences*. 1995;92:10119–22.
 112. Ruggeri A, Rocha V, Masson E, et al. Impact of donor-specific anti-HLA antibodies on graft failure and survival after reduced intensity conditioning–unrelated cord blood transplantation: a Eurocord, Société Francophone d'Histocompatibilité et d'Immunogénétique (SFHI) and Société Française de Greffe de Moelle et de Thérapie Cellulaire (SFGM–TC) analysis. *Haematologica*. 2013;98(7):1154–60.
 113. Sacchi N. Is it time to re-think a sustainable banking model for the Italian Cord Blood Network? *Blood Transfus*. 2018;16(3):221–3.
 114. Sandhu KS, Brunstein C, DeFor T, et al. Umbilical cord blood transplantation outcomes in acute myelogenous leukemia/myelodysplastic syndrome patients aged ≥70 years. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2016;22(2):390–3.
 115. Secco M, Zucconi E, Vieira NM, et al. Multipotent stem cells from umbilical cord: cord is richer than blood! *Stem Cells*. 2008;26(1):146–50.
 116. Shu Z, Heimfeld S, Gao D. Hematopoietic SCT with cryopreserved grafts: adverse reactions after transplantation and cryoprotectant removal before infusion. *Bone Marrow Transplant*. 2014;49(4):469–76.
 117. Snowden JA, McGrath E, Duarte RF, et al. JACIE accreditation for blood and marrow transplantation: past, present and future directions of an international model for healthcare quality improvement. *Bone Marrow Transplant*. 2017;52(10):1367–71.
 118. Solocinski J, Osgood Q, Wang M, et al. Effect of trehalose as an additive to dimethyl sulfoxide solutions on ice formation, cellular viability, and metabolism. *Cryobiology*. 2017;75: 134–43.
 119. Son JH, Heo YJ, Park MY, et al. Optimization of cryopreservation condition for hematopoietic stem cells from umbilical cord blood. *Cryobiology*. 2010;60(3):287–92.
 120. Standards & Accreditation. AABB Accredited Cord Blood (CB) Facilities [Internet]. AABB; 2019 [cited 2019 Nov 5]. Available from: <http://www.aabb.org/sa/facilities/celltherapy/Pages/CordBloodAccrFac.aspx>
 121. Stewart CL, Aparicio LC, Kerridge IH. Ethical and legal issues raised by cord blood banking – the challenges of the new bioeconomy. *Med J Aust*. 2013;199(4):290–2.
 122. Stolzing A, Naaldijk Y, Fedorova V, Sethe S. Hydroxyethylstarch in cryopreservation – mechanisms, benefits and problems. *Transfus Apher Sci*. 2012;46(2):137–47.
 123. Sum AK, Faller R, de Pablo JJ. Molecular simulation study of phospholipid bilayers and insights of the interactions with disaccharides. *Biophys J*. 2003;85(5):2830–44.
 124. Syme R, Bewick M, Stewart D, et al. The role of depletion of dimethyl sulfoxide before autografting: on hematologic recovery, side effects, and toxicity. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2004;10(2):135–41.
 125. Tanhehco YC, Schwartz J, Linenberger ML. Defining the quality of hematopoietic stem cell products: the devil is in the details. *Transfusion*. 2015;55(10):2300–3.
 126. The Guide to the quality and safety of tissues and cells for human application. EDQM 4th Edition [Internet]. EDQM Council of Europe; 2019 [cited 2019 Dec 16]. Available from: <https://www.edqm.eu/en/organs-tissues-and-cells-technical-guides>
 127. Total Number of Donors and Cord blood units [Internet]. WMDA; 2019 [updated 2019 Dec 9]; [cited 2019 Dec 9]. Available from: <https://statistics.wmda.info/>
 128. Tsutsayeva AA, Tsyganenko AY, Zheltyakova IA, et al. Influence of hypothermic storage before and after cryopreservation on properties of nucleated components and whole human cord blood plasma. *Problems of Cryobiology*. 2006;16(1):45–55.
 129. Ustun C, Giannotti F, Zhang MJ, et al. Outcomes of UCB transplantation are comparable in FLT3+ AML: results of CIBMTR, EUROCORD and EBMT collaborative analysis. *Leukemia*. 2017;31(6):1408–14.
 130. van den Broek BTA, Page K, Pavigianiti A, et al. Early and late outcomes after cord blood transplantation for pediatric patients with inherited leukodystrophies. *Blood Adv*. 2018;2(1): 49–60.
 131. Vieira Paladino F, de Moraes Rodrigues J, da Silva A, Goldberg AC. The Immunomodulatory Potential of Wharton's Jelly Mesenchymal Stem/Stromal Cells. *Stem Cells Int [Internet]*. 2019 Jun 11 [cited 2019 Dec 12];2019:3548917. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/sci/2019/3548917/>
 132. Volarevic V, Markovic BS, Gazdic M, et al. Ethical and Safety Issues of Stem Cell–Based Therapy. *Int J Med Sci [Internet]*. 2018 Jan 1 [cited 2019 Dec 12];15(1):36–45. Available from: <https://www.medsci.org/v15p0036.htm>
 133. Wagner JE, Gluckman E. Umbilical cord blood transplantation: the first 20 years. *Semin Hematol*. 2010;47(1):3–12.
 134. Whitby A, Whitby L, Fletcher M, et al. ISHAGE protocol: are we doing it correctly? *Cytometry B Clin Cytom*. 2012;82(1): 9–17.
