

# ПРЕНАТАЛЬНАЯ ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА: ПРИНЦИПЫ, МЕТОДЫ, ПРИМЕНЕНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ

А. Н. Чернов<sup>1</sup>, О. С. Глотов<sup>1</sup>, М. Ю. Донников<sup>2</sup>, Л. В. Коваленко<sup>2</sup>,  
Л. Д. Белоцерковцева<sup>2,3</sup>, А. С. Глотов<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Городская больница № 40 Курортного района, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> Сургутский государственный университет, Сургут, Россия

<sup>3</sup> Сургутский клинический перинатальный центр, Сургут, Россия

<sup>4</sup> Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д. О. Отта, Санкт-Петербург, Россия

**Цель** – провести обзор литературы, посвященной вопросам эффективности современной пренатальной диагностики, основанной на использовании внеклеточной ДНК или РНК плода. **Материал и методы.** Проанализированы зарубежные публикации, работы отечественных ученых, а также клинические рекомендации, размещенные в базах данных Scopus, PubMed, КиберЛенинка и др. Ключевые слова для поиска: инвазивная, неинвазивная пренатальная диагностика, внеклеточная ДНК плода. Глубина поиска – 7 лет. **Результаты.** На примерах из литературы показана диагностическая ценность внеклеточной ДНК или РНК плода для обнаружения хромосомных анеуплоидий и других наследственных заболеваний. Описаны преимущества и недостатки методов пренатальной диагностики, области ее применения и перспективы.

**Ключевые слова:** инвазивная, неинвазивная пренатальная диагностика, внеклеточная ДНК плода, перспективы пренатальной диагностики.

**Шифр специальности:** 14.03.03 Патологическая физиология.

**Автор для переписки:** Донников Максим Юрьевич, e-mail: donnikov@gmail.com

## ВВЕДЕНИЕ

По данным Всемирной организации здравоохранения, генетические аномалии встречаются у 5 % новорожденных и являются причиной ежегодной смертно-

сти 3,3 млн детей в возрасте до 5 лет. Еще 3,2 млн младенцев рождаются инвалидами [1]. В России в 2018 г. заболеваемость врожденными аномалиями у де-

## PRENATAL GENETIC TESTING: PRINCIPLES, METHODS, APPLICATION AND PROSPECTS

A. N. Chernov<sup>1</sup>, O. S. Glotov<sup>1</sup>, M. Yu. Donnikov<sup>2</sup>, L. V. Kovalenko<sup>2</sup>,  
L. D. Belotserkovtseva<sup>2,3</sup>, A. S. Glotov<sup>4</sup>

<sup>1</sup> City Hospital No. 40 of Kurortny District, Saint Petersburg, Russia

<sup>2</sup> Surgut State University, Surgut, Russia

<sup>3</sup> Surgut Regional Clinical Prenatal Centre, Surgut, Russia

<sup>4</sup> Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D. O. Ott, Saint Petersburg, Russia

**The study aims** to review the literature on the effectiveness of modern prenatal testing based on the use of cell-free DNA or RNA of the fetus. **Material and methods.** Foreign publications, the work of Russian scientists, as well as clinical guidelines posted in the databases of Scopus, PubMed, CyberLeninka, and others are analyzed. The used keywords are invasive, noninvasive prenatal testing, cell-free fetal DNA. The search depth is 7 years. **Results.** Examples from the literature show the diagnostic value of cell-free DNA or RNA of the fetus for the detection of chromosomal aneuploidy and other hereditary diseases. The advantages and disadvantages of methods of prenatal testing its application and prospects are described.

**Keywords:** invasive, noninvasive prenatal testing, methods, cell-free fetal DNA, prospects of prenatal diagnostics.

**Code:** 14.03.03 Pathophysiology.

**Corresponding Author:** Maksim Yu. Donnikov, e-mail: donnikov@gmail.com

тей в возрасте до 14 лет составила 1 043,2 случая на 100 000 населения, или 0,6 % в общей структуре заболеваемости [2]. Основными этиологическими факторами инвалидности детей в данной возрастной группе являются состояние здоровья беременных женщин и воздействие тератогенных факторов [3]. К последним относятся инфекционные заболевания, ионизирующее излучение, радионуклиды, противоопухолевые, гормональные препараты и наркотические вещества. Наследственные факторы врожденных пороков развития обуславливают 40–50 % ранней младенческой смертности и детской инвалидности и формируют генетический груз популяции, проявляющийся у 5 % человечества [4].

Для ранней диагностики врожденных аномалий у плода разработан и применяется комплекс диагностических, прогностических скрининговых технологий и методов – пренатальная генетическая диагностика (ПГД), результаты которой позволяют родителям ребенка в случае выявления у него патологии принять взвешенное решение о продолжении или прекращении беременности.

**Цель** – провести обзор литературы, посвященной вопросам эффективности современной пренатальной диагностики, основанной на использовании внеклеточной ДНК или РНК плода.

#### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Проанализированы зарубежные публикации, работы отечественных ученых и клинические рекомендации. Поиск литературы в базах данных Scopus, PubMed, КиберЛенинка и др. осуществлялся по ключевым словам: инвазивная, неинвазивная пренатальная диагностика, внеклеточная ДНК плода. Глубина поиска – 7 лет.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Важнейшим событием в пренатологии было открытие в 1997 г. гонконгским ученым Д. Лоу внеклеточной ДНК плода (вкДНК) в кровотоке беременной [5]. Считается, что основным источником вкДНК плода являются апоптотические клетки плаценты, проникающие в кровоток матери. Присутствие вкДНК плода в крови матери может быть установлено начиная с пятой недели беременности, а ее количество оценивается в 0,4–11,4 %, по другим данным – в 6–10 % от общего количества ДНК крови.

Внеклеточная ДНК крови представлена низкомолекулярной фракцией, большинство ее молекул имеют размер в 300–1 500 пар нуклеотидов, а концентрация имеет широкий индивидуальный диапазон (1–100 нг/мл). На содержание вкДНК плода оказывают влияние срок гестации и вес матери (индекс массы тела). Уровень вкДНК плода постепенно повышается по мере течения беременности, достигая максимума в 20 % от общей вкДНК перед родами. С увеличением веса матери концентрация вкДНК плода снижается с 11,7 % при 60 кг до 3,9 % при 160 кг, что обусловлено повышенным уровнем материнской вкДНК вследствие апоптоза клеток жировой ткани у женщин с ожирением [5]. На уровень вкДНК плода также оказывают влияние и другие факторы [5].

Открытие вкДНК плода способствовало разработке и применению технологий неинвазивной пренатальной диагностики (НИПД) и методов, позволяющих проводить с ней дальнейшие манипуляции: секвени-

рование ее последовательности для установления тканевого и клеточного происхождения; идентификацию принадлежности к хромосоме, что позволяет сравнить число копий хромосом плода с числом хромосом референсного генома.

Выделение нуклеиновых кислот инвазивными и неинвазивными методами дает возможность определить отцовство на ранних сроках беременности; пол, резус-фактор, хромосомные аберрации (например, трисомии); аномалии развития органов и тканей у плода; микроделеционные синдромы; мутации сцепленных с полом заболеваний или предрасполагающих к развитию онкологических заболеваний с манифестацией в зрелом или пожилом возрасте (ретинобластомы); наследственные митохондриальные болезни. ПД с HLA-типированием проводят для выявления наследственных заболеваний, осложненных гемобластомами и др. [6]

**Области применения пренатальной диагностики: пол ребенка.** Установление пола плода проводится как для планирования семьи, так и по медицинским показаниям. Такая диагностика назначается группе женщин с высоким риском рождения ребенка с аутосомно-доминантными, наследуемыми по отцовской линии (хорея Хантингтона, миотоническая дистрофия, гемофилия), и аутосомно-рецессивными заболеваниями, фенотипическое проявление которых возможно, когда мутации отличаются у отца и матери [7]. Также показаниями к проведению диагностики являются врожденная гиперплазия коры надпочечников и пороки развития мочеполовой системы у плода.

Установление пола плода может проводиться при помощи инвазивных и неинвазивных методов. Например, методом полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ) на пятой неделе можно идентифицировать пол эмбриона. P. G. Scheffer и соавт. провели данное тестирование 201 беременной и показали 100 %-ю чувствительность и специфичность метода ПЦР-РВ [8]. Неинвазивная диагностика пола плода у 43 беременных женщин методом ПЦР-РВ, проведенная О. В. Малышевой и В. С. Барановым, показала следующие результаты: в 36 образцах крови пол был определен правильно, в 5 образцах получен неопределенный результат, а в 2 – ложноположительный. Чувствительность теста составила 95,3 %, специфичность 92 % [9]. Однако, как правило, у 4 % беременных наблюдается очень низкая концентрация ДНК в плазме крови, и идентификация у них пола плода методами НИПД невозможна.

**Пренатальная диагностика: резус-фактор плода.** Около 15 % населения гомозиготны по делеции гена RHD и имеют отрицательный резус-фактор. Люди с положительным резус-фактором имеют одну или две копии этого гена. Однако при беременности RhD- матери RhD+ плодом у женщины развивается иммунный ответ на RhD-антиген эритроцитов эмбриона, который может привести к гемолитической болезни (ГБ) плода и новорожденного у 20–25 % резус-отрицательных беременных. В 38 % случаев, когда резус-отрицательная беременная вынашивает резус-отрицательного ребенка, необходимость в иммунопрофилактике ГБ отсутствует. Сегодня все RhD- женщины, беременные RhD+ плодом, проходят обследование на присутствие и титр анти-RhD- антител. Если антитела не выявляются, то на 28-й неделе беременности RhD- женщинам внутримышечно вводят анти-RhD- имму-

ноглобулин для предотвращения иммунизации RhD-антигеном плода. Диагностика ГБ может проводиться после взятия крови у плода в результате кордоцентеза (КЦ) или при выделении вкДНК методами НИПД [10].

