

<https://doi.org/10.25557/2073-7998.2023.07.11-20>

Роль метода КФ-ПЦР в детекции частых анеуплоидий

Бескоровайная Т.С., Чухрова А.Л., Черных В.Б., Шагина О.А., Поляков А.В.

ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова»
115522, г. Москва, ул. Москворечье, д. 1

Анеуплоидия – это изменение числа гомологичных хромосом в диплоидном наборе в клетке. Наиболее распространенными анеуплоидиями, совместимыми с живорождением, являются анеуплоидии по хромосомам 13, 18, 21, X и Y. В настоящее время для диагностики частых анеуплоидий возможно использование быстрого, надежного и недорогого метода количественной флуоресцентной полимеразной цепной реакции (КФ-ПЦР). В результате исследования данным методом 1192 пренатальных и 195 постнатальных образцов в 15% случаев были выявлены различные хромосомные аномалии. Наиболее часто детектируемой анеуплоидией являлась трисомия по хромосоме 21 – 9,7%. Доля трисомии по хромосоме 18 составила 2,0%, трисомии по хромосоме 13 – 0,3%. Из аномалий половых хромосом обнаружены синдром Клайнфельтера в 1,1% и синдром Шерешевского-Тернера в 0,8% случаев. Отмечено уменьшение доли анеуплоидий, сопровождающихся тяжелыми врожденными пороками развития, среди постнатальных образцов. Высокий уровень гетерозиготности по STR-маркерам, использованным в исследовании, позволил получить результат во всех образцах по всем проанализированным хромосомам. Наиболее предпочтительно применять метод КФ-ПЦР для пренатального обследования на поздних сроках беременности при подозрении на частые анеуплоидии у плода, для подтверждения хромосомных аномалий при выявлении анеуплоидий методами неинвазивного пренатального тестирования и для постнатальной диагностики несбалансированных хромосомных аномалий.

Ключевые слова: КФ-ПЦР, анеуплоидия, трисомия, синдром Дауна, синдром Эдвардса, синдром Патау.

Для цитирования: Бескоровайная Т.С., Чухрова А.Л., Черных В.Б., Шагина О.А., Поляков А.В. Роль метода КФ-ПЦР в детекции частых анеуплоидий. *Медицинская генетика* 2023; 22(7): 11-20.

Автор для корреспонденции: Бескоровайная Т.С.; e-mail: t-kovalevskaya@yandex.ru

Финансирование. Государственное задание Министерства науки и высшего образования для ФГБНУ МГНЦ.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 03.07.2023

The role of the QF-PCR method in the detection of frequent aneuploidies

Beskorovainaya T.S., Chukhrova A.L., Chernykh V.B., Shchagina O.A., Polyakov A.V.

N.P. Bochkov Research Centre for Medical Genetics
1, Moskvorechye st., Moscow, 115522, Russian Federation

Aneuploidy is a numerical chromosome abnormality in a diploid set in a cell. The most common aneuploidies observed in case of live birth are aneuploidies on chromosomes 13, 18, 21, X, and Y. At the present moment, it is possible to use a fast, reliable, and cheap method of quantitative fluorescent polymerase chain reaction (QF-PCR) for diagnosing frequent aneuploidies. The analysis of 1192 prenatal samples and 195 postnatal samples using this method detected various chromosomal abnormalities in 15% of cases. The most frequently detected aneuploidy was a trisomy 21 - 9.7%. The trisomy 18 rate was 2.0%, trisomy 13 - 0.3%. Among the anomalies of the sex chromosomes, Klinefelter syndrome was found in 1.1% and Turner syndrome in 0.8% of cases. There was a decrease in the proportion of aneuploidies accompanied by severe malformations in postnatal samples. The high level of the STR markers heterozygosity used in the study made it possible to obtain results in all samples for analyzed chromosomes. It is most preferable to use the QF-PCR method for prenatal examination of patients with suspected frequent fetal aneuploidies during late pregnancy or to confirm chromosomal abnormalities in case of aneuploidy detection by noninvasive prenatal test and for postnatal diagnosis of unbalanced chromosomal abnormalities.

Keywords: QF-PCR, aneuploidy, trisomy, Down syndrome, Edwards syndrome, Patau syndrome.

For citation: Beskorovainaya T.S., Chukhrova A.L., Chernykh V.B., Shchagina O.A., Polyakov A.V. The role of the QF-PCR method in the detection of frequent aneuploidies. *Medical genetics [Medicinskaya genetika]* 2023; 22(7): 11-20. (In Russ.)

Corresponding author: Beskorovainaya T.S.; e-mail t-kovalevskaya@yandex.ru

Funding. The work was supported by the state task of the Ministry of Science and Higher Education for Research Centre for Medical Genetics.

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interests.

Accepted: 03.07.2023

Введение

Термином «анеуплоидия» обозначается нарушение числа хромосом в диплоидном наборе, когда в одной из пар гомологичных хромосом либо появляется дополнительная хромосома, либо одна из гомологичных хромосом теряется. Хотя большинство беременностей плодом с анеуплоидией прерывается спонтанно, некоторые из них совместимы с живорождением. В целом, 0,3–0,5% живорожденных плодов имеют анеуплоидии, однако при мертворождении частота данной патологии возрастает примерно до 4% [1]. Наиболее распространенные анеуплоидии, наблюдаемые при живорождении, включают хромосомы 13, 18, 21, X и Y. Распространенность в среднем в мире составляет: трисомии по хромосоме 21 — 1 на 1000 новорожденных [2], трисомии по хромосоме 18 — 1 на 5000 [3], трисомии по хромосоме 13 — 1 на 5000 [3]. Распространенность аномалий половых хромосом (гоносом): синдрома Клайнфельтера — 1 на 660 новорожденных мальчиков [4], синдрома Шерешевского–Тернера — 1 на 2500 новорожденных девочек [4]. Своевременное выявление анеуплоидий очень важно, так как зачастую они связаны с тяжелыми врожденными пороками, нарушением физического и интеллектуального развития. Поэтому необходимо быстрое тестирование для принятия решения о прерывании беременности или для подтверждения диагноза новорожденному с целью назначения лечения.

Тестирование эмбриона или плода на наличие врожденных аномалий, наследственных заболеваний или генетических нарушений (пренатальная диагностика) началось в 1970-х годах цитогенетическими методами. Хотя стандартное цитогенетическое исследование (анализ кариотипа лимфоцитов периферической крови) является золотым стандартом диагностики анеуплоидий, этот метод трудоемкий, чувствительный к качеству биологического материала и требует длительного времени на выполнение исследования. В 1990-е годы для диагностики анеуплоидий был предложен метод флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH) [5, 6], а в 2000-е годы — секвенирование нового поколения (NGS) [7, 8]. Однако данные методы финансово затратны, имеют трудоемкий протокол и сложный анализ данных.

