

УДК 612.64:618.32:616-056.7:616-079



Луценко Т. М.

ДУ «Інститут генетичної та регенеративної медицини НАМН», Київ, Україна

e-mail: tamaralutsenko@hotmail.com

# ФЕТАЛЬНИЙ МІКРОХИМЕРИЗМ ТА ПРЕНАТАЛЬНА ДІАГНОСТИКА СПАДКОВИХ ЗАХВОРЮВАНЬ

## РЕЗЮМЕ

При виявленні підозри на аномалію розвитку плоду виникає потреба у генетичній діагностиці, яка передбачає застосування інвазивних методів, таких як каріотипування клітин з амніотичної рідини, ворсин хоріона або кордової крові. На сьогоднішній день дослідниками розробляється ряд підходів, що можуть замінити інвазивну діагностику. Огляд присвячений явищу фетального мікрохимеризму, зокрема проблемам ідентифікації та виділення з крові матері фетальних клітин, які можуть виступати об'єктом аналізу для неінвазивної пренатальної діагностики хромосомних аберацій плоду.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** вагітність, фетальний мікрохимеризм, хромосомні аберації, пренатальна генетична діагностика.

Методи пренатальної діагностики патології плоду на сьогоднішній день складаються з неінвазивних та інвазивних підходів. Дородовий скринінг включає в себе ультразвуковий аналіз та неінвазивні тести, що проводяться для визначення резус-фактору плоду, його статі тощо, досліджуючи венозну кров матері. Інвазивні дослідження базуються на аналізі клітин плоду методом каріотипування. Для детекції генетичних змін аналізують біоптат хоріона плоду, амніотичну рідину, пуповинну кров, процедура отримання яких може призводити до ускладнень перебігу вагітності або передчасних пологів [1-4]. Серед підходів, що можуть замінити інвазивну діагностику патології плоду, застосовують імунофенотипічний та генетичний скринінг фетальних клітин (ФК), виділених з крові вагітної.

Наявність ФК у крові матері пов'язана з явищем трансплацентарної трансфузії – двонаправленого руху клітин між матір'ю та плодом протягом вагітності. Як показали дослідження, ФК починають мігрувати до крові матері приблизно по закінченню мезобластичного етапу гемопоезу у жовтковому мішку [5]. Здатні до міграції в організм матері клітини починають формуватися у жовтковому мішку вже на 4-му тижні гестації при нормальному перебігу вагітності. Але до 5-го тижня гестації, а саме до початку серцебиття плоду, ФК ще не потрапляють до крові матері [6]. Приживлені клітини плоду складають міnorну популяцію в організмі вагітної. Їх відсоткове співвідношення варіює протягом гестаційного періоду в залежності від триместру вагітності [7-9]. Кількість ФК у крові матері починає збільшуватись вже у першому триместрі, зростає з кожним тижнем вагітності і різко падає після народження дитини [10-12].

Результатом трансплацентарної трансфузії є явище мікрохимеризму (Мх), що характеризується приживленням ФК в організмі

матері (фетальний мікрохимеризм) та материнських – в тілі плоду (материнський мікрохимеризм). Такі клітини здатні до співіснування в одному організмі, хоча є генетично різноманітними. Популяція клітин, здатних до міграції та приживлення, є гетерогенною – вони експресують різноманітні маркери та отримали назву «мікрохимерні клітини» (MC – microchimeric cells) та/або прогеніторні клітини, асоційовані з вагітністю (PAPC – Pregnancy-associated progenitor cells) [13-16].

Явище фетального Мх – це фізіологічний процес, який підтверджений у плацентарних ссавців [17]. Присутність ФК плоду у крові матері під час вагітності може відігравати важливу прикладну роль у пренатальній діагностиці анеуплоїдій. А підбір селективних клітинних та молекулярно-генетичних маркерів ФК нівелює необхідність у стандартній інвазивній діагностиці. Однак при вагітності, що проходить без ускладнень, кількості ФК у крові матері недостатньо для генетичного скринінгу. При виникненні підозри на спадкову патологію продовжують використовувати інвазивні підходи [18]. Тому питання отримання достатньої кількості ФК з венозної крові матері для генетичного скринінгу на сьогоднішній день залишається відкритим та дискусійним. При цьому нові методи ідентифікації та виділення ФК можуть дозволити використовувати їх також в якості альтернативного джерела стовбурових клітин у регенеративній медицині.

Критеріями для вибору ФК у венозній крові матері в якості об'єкта для неінвазивної діагностики мають бути: тривалість їхнього життя; відсутність або обмежена здатність до проліферації; наявність специфічних маркерів, що експресуються на поверхні ФК і не експресуються на материнських клітинах; поява даного типу клітин при кожній вагітності; достатня кількість клітин на ранніх стадіях гестації або розробка методів підвищення їх концентрації, в тому числі можливість культивування [19].

Аналіз ФК на ранній стадії вагітності має ґрунтуватись на чутливих, ефективних та доступних експрес-методах. На сьогоднішній день методи якісної та кількісної ідентифікації ФК у крові вагітної базуються на імунофенотипуванні та використанні молекулярно-генетичних маркерів. Серед основних методів, що дозволяють детектувати та виділяти мінорну популяцію ФК з крові матері, є проточна цитометрія (FACS – fluorescence-activated cell sorting) [20-23], магнітний сортинг клітин (MACS – magnetic-activated cell sorting) [22, 24, 25], флуоресцентна гібридизація in-situ (FISH – fluorescence in situ hybridization) [24-29], імуноцитохімія [21, 27, 28, 30], полімеразна ланцюгова реакція (PCR – polymerase chain reaction) [22, 27-29], методи хромосомного мікроматричного аналізу на основі ДНК-чипів [22-24, 26, 31] та секвенування [32-36]. За допомогою комбінації вище названих підходів дослідники вивчають міграцію ФК як на молекулярному (ДНК), так і клітинному рівні.

### ФЕТАЛЬНІ КЛІТИНИ – ЯК ПОТЕНЦІЙНІ МАРКЕРИ У ПРЕНАТАЛЬНІЙ ДІАГНОСТИЦІ СПАДКОВИХ ЗАХВОРЮВАНЬ

Було показано, що у крові матері під час вагітності циркулюють такі типи ФК: клітини трофобласту [37, 38], ядерні еритроцити (erythroblasts or NRBCs – nucleated red blood cell) [39], лімфоцити [40], фетальні прогеніторні клітин [14-16, 41-43].

**Клітини трофобласту.** У 1982 році С. Goodfellow та Р. Taylor вперше виділили клітини трофобласту з крові вагітної жінки, використовуючи різні градієнти щільності [37]. Особлива морфологія клітин трофобласту дозволяє ідентифікувати їх під мікроскопом, використовуючи методи імуноцитохімії. В роботі Covone A. та ін. в крові вагітних, починаючи з 6-го тижня гестації, методом проточної цитофлуориметрії було детектовано клітини трофобласту, використовуючи антитіла H315 до синцитіальних клітин [44]. В подальших дослідженнях був виділений пул без'ядерних клітин, що, можливо, походить від синцитіотрофобласту і відноситься до фетальних клітин. Однак результати саузерн-блот аналізу (Southern transfer using Y-specific probes) показали, що H315 антиген також присутній на поверхні материнських лімфоцитів і не може бути використаний в якості специфічного маркера клітин плоду [30].

