

# Создание биоресурсной коллекции компонентов крови беременных женщин для выявления генетических особенностей плода, а также для поиска генетических маркеров гестационных осложнений

Вашукова Е.С.<sup>1</sup>, Тарасенко О.А.<sup>1</sup>, Талантова О.Е.<sup>1</sup>, Козюлина П.Ю.<sup>2</sup>, Моршнева А.В.<sup>2</sup>, Мальцева А.Р.<sup>1</sup>, Пачулия О.В.<sup>1</sup>, Беспалова О.Н.<sup>1</sup>, Коган И.Ю.<sup>1</sup>, Глотов А.С.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ "НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта". Санкт-Петербург; <sup>2</sup>ООО "НИПТ". Санкт-Петербург, Россия

**Цель.** Создание коллекции образцов плазмы и лейкоцитов крови беременных для усовершенствования методов неинвазивного пренатального тестирования, а также для поиска маркеров дезоксирибонуклеиновой кислоты и изучения молекулярных механизмов гестационных осложнений.

**Материал и методы.** В процессе создания коллекции используются оригинальные стандартные операционные процедуры. Биоматериалом для хранения служит плазма и лейкоциты крови беременных женщин.

**Результаты.** По состоянию на июль 2023г в коллекции содержатся образцы плазмы крови и лейкоцитарной пленки от 5814 беременных. Для 5692 женщин выполнено полногеномное секвенирование внеклеточной дезоксирибонуклеиновой кислоты из плазмы крови на приборе Ion GeneStudio S5 (Thermo Fisher Scientific Inc, США). У 522 женщин собраны данные о цитогенетическом исследовании материала плода после инвазивной пренатальной диагностики. В 241 случае образцы получены от беременных плодами с нормальным кариотипом и 282 случаях от беременных плодами с хромосомными аномалиями. После завершения беременности родами данные о течении и исходах беременности собраны у 590 женщин, в 212 случаях беременность осложнилась "большими акушерскими синдромами". На базе коллекции проведена апробация ранее разработанного биоинформатического алгоритма неинвазивного пренатального тестирования на секвенаторе DNBSEQ-G50 (MGI, Китай). Полученная специфичность соответствовала ожидаемой и составила >99,9%. Чувствительность метода — 100%.

**Заключение.** Созданная коллекция, а также ассоциированные с ней клинические и геномные данные являются ценным ресурсом для фундаментальных и прикладных исследований, что подтверж-

дается научными работами, выполненными на основе собранных биобразцов.

**Ключевые слова:** биоресурсная коллекция, беременность, пренатальная диагностика, внеклеточная дезоксирибонуклеиновая кислота, ДНК-маркеры осложнений беременности.

**Отношения и деятельность.** Исследование выполнено в рамках ФНИ № 1021062812133-0-3.2.2 "Оптимизация методов предикции, профилактики и лечения "больших акушерских синдромов", а также стратегии родоразрешения у беременных из групп высокого риска, с целью улучшения акушерских и перинатальных исходов". Использованы образцы, депонированные в УНУ (уникальную научную установку) "Репродуктивное здоровье человека" (регистрационный номер USU\_3076082).

Поступила 21/09-2023

Рецензия получена 12/10-2023

Принята к публикации 30/10-2023



**Для цитирования:** Вашукова Е.С., Тарасенко О.А., Талантова О.Е., Козюлина П.Ю., Моршнева А.В., Мальцева А.Р., Пачулия О.В., Беспалова О.Н., Коган И.Ю., Глотов А.С. Создание биоресурсной коллекции компонентов крови беременных женщин для выявления генетических особенностей плода, а также для поиска генетических маркеров гестационных осложнений. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2023;22(11):3742. doi:10.15829/1728-8800-2023-3742. EDN GJDCNT

\*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

e-mail: vi\_lena@list.ru

[Вашукова Е.С.\* — к.б.н., н.с. лаборатории геномики отдела геномной медицины им. В.С. Баранова, ORCID: 0000-0002-6996-8891, Тарасенко О.А. — к.б.н., н.с. лаборатории геномики отдела геномной медицины им. В.С. Баранова, ORCID: 0000-0003-3394-7391, Талантова О.Е. — к.м.н., с.н.с., врач акушер-гинеколог медико-генетического центра, ORCID: 0000-0003-3520-599X, Козюлина П.Ю. — н.с., ORCID: 0000-0001-8520-3445, Моршнева А.В. — н.с., ORCID: 0000-0002-8545-6052, Мальцева А.Р. — лаборант-исследователь лаборатории геномики отдела геномной медицины им. В.С. Баранова, ORCID: 0000-0002-5647-6783, Пачулия О.В. — к.м.н., ученый секретарь, ORCID: 0000-0003-4116-0222, Беспалова О.Н. — д.м.н., зам. директора по научной работе, ORCID: 0000-0002-6542-5953, Коган И.Ю. — д.м.н., директор, ORCID: 0000-0002-7351-6900, Глотов А.С. — д.б.н., руководитель отдела геномной медицины им. В.С. Баранова, ORCID: 0000-0002-7465-4504].