В настоящее время альтернативным инструментом для пренатальной детекции анеуплоидий стал метод количественной флуоресцентной полимеразной цепной реакции (КФ-ПЦР) [9]. Преимуществом данного метода является быстрое получение результатов, высокая

пропускная способность, низкие требования к качеству биологического материала (не требуется культивирование и наличие живых клеток) и низкая стоимость анализа. Метод КФ-ПЦР основан на исследовании высокополиморфных ДНК-маркеров, содержащих короткие tandemные повторы (STR — short tandem repeat). Данные нуклеотидные последовательности амплифицируют с помощью фланкирующих их праймеров. Один из пары праймеров должен быть флуоресцентно мечен, чтобы позволить детектировать сигнал при проведении капиллярного электрофореза. На каждой исследуемой хромосоме анализируется от трех до шести областей STR-повторов, что позволяет с высокой точностью выявлять изменение числа исследуемых хромосом. По высоте и количеству пиков, полученных с каждого маркера, определяют число копий хромосомы [10]. Чувствительность и специфичность КФ-ПЦР сравнимы с показателями стандартного кариотипирования и близки к 100% [11]. Метод стал предпочтительным для рутинной пренатальной диагностики анеуплоидий во многих странах [12, 13]. Европейские рекомендации по цитогенетике признают КФ-ПЦР в качестве диагностического теста, который в большинстве случаев не требует подтверждения другими методами [14].

Однако КФ-ПЦР имеет ряд ограничений: метод не позволяет исключить наличие сбалансированных аномалий и других более редких хромосомных aberrаций, которые могут быть связаны с пороками развития плода, а также не способен детектировать низкоуровневый и сложный хромосомный мозаицизм. Данным методом невозможно установить причину возникновения анеуплоидии у плода (спорадический случай или следствие наличия у родителей сбалансированных структурных аномалий хромосом).

Целью данного исследования являлась оценка диагностической эффективности метода КФ-ПЦР для пренатальной диагностики анеуплоидий у пациенток с подозрением на наличие у плода хромосомных аномалий, а также у детей с врожденными пороками развития.

Методы

Исследование выполнено на 1080 образцах клеток амниотической жидкости (амниоцитах) плодов с признаками хромосомных аномалий по результатам ультразвукового исследования или биохимических тестов (срок гестации 16–22 недели) и 146 образцах ворсин хориона плодов (срок гестации до 12 недель) пациенток, которым данное исследование проводили дополнительно к пренатальной диагностике других гене-

тических нарушений из-за отягощенного семейного анамнеза. Кроме того, в работе исследованы образцы крови 195 пациентов с подозрением на наличие хромосомных аномалий. От пациентов или их законных представителей было получено информированное согласие на участие в исследовании и публикацию результатов на условии анонимности.

Выделение ДНК из амниотической жидкости, ворсин хориона и цельной крови, забранной в пробирку с антикоагулянтом ЭДТА, проводили с помощью набора реактивов Wizard® Genomic DNA Purification Kit (Promega, USA) согласно протоколу производителя.

Исследование выполнено с помощью разработанной в лаборатории ДНК-диагностики ФГБНУ «МГНЦ» мультиплексной КФ-ПЦР системы, включающей в себя 25 STR-локусов: на хромосоме 13 (*D13S634*, *D13S305*, *D13S800*, *D13S628*, *D13S252*), на хромосоме 18 (*D18S535*, *D18S386*, *D18S978*, *D18S390*, *D18S819*), на хромосоме 21 (*D21S1435*, *D21S11*, *D21S1446*, *D21S1409*, *D21S1442*), на хромосоме X (*DXS6803*, *DXS9896*, *DXS1187*, *XHPRT*, *DXS8378*). Генетический пол определяли, анализируя локусы *Amelogenin*, *4SH*, *ZFX*, *TAFL*, а также наличие или отсутствие гена *SRY*.

Амплификацию исследуемых маркеров проводили на программируемом термоциклере T100 («Bio-Rad Laboratories, Inc.», США) в объеме реакционной смеси 25ml следующего состава: 0,1-0,2mg геномной ДНК, по 0,6 pM каждого оригинального олигопраймера, по 0,2 mM каждого нуклеозидтрифосфата, $MgCl_2$ – 8 mM, 1,0 единица активности ДНК-полимеразы Biotaq («БиоМастер»), бетаин – 1,5 M, ДМСО – 0,5 мкл, 1x буфер для ПЦР (67 mM Tris-HCl; 16,6 mM $(NH_4)_2SO_4$; 0,01% Twin-20; pH 8,8).

ПЦР проводили в следующем режиме: первона- чальная денатурация при 95° C – 15 мин., далее 32 цикла смены температур: денатурация 95° C – 30 сек., отжиг праймеров 62° C – 2 мин., элонгация цепи 72° C – 1 мин 25 сек; заключительная элонгация 68° C – 60 мин. Разделение полученных фрагментов и оценка результатов осуществлялись на приборе для капиллярного электрофореза ABI Prism 3130 («Applied Biosystems», США). Анализ на автоматическом секвенаторе проводился с использованием программного обеспечения GeneMapper v3.7.

Результаты и обсуждение

На каждой из исследуемых хромосом было выбрано пять STR-локусов (маркеров), что позволило с вы-

сокой точностью выявлять изменение числа анализируемых хромосом. Для любого маркера в норме может наблюдаться два варианта. Если число tandemных повторов на двух гомологичных хромосомах различается, на электрофореграмме наблюдаются два пика одинаковой высоты – маркер информативен (рис. 1, А). Если же число повторов на двух хромосомах одинаковое, наблюдается один пик – маркер не информативен (рис. 1, Б). При трисомии возможны три варианта пиков на электрофореграмме. Если число tandemных повторов на трех гомологичных хромосомах различается, на электрофореграмме наблюдаются три пика одинаковой высоты – маркер информативен (рис. 2, А). Если число повторов на двух хромосомах одинаковое, а на третьей отличается в два раза – маркер информативен (рис. 2, Б). Если же число повторов на трех хромосомах одинаковое, наблюдается один пик – маркер не информативен (рис. 2, В).

В лабораторию ДНК-диагностики ФГБНУ МГНЦ для детекции анеуплоидий методом КФ-ПЦР поступил 1421 биологический образец. В 34 образцах амниотической жидкости выявлена значительная (от 15 до 70%) контаминация плодного материала материнским, что не позволило сделать выводы о наличии анеуплоидий. Из дальнейшего анализа данные образцы были исключены.