Іншими дослідниками було показано, що клітини плоду на 10-21-му тижні гестації мають високу експресію гену тимідинкінази (ТК), що не є типовим для клітин здорового дорослого організму. Нативні клітини трофобласту, клітини з амніотичної рідини, фетальні фібробласти та фібробласти дорослого організму, а також фетальну кордову кров аналізували на активність ТК в порівнянні із зразком периферичної крові дорослого організму. Найбільша активність ферменту була виявлена в клітинах трофобласту, в той же час в зразках периферичної крові вона була відсутня. Кількість клітин з високою тимідинкіназною активністю складала від 30 до 60 на 30 мільйонів усіх клітин у зразку. Тобто, як показано у роботі Hengstschläger M. та ін., метод виявлення ТК-позитивних клітин може використовуватись для детекції ФК [45]. Однак при перебігу вагітності без патологій, клітини трофобласту досить рідко зустрічаються у крові матері [46]. Також клітини трофобласту анатомічно є структурними елементами плаценти, а для виявлення фетальних хромосомних аберацій важливо аналізувати саме матеріал з тканин плоду, а не плаценти [47, 48].

Показано, що синцитіальні клітини трофобласту протягом вагітності з кров'ю переносяться до легень матері, де підлягають апоптозу. Фетальна ДНК потрапляє з легневих капілярів в кров матері у вигляді екзогенної ДНК (cffDNA – cell-free fetal-derived DNA) [49]. На сьогоднішній день cffDNA є досить актуальним об'єктом, що широко застосовується для пренатальної діагностики генетичних аномалій плоду [4, 18, 32, 35, 36, 50].

**Ядровісні еритроцити.** Протягом перших двох стадій гемопоезу ембріону (мезобластичного та печінкового) на перших двох тижнях вагітності відбувається активний еритропоез у жовтковому мішку, а з п'ятого тижня гестації – у печінці плоду [51]. З цього випливає, що вже у першому триместрі вагітності до крові матері можуть над-

ходити переважно ядерні еритроцити фетального походження. Це попередники зрілих еритроцитів, які ще містять у собі ядро. Протягом перших 10-20 тижнів вагітності вміст ядерних еритроцитів складає 10 % від загальної популяції клітин крові плоду, в той час коли у дорослого організму сягає лише 0,1 % [7-9].

Для виявлення ядерних еритроцитів плоду методом FACS аналізу використовували антитіла проти поверхневих антигенів трансферину (CD71) та глікофорину А (GPA), а також внутрішньоклітинні маркери, такі як фетальний та ембріональний гемоглобін [52-55]. За попередніми дослідженнями популяція еритробластів може стати потенційним об'єктом для аналізу та проведення неінвазивної пренатальної генетичної діагностики плоду, що замінить інвазивний аналіз клітин з амніотичної рідини, хоріона або кордової крові [56, 57].

Встановлено, що строк життя еритробластів складає 120 діб, відповідно, це унеможливорює персистенцію даних клітин у крові матері з попередніх вагітностей, на відміну від лімфоцитів фетального походження [58, 59]. Групою дослідників Choolani M. та ін. був розроблений протокол виділення фетальних еритробластів з крові вагітної жінки на 8-13-му тижні гестації. Сортування ядерних еритроцитів плоду з материнської крові проводили методом MACS, використовуючи панель антитіл проти GPA, CD47, CD45, CD35, CD36, CD71. Результати досліджень показали низьку експресію CD71 на поверхні ФК в порівнянні з еритроцитами дорослого організму [60], хоча в дослідженнях інших авторів в якості маркера ядерних еритроцитів плоду використовувався саме CD71 [61-63]. Крім того, було показано низьку чутливість методів FISH та MACS, розроблених в попередніх експериментах іншими робочими групами, для виділення еритробластів плоду з венозної крові матері [64].

**Фетальні лімфоцити.** Фетальні лімфоцити вперше були описані групою дослідників на чолі з Walknowska J. у 1969 році [65]. Для виявлення ФК ними було проведено цитологічне дослідження на наявність Y-хромосоми в клітинах крові здорових вагітних жінок, що мали плід чоловічої статі. Інші дослідники, використовуючи FACS-аналіз, проводили сортування ФК з крові матері, використовуючи антитіла до людського лімфоцитарного антигену HLA-A2, що експресується лише на поверхні фетальних лімфоцитів і не експресується на лімфоцитах матері [20, 66]. Даний метод потребує попереднього HLA типування обох батьків, а також чутливих маркерів для ідентифікації лімфоцитів плоду серед материнських клітин. Крім того, аналізуючи фетальні лімфоцити, треба брати до уваги попередні історії вагітності жінки – в результаті мікрохимеризму PАРС- клітини можуть прижитися в організмі матері ще з попередніх вагітностей [42].

**Фетальні прогеніторні клітини.** Відомо, що фетальні гемопоетичні стовбурові (ГСК), мультипотентні мезенхімальні стромальні клітини (ММСК) [41] та ендотеліальні прогеніторні клітини [25] циркулюють у крові матері протягом вагітності. Дослідники припускають, що ФК потрапляють у кров матері ще до формування плаценти [67]. За результатами досліджень, отриманих на моделях тварин [68], прогеніторні ФК населяють кров матері на ранній стадії розвитку плоду після імплантації і мають здатність до мультилінійного диференціювання [69]. Припускають, що ФК проявляють свій репаративний потенціал в місцях пошкодження тканини в організмі матері під час вагітності та після народження [28, 43, 69-73].

На моделі вагітних мишей з індукованою реакцією контактної гіперчутливості було продемонстровано міграцію прогеніторних ФК в місця пошкодження тканини вагітної тварини. Популяція клітин відповідала фенотипу CD31-позитивних ендотеліальних прогеніторів, що вкривали внутрішню стінку кровоносних судин матері. Тобто на модельних тваринах показано, що неангіогенез під час вагітності може частково проходити і за участі фетальних ендотеліальних прогеніторів [72].

Інші дослідження були проведені на мишиних моделях з пошкодженням шкіри та спинного мозку під час вагітності, продемонструвавши підвищення кількості ФК лише в місцях пошкодження відповідних тканин, в порівнянні з контрольними тваринами. Формування

кровоносних судин спостерігали навколо місць ураження, що вказує на репаративний потенціал ФК. З цього випливає, що явище Мх може бути пов'язано з підвищенням проліферації ФК в організмі реципієнта, а не лише їх міграцією [74]. Зокрема, після ураження печінки та нирки клітини плоду здатні мігрувати до центрів уражень та трансформуватись у гепатоцити та тубулярні клітини [69], при пошкодженні міокарду – в ендотеліоцити, гладком'язові клітини та кардіоміоцити [71].