Поскольку антиген резус-фактора присутствует у эмбриона, но отсутствует у матери, он может быть идентифицирован с помощью методов НИПД, основанных на определении внеклеточной ДНК плода. Отечественные ученые А. Н. Маркелова и др. [11] определяли резус-фактор плода в образцах крови, полученных от 100 беременных женщин, методом ПЦР-РВ с помощью набора «ДНК-резус ребенка» (Ген-Технология, РФ) и получили 100 %-ю чувствительность и специфичность данного метода. Диагностические мероприятия, направленные на выявление резус-фактора плода, позволяют снизить финансовые расходы на анти-RhD- иммуноглобулин, определение титра антител у RhD- женщин, беременных RhD- плодом [6].

**Пренатальная диагностика: анеуплоидии.** Неинвазивное пренатальное генетическое тестирование, основанное на методах НИПД, все чаще применяется в клинической практике для выявления у плода анеуплоидий (в большей части – трисомий) [12]. Наиболее частыми хромосомными aberrациями у эмбриона являются трисомии по 21-й (синдром Дауна), 18-й (синдром Эдвардса), 13-й хромосомам (синдром Патау) и моносомии по X хромосоме (синдром Шерешевского – Тернера). Существуют исследования, показывающие, что при наличии хромосомных aberrаций у плода уровень его вкДНК в крови матери возрастает, например, при синдроме Дауна – в 2 раза [13]. Поскольку НИПД основана на анализе выявленной в крови матери вкДНК плода, проведение этих тестов целесообразно, когда уровень вкДНК будет достаточным, т. е. с 11–12 недели беременности. Срок выполнения исследования – 7–10 дней [9]. Определение методами НИПД трисомий плода на основе его вкДНК показало высокую чувствительность и специфичность при одноплодной беременности.

В основе выявления анеуплоидий методами ПЦР-РВ и секвенирования лежит количественное определение ДНК плода и ее однонуклеотидных полиморфизмов (SNP). При этом ДНК секвенируется и идентифицируется по ее принадлежности к определенной хромосоме на основе сравнения с референсным геномом человека. Методы, основанные на выявлении полиморфизмов, идентифицируют количество копий хромосом через поиск аллельных различий. Диагностическая точность НИПД для определения трисомии по 21-й хромосоме была оценена в клиническом исследовании, в котором приняли участие 2 232 беременных, из которых 1 946 были дополнительно протестированы на трисомии по 18-й и 13-й хромосомам. Чувствительность и специфичность анализа для трисомии по 21-й и 13-й хромосомам составили 100 %, а для трисомии по 18-й хромосоме – 80 % и 99,8 % соответственно [14]. В медицинском центре «Геноаналитика» при МГУ им. М. В. Ломоносова (Москва) разработан на основе секвенирования ДНК плода и выполняется ДОТ-тест (диагностика основных трисомий), который позволяет с 99,7 %-й чувствительностью обнаружить анеуплоидии 21-й, 18-й, 13-й и половых хромосом [15]. Однако в крови матери содержится небольшое количество вкДНК плода при многократно превышающем количестве вкДНК матери. Поскольку трисомии у эмбриона часто имеют материнское про-

исхождение, ДНК непарных хромосом будет одинаковой у матери и плода. Чтобы преодолеть эти ограничения, было предложено проводить количественное определение РНК плода в плазме крови матери с целью оценки экспрессии специфических для плаценты генов, находящихся на 21-й, 18-й и 13-й хромосомах [16]. Второй подход основан на эпигенетических межтканевых различиях вкДНК плода (из плаценты) и вкДНК матери (из гемопоэтических клеток). Тканеспецифические особенности метилирования локусов этих ДНК используют для выделения вкДНК плода [9].

Применяемые методы неинвазивного тестирования (биомаркеры сыворотки крови матери и др.) являются косвенными. Окончательный диагноз может быть поставлен только после амниоцентеза, когда анализу подвергаются клетки плода, а не его вкДНК [9].

**Диагностика других генетических патологий у плода.** В научной литературе встречаются исследования, в которых технологии НИПД применяются для выявления других генетических синдромов и мутаций. Например, коллектив австралийских авторов обнаружил с помощью полноэкзомного секвенирования (WES) гетерозиготную *de novo* нонсенс-мутацию в гене ZEB2 у эмбриона с синдромом Мауэта – Уилсона (Mowat–Wilson syndrome, MWS), характеризующуюся умственной отсталостью, лицевым дисморфизмом, эпилепсией, болезнью Гиршпрунга, аномалиями мозолистого тела и пороками сердца [17]. Исследователи из Канады и Саудовской Аравии, используя полноэкзомное секвенирование, идентифицировали у 5 пациентов биаллельные варианты гена DDX11, связанного с развитием «синдрома варшавского повреждения» (Warsaw breakage syndrome, WBS). Это редкая когезинопатия, которая характеризуется пренатальной и постнатальной задержкой роста, микроцефалией, кохлеарной гипоплазией и нейросенсорной тугоухостью [18]. Коллектив авторов из университета Николая Коперника (Польша) с помощью методов FISH и aCGH выявил у 12-недельного эмбриона сбалансированную вставку *ins* (7,3) (q21.2; q12.3q29) на 3-й хромосоме, что подтвердило диагноз синдрома 3q21-qter дупликации [19]. С помощью многоцветового метода FISH ученые смогли обнаружить дополнительные маркерные хромосомы (sSMC), образованные в результате *de novo* мозаицизма из 13/21, X, 3-й и 17-й хромосом у 4 эмбрионов. По хромосомному происхождению sSMC, размеру и степени мозаицизма sSMC определяют прогноз [20].

Исследования ученых НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д. О. Отта (НИИ АГиР, Санкт-Петербург, Россия), проведенные с помощью методов FISH, aCGH и кариотипирования, позволили идентифицировать у 28-летней пациентки несбалансированный по локусу 8p23 кариотип: в 18p11.3 области обнаружены концевые делеции, а в 8p22 – дупликация. У пациентки была одна нормальная 8-я и одна производная 18-я хромосома, тогда как одна производная хромосома была продуктом слияния 8-й и 18-й хромосом и содержала делеции их субтеломерных областей коротких плеч и обе центромеры. При выполнении aCGH в производной хромосоме были определены размеры делеций и дупликаций. Области делеций и дупликаций содержали 44 гена: 16 – в области 8p-делеции, 12 – в области 8p-дупликации, 15 – в области 18p-делеции и 1 ген – в области 18q-дупликации [21].

Таким образом, применение технологий НИПД позволяет идентифицировать как распространенные хромосомные аномалии, так и редкие мутации и генетические синдромы у плодов с целью верификации точного клинического диагноза. Повышенные концентрации вкДНК плода могут наблюдаться и при других патологиях беременности (самопроизвольном выкидыше, преждевременных родах, гестозе, многоплодии, преэклампсии) и служить маркером ранней диагностики осложнений беременности [9]. Методы НИПД, как и инвазивные методы (кордоцентез), могут применяться в диагностике моногенных заболеваний (гемофилии А и В, гемоглобинопатий,  $\beta$ -талассемии), а также нарушений кислотно-основного, биохимического и гормонального статуса у плода в результате осложненного анамнеза беременности [9].

**Методы пренатальной диагностики: кариотипирование.** Для кариотипирования клетки плода могут быть получены в результате хорионбиопсии, плацентоцентеза, амиоцентеза, кордоцентеза на 13–21-й неделях гестационного срока. Детализация структуры хромосом в кариотипах стала возможной с появлением методик дифференциального окрашивания хромосом. В настоящее время самым частым методом кариотипирования в медицинской генетике является G-дифференциальное окрашивание хромосом, позволяющее определять внутрихромосомные (дупликации, инверсии, делеции) и межхромосомные (транслокации) аберрации, а также маркерные хромосомы для диагностики врожденных нарушений численности или структуры хромосом [22]. В свою очередь кариотипирование трисомий 13-й, 18-й, 21-й хромосом и анеуплоидии половых хромосом является самым частым показанием к проведению инвазивных диагностических процедур.

**Инвазивные методы пренатальной диагностики. Хорионбиопсия.** Начиная с 70–80-х годов XX века в медицине применяются инвазивные методы пренатальной диагностики (хорионбиопсия, плацентоцентез, амиоцентез, кордоцентез) с целью получения фетальных клеток для их последующего цитогенетического (кариотипирования хромосом), молекулярно-генетического, биохимического анализа и определения тактики ведения беременности [9]. В настоящее время биопсия хориона проводится в I триместре беременности (начиная с 9,5 недели) путем одно- или двухигольной трансабдоминальной аспирационной биопсии. Например, одноигольный вариант методики проводится в НИИ АГиР им. Д. О. Отта РАМН при помощи иглы с мандреном для биопсии под контролем ультразвуковых датчиков, снабженных пункционными адаптерами [23]. При двухигольном варианте трансабдоминальной хорионбиопсии применяются проводниковая и биопсийная (внутренняя) иглы. При этом наружная игла используется как троакар и вводится в миометрий, а внутренняя длинная игла погружается в хорион. При такой модификации имеется возможность повторной аспирации хориона без дополнительного прокола брюшной стенки. Также существует трансцервикальный доступ для взятия хорионбиопсии (через шейку матки) [23].

**Амиоцентез.** Сегодня амиоцентез является самым распространенным в мире инвазивным методом, который сочетает простоту и низкий уровень осложнений – 0,2–2,0 %. Амиоцентез проводится во II триместре беременности под ультразвуковым контролем

для получения 10–15 мл околоплодных вод с клетками плода в целях кариотипирования или выявления врожденных и наследственных заболеваний [10, 23]. Однако для проведения молекулярно-генетических исследований на амниоцитах их необходимо длительно (до 28 суток) культивировать [23].

**Кордоцентез.** Кордоцентез состоит в получении 1–3 мл крови плода из вены пуповины в результате внутриматочной пункции под анестезией и ультразвуковым контролем во II и III триместрах беременности (после 20 недели) для ПД врожденных, наследственных заболеваний, резус-конфликта и гемолитической болезни у плода. Существует одно- или двухигольная модификация метода. Более ранним вариантом КЦ было получение крови плода из сосудов пуповины при помощи трансабдоминальной трансплацентарной пункции в области «корня» пуповины методом «свободной руки» [10, 23].