В целом различные хромосомные аномалии выявлены в 208 (15,0%) из 1387 исследованных образцов. Доля хромосомных аномалий у плодов составила 11,2% (n=133), в постнатальных образцах – 38,5% (n=75), что сопоставимо с литературными данными [15, 16]. При этом у плодов с аномальными результатами биохимического и УЗИ-скрининга, доля хромосомных аномалий была несколько выше – 12,4% (130/1046).

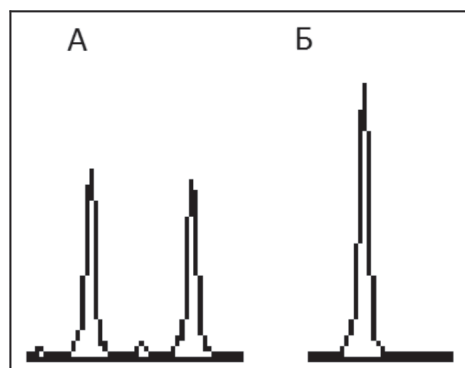


Рисунок 1. Варианты пиков на электрофореграмме в норме.
Figure 1. Variants of electrophoregram peaks in the norm.

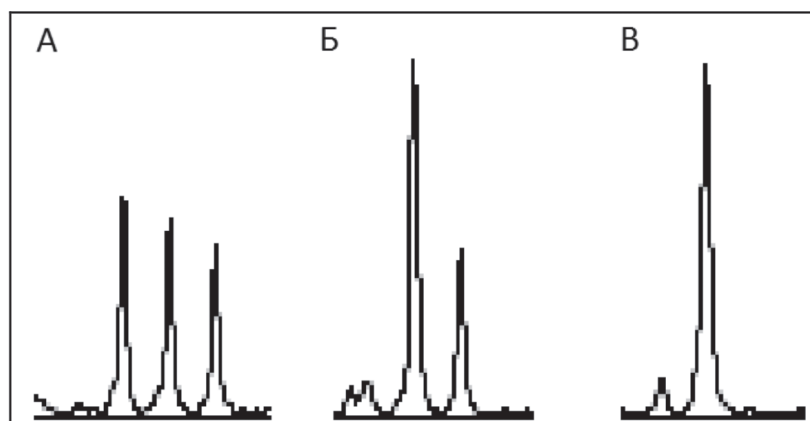


Рисунок 2. Варианты пиков на электрофореграмме при трисомии и триплоидии.

Figure 2. Variants of electrophoregram peaks in trisomy and triploidy.

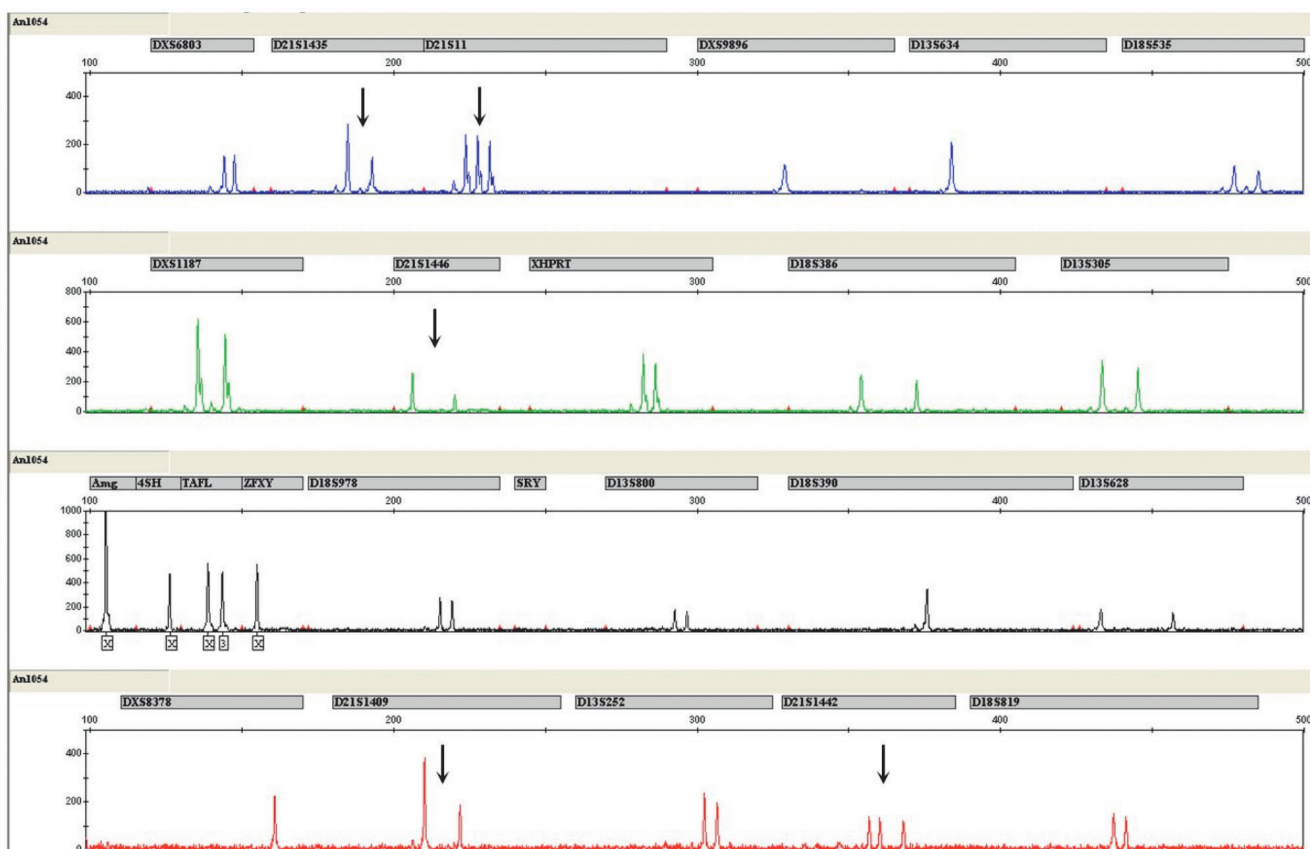


Рисунок 3. Пример детекции трисомии 21 методом КФ-ПЦР (плод женского пола).-Выявлено неравное соотношение высоты двух пиков, соответствующих маркерам D21S1435, D21S1446, D21S1409, и 3 пика, соответствующих маркерам D21S11, D21S1442.

Figure 3. An example of trisomy 21 detection by QF-PCR (female fetus). An unequal ratio of the heights of two peaks corresponding to markers D21S1435, D21S1446, D21S1409, and 3 peaks of markers D21S11, D21S1442 were detected.