В дослідженнях на людях оперативне втручання у вагітних, які народжували шляхом кесаревого розтину, оцінювалось в якості моделі пошкодження тканини. Присутність кератиноцитів фетального походження, що експресували цитокератин, в епідермісі шкіри жінки після кесаревого розтину було підтверджено методами FISH та імуноцитохімії. Крім цитокератину ФК клітини експресували трансформуючий фактор росту TGF- $\beta$  (transforming growth factor beta), а також колаген I та III типів, що може вказувати на участь клітин плоду у репарації тканини матері. При цьому ФК були відсутні в тканинах передньої черевної стінки у жінок, які народили природним шляхом [28].

В інших дослідженнях для детекції ФК з венозної крові матері використовували метод MACS та панель антитіл проти антигенів CD34, CD105, CD141 та CD146. На аналіз брали зразки крові жінок на 11-13-му тижнях гестації, що мали першу вагітність, а плід у них був чоловічої статі. Серед Y-позитивних клітин виявлено популяцію клітин, які несли на собі одночасно маркери клітин трофобласту (цитокератин) та CD105. Подальші дослідження показали, що антитіла до CD141 також мають високу специфічність до ФК плоду [25, 26]. Клітини трофобласту з фенотипом CD105 та CD141 відносять до підгрупи ендovasкулярних. Фетальні ендovasкулярні клітини трофобласту мігрують до місця приріплення плаценти, де вони заселяють артерії і заміщують материнські ендотеліальні клітини на ранніх стадіях вагітності, забезпечуючи трансплацентарну трансфузію між матір'ю та плодом [75, 76]. Одночасна експресія ендотеліального та васкулярних маркерів на поверхні клітин свідчить про те, що ФК, які походять з ектодермального зародкового листка, адаптуються у новому васкулярному мікрооточенні в організмі матері [77]. Комбінація ектодермального (цитокератин) та мезодермального (CD105 і CD141) маркерів, що експресуються на поверхні клітин трофобласту, може стати потенційним набором для детекції та виділення ФК з крові матері у пренатальній діагностиці спадкових патологій плоду.

В роботі Mikhail M. та ін. CD34<sup>+</sup> клітини були виділені з венозної крові жінок, які зазнали хірургічного переривання вагітності на 9-13-му тижнях гестації. За результатами дослідження популяція ФК мала гетерогенний характер з фенотипом стовбурових та прогеніторних клітин. Однак ця популяція також містила пул клітин з адгезивними властивостями, що потенційно можуть давати початок різним тканинам матері в печінці, серці, підшлунковій залозі та клітинам ендотелю [13, 78].

Групою дослідників Parant O. та ін. були взяті на аналіз зразки з міжворсинчатого простору хоріона при народженні дитини природним шляхом та при кесаревому розтині. Більшість CD34<sup>+</sup> клітин в біопаті мали фетальне походження. Крім того, клітини, що мали фенотип CD34<sup>+</sup> одночасно несли на собі маркер CD31 та не експресували CD117, CD133, що вказує на їх ендотеліальне, а не гемопоетичне походження [79]. Однак, як показано у роботі Bianchi D. та ін., клітини плоду з фенотипом CD34<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup> були детектовані серед мононуклеарів крові матері більше ніж через 20 років після пологів [42]. З цього випливає, що CD34<sup>+</sup> ФК здатні заселяти організм матері з попередніх вагітностей, тому не можуть бути зручним клінічно значимим об'єктом для пренатальної генетичної діагностики [80].

Фетальні ММСК були виявлені у венозній крові матері групою дослідників O'Donoghue K. та ін. Встановлено, що мононуклеари, виділені з периферичної крові вагітної у першому триместрі (7-13-й тижні гестації), не експресують на своїй поверхні CD45 та глікофорин А. За результатами проточної цитометрії ФК мали фенотип CD45<sup>-</sup>CD14<sup>-</sup>CD11a<sup>-</sup>CD49b<sup>-</sup>SH2<sup>-</sup>SH3<sup>-</sup>Vimentin<sup>+</sup>CD29<sup>+</sup>CD49e<sup>+</sup>CD106<sup>+</sup> та HLA-IV

[74]. Мезенхімальне походження клітин було підтверджено подальшим їх культивуванням та направленим диференціюванням *in vitro* в остеогенному та адипогенному напрямках.

На сьогодні фетальні ММСК, отримані з крові матері у першому триместрі вагітності, деякі дослідники розглядають в якості альтернативного джерела стовбурових клітин для потреб регенеративної медицини. В порівнянні з ФК, отриманими з абортного матеріалу, фетальні ММСК мають довші теломери та експресують транскрипційні фактори NANOG та Oct4, що регулюють самовідновлення недиференційованих ембріональних стовбурових клітин. Ці білки є маркерами клітин, які здатні до мультилінійного диференціювання [81, 82]. Зміна експресії білку Oct4 напрума впливає на диференціацію клітин. Цікавим є те, що транскрипційний фактор Oct4 проявляє свою активність ще у ооциті і до процесу імплантації. Отже, ФК, що мігрують до крові матері, є низькодиференційованими і, можливо, плюрипотентними з високою здатністю до самовідновлення. Хоча транскрипційний фактор Oct4 не єдина обов'язкова ознака плюрипотентних клітин, він є маркером клітин, які зберігають здатність набувати плюрипотентності [83]. Тому для дослідження регенераторного потенціалу ФК важливим є пошук та визначення експресії транскрипційних білків, зокрема таких, як Oct4.

### КУЛЬТИВУВАННЯ ФЕТАЛЬНИХ КЛІТИН

Для проведення неінвазивного генетичного скринінгу клітин плоду на наявність можливих хромосомних аберацій необхідно отримати достатню кількість ФК з венозної крові матері. Одним із підходів для отримання необхідної кількості клітин плоду є їх культивування *in vitro* з одночасною супресією клітин материнського походження.

Тривалий час вважалося, що ядерні еритроцити плоду можуть стати зручним об'єктом для культивування. Групою дослідників Choolani M. та ін. проводилась порівняльна характеристика умов культивування еритроblastів. Для аналізу були виділені еритроblastи з хоріона плоду та з периферичної крові вагітної. Популяція ембріональних еритроblastів характеризувалась низькою експресією CD71 [60]. Тому в даній роботі для сортування фетальних ядерних еритроцитів з периферичної крові матері використали поверхневий маркер до еритроїдного антигену глікофорину А. За результатами досліджень, фетальні еритроblastи, що були виділені з периферичної крові матері, мали меншу здатність до проліферації *in vitro*, в порівнянні з еритроblastами, виділеними з хоріона плоду [84]. Це обумовлює необхідність подальших досліджень у напрямку розробки методів культивування фетальних ядерних еритроцитів з крові матері для пренатальної генетичної діагностики.