В последнее время в инвазивной ПД также широко стали использоваться молекулярно-генетические методы: ПЦР-РВ, сравнительная геномная гибридизация на микрочипах (aCGH), NGS, мультиплексная амплификация лигированных зондов (MLPA), флуоресцентная *in situ* гибридизация (FISH) [24]. Более подробное описание этих методов будет приведено ниже.

К факторам, оказывающим влияние на результаты инвазивной ПД, относятся: метод диагностики, возраст беременной, осложненный акушерский анамнез, опыт врача и оснащенность медицинского учреждения [23]. По данным специалистов лаборатории пренатальной диагностики НИИ АГиР им. Д. О. Отта, риск прерывания беременности после ИПД составляет менее 0,3 %, что меньше, чем риск самопроизвольного прерывания беременности (1,2 %) [25]. Однако частым осложнением кордоцентеза в 6,2 % случаев является риск антенатальной гибели плода [10]. В настоящее время по-прежнему только инвазивные методы могут с абсолютной точностью диагностировать у эмбриона наличие хромосомных аномалий.

**Методы неинвазивной пренатальной генетической диагностики (НИПД).** НИПД основана на исследовании вкДНК или вкРНК плода при заборе клеток плода из крови матери [6]. ДНК или РНК-методы используются в зависимости от того, какие образцы (вкДНК или вкРНК плода) берутся для исследования в качестве генетического материала. В свою очередь ДНК-методы подразделяются на генетические и эпигенетические.

**Генетические методы: ДНК-методы. ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ).** ПЦР в реальном времени отличается от обычной (качественной) ПЦР тем, что в ПЦР-РВ количество двуцепочечной ДНК оценивается при помощи олигонуклеотидных проб или флуоресцентных красителей в каждом цикле амплификации. При этом флуоресцентный сигнал улавливается оптическими датчиками амплификатора, а содержание ДНК в образце рассчитывают по калибровочным кривым. Также этот метод, в отличие от обычной ПЦР, не требует проведения гель-электрофореза для визуализации продуктов амплификации [26]. Метод обладает высокой производительностью, чувствительностью и низкой себестоимостью по сравнению с кариотипированием.

Однако при проведении ПЦР могут наблюдаться ложноположительные результаты, появление которых связано с контаминацией при выделении ДНК

или при постановке ПЦР, а также с существованием «исчезающих близнецов». В последнем случае от «исчезнувшего близнеца» может сохраняться часть плаценты, клетки которой попадают в кровоток матери, где присутствуют совместно с вкДНК развившегося эмбриона. Иногда полиморфные аллели гомологичных хромосом у плода могут быть одинаковыми или присутствуют необычные аллели изучаемого локуса, что затрудняет диагностику методом ПЦР-РВ [22]. Эти ограничения не позволяют ПЦР достичь чувствительности в 100 %. В метаанализе, включающем 90 исследований 9 965 беременных женщин и 10 587 родившихся детей, чувствительность составила 96,6 %, специфичность – 98,9 % [27].

#### **Флуоресцентная *in situ* гибридизация (FISH).**

В методе FISH используются ДНК-зонды, которые гибридизуются с комплементарными целевыми последовательностями ДНК в образце, что позволяет определить их локализацию и количество в метафазных или интерфазных хромосомах *in situ* [23]. Существует множество разновидностей FISH, в том числе: многоцветный FISH (multicolor FISH), при котором одновременно применяются три и более флуорохромов для мечения ДНК; мультиплексный FISH (multiplex FISH), включающий зонды для полной окраски всех 24 хромосом человека (whole-chromosome painting-based mFISH probe); FISH многоцветного формирования полос на хромосомах (multicolorbanding, или m-banding), позволяющий дифференцировать локусы хромосомы на уровне полос [23]. Наборы локус-специфичных зондов используют для идентификации и оценки количества копий генов-мишеней и локусов. Применение таких наборов зондов позволяет в течение 24 ч после хорионбиопсии и амниоцентеза обнаружить анеуплоидии хромосом, дупликации, инсерции, делеции, несбалансированные транслокации участков хромосом у плода. В настоящее время единственным одобренным Управлением по контролю за продуктами и лекарствами (FDA) набором зондов FISH для скрининга анеуплоидий на амниоцитах является AneuVysion Multicolor DNA Probe Kit от Abbott Laboratories (США), включающий два локус-специфических зонда 13q14 и 21q22.13~22.2 и три  $\alpha$ -сателлитных ДНК-зонда для хромосом X, Y и 18 [28].

Используя наборы зондов для FISH-анализа, можно одновременно провести скрининг образцов плода на врожденные синдромы. При проведении скрининга методом НИПД у 149 беременных женщин в одном случае у плода были одновременно обнаружены трисомии по 13-й и 21-й хромосомам. В метафазной пластинке этого образца с помощью полнохромосомных зондов FISH к 13-й и 10-й хромосомам подтверждена трисомия по длинному плечу 13-й хромосомы (13q22→qter) и дополнительно выявлена частичная моносомия по 10-й хромосоме (10q25→qter) [29]. Иногда при проведении FISH-анализа могут наблюдаться ложноположительные или ложноотрицательные результаты [28]. Несмотря на данное обстоятельство, метод FISH является быстрым, надежным тестом, позволяющим идентифицировать с более чем 99 %-й точностью хромосомные и генные aberrации в клетках плода.

**Микрожидкостная флуоресцентная *in situ* гибридизация (Microfluidics FISH).** Исследователи из Поморского медицинского университета (Щецин, Польша) в 2017 г. разработали микрожидкий

FISH-метод, основанный на применении микрочипа MicroFIND®, захватывающего клетки плода из амниотической жидкости и анализирующего их методом FISH. Используя образцы амниотической жидкости, полученные от 52 пациенток после амниоцентеза, ученые сравнили эффективность скрининга на выявление анеуплоидий в 21-й, 13-й, 18-й и половых хромосомах данным методом с классическим FISH и кариотипированием. Из 52 образцов амниотической жидкости в 10 (20 %) были выявлены хромосомные aberrации, причем у 7 плодов была трисомия по 21-й хромосоме. Девять анеуплоидий из 10 были подтверждены обычным FISH и кариотипированием. Таким образом, чувствительность микрожидкостного FISH составила 90 %. При этом данный метод значительно сокращал время анализа и мог выполняться на меньшем количестве образцов [30]. В том же году ученые из Международного колледжа полупроводниковых технологий при Национальном университете Чао-Тун (Синьчжу, Тайвань) разработали систему Cell Reveal™ на основе наноструктурированной кремниевой микрофлюидной платформы, позволяющей захватывать из крови циркулирующие ядросодержащие эритроциты плода и цитотрофобласты с помощью специфических антител. Используя программное обеспечение, исследователи анализировали антигены и идентифицировали иммуноокрашиванием клетки-мишени, затем извлекали клетки для проведения FISH-анализа на другом микрочипе. Валидация методики была проведена на образцах крови, полученных после хорионбиопсии или амниоцентеза от 24 беременных женщин с анеуплоидным или эуплоидным плодами. В результате системой Cell Reveal™ были захвачены из 2 мл крови 1–44 ядросодержащих эритроцитов плода и 1–32 цитотрофобластов. Все эти клетки были подтверждены последующим генетическим анализом с помощью методов FISH и NGS [31].

**Мультиплексная амплификация лигированных зондов (multiplex ligation dependent probe amplification, MLPA).** Метод MLPA основан на лигировании половинных зондов, комплементарных исследуемым фрагментам ДНК. Количество зондов зависит от численности копий-мишеней у пациента. Например, у пациента с синдромом Дауна имеются три копии хромосомы 21 и будут лигироваться 3 зонда. Количество лигированных зондов определяют методом ПЦР-РВ путем сравнения интенсивности флуоресценции меченных праймеров в тестируемом образце относительно контрольного образца. При одной постановке MLPA позволяет в течение 48 ч определить несколько десятков тестируемых фрагментов, что может применяться при ПД анеуплоидных или микроделеционных синдромов [24].

**Хромосомный микроматричный анализ (сравнительная геномная гибридизация на микрочипах, array comparative genomic hybridization, aCGH).** При сравнительной геномной гибридизации на микрочипах проводят сопоставление контрольного и исследуемого образцов ДНК, предварительно помеченных зеленым и красным флуоресцентным красителями (зондами) и одновременно вносимых в равных соотношениях для гибридизации с последовательностями референсной ДНК на микроматрице. Последняя содержит множество (100 000 и более) уникальных одноцепочечных олигонуклеотидов, равномерно распределенных по длине всех хромосом. Флуоресцент-

но меченые образцы контрольной и опытной ДНК конкурентно связываются с последовательностями ДНК на микрочипе. Зеленая флуоресценция указывает на делецию исследуемого участка в опытном образце, красная – на инсерцию по сравнению с контрольным. Отсутствие aberrаций в участке опытного образца свидетельствует о гибридизации контрольного и опытного образцов в соотношении 1:1 с референтной последовательностью ДНК на микрочипе. При сканировании с помощью компьютерной программы проводят анализ генетического статуса всех фрагментов ДНК микрочипа, а результат представляют в виде диаграммы. В нашей стране анализ aCGH проводят в НИИ АГиР им. Д. О. Отта (Санкт-Петербург), НИИ медицинской генетики СО РАМН (Томск) и других центрах [32]. Коллективом авторов из НИИ медицинской генетики СО РАМН проведен анализ микроделечий и микродупликаций методом aCGH у 10 спонтанных абортусов, полученных от женщин с анеуплоидией [33]. Микроматрица содержала 110 712 олигонуклеотидных ДНК-мишеней и 59 647 однонуклеотидных полиморфизмов (SNP). Ученые идентифицировали у 90 % абортусов 95 микроструктурных аномалий, которые захватывали 422 гена, участвующих в процессах внутриутробного развития.