Наиболее часто детектируемой анеупloidией в исследованных образцах являлась трисомия по хромосоме 21 – 9,7% (n=135), что соответствует результатам, полученным другими авторами [17, 18] (рис. 3). Доля трисомии по хромосоме 18 составила 2,0% (n=28), трисомии по хромосоме 13 – 0,3% (n=4). Кроме того, в 1,1% случаев были детектированы другие аномалии. Например, было выявлено два случая химеризма. У одного пациента обнаружено сочетание трисомий хромосом 18 и 21. Также выявлено два триплоидных плода (рис. 4). В двух образцах предположена делеция в хромосоме 18 (по всем пяти маркерам плоды были не информативны) и в одном случае – однородительская дисомия отцовского происхождения по хромосоме 21, так как у плода отсутствовали аллели, совпадающие с аллелями материнского происхождения.

В 33 (2,4%) из 1387 исследованных образцов обнаружены аномалии половых хромосом (гоносом), которые составили 15,9% от всех детектированных аномалий. Среди них наиболее частыми являлись анеупloidии, характерные для синдрома Клайнфельтера – 1,1% (n=15) (рис. 5) и синдрома Шерешевского-Тернера – 0,8% (n=11) (рис. 6). Кроме того, выявлены 5 случаев других вариантов анеусомии по половым хромосомам: трисомия по хромосоме X (n=2) и дисомия по хромосоме Y (n=3), а также два пациента с мозаицизмом по половым хромосомам – XX/XY и X/XY. Последние два постнатальных случая гоносомного мозаицизма были подтверждены результатами стандартного цитогенетического исследования (анализ кариотипа лимфоцитов периферической крови с использованием GTG-окрашивания).

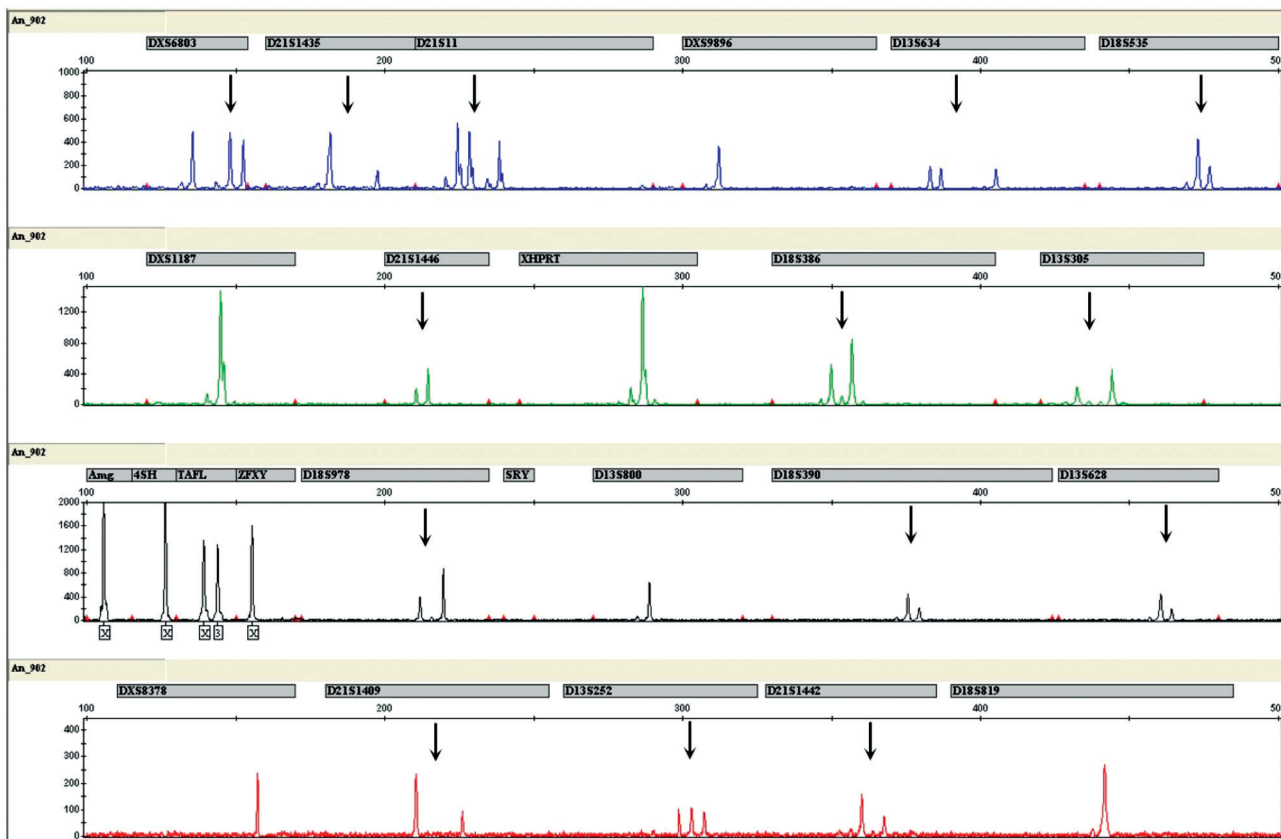


Рисунок 4. Пример детекции триплоидии методом КФ-ПЦР (плод женского пола). Выявлено неравное соотношение высоты двух пиков, соответствующих маркерам D13S305, D13S628, D18S535, D18S386, D18S978, D18S390, D21S1435, D21S1446, D21S1409, D21S1442, и 3 пика маркеров D13S634, D13S252, D21S11, DXS6803.

Figure 4. An example of triploidy detection by QF-PCR (female fetus). An unequal ratio of the heights of two peaks corresponding to markers D13S305, D13S628, D18S535, D18S386, D18S978, D18S390, D21S1435, D21S1446, D21S1409, D21S1442, and 3 peaks of markers D13S634, D13S252, D21S11, DXS6803 were detected.

Удалось оценить вклад распространенных анеуплоидий в группах пренатальных и постнатальных образцов с положительными результатами тестирования (рис. 7). По всем исследованным анеуплоидиям в данных группах выявлены существенные различия: среди пренатальных образцов отмечено большее количество трисомий по хромосомам 21, 18 и 13 по сравнению с постнатальными образцами. В постнатальной группе существенную долю составляют синдромы Клайнфельтера и Шерешевского-Тернера по сравнению с пренатальной группой. При сопоставлении результатов данного исследования с результатами, полученными Хлевной Л.А. с соавт. при исследовании плодов с высоким риском хромосомных аномалий первого триместра, отмечается, что у плодов второго триместра и особенно в постнатальных случаях значительно ниже количество

триплоидий и трисомий по хромосомам 13 и 18 [18]. Таким образом, происходит последовательное уменьшение доли анеуплоидий, сопровождающихся тяжелыми пороками развития, и увеличение доли хромосомных аномалий с более легкими проявлениями в послеродовых образцах по сравнению с пренатальными, что свидетельствует об элиминации плодов с тяжелыми хромосомными аномалиями.