Ембріональний та фетальний розвиток супроводжується активним ангиогенезом. Ростовий фактор ангиогенезу VEGF (vascular endothelial growth factor) з високоафінним рецептором тирозинкінази flk-1 (fetal liver kinase 1) сприяє диференціації ендотеліальних клітин з клітин-попередників [85, 86]. Група дослідників Gussin F. та ін. припустили, що в кров матері під час вагітності можуть мігрувати попередники ендотеліальних клітин фетального походження [87]. Для перевірки явища міграції була створена модель постнатального ангиогенезу *in vitro*. Зразки венозної крові вагітних з плодом чоловічої статі були взяті на 15-20-й тиждень гестації. Культивування виділених мононуклеарів проводили в умовах індукції ендотеліального диференціювання. Селекцію ФК серед материнських проводили за допомогою різної тривалості культивування. Відомо, що колонії попередників материнських ендотеліальних клітин формуються на ранній стадії культивування (на першому тижні пасажування), а колонії фетальних ендотеліальних прогеніторів – на 4-6-му тижні [88]. Результати досліджень показали, що ендотеліальні прогенітори були ідентифіковані лише у культурі клітин із зразків мононуклеарів вагітних жінок і не були знайдені серед клітин контрольних зразків. Однак, за результатами FISH-аналізу клітин з каріотипом XY в культурі ендотеліальних прогеніторів виявлено не було. Це вказує на материнське походження культивованих попередників ендотеліальних клітин [89].

## ФЕТАЛЬНИЙ МІКРОХИМЕРИЗМ ТА СУЧАСНІ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНІ МЕТОДИ В ПРЕНАТАЛЬНІЙ ДІАГНОСТИЦІ СПАДКОВОЇ ПАТОЛОГІЇ ПЛОДУ

### Хромосомний мікроматричний аналіз

Метод хромосомного мікроматричного аналізу використовується для виявлення хромосомних аберацій, включаючи мінімальні мутації, чутливості до яких стандартного каріотипування недостатньо. Це повногеномний скринінг на основі технології мікрочіпів, який дозволяє визначати делеції та дуплікації ДНК, однонуклеотидні поліморфізми (SNP), локалізацію та тип специфічних генетичних змін в клітинах плоду.

Існує два типи мікрочіпів, що використовують у клініці: платформи для порівняльної хромосомної гібридизації та SNP-мікрочіпи, що виявляють різні типи генетичних змін. Даний метод оснований на гібридизації ДНК плоду з чіпом, що містить фрагменти ДНК відомої послідовності. Обробка даних проводиться за допомогою складного комп'ютерного аналізу. Відзначають високу роздільну здатність методу, швидкість отримання результатів, оскільки він не потребує культивування клітин, а також стандартизованість підходу, в порівнянні із звичайним цитогенетичним аналізом. Недоліками методів хромосомної гібридизації та SNP-мікрочіпів є їх вузька специфічність та неможливість визначення збалансованих інверсій, збалансованих транслокацій та низькорівневого мозаїцизму. Також для проведення хромосомного мікроматричного аналізу все ж необхідне інвазивне втручання, оскільки ДНК плоду виділяють з амніотичної рідини або з ворсин хоріона плоду [31].

В якості альтернативного неінвазивного підходу, в роботах Brinch M. та Hatt L. та ін. метод мікроматричного аналізу використовували для порівняльної характеристики експресії генів фетальних та материнських клітин, виділених з венозної крові матері. Використовуючи метод MACS, лейкоцити материнського походження були еліміновані із зразка крові. Для ідентифікації Y-позитивних ФК був застосований метод FISH. Детектовані таким чином клітини фетального походження ізолювали методом лазерної мікродисекції та виділяли матричну РНК для подальшого генетичного скринінгу. За результатами мікроматричного аналізу було виявлено 28, а згодом 39 генів, що можуть

стати потенційними маркерами ФК. Більша частина цих генів експресується у плаценті, а саме на поверхні клітин трофобласту [24, 25].

### Секвенування нового покоління – Next Generation Sequences

На сьогоднішній день метод секвенування нового покоління має прикладне значення в пренатальній діагностиці для визначення хромосомних фетальних анеуплоїдій. У серпні 2011 року у Гонконзі, а згодом у жовтні того ж року у США вперше був запропонований комерційний неінвазивний пренатальний генетичний тест NIPT (noninvasive prenatal test) [24], що став проміжним методом між стандартними неінвазивними та інвазивними підходами у пренатальній діагностиці генетичної патології плоду [18, 50]. NIPT оснований на виявленні cfDNA в крові матері, подальшому її секвенуванні та аналізі. Відомо три методичних підходи для проведення NIPT: повне секвенування геному [90-94], селективне секвенування ділянок хромосом [95-97], SNP-тестування – аналіз поліморфних локусів [98-100].

У 2014 році кількома американськими компаніями були представлені комерційні продукти на основі технології NIPT. Першим з них був тест MaterniT21Plus™, розроблений компанією Sequenom (США). На сьогоднішній день комерційно доступні NIPT технології дозволяють ідентифікувати анеуплоїдії за хромосомами 13, 16, 18, 21, 22, X, Y. Крім того, даний тест дає можливість визначити стать дитини, підтвердити батьківство, виявити мікроделеції тощо. Низький рівень псевдопозитивних результатів (1-3 %) та відсутність потреби у інвазивних процедурах сприяє зростанню попиту на даний продукт серед населення. Однак вартість NIPT діагностики за даними на 2015 рік коливалась у межах 795-3000 доларів США [18].

Ще одним прикладом є неінвазивний тест фетальної трисомії (The NIFTY™ test – Non-Invasive Fetal Trisomy test), розроблений китайською компанією BGI. The NIFTY™ test призначений для діагностування синдрому Дауна у плода вже з 12-го тижня гестації, використовуючи кров жінок. Попередні дослідження показали низький відсоток псевдопозитивних результатів методу. Однак однією з умов для використання даної тест-системи є відсутність попередніх вагітностей в анамнезі. Крім того, одним із вагомих недоліків також є висока вартість досліджень [32].

## ВИСНОВКИ

*Протягом тривалого часу пренатальна діагностика аномалій розвитку плоду базувалась на застосуванні інвазивних методів отримання біологічного матеріалу для дослідження, до яких належать біопсія хоріона, амніоцентез, плацентоцентез, кордоцентез і не могла бути замінена неінвазивними методами. На сьогодні вже доведено, що альтернативним джерелом генетичного матеріалу плоду може виступати венозна кров матері. Однак кількості ФК в крові матері при нормальному перебігу вагітності для каріотипування недостатньо. Тому було розроблено ряд підходів з метою отримання необхідної кількості ФК з венозної крові матері для подальшого скринінгу генетичних патологій плоду.*

*Донедавна вважалося, що популяція фетальних еритробластів з крові вагітної може виступати в якості цільових клітин для розробки підходів для неінвазивної пренатальної генетичної діагностики. Однак фетальні еритробласти, що були виділені з периферичної крові матері, мали меншу здатність до проліферації in vitro в порівнянні з еритробластами, виділеними з хоріона плоду. Тому залишається актуальним підбір оптимальних умов культивування еритробластів. Особливу увагу привернули фетальні ендотеліальні прогенітори, що можуть стати потенційним об'єктом для пренатальної діагностики хромосомних аномалій плоду. Показано, що фетальні ендотеліоцити здатні замінювати материнські ендотеліальні клітини на ранніх стадіях вагітності. Подальші дослідження мають бути спрямовані у напрямку селекції фетальних ендотеліальних прогеніторів від материнських клітин в умовах in vitro. Фетальні мультипотентні мезенхімальні стовбурові клітини, отримані з крові матері у першому триместрі вагітності, на сьогодні розглядають як альтернативне джерело стовбурових клітин для потреб регенеративної медицини.*