К преимуществам метода aCGH можно отнести параллельный анализ около 1 000 генов из всех 23 пар хромосом в одном исследовании, разрешающую способность в 1–5 млн пар оснований, автоматизацию и быстроту выполнения (1–3 суток). Постановка aCGH позволяет выявить или исключить до 250 генетических синдромов. К недостаткам анализа aCGH относятся высокая стоимость, ограничения в определении мозаицизма, полиплоидии и других транслокаций, точечных мутаций, тринуклеотидных экспансий, микроделечий и микродупликаций за пределами разрешающей способности метода. Имеются сложности с интерпретацией результатов микроаномалий у плода, отсутствующих у его родителей [19]. Наличие в Интернете информационных баз данных DECIPHER [34], DGV [35] частично способствует решению этих проблем.

Областью клинического применения этого анализа является определение хромосомных анеуплоидий, делеций, дупликаций в предимплантационной, пренатальной, постнатальной диагностике и в случае невынашивания беременности [19].

**BoBs (BACs-on-Beads™ assay).** В основе метода кариотипирования BoBs лежит гибридизация фрагментов ДНК с зондами на полистирольных микросферах (диаметр 5 микрон) или искусственных бактериальных хромосомах (Bacterial Artificial Chromosomes, BACs). Микросферы содержат два флуоресцентных красителя различной интенсивности, что позволяет при их комбинации идентифицировать до 100 микросфер. Когда фрагмент ДНК гибридизуется с зондами, уровень флуоресценции микросфер сканируется лазером и идентифицируется их тип. Анализ уровня флуоресценции образца и нормальной ДНК через 24 ч позволяет определить делеции и дупликации в тестовых фрагментах [36]. Исследователи из университета Гонконга (Китай) провели скрининг 2 153 ДНК образцов крови плодов на выявление анеуплоидий 13, 18, 21-й и половых хромосом с помощью анализа BACs-on-Beads™ и сравнили с результатами, полученными в количественной флуоресцентной ПЦР (QF-PCR), и кариотипированием. BoBs™ позво-

лил установить дополнительно 6 микроделеционных синдромов, которые не были обнаружены при кариотипировании и QF-PCR, однако были пропущены два выявленных QF-PCR случая трисомии. Следовательно, чувствительность BoBs (™) составила 96,7 %, специфичность – 100 % [37].

В одном анализе могут быть исследованы несколько фрагментов из разных целевых участков ДНК. Разработаны наборы BoBs для ПД, позволяющие одновременно идентифицировать трисомии 13, 18, 21-й, делеции X, Y-хромосом, а также микроделеционные синдромы (Вольфа – Хиршхорна, «кошачьего крика», Вильямса, Ди Джорджа, Прадера – Вилли, лиссэнцефалии Миллера – Дикера и Смита – Магениса) в одной постановке [36].

**Массовое параллельное секвенирование (MPS) и цифровой анализ выбранных областей (DANSR).** MPS позволяет идентифицировать в крови матери последовательности вкДНК плода, принадлежащие любой хромосоме, а также обнаружить избыточную или недостаточную хромосому. Длина каждого прочтения – 36 нуклеотидов, а результат секвенирования определенной библиотеки – последовательность 5 млн фрагментов ДНК, что составляет 6 % генома человека. Затем данные секвенирования сравниваются с последовательностью референтной ДНК и определяется принадлежность каждого фрагмента той или иной хромосоме.

Существуют две технологии MPS: MPSS (Massive parallel signature sequencing) и DANSR (Digital Analysis of Selected Regions). Суть MPSS заключается в секвенировании коротких фрагментов вкДНК плода с последующим анализом их локализации по хромосомам. Так как вкДНК плода является низкомолекулярной, ее можно применять для приготовления библиотек фрагментов ДНК. Собственные исследования авторов, выполненные с использованием MPS, позволили провести анализ вкДНК плода в крови 149 беременных женщин и идентифицировать 21 плод с анеуплоидиями. В 12 случаях был выявлен синдром Дауна, в 5 – синдром Эдвардса, в 2 – синдром Патау, у одной пациентки одновременно обнаружена трисомия по 13-й и 21-й хромосомам, в одном случае – трисомия по X-хромосоме. Кариотипирование клеток плода подтвердило наличие установленных анеуплоидий во всех случаях. Не отмечено ложноположительных результатов, чувствительность метода составила 100 %, специфичность – более 99,9 % [29].

При цифровом анализе выбранных областей (DANSR) одновременно проводятся количественное и селективное секвенирование непалиморфных локусов хромосом [6]. М. Schmid и соавт. [38] проанализировали 47 512 образцов плазмы беременных женщин на наличие трисомий и анеуплоидий половых хромосом у плодов методом DANSR. Измерения вкДНК плода сравнивали с результатами количественного определения Y-последовательности. Авторы наблюдали сильную ( $r = 0,97$ ) корреляцию между вкДНК плода, детектируемой DANSR, и количественным определением последовательности Y-хромосомы. Для определения группы высокого риска по делеции 22q11.2 в 1 953 образцах вкДНК плода у беременных женщин была оценена эффективность Harmony Prenatal Test®. Чувствительность теста составила 75,4 %, а специфичность на 1 614 образцах – 99,5 %. Не было зафиксировано ложноположительных результатов [39].

Преимуществами MPS являются быстрота анализа (2 суток), а также высокая чувствительность (97,9–100 %) и специфичность (99,9–100 %), высокая производительность и низкая стоимость исследования [7]. Точность и специфичность генетических тестов может также повысить применение *in silico* биоинформационного анализа. Недостатками MPS являются высокая стоимость и сложность интерпретации результатов, для чего часто используют биоинформатические методы [38]. Методы MPS и DANSR применяются в НИПД для идентификации анеуплоидий у плода, а также в случаях, когда требуется проанализировать большое количество фрагментов ДНК в образце.

**Тест на анеуплоидию с использованием SNP и секвенирования следующего поколения (NATUS).**

На анализе избранных одиночных нуклеотидных полиморфизмов основан тест NATUS (Next-generation Aneuploidy Test Using SNPs), в котором *in silico* строятся миллиарды возможных генотипов плода на основе данных о генотипе матери и частотах рекомбинаций. Ученые исследовательского центра эмбриональной медицины имени Харриса при больнице Королевского Колледжа (Лондон, Великобритания) использовали метод NATUS для идентификации трисомий 13-й, 18-й и 21-й хромосом, анеуплоидий половых хромосом на основе секвенирования 19 488 полиморфных локусов этих хромосом в 229 образцах. Этим методом были определены 32 из 32 случаев трисомии 21-й хромосомы, 3 из 3 случаев трисомии 18-й хромосомы, а также трисомия 13-й хромосомы ( $n = 1$ ), моносомия и триплоидия X-хромосомы ( $n = 2$ ,  $n = 1$ ) при отсутствии ложноположительных или ложноотрицательных результатов [12]. В лаборатории «Геномед» (Москва, РФ) проводится Panorama-тест, основанный на технологии NATUS, который позволяет в образцах крови беременной с диагностической точностью более 99,9 % определить хромосомные аномалии у плода (синдромы Дауна, Эдвардса, Патау, Тернера) и микроделеционные синдромы (делеции 1р36, «кошачье крика», Ангельмана, Прадера – Вилли и Ди Джорджи) [40]. Метод способен анализировать аллельное распределение и не нуждается в применении референтной хромосомы.

**Высокопроизводительный анализ с амплификацией лигированных зондов (HLPA) и оценкой z-баллов.** Исследователи из Института эмбрионально-фетальных заболеваний у взрослых при Шанхайском медицинском университете Цзяо Тонг (Шанхай, Китай) разработали неинвазивный генетический тест – высокопроизводительный анализ с амплификацией лигированных зондов (HLPA) и оценкой z-баллов. Этот тест позволяет быстро выявить анеуплоидию у плода по количественному определению 200 локусов при проведении мультиплексной ПЦР. Метод был апробирован при проведении НИПД на синдром Дауна у 1 182 женщин с одноплодной беременностью. Было обнаружено 19 эмбрионов с трисомией по 21-й хромосоме. Метод имеет 100 %-ю чувствительность и 99,7 %-ю специфичность (1 076/1 079), положительную прогностическую ценность 86,4 % и отрицательную прогностическую ценность 7,1 % для трисомии 21-й хромосомы [41].

**Тест с поддержкой штрих-кода для одиночной молекулы ДНК (cfBEST, cfDNA barcode-enabled single-molecule test).** Анализ cfBEST был применен для количественного определения аллелей моногенных

расстройств на примере  $\beta$ -талассемии в 143 образцах вкДНК плода. В основе обнаружения гаплотипов плода методом cfBEST лежит технология NGS с использованием SNP-праймеров и биоинформатического анализа для вероятностной оценки коэффициента мутаций во вкДНК матери без информации о генотипах родителей. Было проанализировано 1 859 гаплотипов по 13 сайтам мутаций  $\beta$ -талассемии в 143 образцах. Для валидации результатов cfBEST-теста его сравнивали с капельной цифровой ПЦР (ddPCR). Коэффициент конкорданса ( $\kappa$ ) составил 99,78 % ( $\kappa = 0,98$ ). Метод показал чувствительность 99,19 %, специфичность – 99,92 %, положительную прогностическую ценность в 97,62 % и отрицательную прогностическую ценность в 99,97 % [39]. Преимуществом cfBEST является использование небольшого количества SNP, но более точное генотипирование локусов, что уменьшает стоимость исследования и позволяет определять несколько генетических заболеваний в одной панели в отсутствие информации о генотипах родителей. Однако наблюдается техническая трудность в случае гетерозиготного генотипа матери [39].

**Относительный анализ доз гаплотипа (RHDO).**

RHDO-анализ основан на количественной оценке относительных доз гаплотипов с аллелями, содержащих SNP внутри и вокруг целевого гена, что позволяет идентифицировать мутации в локусе интереса у плода с использованием MPS. Исследователи из Бирмингема (Великобритания) применили данный анализ и MPS для обнаружения на 6 образцах вкДНК плода мутаций в гене SMN1, связанных с развитием спинальной мышечной атрофии (SMA). С этой целью определяли эталонные гаплотипы по гену SMN1 для материнской и отцовской ДНК. Чувствительность и специфичность метода – 100 % [42]. Ограничение RHDO-анализа – применение только для плода, гетерозиготного по изучаемому SNP.