В исследованиях других авторов было показано, что метод КФ-ПЦР также высоко эффективен при изучении abortивного материала при невынашивании беременности, поскольку позволяет работать с неделяющимися клетками. Однако спектр выявляемых хромосомных аномалий у эмбрионов, остановившихся в развитии на 9–12-й неделе гестации, отличается от выявленных в данном исследовании аномалий

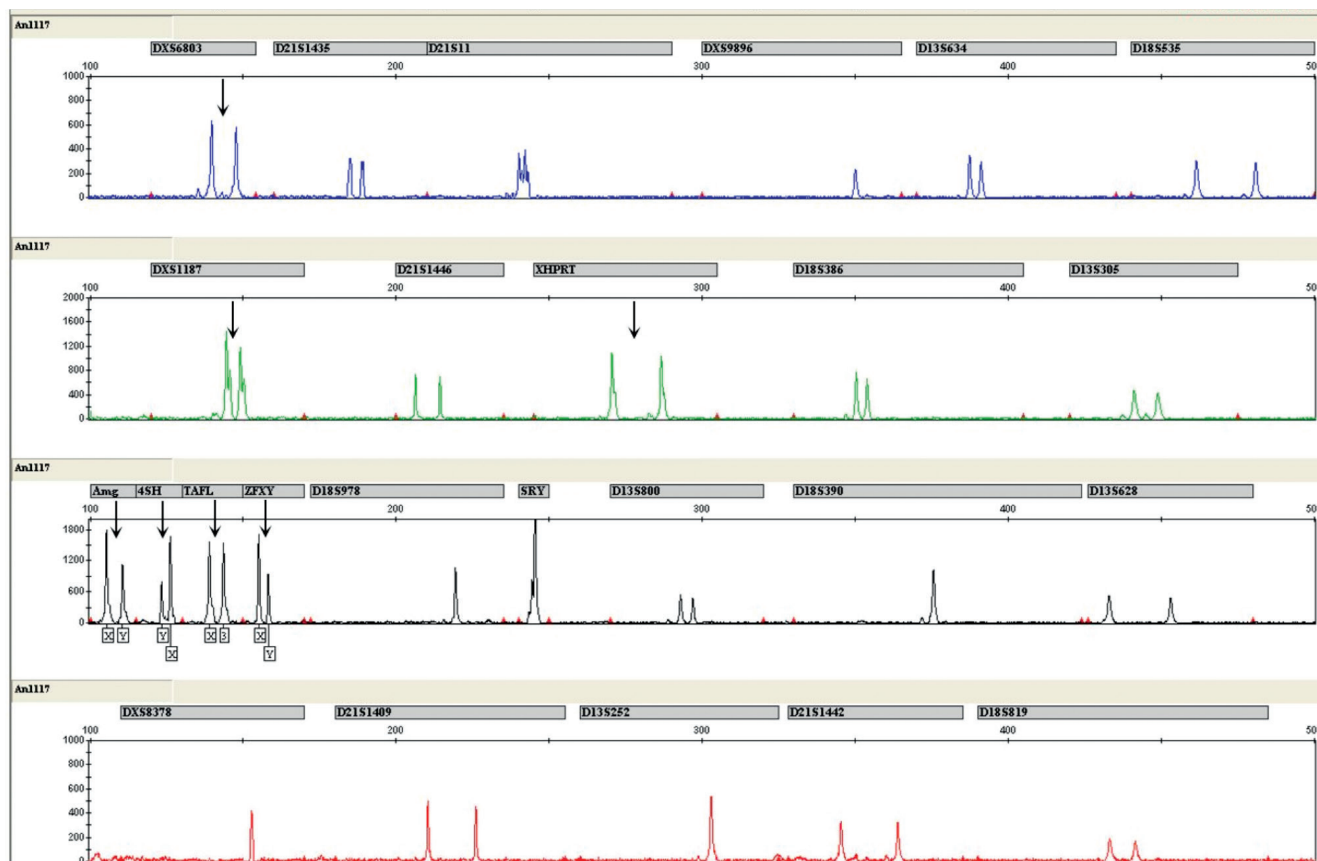


Рисунок 5. Пример детекции XXY набора половых хромосом методом КФ-ПЦР. Выявлены две хромосомы X (маркеры TAFL, Amelogenin, 4SH, ZFX, DXS6803, DXS1187, XHPRT) и одна хромосома Y (маркеры SRY, 4SH, ZFX, Amelogenin).

Figure 5. An example of the detection of the XXY set of sex chromosomes by QF-PCR. Two X chromosomes (markers TAFL, Amelogenin, 4SH, ZFX, DXS6803, DXS1187, XHPRT) and one Y chromosome (markers SRY, 4SH, ZFX, Amelogenin) were detected.

у плодов, достигших второго триместра беременности. В случае замершей беременности самыми частыми анеуплоидиями являются трисомии по хромосомам 16 и 22, а также триплоидии. Плоды с данными аномалиями не жизнеспособны, что чаще всего приводит к самопроизвольному прерыванию беременности в течение первого триместра [19]. Указанные особенности необходимо учитывать при выборе хромосом для диагностики хромосомных аномалий при живорождении и при прерывании беременности на ранних сроках.

В результате проведенного исследования была оценена информативность (гетерозиготность) каждого маркера, входящего в состав мультиплексной системы (таблица). В целом полученные данные по гетерозиготности близки к показателям, приведенным в базах данных и в научной литературе. Высокий уровень гетеро-

зиготности использованных в исследовании STR-маркеров позволил получить результат во всех образцах по всем анализированным хромосомам.