## Bioresource collection of blood components from pregnant women to identify fetal genetic features, as well as to search for genetic markers of gestational complications

Vashukova E. S.<sup>1</sup>, Tarasenko O. A.<sup>1</sup>, Talantova O. E.<sup>1</sup>, Kozyulina P. Yu.<sup>2</sup>, Morshneva A. V.<sup>2</sup>, Maltseva A. R.<sup>1</sup>, Pachulia O. V.<sup>1</sup>, Bespalova O. N.<sup>1</sup>, Kogan I. Yu.<sup>1</sup>, Glotov A. S.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>D. O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology. St. Petersburg; <sup>2</sup>ООО НИПТ. St. Petersburg, Russia

**Aim.** To create collection of plasma and leukocyte blood samples from pregnant women to improve methods of non-invasive prenatal testing, as well as to search for deoxyribonucleic acid markers and study the molecular mechanisms of gestational complications.

**Material and methods.** The collection creation process uses original standard operating procedures. The biomaterial for storage was plasma and leukocytes from the blood of pregnant women.

**Results.** As of July 2023, the collection contains samples of blood plasma and buffy coat suspension from 5814 pregnant women. For 5692 women, whole-genome sequencing of extracellular deoxyribonucleic acid from blood plasma was performed on an Ion GeneStudio S5 system (Thermo Fisher Scientific Inc, USA). Data on cytogenetic examination of fetal material after invasive prenatal diagnosis were collected from 522 women. In 241 cases, samples were obtained from pregnant women with fetuses with a normal karyotype and in 282 cases from pregnant women with fetuses with chromosomal abnormalities. After pregnancy ended with childbirth, data on the course and outcomes of pregnancy were collected from 590 women. In 212 cases, pregnancy was complicated by great obstetrical syndromes. Based on the collection, a previously developed bioinformatic algorithm for non-invasive prenatal analysis was tested on a DNBSEQ-G50 sequencer (MGI, China). The obtained specificity corresponded to the expected one and was >99,9%. The sensitivity of the method is 100%.

**Conclusion.** The created collection, as well as the clinical and genomic data associated with it, is a valuable resource for basic and applied research.

**Keywords:** bioresource collection, pregnancy, prenatal diagnosis, extracellular deoxyribonucleic acid, DNA markers of pregnancy complications.

**Relationships and Activities.** The study was carried out within the fundamental research project № 1021062812133-0-3.2.2 "Optimization of methods for prediction, prevention and treatment of great obstetrical syndromes, as well as delivery strategies in pregnant women from high-risk groups, in order to improve obstetric and perinatal outcomes." The samples used were deposited in the unique scientific installation "Human Reproductive Health" (registration number USU\_3076082).

Vashukova E. S.\* ORCID: 0000-0002-6996-8891, Tarasenko O. A. ORCID: 0000-0003-3394-7391, Talantova O. E. ORCID: 0000-0003-3520-599X, Kozyulina P. Yu. ORCID: 0000-0001-8520-3445, Morshneva A. V. ORCID: 0000-0002-8545-6052, Maltseva A. R. ORCID: 0000-0002-5647-6783, Pachulia O. V. ORCID: 0000-0003-4116-0222, Bespalova O. N. ORCID: 0000-0002-6542-5953, Kogan I. Yu. ORCID: 0000-0002-7351-6900, Glotov A. S. ORCID: 0000-0002-7465-4504.

\*Corresponding author: vi\_lena@list.ru

**Received:** 21/09-2023

**Revision Received:** 12/10-2023

**Accepted:** 30/10-2023

**For citation:** Vashukova E. S., Tarasenko O. A., Talantova O. E., Kozyulina P. Yu., Morshneva A. V., Maltseva A. R., Pachulia O. V., Bespalova O. N., Kogan I. Yu., Glotov A. S. Bioresource collection of blood components from pregnant women to identify fetal genetic features, as well as to search for genetic markers of gestational complications. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2023;22(11):3742. doi:10.15829/1728-8800-2023-3742. EDN GJDCNT

вкДНК — внеклеточная ДНК, вкмтДНК — внеклеточная митохондриальная ДНК, вкфДНК — внеклеточная фетальная ДНК, ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота, ИПД — инвазивная пренатальная диагностика, К<sub>2</sub>-ЭДТА — 2-замещенная калиевая соль этилендиаминтетрауксусной кислоты, мтДНК — митохондриальная ДНК, НИПТ — неинвазивное пренатальное тестирование.