*Методи ідентифікації ФК у організмі матері в основному зосереджені на визначенні Y-хромосоми методами FISH та PCR. Проте такий підхід є інформативним в експериментальних дослідженнях клітин плоду чоловічої статі і не може бути універсальним для широкої пренатальної діагностики хромосомних аберацій. Тому у клінічній практиці використовують методи HLA-типуювання, що дозволяють відрізнити клітини обох статей.*



## ВИСНОВКИ

Серед підходів до виявлення та аналізу фетального генетичного матеріалу у крові вагітної, що викликають найбільший інтерес, слід відзначити генетичний скринінг екзогенної ДНК плоду, виділеної з крові матері. Клінічні дослідження показали низький відсоток псевдо-позитивних результатів, високу чутливість методу та безпечність проведення процедур. Проте висока вартість досліджень на сьогоднішній день є однією з причин обмеженого попиту на NIPT-технології серед населення. Розвиток нових експрес-підходів для геномного секвенування з нижчою собівартістю дозволить використовувати дану технологію не лише для пренатальної діагностики фетальних анеуплоїдій, але і для виявлення іншої спадкової патології, в тому числі генних мутацій.

Особливо актуальним залишається пошук нових маркерів для ідентифікації та аналізу ФК на клітинному рівні, що викликає неабиякий інтерес не лише у прикладному аспекті пренатальної діагностики, але й для фундаментальних досліджень у регенеративній медицині та трансплантології.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Analysis of limb reduction defects in babies exposed to chorionic villus sampling [Text] / H. V. Firth, P. A. Boyd, P. F. Chamberlain, et al. // Lancet. – 1994. – Vol. 343, № 8905. – P. 1069-1071.
2. Procedure-related complications after genetic amniocentesis and chorionic villus sampling [Text] / M. Kollmann, M. Haeusler, J. Haas, et al. // Ultraschall. Med. – 2013. – Vol. 34, №4. – P. 345-348.
3. Randomised controlled trial of genetic amniocentesis in 4606 low-risk women [Text] / A. Tabor, J. Philip, M. Madsen, et al. // Lancet. – 1986. – Vol. 1, № 8493. – P. 1287-1293.
4. Norwitz E. R. Noninvasive prenatal testing: the future is now [Text] / E.R. Norwitz, B. Levy // Rev. Obstet. Gynecol. – 2013. – Vol. 6, № 2. – P. 48-62.
5. Human embryonic hemopoiesis. Kinetics of progenitors and precursors underlying the yolk sac-liver transition [Text] / G. Migliaccio, A. R. Migliaccio, S. Petti, et al. // J Clin Invest. – 1986. – Vol. 78, № 1. – P. 51-60.
6. Y chromosome sequence DNA amplified from peripheral blood of women in early pregnancy [Text] / M. R. Thomas, R. Williamson, I. Craft, et al. // Lancet. – 1994. – Vol. 343, № 8894. – P. 413-414.
7. Normal blood cell values in the early mid-trimester fetus [Text] / D. S. Millar, L. R. Davis, C. H. Rodeck, et al. // Prenat Diagn. – 1985. – Vol. 5, № 6. – P. 367-373.
8. Hematologic values and lymphocyte subsets in fetal blood [Text] / M. de Waele, W. Foulon, W. Renmans, et al. // Am J Clin Pathol. – 1988. – Vol. 89, № 6. – P. 742-746.
9. Developmental hematopoiesis in normal human fetal blood [Text] / F. Forestier, F. Daffos, N. Catherine, et al. // Blood. – 1991. – Vol. 77, № 11. – P. 2360-2363.
10. Kinetics of fetal cellular and cell-free DNA in the maternal circulation during and after pregnancy: implications for noninvasive prenatal diagnosis [Text] / H. Ariga, H. Ohto, M. P. Busch, et al. // Transfusion. – 2001. – Vol. 41, № 12. – P. 1524-1530.
11. Quantitative analysis of the bidirectional fetomaternal transfer of nucleated cells and plasma DNA [Text] / Y. M. Lo, T. K. Lau, L. Y. Chan, et al. // Clin. Chem. – 2000. – Vol. 46, № 9. – P. 1301-1309.
12. Identification of mesenchymal stem/progenitor cells in human first-trimester fetal blood, liver, and bone marrow [Text] / C. Campagnoli, I. A. Roberts, S. Kumar, et al. // Blood. – 2001. – Vol. 98, № 8. – P. 2396-2402.
13. High frequency of fetal cells within a primitive stem cell population in maternal blood [Text] / M. A. Mikhail, H. MHamdi, J. Welsh, et al. // Hum Reprod. – 2008. – Vol. 23, № 4. – P. 928-933.
14. Transfer of fetal cells with multilineage potential to maternal tissue [Text] / K. Khosrotehrani, K. L. Johnson, D. H. Cha, et al. // JAMA. – 2004. – Vol. 292, №1. – P. 75-80.
15. Pregnancy-associated progenitor cells: an under-recognized potential source of stem cells in maternal lung [Text] / S. Pritchard, A. M. Hoffman, K. L. Johnson, et al. // Placenta. – 2011. – Vol. 32, № 4. – P. 298-303.
16. Bianchi D. W. Fetomaternal cell traffic, pregnancy-associated progenitor cells, and autoimmune disease [Text] / D. W. Bianchi // Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol. – 2004. – Vol. 18, № 6. – P. 959-975.
17. Pineda-Krch M. Costs and benefits of genetic heterogeneity within organisms [Text] / M. Pineda-Krch, K. Lehtilä // J Evol Biol. – 2004. – Vol. 17, № 6. – P. 1167-1177.
18. Non-invasive prenatal testing: a review of international implementation and challenges [Text] / M. Allyse, M. A. Minear, E. Berson, et al. // Int J Womens Health. – 2015. – Vol. 16, № 7. – P. 113-126.
19. Ho S. S. Fetal cells in maternal blood: state of the art for non-invasive prenatal diagnosis [Text] / S. S. Ho, K. O'Donoghue, M. Choolani // Ann Acad Med Singapore. – 2003. – Vol. 32, № 5. – P. 597-603.
20. Detection and isolation of fetal cells from maternal blood using the fluorescence-activated cell sorter (FACS) [Text] / G. M. Iverson, D. W. Bianchi, H. M. Cann, et al. // Prenat Diagn. – 1981. – Vol. 1, № 1. – P. 61-73.
21. Aorta-Associated CD34<sup>+</sup> Hematopoietic Cells in the Early Human Embryo [Text] / M. Tavian, L. Coulombel, D. Luton, et al. // Blood. – 1996. – Vol. 87, № 1. – P. 67-72.
22. New cell surface markers for murine fetal hepatic stem cells identified through high density complementary DNA microarrays [Text] / D. Nierhoff, L. Levoci, S. Schulte, et al. // Hepatology. – 2007. – Vol. 46, № 2. – P. 535-547.
23. Comprehensive Analysis of Genes Expressed by Rare Microchimeric Fetal Cells in the Maternal Mouse Lung [Text] / S. Pritchard, H. Wick, D. Slonim, et al. // Biol Reprod. – 2012. – Vol. 87, № 2. – P. 42. doi:10.1095/biolreprod.112.101147
24. Identification of circulating fetal cell markers by microarray analysis [Text] / M. Brinch, L. Hatt, R. Singh, et al. // Prenat Diagn. – 2012. – Vol. 32, № 8. – P. 742-751.
25. Characterization of fetal cells from the maternal circulation by microarray gene expression analysis--could the extravillous trophoblasts be a target for future cell-based non-invasive prenatal diagnosis? [Text] / L. Hatt, M. Brinch, R. Singh et al. // Fetal Diagn Ther. – 2013. – Vol. 35, № 3. – P. 218-227.
26. A new marker set that identifies fetal cells in maternal circulation with high specificity [Text] / L. Hatt, M. Brinch, R. Singh, et al. // Prenat Diagn. – 2014. – Vol. 34, № 11. – P. 1066-1072.
27. Uterine vasculature remodeling in human pregnancy involves functional macrochimerism by endothelial colony forming cells of fetal origin [Text] / P. I. Sipes, W. Rens, H. Schlecht, et al. // Stem Cells. – 2013. – Vol. 31, № 7. – P. 1363-1370.
28. Mahmood U. Microchimeric fetal cells play a role in maternal wound healing after pregnancy [Text] / U. Mahmood, K. O'Donoghue // Chimerism. – 2014. – Vol. 5, № 2. – P. 40-52.
29. Fetal cell microchimerism: a protective role in autoimmune thyroid diseases [Text] / V. Cirello, R. Rizzo, M. Crippa, et al. // Eur J Endocrinol. – 2015. – Vol. 173, № 1. – P. 111-118.