Высокая частота выявленных хромосомных аномалий демонстрирует эффективность метода КФ-ПЦР для пренатальной и постнатальной детекции анеуплоидий. Соответствие полученных данных литературным свидетельствует о том, что тестирование, в частности, в пренатальных случаях проводилось надлежащим образом в группах высокого риска. Единственное, что вызывает некоторую озабоченность, это то, что большинство пренатальных исследований выполнено на довольно позднем сроке беременности (16-22 недели), что оставляет пациенту мало времени для принятия решения о сохранении или прерывании беременности. Проведенное исследование показало, что метод

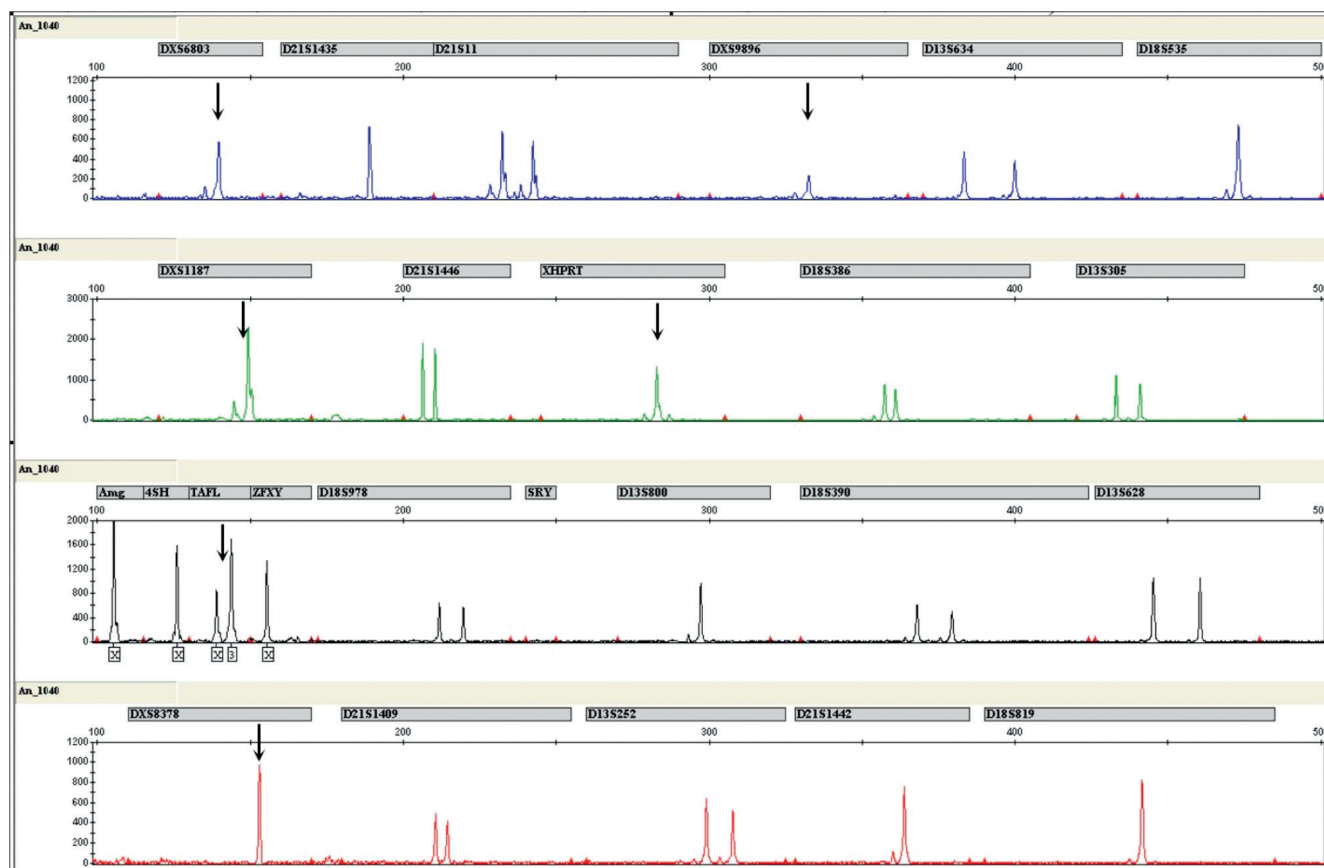


Рисунок 6. Пример детекции моносомии X методом КФ-ПЦР. Выявлена одна хромосомы X при отсутствии хромосомы Y (маркеры Amelogenin, 4SH, TAFL, ZFX, SRY, DXS6803, DXS9896, DXS1187, XHPRT, DXS8378).

Figure 6. Example of detection of monosomy X by QF-PCR. One X chromosome was detected in the absence of the Y chromosome (markers Amelogenin, 4SH, TAFL, ZFX, SRY, DXS6803, DXS9896, DXS1187, XHPRT, DXS8378).

КФ-ПЦР можно применять для диагностики нарушения числа как аутосом, так и половых хромосом как полных, так и мозаичных форм анеуплоидий кроме низкоуровневого мозаицизма с долей мозаичного клона менее 20%. Выявленные случаи сложных аномалий — мозаицизма по гоносомам, моносомий, а также

химеризма, требуют подтверждения другими методами, например, кариотипированием или FISH анализом. Метод КФ-ПЦР позволяет выполнять диагностику на образцах ДНК, выделенной из клеток амниотической жидкости, пуповинной крови, ворсин хориона, а также абортивного материала. Данное исследование

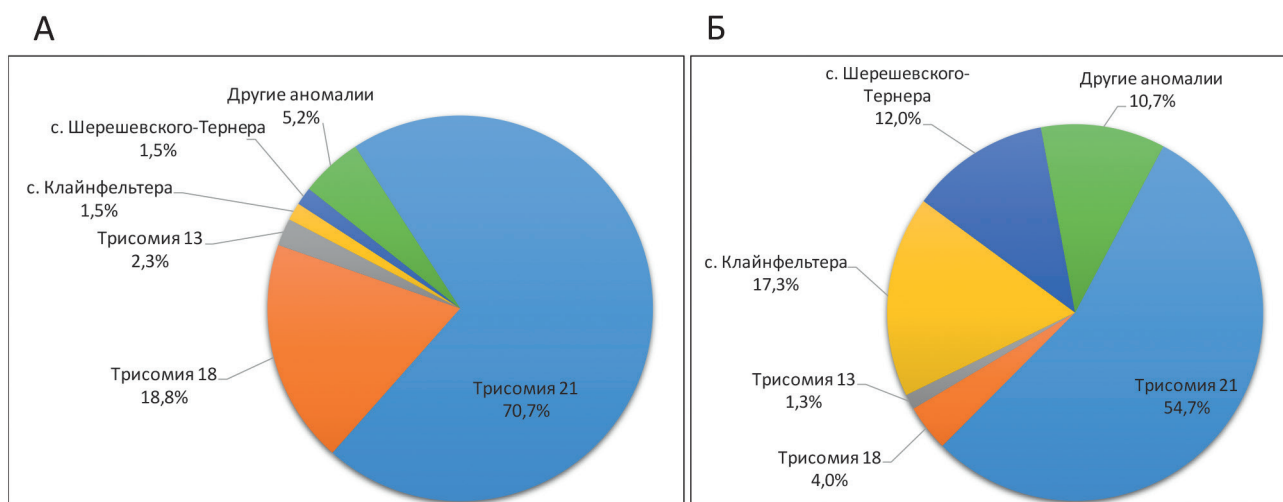


Рисунок 7. Структура анеуплоидий по исследованным хромосомам (13, 18, 21, X и Y) в пренатальных (А) и постнатальных образцах (Б).