**Эпигенетические методы НИПД.** Данные методы предоставляют информацию об активности генов без знания первичной структуры ДНК. Это достигается оценкой уровня посттранскрипционных модификаций (метилирования) генов по уровню экспрессии РНК. При этом внимание исследователей привлекают гены, метилирование которых отличается у плода и матери.

**Массовое параллельное бисульфитное секвенирование.** Статус метилирования оценивается при обработке ДНК бисульфитом натрия [43]. Затем, как правило, выполняют количественную ПЦР-РВ со специфичными праймерами к метилированным последовательностям. В другом случае вкДНК плода подвергают воздействию метилзависимыми рестриктазами и проводят ПЦР-РВ для количественного определения метилированных участков ДНК [44]. Также для анализа данных метилирования, его уровня, определения различно метилированных локусов в парных выборках используют биоинформационное ПО (например, Methy-Pipe) [45].

**Полноэкзомное секвенирование (Whole Exome Sequencing, WES).** Технология WES применяется для обнаружения хромосомных анеуплоидий у плода. Также WES используют в тех случаях, когда стандартные методы ПД (кариотипирование, ПЦР) не позволяют поставить диагноз: редкие генетические синдромы; мутации; новые, ранее неизвестные, генетические заболевания [46]. WES проводят и в случае обнаружения

у плода гомозиготных или близкородственных генетических патологий.

В настоящее время широкое применение WES сопряжено с рядом трудностей, касающихся интерпретации полученных данных, с продолжительным временем обработки результатов полноэкзомного секвенирования (6–8 недель). Высокая стоимость анализа и нехватка квалифицированных специалистов-генетиков, владеющих данной технологией и способных оказать консультирование пациентов по вопросам интерпретации данных анализа, не способствуют широкому распространению методики [41]. Проведение WES и NGS на вкДНК плода требует подтверждения их эффективности при проведении инвазивной процедуры, что сопряжено с риском выкидыша.

**РНК-методы. Детекция РНК-транскриптов.** Уровень экспрессии и циркуляции РНК выше, чем у вкДНК плода, однако ее концентрация сильно колеблется для разных генов и тканей. Как ДНК, так и вкРНК плода могут быть биомаркерами анеуплоидий у плода. С целью обнаружения генетических патологий у плода проводится поиск плаценто-специфических генов и генов, экспрессия которых отмечается при беременности. Например, учеными кафедры акушерства и гинекологии университетского медицинского центра Амстердама (Нидерланды) были идентифицированы транскрипты 5 плацентарных генов: GCM1, ZDHHC1, PAPP, PSG9, PLAC1 [47]. Тот же коллектив авторов, А. Го и др. [48], идентифицировал с помощью SNP еще мРНК 6 плацентарных генов, дифференциально экспрессированных в первом триместре беременности, локализованных на 21-й хромосоме (PLAC4, COL6A2, COL6A1, BTG3, ADAMTS1, C21orf105, APP), что позволяет с высокой чувствительностью обнаружить синдром Дауна у эмбриона в I триместре беременности.

**РНК-секвенирование (RNA-seq).** RNA-seq позволяет определить транскриптом клеток плода, который представляет собой одновременное динамическое изменение экспрессии тысяч генов, активируемых в определенный момент времени при физиологических и патофизиологических процессах, стадии цикла клетки или ткани организма. Секвенирование РНК количественно определяет экспрессию генов в большом диапазоне, который включает идентификацию новых изоформ белков, варианты сплайсинга, экспрессию аллелей генов, экспрессии микроРНК, транспортной РНК (тРНК), информационной РНК (матричной мРНК), длинной некодирующей РНК (днРНК), циклических РНК. Однако плацента и амниотическая жидкость содержат различные типы клеток [49]. Поэтому определение РНК дает возможность установить тканеспецифическое происхождение вкДНК плода, а также дифференцировать ее от опухолевой вкДНК матери, позволяя предотвратить появление ложноположительных результатов теста [49].

**Преимущества и ограничения методов инвазивной ПД.** Проведение трансабдоминальной хорионбиопсии позволяет уже на ранних сроках беременности с первой попытки провести исследования в 96–99 % случаев или прервать беременность с минимальным риском для женщины [10]. Однако при трансцервикальной модификации хорионбиопсии возникают серьезные трудности в связи с техническими особенностями метода – введением эндоскопа диаметром 7 мм и механическим расширением цервикального ка-

нала у нерожавших женщин – и развитием различных осложнений беременности. При кариотипировании по клеткам хориона, полученным в результате трансцервикальной хорионбиопсии, может наблюдаться хромосомный мозаицизм, поскольку вместе с ворсинками хориона в шприц могут попасть клетки материнского эндометрия [10, 23].

Ограничивает применение амниоцентеза продолжительное (до 28 суток) культивирование амниоцитов и ожидание ответа [10].

При КЦ проводят латеральные движения иглой 18–20 G для выбора оптимальной плоскости пункции сосуда, что повышает травматичность, риск кровотечения и маточной активности. После КЦ у 40 % пациенток в крови повышается уровень  $\alpha$ -фетопротеина, что указывает на развитие микрогемотрансфузий или изоиммунизации. В 3–12 % случаев встречается кратковременная брадикардия у плода. Серьезным осложнением КЦ является хориоамнионит, приводящий к гибели плода у 1 % матерей [10].

**Преимущества и ограничения методов НИПД.** К преимуществам НИПД относятся ее производительность и диагностическая точность по сравнению со скрининговыми тестами для сыворотки крови; получение информации о генетическом материале плода на ранней стадии и без риска для беременности, что уменьшает количество проводимых процедур инвазивного тестирования; срок выполнения (10–14 сут) [23]. Однако на сегодняшний день НИПД имеет достаточно много ограничений, которые еще предстоит преодолеть в ближайшем будущем.

Поскольку вкДНК плода имеет преимущественно плацентарное происхождение, результаты НИПД не всегда отражают истинный генетический статус плода, верификация которого должна быть проведена с помощью инвазивных методов [23]. В 1,4–5,4 % случаев НИПД наблюдаются неудачные попытки, связанные с низким содержанием вкДНК плода в крови матери, особенно у женщин с ожирением. Для подтверждения генетического статуса плода с помощью НИПД исследуемый образец должен содержать не менее 4 % вкДНК плода от общего количества ДНК в крови женщины [50].

До сегодняшнего дня пока не достигнут консенсус о методе оценки вкДНК плода, не разработаны методы для надежного определения низкого количества копий вкДНК плода. Не существует лабораторных и консультативных рекомендаций для проведения и оценки качества НИПД. В России ни один из применяемых методов НИПД не сертифицирован (за исключением метода FISH), поэтому полученные результаты необходимо подтверждать с помощью иных диагностических тестов [50].

Несмотря на существенные преимущества НИПД над кариотипированием и комбинированным генетико-биохимическим скринингом, в настоящее время методы НИПД полностью не могут заменить инвазивную ПД. Поэтому НИПД следует рассматривать как скрининговые тесты в дополнение к методам инвазивной ПД.

**Перспективы НИПД.** В настоящее время НИПД преимущественно применяется для обнаружения анеуплоидий по 13-й, 18-й, 21-й и половым хромосомам. Дальнейшее развитие методов НИПД будет связано с поиском новых мутаций, возникающих de novo, и обнаружением новых и более редких рецессивных и доминантных генетических заболеваний. При этом мето-

ды НИПД уже начинают внедряться в государственную дородовую помощь в некоторых странах, например в Нидерландах [30]. Бельгия является единственной страной, которая использует НИПД в качестве первичного скрининга. Также отмечаются заинтересованность в методах НИПД и рост их использования в ряде других развитых странах Западной Европы. При этом в Дании, Франции, Нидерландах и Швейцарии оказывается государственная поддержка НИПД в случае повышенного риска рождения ребенка с анеуплоидией. Растет количество доказательств, что вкДНК плода может выступать в качестве биомаркера состояния плаценты для прогнозирования развития патологий у плода [43]. В России, учитывая исторически сложившуюся «пирамидную» иерархию медицинских учреждений, вершину которой составляют федеральные медико-генетические центры (ФМГЦ), только начинают использовать НИПД в нескольких организациях в Москве и Санкт-Петербурге, а ее развитию препятствуют финансовые и организационные проблемы. При этом НИПД в нашей стране предлагают множество фирм-посредников, отправляющих образцы крови беременных женщин за границу (в США и Китай) [50].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Развитие в XXI веке геномных технологий способствовало их внедрению в область клинической пренатальной генетики, связанную с профилактикой, диагностикой, терапией наследственных заболеваний у плода. В будущем развитие НИПД будет направлено на ее применение в преимплантационном генетическом тестировании, выявление генетических причин, лежащих в основе мужского и женского бесплодия, редактирование генома зародышевой линии [50]. Также предстоит подтвердить клиническую эффективность новых методов НИПД, особенно метода WES. НИПД будет развиваться в направлении полногеномного и полноэкзомного секвенирования плода, определения его метилома, транскриптома, протеома, метаболома, а также длинных некодирующих и циркулирующих РНК.

В ближайшем будущем секвенирование РНК позволит установить происхождение генетических аномалий, изучить биомаркеры дифференцировки органов плода, провести неинвазивный скрининг и таргетную терапию плацентарно-опосредованных осложнений беременности [41].