30. Analysis of peripheral maternal blood samples for the presence of placenta-derived cells using Y-specific probes and McAb H315 [Text] / A. E. Covone, R. Kozma, P. M. Johnson, et al. // *Prenat Diagn.* – 1988. – Vol. 8, № 8. – P. 591-607.
31. Committee Opinion No. 581: the use of chromosomal microarray analysis in prenatal diagnosis [Text] / *Obstet Gynecol.* – 2013. – Vol. 122, № 581. – P. 1374-1377. doi: 10.1097/01.AOG.0000438962.16108.d1
32. Clinical utility of noninvasive fetal trisomy (NIPT) test – early experience [Text] / T. K. Lau, M. K. Chan, P. S. Lo, et al. // *The Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine.* – 2012. – Vol. 25, № 10. – P. 1856-1859.
33. A new era in prenatal care: non-invasive prenatal testing in Switzerland [Text] / G. Manegold-Brauer, A. Kang Bellin, S. Hahn, et al. // *Swiss Med Wkly.* – 2014. – Vol. 4, № 144. – P. w13915.
34. Haplotype counting by next-generation sequencing for ultrasensitive human DNA detection [Text] / M. Debeljak, D. N. Freed, J. A. Welch, et al. // *J Mol Diagn.* – 2014. – Vol. 16, № 5. – P. 495-503.
35. Everett T. R. Cell-free fetal DNA: the new tool in fetal medicine [Text] / T. R. Everett, L. S. Chitty // *Ultrasound Obstet Gynecol.* – 2015. – Vol. 45, № 5. – P. 499-507.
36. A Method to Quantify Cell-Free Fetal DNA Fraction in Maternal Plasma Using Next Generation Sequencing: Its Application in Non-Invasive Prenatal Chromosomal Aneuploidy Detection [Text] / X. P. Xu, H. Y. Gan, F. X. Li, et al. // *PLoS One.* – 2016. – Vol. 11, № 1. – P. e0146997.
37. Goodfellow C. F. Extraction and identification of trophoblast cells circulating in peripheral blood during pregnancy [Text] / C. F. Goodfellow, P. V. Taylor // *Br J Obstet Gynaecol.* – 1982. – Vol. 89, № 1. – P. 65-68.
38. Trophoblast deportation in pre-eclamptic pregnancy [Text] / S. Chua, T. Wilkins, I. Sargent, et al. // *Br J Obstet Gynaecol.* – 1991. – Vol. 98, № 10. – P. 973-979.
39. Szwajcowska M. Nucleated red blood cells (nRBC) as an auxiliary marker of intrauterine infection [Text] / M. Szwajcowska, J. Kalinka, P. Krajewski // *J Ped Neonatal.* – 2005. – Vol. 2, № 1. – P. 15-18.
40. Fetal cells in maternal blood [Text] / D. Gänshirt, H. Garrissent, W. Holzgreve, et al. // *Curr. Opin. Obstet. Gyn.* – 1995. – Vol. 7, № 2. – P. 103-108.
41. Feto-maternal cell trafficking: a transfer of pregnancy associated progenitor cells [Text] / H. S. Nguyen, G. Dubernard, S. Aractingi, et al. // *Stem Cell Rev.* – 2006. – Vol. 2, № 2. – P. 111-116.
42. Male fetal progenitor cells persist in maternal blood for as long as 27 years postpartum [Text] / D. W. Bianchi, G. K. Zickwolf, G. J. Weil, et al. // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 1996. – Vol. 93, № 2. – P. 705-708.
43. Fetal cells participate over time in the response to specific types of murine maternal hepatic injury [Text] / K. Khosrotehrani, R. R. Reyes, K. L. Johnson, et al. // *Hum Reprod.* – 2007. – Vol. 22, № 3. – P. 654-661.
44. Trophoblast cells in peripheral blood from pregnant women [Text] / A. E. Covone, D. Mutton, P. M. Johnson, et al. // *Lancet.* – 1984. – Vol. 2, № 8407. – P. 841-843.
45. Hengstschläger M. Fetal cells in the peripheral blood of pregnant women express thymidine kinase: a new marker for detection [Text] / M. Hengstschläger, G. Bernaschek // *FEBS Lett.* – 1997. – Vol. 404, № 2-3. – P. 299-302.
46. Clinical Experience: Isolating Trophoblasts from Maternal Blood [Text] / J. L. Sargent, M. Johansen, S. Chua, et al. // *Annals of the New York Academy of Sciences.* – 1994. – Vol. 731, № 1. – P. 154-161.
47. Goldberg J. D. Incidence and outcome of chromosomal mosaicism found at the time of chorionic villus sampling [Text] / J. D. Goldberg, M. M. Wohlferd // *Am J Obstet Gynecol.* – 1997. – Vol. 176, № 6. – P. 1349-1352.
48. Distribution of mosaicism in human placentae [Text] / K. G. Henderson, T. E. Shaw, I. J. Barrett, et al. // *Hum Genet.* – 1996. – Vol. 97, № 5. – P. 650-654.
49. Benirschke K. Deportation of trophoblastic emboli to maternal lung. A source of cell-free DNA in maternal blood? [Text] / K. Benirschke, L. Willes // *Chimerism.* – 2010. – Vol. 1, № 1. – P. 15-18.