Figure 7. Structure of aneuploidies for the studied chromosomes (13, 18, 21, X and Y) in prenatal (A) and postnatal samples (B).

Таблица. Характеристика ДНК-маркеров, используемых в мультиплексной КФ-ПЦР

Table. Characterization of DNA markers used in multiplex QF-PCR

Маркер	Локализация	Гетерозиготность		Маркер	Локализация	Гетерозиготность	
		Исследование	База данных*			Исследование	База данных*
D13S252	13q12.2	0,68	0,58	D21S11	21q21.1	0,85	0,80
D13S305	13q13.3	0,80	0,58	D21S1409	21q21.2	0,70	0,59
D13S634	13q21.33	0,91	0,65	D21S1442	21q21.3	0,70	0,78
D13S800	13q22.1	0,70	0,75	D21S1435	21q21.3	0,69	0,81
D13S628	13q31.1	0,55	0,62	D21S1446	21q22.3	0,75	0,69
D18S819	18q11.2	0,72	0,64	DXS6803	Xq21.31	0,73	0,75
D18S535	18q12.3	0,82	0,76	XHPRT	Xq26.2	0,75	0,78 ^[21]
D18S978	18q12.3	0,75	0,93 ^[20]	DXS1187	Xq26.2	0,77	0,65
D18S386	18q22.1	0,91	0,63	DXS9896	Xp21.1	0,71	0,75
D18S390	18q22.3	0,65	0,49	DXS8378	Xp22.31	0,53	0,57 ^[22]
AMEL	Xp22.22/Yp11.2	-		SRY	Yp11.31	-	
4SH	Xp22.3/Yq11.2	-		TAFL	Xq21.1/3p24.2	-	
ZFX	Xq21/Yp11.2	-					

* <https://www.biostat.wisc.edu/~kbroman/publications/mfdmaps/>

может выступать дополнительным тестом, назначаемым при проведении пренатальной диагностики моногенных заболеваний, и выполняться с использованием того же образца ДНК плода.

Метод КФ-ПЦР хорошо зарекомендовал себя в мировой практике и используется уже более 20 лет. Он недорогой, быстрый, надежный и малотребовательный к качеству биологического материала. Наиболее предпочтительно применять его для пренатального обследования пациенток с подозрением на наличие частых анеуплоидий у плода на поздних сроках при необходимости быстрого принятия решения, связанного с ведением или прерыванием беременности. КФ-ПЦР может быть использован для подтверждения хромосомных аномалий в случаях выявления анеуплоидий методами неинвазивного пренатального теста (НИПТ), а также в качестве дополнительного метода в комплексной диагностике аномалий хромосом, выявления скрытого мозаицизма и химеризма.

Литература

1. Hassold T., Abruzzo M., Adkins K. et al. Human aneuploidy: incidence, origin, and etiology. *Environ Mol Mutagen.* 1996;28(3):167-75.
2. Weijerman M.E., de Winter J.P. Clinical practice. The care of children with Down syndrome. *Eur J Pediatr.* 2010 Dec;169(12):1445-52.
3. Springett A., Wellesley D., Greenlees R. et al. Congenital anomalies associated with trisomy 18 or trisomy 13: A registry-based study in 16 European countries, 2000-2011. *Am J Med Genet A.* 2015 Dec;167A(12):3062-9.
4. Kumar V., Abbas A., Aster J. Robbins and Cotran pathologic basis of disease. 9th edn. Elsevier, Philadelphia, 2014, 1408 pp.
5. Divane A., Carter N.P., Spathas D.H. et al. Rapid prenatal diagnosis of aneuploidy from uncultured amniotic fluid cells using five-colour fluorescence in situ hybridization. *Prenat Diagn.* 1994 Nov;14(11): 1061-9.
6. Spathas D.H., Divane A., Maniatis G.M., et al. Prenatal detection of trisomy 21 in uncultured amniocytes by fluorescence in situ hybridization: a prospective study. *Prenat Diagn.* 1994 Nov;14(11):1049-54.
7. Dudarewicz L., Holzgreve W., Jeziorowska A. et al. Molecular methods for rapid detection of aneuploidy. *J Appl Genet.* 2005; 46(2): 207-15.
8. Hahn S., Jackson L.G. Prenatal diagnosis. Preface. *Methods Mol Biol.* 2008;444:v-vi.
9. Mansfield E.S. Diagnosis of Down syndrome and other aneuploidies using quantitative polymerase chain reaction and small tandem repeat polymorphisms. *Hum Mol Genet.* 1993 Jan;2(1):43-50.
10. Adinolfi M., Pertl B., Sherlock J. Rapid detection of aneuploidies by microsatellite and the quantitative fluorescent polymerase chain reaction. *Prenat Diagn.* 1997 Dec;17(13):1299-311.
11. Mofthar R., Marzouk S., El-Kaffash D. et al. QF-PCR as a molecular-based method for autosomal aneuploidies detection. *Advances in Reproductive Sciences.* 2013 Nov 1; 1(3): 21-28.
12. Cirigliano V., Ejarque M., Cañadas M.P. et al. Clinical application of multiplex quantitative fluorescent polymerase chain reaction (QF-PCR) for the rapid prenatal detection of common chromosome aneuploidies. *Mol Hum Reprod.* 2001 Oct;7(10):1001-6.
13. Schmidt W., Jenderny J., Hecher K. et al. Detection of aneuploidy in chromosomes X, Y, 13, 18 and 21 by QF-PCR in 662 selected pregnancies at risk. *Mol Hum Reprod.* 2000 Sep;6(9):855-60.
14. Silva M., de Leeuw N., Mann K. et al. European guidelines for constitutional cytogenomic analysis. *Eur J Hum Genet.* 2019 Jan;27(1):1-16.
15. Voglino G., Marongiu A., Massobrio M. et al. Rapid prenatal diagnosis of aneuploidies. *Lancet.* 2002 Feb 2;359(9304):442.
16. Cottino L., Sahibdeen V., Mudau M. et al. QF-PCR: a valuable first-line prenatal and postnatal test for common aneuploidies in South Africa. *J Community Genet.* 2022 Jun;13(3):355-363.
17. Тарасенко О.А. Применение метода КФ-ПЦР для выявления анеуплоидии по хромосомам 21, 18, 13, X и Y при амниоцентезе у беременных разных групп риска. *Медицинский алфавит.* 2018; 2(19): 37-40.
18. Хлевная Л.А., Мазурик Н.В., Малыхина Н.З. и др. Инвазивная диагностика хромосомных заболеваний в I триместре беременности. Опыт республиканского специализированного центра медицинской генетики и пренатальной диагностики. *Пренатальная диагностика.* 2016;15(2):142-150.
19. Стрельников В.В., Кузнецова Е.Б., Иванов М.А. и др. Результаты использования медицинской технологии определения наиболее частых анеуплоидий методом многоклубной количественной флуоресцентной ПЦР. *Медицинская генетика.* 2016;15(10):34-44.
20. Shin Y.J., Chung J.H., Kim D.J. et al. Quantitative fluorescent polymerase chain reaction for rapid prenatal diagnosis of fetal aneuploidies in chorionic villus sampling in a single institution. *Obstet Gynecol Sci.* 2016 Nov;59(6):444-453.
21. Mann K., Petek E., Pertl B. Prenatal Detection of Chromosome Aneuploidy by Quantitative Fluorescence PCR. *Methods Mol Biol.* 2019; 1885:139-160.
22. Son J.Y., Lee Y.S., Choung C.M. et al. Polymorphism of nine X chromosomal STR loci in Koreans. *Int J Legal Med.* 2002 Dec;116(6):317-21.