## ЛИТЕРАТУРА

1. World health statistics 2018: monitoring health for the SDGs, sustainable development goals. Geneva: World Health Organization; 2018. 100 p. URL: <https://www.apps.who.int/iris/bitstream/handle/> (дата обращения: 11.05.2019).
2. Основные показатели здоровья матери и ребенка, деятельность службы охраны детства и родовспоможения в Российской Федерации. 2018 год. URL: <https://www.rosminzdrav.ru/ministry/> (дата обращения: 05.11.2019).
3. Воронин С. В., Кику П. Ф., Ярыгина М. В. Оптимизация пренатальной диагностики врожденных пророков развития у населения Приморского края // *Здравоохранение Рос. Федерации*. 2016. Т. 60, № 6. С. 332–335.
4. Баранов В. С. Пренатальная диагностика наследственных и врожденных болезней в России. Реальность и перспективы // *Сорос. образоват. журн.* 1998. № 10. С. 32–36.
5. Lo Y. M., Corbetta N., Chamberlain P. F., Rai V., Sargent I. L. et al. Presence of Fetal DNA in Maternal Plasma and Serum // *Lancet*. 1997. Vol. 350. P. 485–487.
6. Емельяненко Е. С. Концепция пренатальной диагностики // *Акушерство и гинекология: новости, мнения, обучение*. 2019. Т. 7, № 3. С. 14–20.
7. Жигалина Д. И., Скрябин Н. А., Лебедев И. Н. Неинвазивная ДНК-диагностика в репродуктивной медицине // *Мед. генетика*. 2015. Т. 10. С. 3–13.
8. Scheffer P. G., van der Schoot C. E., Page-Christiaens G. C., Bossers B., van Erp F., de Haas M. Reliability of Fetal Sex Determination Using Maternal Plasma // *Obstet Gynecol.* 2010. Vol. 115, No. 1. P. 117–126.
9. Малышева О. В., Баранов В. С. Неинвазивная пренатальная диагностика. Проблемы, подходы и перспективы // *Журнал акушерства и женских болезней*. 2012. Т. LXI, № 3. С. 83–93.
10. Коротеев А. Л. Инвазивные вмешательства в пренатальной диагностике наследственных и врожденных болезней // *Журнал акушерства и женских болезней*. 2007. Т. XVI, № 1. С. 110–119.
11. Маркелова А. Н., Тюмина О., Тороповский А. Н. Новый подход к ведению беременных женщин с резус-отрицательной кровью с ранних сроков беременности // *Medical sciences*. 2011. Т. 11. С. 330–332.
12. Mackie F. L., Hemming K., Allen S., Morris R. K., Kilby M. D. The Accuracy of Cell-Free Fetal DNA-Based Non-Invasive Prenatal Testing in Singleton Pregnancies: a Systematic Review and Bivariate Meta-Analysis // *BJOG*. 2017. Vol. 124, No. 1. P. 32–46.

## REFERENCES

1. World health statistics 2018: monitoring health for the SDGs, sustainable development goals. Geneva: World Health Organization; 2018. 100 p. URL: <https://www.apps.who.int/iris/bitstream/handle/> (accessed: 11.05.2019).
2. Osnovnye pokazateli zdorovya materi i rebenka, deyatel'nost sluzhby ohrany detstva i rodovspomozheniya v Rossijskoj Federacii. URL: <https://www.rosminzdrav.ru/ministry/> (accessed: 05.11.2019). (In Russian).
3. Voronin S. V., Kiku P. F., Yarygina M. V. Optimizatsiya prenatalnoj diagnostiki vrozhdennyh prorokov razvitiya u naseleniya primorskogo kraja // *Zdravooхранение Ros. Federacii*. 2016. Vol. 60, No. 6. P. 332–335. (In Russian).
4. Baranov V. S. Prenatalnaya diagnostika nasledstvennyh i vrozhdennyh boleznej v Rossii. Realnosti perspektivy // *Sorosov. obrazov. zhurn.* 1998. No. 10. P. 32–36. (In Russian).
5. Lo Y. M., Corbetta N., Chamberlain P. F., Rai V., Sargent I. L. et al. Presence of Fetal DNA in Maternal Plasma and Serum // *Lancet*. 1997. Vol. 350. P. 485–487.
6. Emelyanenko E. S. Konceptsiya prenatalnoj diagnostiki // *Akusherstvo i ginekologiya: novosti, mneniya, obuchenie*. 2019. Vol. 7, No. 3. P. 14–20. (In Russian).
7. Zhigalina D. I., Skryabin N. A., Lebedev I. N. Ne invazivnaya DNK-diagnostika v reproduktivnoj medicine // *Med. genetika*. 2015. Vol. 10. P. 3–13. (In Russian).
8. Scheffer P. G., van der Schoot C. E., Page-Christiaens G. C., Bossers B., van Erp F., de Haas M. Reliability of Fetal Sex Determination Using Maternal Plasma // *Obstet Gynecol.* 2010. Vol. 115, No. 1. P. 117–126.
9. Malysheva O. V., Baranov V. S. Neinvazivnaya prenatalnaya diagnostika. Problemy, podhody i perspektivy // *Zhurnal akusherstva i zhenskikh boleznej*. 2012. Vol. LXI, No 3. P. 83–93. (In Russian).
10. Koroteev A. L. Invazivnye vmeshatelstva v prenatalnoj diagnostike nasledstvennyh i vrozhdennyh boleznej // *Zhurnal akusherstva i zhenskikh boleznej*. 2007. Vol. XVI, No. 1. P. 110–119. (In Russian).
11. Markelova A. N., Tyumina O., Toropovskij A. N. Novyj podhod k vedeniyu beremennyh zhenshchin s rezus-otricatel'noy krovyyu s rannih srokov beremennosti // *Medical sciences*. 2011. Vol. 11. P. 330–332. (In Russian).
12. Mackie F. L., Hemming K., Allen S., Morris R. K., Kilby M. D. The Accuracy of Cell-Free Fetal DNA-Based Non-Invasive Prenatal Testing in Singleton Pregnancies: a Systematic Review and Bivariate Meta-Analysis // *BJOG*. 2017. Vol. 124, No. 1. P. 32–46.