50. Manegold-Brauer G. What does next-generation sequencing mean for prenatal diagnosis? [Text] / G. Manegold-Brauer, S. Hahn, O. Lapaire // *Biomark Med.* – 2014. – Vol. 8, № 4. – P. 499-508.
51. Characterization of hematopoietic progenitors from human yolk sacs and embryos [Text] / A. Huyhn, M. Dommergues, B. Izac, et al. // *Blood.* – 1995. – Vol. 86, № 12. – P. 4474-4485.
52. Coordinate glycosylation and cell surface expression of glycophorin A during normal human erythropoiesis [Text] / M. R. Loken, C. I. Civin, W. L. Bigbee, et al. // *Blood.* – 1987. – Vol. 70, № 6. – P. 1959-1961.
53. Isolation of fetal DNA from nucleated erythrocytes in maternal blood [Text] / D. W. Bianchi, A. F. Flint, M. F. Pizzimenti, et al. // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 1990. – Vol. 87, № 9. – P. 3279-3283.
54. Flow sorting of fetal erythroblasts using intracytoplasmic anti-fetal haemoglobin: preliminary observations on maternal samples [Text] / Y. L. Zheng, M. Demaria, D. Zhen, et al. // *Prenat Diagn.* – 1995. – Vol. 15, № 10. – P. 897-905.
55. Two-colour immunocytochemical staining of gamma (gamma) and epsilon (epsilon) type haemoglobin in fetal red cells [Text] / W. E. Mesker, M. C. Ouwerkerk-van Velzen, J. C. Oosterwijk, et al. // *Prenat Diagn.* – 1998. – Vol. 18, № 11. – P. 1131-1137.
56. Bianchi D. W. Fetal cells in the maternal circulation: feasibility for prenatal diagnosis [Text] / D. W. Bianchi // *British J Haematol.* – 1999. – Vol. 105, № 3. – P. 574-583.
57. Enrichment of fetal trophoblast cells from the maternal peripheral blood followed by detection of fetal deoxyribonucleic acid with a nested X/Y polymerase chain reaction [Text] / I. J. van Vijk, J. M. van Vugt, M. A. Mulders, et al. // *Am J Obstet Gynecol.* – 1996. – Vol. 174, № 3. – P. 871-878.
58. Pearson H. A. Life-span of the fetal red blood cell [Text] / H. A. Pearson // *The Journal of Pediatrics.* – 1967. – Vol. 70, № 2. – P. 166-171.
59. Simpson J. L. Isolating fetal cells in maternal circulation for prenatal diagnosis [Text] / J. L. Simpson, S. Elias // *Prenat Diagn.* – 1994. – Vol. 14, № 13. – P. 1229-1242.
60. Characterization of first trimester fetal erythroblasts for non-invasive prenatal diagnosis [Text] / M. Choolani, K. O'Donoghue, D. Talbert, et al. // *Mol Hum Reprod.* – 2003. – Vol. 9, № 4. – P. 227-235.
61. Prenatal diagnosis with fetal cells isolated from maternal blood by multiparameter flow cytometry [Text] / J. O. Price, S. Elias, S. S. Wachtel // *Am J Obstet Gynecol.* – 1991. – Vol. 165, № 6Pt1. – P. 1731-1737.
62. Troeger C. A comparison of different density gradients and antibodies for enrichment of fetal erythroblasts by MACS [Text] / C. Troeger, W. Holzgreve, S. Hahn // *Prenat. Diagn.* – 1999. – Vol. 19, № 6. – P. 521-526.
63. Distribution of fetal and embryonic hemoglobins in fetal erythroblasts enriched from maternal blood [Text] / R. Al-Mufti, H. Hambley, F. Farzaneh, et al. // *Haematologica.* – 2001. – Vol. 86, № 4. – P. 357-362.
64. The Fetal Erythroblast Is Not the Optimal Target for Non-invasive Prenatal Diagnosis: Preliminary Results [Text] / S. Kølvrå, B. Christensen, L. Lykke-Hansen, et al. // *J Histochem Cytochem.* – 2005. – Vol. 53, № 3. – P. 331-336.
65. Walknowska J. Practical and theoretical implications of fetal-maternal lymphocyte transfer [Text] / J. Walknowska, F. A. Conte, M. M. Grumbach // *Lancet.* – 1969. – Vol. 1, № 7606. – P. 1119-1122.
66. Fetal cells in the blood of pregnant women: detection and enrichment by fluorescence-activated cell sorting [Text] / L. A. Herzenberg, D. W. Bianchi, J. Schröder, et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1979. – Vol. 76, № 3. – P. 1453-1455.
67. Migration of microchimeric fetal cells into maternal circulation before placenta formation [Text] / R. Sunami, M. Komuro, H. Tagaya, et al. // *Chimerism.* – 2010. – Vol. 1, № 2. – P. 66-68.
68. Fetal cell microchimerism develops through the migration of fetus-derived cells to the maternal organs early after implantation [Text] / R. Sunami, M. Komuro, T. Yuminachi, et al. // *J Reprod Immunol.* – 2010. – Vol. 84, № 2. – P. 117-123.