## Введение

Профилактика и ранняя диагностика патологий плода и возможных осложнений во время беременности, родов и в послеродовом периоде являются одними из ключевых задач современного здравоохранения [1].

В последнее десятилетие возрос интерес к изучению внеклеточной дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) (вкДНК), циркулирующей в плазме крови беременных. Помимо собственной вкДНК в плазме крови беременных, также содержится вкДНК плодного происхождения — внеклеточная фетальная ДНК (вкфДНК) [2]. В настоящее время вкфДНК используется для неинвазивного пренатального тестирования (НИПТ) хромосомных аномалий. НИПТ имеет высокую чувствительность и специфичность для распространенных хромосомных патологий таких, как трисомия 21 (синдром Дауна), трисомия 18 (синдром Эдвардса) и трисо-

мия 13 (синдром Патау) [3]. В то же время возможности НИПТ для обнаружения других форм хромосомных аномалий, включая патологии половых хромосом, редкие аномалии, мозаичные формы анеуплоидий, частичные хромосомные аномалии, до конца не изучены [3].

В дополнение к обнаружению хромосомных аномалий стали появляться коммерческие тесты для выявления моногенных заболеваний у плода на основе исследования вкДНК. Тем не менее, вопрос скрининга генных мутаций у плода по вкфДНК остается открытым. Большинство тестов основаны на исследовании носительства патогенных мутаций у матери и отца, и только лишь в некоторых случаях применяется анализ вкДНК [1].

Недавние исследования показали возможность использования вкфДНК для прогнозирования риска развития акушерских патологий [4]. Изменения в профиле и уровне вкфДНК были обнаружены

**Ключевые моменты****Что известно о предмете исследования?**

- Биоресурсные коллекции являются важным инструментом для проведения научных исследований, создания более совершенных диагностических тестов, разработки новых подходов к лечению и профилактике различных заболеваний человека.
- Коллекция биообразцов крови и ее производных, полученных от беременных женщин, и наличие данных анамнеза, результатов раннего пренатального скрининга, данных об исходе беременности и геномных данных позволят усовершенствовать методы неинвазивной пренатальной диагностики, а также обеспечить прогнозирование осложнений беременности.

**Что добавляют результаты исследования?**

- Создана и охарактеризована уникальная биоресурсная коллекция плазмы и лейкоцитов крови от беременных женщин для разработки неинвазивных диагностических подходов к выявлению генетических особенностей плода, а также для поиска ДНК-маркеров и изучения молекулярных механизмов гестационных осложнений. Валидирован метод неинвазивного пренатального тестирования на основе ранее разработанного биоинформатического алгоритма на секвенаторе DNBSEQ-G50 (MGI, Китай).
- Биоресурсная коллекция, а также ассоциированные с ней клинические и геномные данные могут быть использованы в фундаментальных и прикладных научных исследованиях. Предложенный вариант неинвазивного пренатального тестирования может быть использован в лабораторной практике.

**Key messages****What is already known about the subject?**

- Bioresource collections are an important tool for research, creating more advanced diagnostic tests, and developing novel approaches to the treatment and prevention of various human diseases.
- A collection of biospecimens of blood and its derivatives obtained from pregnant women, and the availability of history data, results of early prenatal screening, data on pregnancy outcome and genomic data will improve methods of non-invasive prenatal diagnosis, as well as provide prediction of pregnancy complications.

**What might this study add?**

- A unique bioresource collection of plasma and blood leukocytes from pregnant women was created and characterized to develop non-invasive diagnostic approaches to identifying the genetic characteristics of the fetus, as well as to search for DNA markers and study the molecular mechanisms of gestational complications. A method of noninvasive prenatal testing based on a previously developed bioinformatics algorithm on a DNBSEQ-G50 sequencer (MGI, China) was validated.
- The bioresource collection, as well as associated clinical and genomic data, can be used in basic and applied scientific research. The proposed option for non-invasive prenatal testing can be used in laboratory practice.

у женщин с преэклампсией [5], задержкой развития плода [6] и преждевременными родами [7, 8]. Однако эти данные зачастую противоречивы, их недостаточно для использования в клинической практике, поэтому необходимы дальнейшие исследования.