13. Nicolaidis K. H., Syngelaki A., Gil M., Atanasova V., Markova D. Validation of Targeted Sequencing of Single-Nucleotide Polymorphisms for Non-Invasive Prenatal Detection of Aneuploidy of Chromosomes 13, 18, 21, X, and Y // *Prenat Diagn*. 2013. Vol. 33, No. 6. P. 575–579.
14. Flöck A., Tu N. C., Rüländ A., Holzgreve W., Gembruch U., Geipel A. Non-invasive Prenatal Testing (NIPT): Europe's First Multicenter Post-Market Clinical Follow-Up Study Validating the Quality in Clinical Routine // *Arch Gynecol Obstet*. 2017. Vol. 296, No. 5. P. 923–928.
15. ДОТ-тест. URL: <http://www.dot-test.ru> (дата обращения: 06.11.2019).
16. Picchiassi E., Coata G., Centra M., Pennacchi L., Bini V., Di Renzo G. C. Identification of Universal mRNA Markers for Noninvasive Pre-Natal Screening of Trisomies. *Prenat Diagn*. 2010. Vol. 30, No. 8. P. 764–770.
17. Evans C. A., Pinner J., Chan C. Y., Bowyer L., Mowat D., Buckley M. F., Roscioli T. Fetal Diagnosis of Mowat–Wilson Syndrome by Whole Exome Sequencing // *Am J Med Genet A*. 2019. Vol. 179, No. 10. P. 2152–2157.
18. Alkhunaizi E., Shaheen R., Bharti S. K., Joseph-George A. M., Chong K., et al. Warsaw Breakage Syndrome: Further Clinical and Genetic Delineation // *Am J Med Genet A*. 2018. Vol. 176, No. 11. P. 2404–2418.
19. Pasińska M., Adamczak R., Repczyńska A., Łazarczyk E., Iskra B., Runge A. K., Haus O. Prenatal Identification of Partial 3q Duplication Syndrome // *BMC Med Genomics*. 2019. Vol. 12, No. 1. P. 85.
20. Tesner P., Vlckova M., Drabova J., Vseticka J., Klimova A. et al. Molecular Cytogenetic Diagnostics of Marker Chromosomes: Analysis in Four Prenatal Cases and Long-Term Clinical Evaluation of Carriers // *Cytogenet Genome Res*. 2018. Vol. 154, No. 4. P. 187–195.
21. Pendina A. A., Ivashchenko T. E., Glotov O. S., Glotov A. S., Baranov V. S. et al. Reproductive History of a Woman with 8p and 18p Genetic Imbalance and Minor Phenotypic Abnormalities // *Frontiers in Genetics*. 2019. Vol. 10. P. 1164.
22. O'Connor C. Karyotyping for Chromosomal Abnormalities // *Nature Education*. 2008. Vol. 1, No. 1. P. 27.
23. Баранов В. С., Кузнецова Т. В., Кашчеева Т. К., Иващенко Т. Э. Пренатальная диагностика наследственных болезней: состояние и перспективы. 2-е изд. СПб.: Эко-Вектор, 2017. 471 с.
24. Łaczmańska I., Stembalska A. New Molecular Methods in Prenatal Invasive Diagnostics // *Ginekol Pol*. 2013. Vol. 84, No. 10. P. 871–876.
25. Кашчеева Т. К., Кузнецова Т. В., Баранов В. С. Новые технологии и тенденции развития пренатальной диагностики // *Журнал акушерства и женских болезней*. 2017. Т. 66, № 2. С. 33–39.
26. Тарасенко О. А., Насыхова Ю. А., Иващенко Т. Э., Баранов В. С. и др. Пренатальная диагностика наиболее распространенных хромосомных аномалий методом QF-PCR в Санкт-Петербурге // *Мед. генетика*. 2012. № 11. С. 42–49.
27. Wright C. F., Wei Y., Higgins J. P., Sagoo G. S. Non-Invasive Prenatal Diagnostic Test Accuracy for Fetal Sex Using Cell-Free DNA a Review and Meta-Analysis // *BMC Res Notes*. 2012. Vol. 5. P. 476.
28. Weise A., Liehr T. Rapid Prenatal Aneuploidy Screening by Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) // *Methods Mol Biol*. 2019. Vol. 1885. P. 129–137.
29. Двойнова Н. М., Талантова О. Е., Коротеев А. Л., Пендина А. А., Тихонов А. В., Чиряева О. Г., Петрова Л. И., Дудкина В. С., Ефимова О. А., Баранов В. С., Глотов А. С. и др. Первый опыт применения NGS секвенирования для проведения неинвазивного пренатального тестирования // *Генетика*. 2019. Т. 55, № 10. С. 1151–1157.
30. Pietrzyk A., Ryłów M., Bryskiewicz M., Studniak E., Piotrowski K., Zajaczk S., Gronwald J. Evaluation of Microfluidics-FISH Method in Prenatal Diagnosis // *Ginekol Pol*. 2017. Vol. 88, No. 12. P. 670–673.
31. Huang C. E., Ma G. C., Jou H. J., Lin W. H., Lee D. J. et al. Noninvasive Prenatal Diagnosis of Fetal Aneuploidy by Circulating Fetal Nucleated Red Blood Cells and Extravillous Trophoblasts Using Silicon-Based Nanostructured Microfluidics // *Mol Cytogenet*. 2017. Vol. 10. P. 44.
32. НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д. О. Отта. URL: <https://www.ott.ru/clinic/laboratory-department/laboratory-prenatal-diagnostics> (дата обращения: 05.11.2019).
33. Лебедев И. Н., Кашеварова А. А., Скрябин Н. А., Никитина Т. В., Лопаткина М. Е., Мельников А. А., Саженова Е. А., Иванова Т. В., Евтущенко И. Д. Матричная сравнительная геномная гибридизация (array-CGH) в диагностике хромосомного дисбаланса
13. Nicolaidis K. H., Syngelaki A., Gil M., Atanasova V., Markova D. Validation of Targeted Sequencing of Single-Nucleotide Polymorphisms for Non-Invasive Prenatal Detection of Aneuploidy of Chromosomes 13, 18, 21, X, and Y // *Prenat Diagn*. 2013. Vol. 33, No. 6. P. 575–579.
14. Flöck A., Tu N. C., Rüländ A., Holzgreve W., Gembruch U., Geipel A. Non-invasive Prenatal Testing (NIPT): Europe's First Multicenter Post-Market Clinical Follow-Up Study Validating the Quality in Clinical Routine // *Arch Gynecol Obstet*. 2017. Vol. 296, No. 5. P. 923–928.
15. DOT-test. URL: <http://www.dot-test.ru> (accessed: 06.11.2019). (In Russian).
16. Picchiassi E., Coata G., Centra M., Pennacchi L., Bini V., Di Renzo G. C. Identification of Universal mRNA Markers for Noninvasive Pre-Natal Screening of Trisomies. *Prenat Diagn*. 2010. Vol. 30, No. 8. P. 764–770.
17. Evans C. A., Pinner J., Chan C. Y., Bowyer L., Mowat D., Buckley M. F., Roscioli T. Fetal Diagnosis of Mowat–Wilson Syndrome by Whole Exome Sequencing // *Am J Med Genet A*. 2019. Vol. 179, No. 10. P. 2152–2157.
18. Alkhunaizi E., Shaheen R., Bharti S. K., Joseph-George A. M., Chong K., et al. Warsaw Breakage Syndrome: Further Clinical and Genetic Delineation // *Am J Med Genet A*. 2018. Vol. 176, No. 11. P. 2404–2418.
19. Pasińska M., Adamczak R., Repczyńska A., Łazarczyk E., Iskra B., Runge A. K., Haus O. Prenatal Identification of Partial 3q Duplication Syndrome // *BMC Med Genomics*. 2019. Vol. 12, No. 1. P. 85.
20. Tesner P., Vlckova M., Drabova J., Vseticka J., Klimova A. et al. Molecular Cytogenetic Diagnostics of Marker Chromosomes: Analysis in Four Prenatal Cases and Long-Term Clinical Evaluation of Carriers // *Cytogenet Genome Res*. 2018. Vol. 154, No. 4. P. 187–195.
21. Pendina A. A., Ivashchenko T. E., Glotov O. S., Glotov A. S., Baranov V. S. et al. Reproductive History of a Woman with 8p and 18p Genetic Imbalance and Minor Phenotypic Abnormalities // *Frontiers in Genetics*. 2019. Vol. 10. P. 1164.
22. O'Connor C. Karyotyping for Chromosomal Abnormalities // *Nature Education*. 2008. Vol. 1, No. 1. P. 27.
23. Baranov V. S., Kuznecova T. V., Kashcheeva T. K., Ivashchenko T. E. Prenatalnaya diagnostika nasledstvennyh boleznej. Sostoyanie i perspektivy. 2nd ed. Saint Petersburg: Eko-Vektor, 2017. 471 p. (In Russian).
24. Łaczmańska I., Stembalska A. New Molecular Methods in Prenatal Invasive Diagnostics // *Ginekol Pol*. 2013. Vol. 84, No. 10. P. 871–876.
25. Kashcheeva T. K., Kuznecova T. V., Baranov V. S. Novye tekhnologii i tendencii razvitiya prenatalnoj diagnostiki // *Zhurnal akusherstva i zhenskikh boleznej*. 2017. Vol. 66, No. 2. P. 33–39. (In Russian).
26. Tarasenko O. A., Nasyhova Yu. A., Ivashchenko T. E., Baranov V. S. et al. Prenatalnaya diagnostika naibolee rasprostranennyh hromosomnyh anomalij metodom QF-PCR v Sankt-Peterburge // *Med. genetika*. 2012. No. 11. P. 42–49. (In Russian).
27. Wright C. F., Wei Y., Higgins J. P., Sagoo G. S. Non-Invasive Prenatal Diagnostic Test Accuracy for Fetal Sex Using Cell-Free DNA a Review and Meta-Analysis // *BMC Res Notes*. 2012. Vol. 5. P. 476.
28. Weise A., Liehr T. Rapid Prenatal Aneuploidy Screening by Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) // *Methods Mol Biol*. 2019. Vol. 1885. P. 129–137.
29. Ivashchenko T. E., Vashukova E. S., Kozulina P. Yu., Baranov V. S., Glotov A. S. et al. Pervyj opyt primeneniya NGS sekvenirovaniya dlya provedeniya neinvazivnogo prenatal'nogo testirovaniya // *Genetika*. 2019. Vol. 55, No. 10. P. 1151–1157. (In Russian).
30. Pietrzyk A., Ryłów M., Bryskiewicz M., Studniak E., Piotrowski K., Zajaczk S., Gronwald J. Evaluation of Microfluidics-FISH Method in Prenatal Diagnosis // *Ginekol Pol*. 2017. Vol. 88, No. 12. P. 670–673.
31. Huang C. E., Ma G. C., Jou H. J., Lin W. H., Lee D. J. et al. Noninvasive Prenatal Diagnosis of Fetal Aneuploidy by Circulating Fetal Nucleated Red Blood Cells and Extravillous Trophoblasts Using Silicon-Based Nanostructured Microfluidics // *Mol Cytogenet*. 2017. Vol. 10. P. 44.
32. НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д. О. Отта. URL: <https://www.ott.ru/clinic/laboratory-department/laboratory-prenatal-diagnostics> (accessed: 05.11.2019). (In Russian).
33. Lebedev I. N., Kashevarova A. A., Skryabin N. A., Nikitina T. V., Lopatkina M. E., Melnikov A. A., Sazhenova E. A., Ivanova T. V., Evtushenko I. D. Matrichnaya sravnitel'naya genomnaya gibridizaciya (array-CGH) v diagnostike hromosomnogo disbalansa