69. Fetal cells in mother rats contribute to the remodeling of liver and kidney after injury [Text] / Y. Wang, H. Iwatani, T. Ito, et al. // Biochem Biophys Res Commun. – 2004. – Vol. 325, № 3. – P. 961-967.
70. Fetal microchimerism in the maternal brain: A novel population of fetal progenitor or stem cells able to cross the blood-brain barrier? [Text] / X. Y. Tan, H. Liao, L. Sun, et al. // Stem Cells. – 2005. – Vol. 23, № 10. – P. 1443-1452.
71. Fetal Cells Traffic to Injured Maternal Myocardium and Undergo Cardiac Differentiation [Text] / J. Rina Kara, P. Bolli, I. Karakikes, et al. // Circulation Research. – 2012. – Vol. 110, № 1. – P. 82-93.
72. Maternal neoangiogenesis during pregnancy partly derives from fetal endothelial progenitor cells [Text] / H. S. Nguyen, M. Oster, S. Uzan, et al. // Proc Natl Acad Sci USA. – 2007. – Vol. 104, № 6. – P. 1871-1876.
73. Zhong J. F. Role of Fetal Stem Cells in Maternal Tissue Regeneration [Text] / J. F. Zhong, L. P. Weiner // Gene Regul Syst Bio. – 2007. – Vol. 1. – P. 111-115.
74. Identification of fetal mesenchymal stem cells in maternal blood: implications for non-invasive prenatal diagnosis [Text] / K. O'Donoghue, M. Choolani, J. Chan, et al. // Mol Hum Reprod. – 2003. – Vol. 9, № 8. – P. 497-502.
75. Kaufmann P. Endovascular trophoblast invasion: implications for the pathogenesis of intrauterine growth retardation and preeclampsia [Text] / P. Kaufmann, S. Black, B. Huppertz // Biol Reprod. – 2003. – Vol. 69, № 1. – P. 1-7.
76. Harris L. K. Review: trophoblast-vascular cell interactions in early pregnancy: how to remodel a vessel [Text] / L. K. Harris // Placenta. – 2010. – Suppl. S93-8. – doi: 10.1016/j.placenta.2009.12.012
77. Human cytotrophoblasts adopt a vascular phenotype as they differentiate. A strategy for successful endovascular invasion? [Text] / Y. Zhou, S. J. Fisher, M. Janatpour, et al. // J Clin Invest. – 1997. – Vol. 99, № 9. – P. 2139-2151.
78. Characterization and clinical application of human CD34<sup>+</sup> stem/progenitor cell populations mobilized into the blood by granulocyte colony-stimulating factor [Text] / M. Y. Gordon, N. Levicar, M. Pai, et al. // Stem Cells. – 2006. – Vol. 24, № 7. – P. 1822-1830.
79. CD34<sup>+</sup> cells in maternal placental blood are mainly fetal in origin and express endothelial markers [Text] / O. Parant, G. Dubernard, J.C. Challier, et al. // Lab Invest. – 2009. – Vol. 89, № 8. – P. 915-923.
80. Microchimerism in female bone marrow and bone decades after fetal mesenchymal stem-cell trafficking in pregnancy [Text] / K. O'Donoghue, J. Chan, J. de la Fuente, et al. // Lancet. – 2004. – Vol. 364, № 9429. – P. 179-182.
81. Human first-trimester fetal MSC express pluripotency markers and grow faster and have longer telomeres than adult MSC [Text] / P. V. Guillot, C. Gotherstrom, J. Chan, et al. // Stem Cells. – 2007. – Vol. 25, № 3. – P. 646-654.
82. Differentiation of human fetal mesenchymal stem cells into cells with an oligodendrocyte phenotype [Text] / N. L. Kennea, S. N. Waddington, J. Chan, et al. // Cell Cycle. – 2009. – Vol. 8, № 7. – P. 1069-1079.
83. Wu G. Role of Oct4 in the early embryo development [Text] / G. Wu, H. R. Schöler // Cell Regen (Lond). – 2014. – Vol. 3, № 1. – doi: 10.1186/2045-9769-3-7
84. A comparison of *in vitro* culture of fetal nucleated erythroblasts from fetal chorionic villi and maternal peripheral blood for noninvasive prenatal diagnosis [Text] / S. Zheng, X. Tong, L. Wu, et al. // Fetal Diagn Ther. – 2012. – Vol. 32, № 3. – P. 194-200.
85. Risau W. Embryonic angiogenesis factors [Text] / W. Risau // Pharmacol Ther. – 1991. – Vol. 51, № 3. – P. 371-376.
86. Risau W. Vasculogenesis [Text] / W. Risau, I. Flamme // Annu Rev Cell Dev Biol. – 1995. – Vol. 11. – P. 73-91.
87. Endothelial precursor cells in the peripheral blood of pregnant women [Text] / H. A. Gussin, F. Z. Bischoff, R. Hoffman, et al. // J Soc Gynecol Investig. – 2002. – Vol. 9, № 6. – P. 357-3561.
88. Rafii S. Circulating endothelial precursors: mystery, reality, and promise [Text] / S. Rafii // J Clin Invest. – 2000. – Vol. 105, № 1. – P. 17-19.
89. Gussin H. A. Culture of fetal cells from maternal blood for prenatal diagnosis [Text] / H. A. Gussin, S. Elias // Hum Reprod Update. – 2002. – Vol. 8, № 6. – P. 523-527.
90. Quantitative analysis of fetal DNA in maternal plasma and serum: implications for noninvasive prenatal diagnosis [Text] / Y. M. Lo, M. S. Tein, T. K. Lau, et al. // Am. J. Hum. Genet. – 1998. – Vol. 62, № 4. – P. 768-775.
91. Van der Schoot C.E. Non-invasive prenatal diagnosis and determination of fetal Rh status [Text] / C. E. Van der Schoot, S. Hahn, L. S. Chitty // Semin. Fetal Neonatal Med. – 2008. – Vol. 13, № 2. – P. 63-68.
92. Non-invasive detection of fetal trisomy 21 by sequencing of DNA in maternal blood: a study in a clinical setting [Text] / M. Ehrich, C. Decui, T. Zwiefelhofer, et al. // Am. J. Obstet. Gynecol. – 2011. – Vol. 204, № 3. – P. 205.e1-11.
93. DNA sequencing of maternal plasma to detect Down syndrome: an international clinical validation study [Text] / G. E. Palomaki, E. M. Kloza, G. M. Lambert-Messerlian, et al. // Genet Med. – 2011. – Vol. 13, № 11. – P. 913-920.
94. Genome-wide fetal aneuploidy detection by maternal plasma DNA sequencing [Text] / D. W. Bianchi, L. D. Platt, J. D. Goldberg, et al. // Obstet. Gynecol. – 2012. – Vol. 119, № 5. – P. 890-901.
95. Non-invasive prenatal detection and selective analysis of cell-free DNA obtained from maternal blood: evaluation for trisomy 21 and trisomy 18 [Text] / A. B. Sparks, C. A. Struble, E. T. Wang, et al. // Am. J. Obstet. Gynecol. – 2012. – Vol. 206, № 4. – P. 319.e1-9.
96. Chromosome-selective sequencing of maternal plasma cell-free DNA for first-trimester detection of trisomy 21 and trisomy 18 [Text] / G. Ashoor, A. Syngelaki, M. Wagner, et al. // Am. J. Obstet. Gynecol. – 2012. – Vol. 206, № 4. – P. 322.e1-5.
97. Non-Invasive Chromosomal Evaluation (NICE) Study: results of a multicenter prospective cohort study for detection of fetal trisomy 21 and trisomy 18 [Text] / M. E. Norton, H. Brar, J. Weiss, et al. // Am. J. Obstet. Gynecol. – 2012. – Vol. 207, № 2. – P. 137.e1-8.
98. Noninvasive prenatal aneuploidy testing of chromosomes 13, 18, 21, X, and Y, using targeted sequencing of polymorphic loci [Text] / B. Zimmermann, M. Hill, G. Gemelos, et al. // Prenat Diagn. – 2012. – Vol. 32, № 13. – P. 1233-1241.
99. Validation of targeted sequencing of single-nucleotide polymorphisms for non-invasive prenatal detection of aneuploidy of chromosomes 13, 18, 21, X, and Y [Text] / K. H. Nicolaidis, A. Syngelaki, M. Gil, et al. // Prenat. Diagn. – 2013. – Vol. 33, № 6. – P. 575-579.
100. SNP-based non-invasive prenatal testing detects sex chromosome aneuploidies with high accuracy [Text] / C. Samango-Sprouse, M. Banjevic, A. Ryan, et al. // Prenat. Diagn. – 2013. – Vol. 33, № 7. – P. 643-649.



СТАТТЯ НА САЙТІ  
TRANSPLANTOLOGY.ORG

Автор підтверджує відсутність можливих конфліктів інтересів.

Надійшла до редакції 02.12.2015 р.

Прийнята до друку 25.05.2016 р.