References

1. Hassold T., Abruzzo M., Adkins K. et al. Human aneuploidy: incidence, origin, and etiology. *Environ Mol Mutagen.* 1996;28(3):167-75.
2. Weijerman M.E., de Winter J.P. Clinical practice. The care of children with Down syndrome. *Eur J Pediatr.* 2010 Dec;169(12):1445-52.
3. Springett A., Wellesley D., Greenlees R. et al. Congenital anomalies associated with trisomy 18 or trisomy 13: A registry-based study in 16 European countries, 2000-2011. *Am J Med Genet A.* 2015 Dec;167A(12):3062-9.
4. Kumar V., Abbas A., Aster J. Robbins and Cotran pathologic basis of disease. 9th edn. Elsevier, Philadelphia, 2014, 1408 pp.
5. Divane A., Carter N.P., Spathas D.H. et al. Rapid prenatal diagnosis of aneuploidy from uncultured amniotic fluid cells using five-colour fluorescence in situ hybridization. *Prenat Diagn.* 1994 Nov;14(11):1061-9.
6. Spathas D.H., Divane A., Maniatis G.M., et al. Prenatal detection of trisomy 21 in uncultured amniocytes by fluorescence in situ hybridization: a prospective study. *Prenat Diagn.* 1994 Nov;14(11):1049-54.
7. Dudarewicz L., Holzgreve W., Jeziorowska A. et al. Molecular methods for rapid detection of aneuploidy. *J Appl Genet.* 2005;46(2):207-15.

8. Hahn S., Jackson L.G. Prenatal diagnosis. Preface. *Methods Mol Biol.* 2008;444:v-vi.
9. Mansfield E.S. Diagnosis of Down syndrome and other aneuploidies using quantitative polymerase chain reaction and small tandem repeat polymorphisms. *Hum Mol Genet.* 1993 Jan;2(1):43-50.
10. Adinolfi M., Pertl B., Sherlock J. Rapid detection of aneuploidies by microsatellite and the quantitative fluorescent polymerase chain reaction. *Prenat Diagn.* 1997 Dec;17(13):1299-311.
11. Moftah R., Marzouk S., El-Kaffash D. et al. QF-PCR as a molecular-based method for autosomal aneuploidies detection. *Advances in Reproductive Sciences.* 2013 Nov 1; 1(3): 21-28.
12. Cirigliano V., Ejarque M., Cañadas M.P. et al. Clinical application of multiplex quantitative fluorescent polymerase chain reaction (QF-PCR) for the rapid prenatal detection of common chromosome aneuploidies. *Mol Hum Reprod.* 2001 Oct;7(10):1001-6.
13. Schmidt W., Jenderny J., Hecher K. et al. Detection of aneuploidy in chromosomes X, Y, 13, 18 and 21 by QF-PCR in 662 selected pregnancies at risk. *Mol Hum Reprod.* 2000 Sep;6(9):855-60.
14. Silva M., de Leeuw N., Mann K. et al. European guidelines for constitutional cytogenomic analysis. *Eur J Hum Genet.* 2019 Jan;27(1):1-16.
15. Voglino G., Marongiu A., Massobrio M. et al. Rapid prenatal diagnosis of aneuploidies. *Lancet.* 2002 Feb 2;359(9304):442.
16. Cottino L., Sahibdeen V., Mudau M. et al. QF-PCR: a valuable first-line prenatal and postnatal test for common aneuploidies in South Africa. *J Community Genet.* 2022 Jun;13(3):355-363.
17. Tarasenko O.A. Primeneniye metoda KF-PTSR dlya vyyavleniya aneuploidii po khromosomam 21, 18, 13, KH i Y pri amniotsenteze u beremennykh raznykh grupp riska [Possibility of using the QF-PCR-method to detect aneuploidy on chromosomes 21, 18, 13, X and Y in amniocentesis in pregnant women of different risk groups]. *Meditsinskiy alfavit [Medical alphabet].* 2018;2(19):37-40. (In Russ.)
18. Khlevnaya L.A., Mazurik N.V., Malykhina N.Z. et al. Invazivnaya diagnostika khromosomnykh zabolevaniy v I trimestre beremennosti. Opyt respublikanskogo spetsializirovannogo tsentra meditsinskoy genetiki i prenatal'noy diagnostiki [Invasive diagnosis of chromosomal diseases in the 1st trimester of pregnancy. The experience of the republican specialized center of medical genetics and prenatal diagnosis]. *Prenatal'naya diagnostika [Prenatal diagnosis].* 2016;15(2):142-150. (In Russ.)
19. Strelnikov V.V., Kuznetsova E.B., Ivanov M.A., et al. Rezul'taty ispol'zovaniya meditsinskoy tekhnologii opredeleniya naiboleye chastykh aneuploidiy metodom mnogolokusnoy kolichestvennoy fluorestsentnoy PTSR [Results of the use of the medical technology to determine the most frequent aneuploidies by multilocus quantitative fluorescent PCR]. *Meditsinskaya genetika [Medical Genetics].* 2016;15(10):34-44. (In Russ.)
20. Shin Y.J., Chung J.H., Kim D.J. et al. Quantitative fluorescent polymerase chain reaction for rapid prenatal diagnosis of fetal aneuploidies in chorionic villus sampling in a single institution. *Obstet Gynecol Sci.* 2016 Nov;59(6):444-453.
21. Mann K., Petek E., Pertl B. Prenatal Detection of Chromosome Aneuploidy by Quantitative Fluorescence PCR. *Methods Mol Biol.* 2019; 1885:139-160.
22. Son J.Y., Lee Y.S., Choung C.M. et al. Polymorphism of nine X chromosomal STR loci in Koreans. *Int J Legal Med.* 2002 Dec;116(6):317-21.