- и CNV-полиморфизма при анэмбрионии // Журнал акушерства и женских болезней. 2013. Т. 62, № 2. С. 117–125.
34. Ensembl (DECIPHER-Database of Chromosomal Imbalance and Phenotype in Humans Using Ensembl Resources). URL: <https://www.decipher.sanger.ac.uk> (дата обращения: 11.06.2019).
  35. DGV (Database of Genomic Variants). URL: <http://www.projects.tcag.ca> (дата обращения: 11.06.2019).
  36. Vialard F., Simoni G., Aboura A. et al. Prenatal BACs-on-Beads™: a New Technology for Rapid Detection of Aneuploidies and Microdeletions in Prenatal Diagnosis // Prenat Diagn. 2011. Vol. 31, No. 5. P. 500–508.
  37. Choy K. W., Kwok Y. K., Cheng Y. K., Wong K. M., Wong H. K. et al. Diagnostic Accuracy of the BACs-on-Beads™ Assay Versus Karyotyping for Prenatal Detection of Chromosomal Abnormalities: a Retrospective Consecutive Case Series // BJOG. 2014. Vol. 121, No. 10. P. 1245–1252.
  38. Schmid M., White K., Stokowski R., Miller D., Bogard P.E., Valmeekam V., Wang E. Accuracy and Reproducibility of Fetal-Fraction Measurement using Relative Quantitation at Polymorphic Loci with Microarray // Ultrasound Obstet Gynecol. 2018. Vol. 51, No. 6. P. 813–817.
  39. Yang X., Zhou Q., Zhou W., Zhong M., Guo X. et al. A Cell-free DNA Barcode-Enabled Single-Molecule Test for Noninvasive Prenatal Diagnosis of Monogenic Disorders: Application to  $\beta$ -Thalassemia // Adv Sci (Weinh). 2019. Vol. 6, No. 11. P. 18023–18032.
  40. Panorama. URL: <http://www.panoramatest.ru/clinical-data> (дата обращения: 11.06.2019).
  41. Vora N. L., Hui L. Next-Generation Sequencing and Prenatal Omics: Advanced Diagnostics and New Insights Into Human Development // Genet Med. 2018. Vol. 20, No. 8. P. 791–799.
  42. Parks M., Court S., Bowns B., Cleary S., Clokie S., et al. Non-Invasive Prenatal Diagnosis of Spinal Muscular Atrophy by Relative Haplotype Dosage // Eur J Hum Genet. 2017. Vol. 25, No. 4. P. 416–422.
  43. Sun K., Lun F. M. F., Leung T. Y., Chiu R. W. K., Lo Y., Sun H. Noninvasive Reconstruction of Placental Methylome from Maternal Plasma DNA: Potential for Prenatal Testing and Monitoring // Prenat Diagn. 2018. Vol. 38, No. 3. P. 196–203.
  44. Tong Y. K., Ding C., Chiu R. W., Gerovassili A., Chim S. S. et al. Noninvasive Prenatal Detection of Fetal Trisomy 18 by Epigenetic Allelic Ratio Analysis in Maternal Plasma: Theoretical and Empirical Considerations // Clin Chem. 2006. Vol. 52, No. 12. P. 2194–2202.
  45. Jiang P., Sun K., Lun F. M., Guo A. M., Wang H. et al. Methy-Pipe: an Integrated Bioinformatics Pipeline for Whole Genome Bisulfite Sequencing Data Analysis // PLoS One. 2014. Vol. 9, No. 6. P. e100360.
  46. Petrovski S., Aggarwal V., Giordano J. L., Stosic M., Wou K. et al. Whole-exome Sequencing in the Evaluation of Fetal Structural Anomalies: a Prospective Cohort Study // Lancet. 2019. Vol. 393. P. 758–767.
  47. Go A. T., Visser A., Mulders M. A., Blankenstein M. A., Van Vugt J. M., Oudejans C. B. Detection of Placental Transcription Factor mRNA in Maternal Plasma // Clin Chem. 2004. Vol. 50, No. 8. P. 1413–1414.
  48. Go A. T., Visser A., Mulders M. A., Blankenstein M. A., van Vugt J. M., Oudejans C. B. 44 Single-Nucleotide Polymorphisms Expressed by Placental RNA: Assessment for Use in Noninvasive Prenatal Diagnosis of Trisomy 21 // Clin Chem. 2007. Vol. 53, No. 12. P. 2223–2224.
  49. Hui L., Slonim D. K., Wick H. C., Johnson K. L., Bianchi D. W. The amniotic fluid Transcriptome: a Source of Novel Information about Human Fetal Development // Obstet Gynecol. 2012. Vol. 119, No. 1. P. 111–118.
  50. Баранов В. С., Кашеева Т. К., Кузнецова Т. В. Достижения, сенсации и трудности пренатальной молекулярно-генетической диагностики // Журнал акушерства и женских болезней. 2016. Т. LXV, № 2. С. 70–80.
  51. CNV-polimorfizma pri anembrionii // Zhurna akusherstva i zhenski boleznej. 2013. Vol. 62, No. 2. P. 117–125. (In Russian).
  34. Ensembl (DECIPHER-Database of Chromosomal Imbalance and Phenotype in Humans Using Ensembl Resources). URL: <https://www.decipher.sanger.ac.uk> (accessed: 11.06.2019).
  35. DGV (Database of Genomic Variants). URL: <http://www.projects.tcag.ca> (accessed: 11.06.2019).
  36. Vialard F., Simoni G., Aboura A. et al. Prenatal BACs-on-Beads™: a New Technology for Rapid Detection of Aneuploidies and Microdeletions in Prenatal Diagnosis // Prenat Diagn. 2011. Vol. 31, No. 5. P. 500–508.
  37. Choy K. W., Kwok Y. K., Cheng Y. K., Wong K. M., Wong H. K. et al. Diagnostic Accuracy of the BACs-on-Beads™ Assay Versus Karyotyping for Prenatal Detection of Chromosomal Abnormalities: a Retrospective Consecutive Case Series // BJOG. 2014. Vol. 121, No. 10. P. 1245–1252.
  38. Schmid M., White K., Stokowski R., Miller D., Bogard P.E., Valmeekam V., Wang E. Accuracy and Reproducibility of Fetal-Fraction Measurement using Relative Quantitation at Polymorphic Loci with Microarray // Ultrasound Obstet Gynecol. 2018. Vol. 51, No. 6. P. 813–817.
  39. Yang X., Zhou Q., Zhou W., Zhong M., Guo X. et al. A Cell-free DNA Barcode-Enabled Single-Molecule Test for Noninvasive Prenatal Diagnosis of Monogenic Disorders: Application to  $\beta$ -Thalassemia // Adv Sci (Weinh). 2019. Vol. 6, No. 11. P. 18023–18032.
  40. Panorama. URL: <http://www.panoramatest.ru/clinical-data> (accessed: 11.06.2019). (In Russian).
  41. Vora N. L., Hui L. Next-Generation Sequencing and Prenatal Omics: Advanced Diagnostics and New Insights Into Human Development // Genet Med. 2018. Vol. 20, No. 8. P. 791–799.
  42. Parks M., Court S., Bowns B., Cleary S., Clokie S., et al. Non-Invasive Prenatal Diagnosis of Spinal Muscular Atrophy by Relative Haplotype Dosage // Eur J Hum Genet. 2017. Vol. 25, No. 4. P. 416–422.
  43. Sun K., Lun F. M. F., Leung T. Y., Chiu R. W. K., Lo Y., Sun H. Noninvasive Reconstruction of Placental Methylome from Maternal Plasma DNA: Potential for Prenatal Testing and Monitoring // Prenat Diagn. 2018. Vol. 38, No. 3. P. 196–203.
  44. Tong Y. K., Ding C., Chiu R. W., Gerovassili A., Chim S. S. et al. Noninvasive Prenatal Detection of Fetal Trisomy 18 by Epigenetic Allelic Ratio Analysis in Maternal Plasma: Theoretical and Empirical Considerations // Clin Chem. 2006. Vol. 52, No. 12. P. 2194–2202.
  45. Jiang P., Sun K., Lun F. M., Guo A. M., Wang H. et al. Methy-Pipe: an Integrated Bioinformatics Pipeline for Whole Genome Bisulfite Sequencing Data Analysis // PLoS One. 2014. Vol. 9, No. 6. P. e100360.
  46. Petrovski S., Aggarwal V., Giordano J. L., Stosic M., Wou K. et al. Whole-exome Sequencing in the Evaluation of Fetal Structural Anomalies: a Prospective Cohort Study // Lancet. 2019. Vol. 393. P. 758–767.
  47. Go A. T., Visser A., Mulders M. A., Blankenstein M. A., Van Vugt J. M., Oudejans C. B. Detection of Placental Transcription Factor mRNA in Maternal Plasma // Clin Chem. 2004. Vol. 50, No. 8. P. 1413–1414.
  48. Go A. T., Visser A., Mulders M. A., Blankenstein M. A., van Vugt J. M., Oudejans C. B. 44 Single-Nucleotide Polymorphisms Expressed by Placental RNA: Assessment for Use in Noninvasive Prenatal Diagnosis of Trisomy 21 // Clin Chem. 2007. Vol. 53, No. 12. P. 2223–2224.
  49. Hui L., Slonim D. K., Wick H. C., Johnson K. L., Bianchi D. W. The amniotic fluid Transcriptome: a Source of Novel Information about Human Fetal Development // Obstet Gynecol. 2012. Vol. 119, No. 1. P. 111–118.
  50. Baranov V. S., Kashcheeva T. K., Kuznecova T. V. Dostizheniya, sensacii i trudnosti prenatalnoj molekulyarno-geneticheskoy diagnostiki // Zhurna akusherstva i zhenski boleznej. 2016. Vol. LXV, No. 2. P. 70–80. (In Russian).

**СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ**

**Чернов Александр Николаевич** – специалист сектора клинико-генетических исследований, Городская больница № 40 Курортного района, Санкт-Петербург, Россия.

E-mail: al.chernov@mail.ru

**Глотов Олег Сергеевич** – кандидат биологических наук, начальник сектора клинико-генетических исследований, Городская больница № 40 Курортного района, Санкт-Петербург, Россия.

E-mail: olglotov@mail.ru

**Донников Максим Юрьевич** – научный сотрудник Научно-образовательного центра, Медицинский институт, Сургутский государственный университет, Сургут, Россия.

E-mail: donnikov@gmail.com

**Коваленко Людмила Васильевна** – доктор медицинских наук, заведующая кафедрой патофизиологии и общей патологии, Медицинский институт, Сургутский государственный университет, Сургут, Россия.

E-mail: medsurdirector@gmail.com

**Белоцерковцева Лариса Дмитриевна** – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой акушерства, гинекологии и перинатологии, Медицинский институт, Сургутский государственный университет; главный врач, Сургутский клинический перинатальный центр, Сургут, Россия.

E-mail: info@surgut-kpc.ru

**Глотов Андрей Сергеевич** – доктор биологических наук, руководитель отдела геномной медицины, Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д. О. Отта, Санкт-Петербург, Россия.

E-mail: anglotov@mail.ru.

**ABOUT THE AUTHORS**

**Aleksandr N. Chernov** – Specialist, Department of Clinical and Genetic Research, City Hospital No. 40 of Kurortny District, Saint Petersburg, Russia.

E-mail: al.chernov@mail.ru

**Oleg S. Glotov** – Candidate of Sciences (Biology), Head, Department of Clinical and Genetic Research, City Hospital No. 40 of Kurortny District, Saint Petersburg, Russia.

E-mail: olglotov@mail.ru

**Maksim Yu. Donnikov** – Researcher, Research and Educational Center, Medical Institute, Surgut State University, Surgut, Russia.

E-mail: donnikov@gmail.com

**Lyudmila V. Kovalenko** – Doctor of Sciences (Medicine), Head, Department of Pathophysiology and General Pathology, Medical Institute, Surgut State University, Surgut, Russia.

E-mail: medsurdirector@gmail.com

**Larisa D. Belotserkovtseva** – Doctor of Sciences (Medicine), Professor, Head, Department of Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Medical Institute, Surgut State University; Chief Medical Officer, Surgut Regional Clinical Prenatal Centre, Surgut, Russia.

E-mail: info@surgut-kpc.ru

**Andrey S. Glotov** – Doctor of Sciences (Biology), Head, Department of Genomic Medicine, Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D. O. Ott, Saint Petersburg, Russia.

E-mail: anglotov@mail.ru.