 135. WMDA: matching donors, serving patients [Internet]. WMDA; 2019 [updated 2019 Dec]; [cited 2019 Dec 16]. Available from: <https://wmda.info>
 136. World Marrow Donor Association International Standards for Unrelated Hematopoietic Progenitor Cell Donor Registries. WMDA Standards 2017. Effective from 1st January 2017 [cited 2018 Jan 10]; 23 p. Available from: <https://wmda.info/wp-content/uploads/2017/05/20170101-BCST-WMDA-Standards-2017.pdf>.
 137. Yuan Y, Yang Y, Tian Y, et al. Efficient long-term cryopreservation of pluripotent stem cells at –80°C. *Sci Rep [Internet]*. 2016



119. Son JH, Heo YJ, Park MY, et al. Optimization of cryopreservation condition for hematopoietic stem cells from umbilical cord blood. *Cryobiology*. 2010;60(3):287–92.
120. Standards & Accreditation. AABB Accredited Cord Blood (CB) Facilities [Internet]. AABB; 2019 [cited 2019 Nov 5]. Available from: <http://www.aabb.org/sa/facilities/celltherapy/Pages/CordBloodAccrFac.aspx>
121. Stewart CL, Aparicio LC, Kerridge IH. Ethical and legal issues raised by cord blood banking – the challenges of the new bioeconomy. *Med J Aust*. 2013;199(4):290–2.
122. Stolzing A, Naaldijk Y, Fedorova V, Sethe S. Hydroxyethylstarch in cryopreservation – mechanisms, benefits and problems. *Transfus Apher Sci*. 2012;46(2):137–47.
123. Sum AK, Faller R, de Pablo JJ. Molecular simulation study of phospholipid bilayers and insights of the interactions with disaccharides. *Biophys J*. 2003;85(5):2830–44.
124. Syme R, Bewick M, Steward D, et al. The role of depletion of dimethyl sulfoxide before autografting: on hematologic recovery, side effects, and toxicity. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2004;10(2):135–41.
125. Tanhehco YC, Schwartz J, Linenberger ML. Defining the quality of hematopoietic stem cell products: the devil is in the details. *Transfusion*. 2015;55(10):2300–3.
126. The Guide to the quality and safety of tissues and cells for human application. EDQM 4th Edition [Internet]. EDQM Council of Europe; 2019 [cited 2019 Dec 16]. Available from: <https://www.edqm.eu/en/organs-tissues-and-cells-technical-guides>
127. Total Number of Donors and Cord blood units [Internet]. WMDA; 2019 [updated 2019 Dec 9]; [cited 2019 Dec 9]. Available from: <https://statistics.wmda.info/>
128. Ustun C, Giannotti F, Zhang MJ, et al. Outcomes of UCB transplantation are comparable in FLT3+ AML: results of CIBMTR, EUROCORD and EBMT collaborative analysis. *Leukemia*. 2017;31(6):1408–14.
129. van den Broek BTA, Page K, Paviglianiti A, et al. Early and late outcomes after cord blood transplantation for pediatric patients with inherited leukodystrophies. *Blood Adv*. 2018;2(1):49–60.
130. Vieira Paladino F, de Moraes Rodrigues J, da Silva A, Goldberg AC. The immunomodulatory potential of Wharton's jelly mesenchymal stem/stromal cells. *Stem Cells Int* [Internet]. 2019 Jun 11 [cited 2019 Dec 12];2019:3548917. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/sci/2019/3548917/>
131. Volarevic V, Markovic BS, Gazdic M, et al. Ethical and safety issues of stem cell-based therapy. *Int J Med Sci* [Internet]. 2018 Jan 1 [cited 2019 Dec 12];15(1):36–45. Available from: <https://www.medsci.org/v15p0036.htm>.
132. Wagner JE, Gluckman E. Umbilical cord blood transplantation: the first 20 years. *Semin Hematol*. 2010;47(1):3–12.
133. Whitby A, Whitby L, Fletcher M, et al. ISHAGE protocol: are we doing it correctly? *Cytometry B Clin Cytom*. 2012;82(1):9–17.
134. WMDA: matching donors, serving patients [Internet]. WMDA; 2019 [updated 2019 Dec]; [cited 2019 Dec 16]. Available from: <https://wmda.info>
135. World Marrow Donor Association International Standards for Unrelated Hematopoietic Progenitor Cell Donor Registries. WMDA Standards 2017. Effective from 1st January 2017 [cited 2018 Jan 10]; 23 p. Available from: <https://wmda.info/wp-content/uploads/2017/05/20170101-BCST-WMDA-Standards-2017.pdf>.
136. Yuan Y, Yang Y, Tian Y, et al. Efficient long-term cryopreservation of pluripotent stem cells at -80°C . *Sci Rep* [Internet]. 2016 Oct 3 [cited 2017 Dec 20]; 2016; 6: 34476. Available from: <https://www.nature.com/articles/srep34476>.
137. Zhou X, Liu Z, Shu Z, et al. A dilution–filtration system for removing cryoprotective agents. *ASME.ORG: J Biomech Eng* [Internet]. 2011 Jan 31 [cited 2018 Feb 10];133(2): Article ID 021007. Available from: <http://biomechanical.asmedigitalcollection.asme.org/article.aspx?articleid=1421143>.