Следует отметить, что вкДНК также содержит митохондриальную ДНК (вкмтДНК), фрагменты геномов вирусов и бактерий [9-11]. Повышение уровня митохондриальной ДНК (мтДНК) в крови обнаружено у женщин с преэклампсией [12-17], гестационным сахарным диабетом [18], задержкой развития плода [19]. Это позволяет рассматривать вкмтДНК в качестве потенциального биомаркера осложнений беременности. В свою очередь вирусные и бактериальные инфекции также могут вызывать осложнения беременности, а их своевременное выявление и лечение позволяет избежать тяжелых последствий [9, 11, 20].

Важная роль в развитии патологий беременности отводится полиморфизмам генов самой женщины, о чем свидетельствуют данные семейного анамнеза, результаты исследований близнецов, этнические различия и молекулярно-генетические исследования [21]. Однако данные о связи полиморфизмов различных генов с риском развития осложнений беременности по-прежнему противоречивы, что указывает на необходимость дополнительных исследований, а также пересмотра вклада генетических факторов в формирование патологий беременности.

В настоящее время оборудование и методы, используемые для анализа ДНК, стремительно развиваются. С появлением более совершенных и доступных вариантов возникает необходимость быстрой апробации и внедрения новейших технологий в лабораторную практику.

Таблица 1

## Количество аликвот и условия пробоподготовки образцов крови

Тип образца	Количество аликвот	Метод обработки	Объем, мкл	Условия хранения
Плазма	4-8*	центрифугирование 2000 g, 4° C, 10 мин; центрифугирование 16000 g, 4° C, 10 мин.	1000	-80° C
Лейкоцитарная пленка	2	центрифугирование, 2000 g, 4° C, 10 мин;	300	-80° C

Примечание: \* — в зависимости от типа пробирок (взятие крови осуществляется в две пробирки с K<sub>2</sub>-ЭДТА (8 аликвот) или в одну пробирку со стабилизатором вкДНК (4 аликвоты)).

Решение описанных проблем невозможно без сбора биологических образцов от беременных женщин. В 2015г на базе Отдела геномной медицины ФГБНУ "НИИ АГиР им. Д. О. Отта" было организовано отделение Биобанк "ГЕНОФОНД"<sup>1</sup>. С 2019г Биобанк "ГЕНОФОНД" является членом Национальной ассоциации биобанков и специалистов по биобанкированию (НАСБИО). Биобанк "ГЕНОФОНД" специализируется на сборе и хранении различных типов биообразцов от пациентов с заболеваниями, значимыми для репродукции. Коллекции биобанка постоянно пополняются и формируются в соответствии с научными проектами ФГБНУ "НИИ АГиР им. Д. О. Отта".

Цель настоящей работы — создание коллекции образцов плазмы и лейкоцитов крови беременных для усовершенствования методов неинвазивного пренатального тестирования, а также для поиска ДНК-маркеров и изучения молекулярных механизмов гестационных осложнений.

В статье представлены результаты 5-летней работы по созданию, развитию и поддержанию коллекции образцов компонентов крови беременных женщин, дана клиническая характеристика биообразцов, представлены результаты сбора исходов беременности, кратко подведены итоги использования коллекции и определены дальнейшие перспективы.

## Материал и методы

Для создания коллекции используются образцы крови женщин >18 лет с одноплодной беременностью сроком >9 нед., которые направлены в ФГБНУ "НИИ АГиР им. Д. О. Отта" для проведения инвазивной пренатальной диагностики (ИПД) или НИПТ хромосомных аномалий. Работа одобрена Этическим Комитетом ФГБНУ "НИИ АГиР им. Д. О. Отта" (№130 от 16 июля 2020г) и проводится в соответствии с Хельсинкской декларацией. Взятие крови осуществляется после получения информированного согласия женщины на использование ее биоматериала в научных целях. Перед взятием крови у всех женщин собирается информация о возрасте, весе, росте, сроке и способе наступления беременности, о результатах раннего пренатального скрининга и данных ультразвукового исследования. В случае необходимости ИПД кровь собирают до процедуры.

Сбор биологического материала и его обработка проводится в соответствии с разработанными стандартными операционными процедурами. Взятие крови производится в пробирки объемом 10 мл с 0,5 М раствором K<sub>2</sub>-ЭДТА (2-замещенной калиевой соли этилендиаминтетрауксусной кислоты) в случае кратковременного хранения или в пробирки, содержащие стабилизатор вкДНК (Streck, США или GBM, Россия), если требуется длительное хранение до пробоподготовки. Если кровь собрана в пробирки с K<sub>2</sub>-ЭДТА, обработка биоматериала проводится в течение 2 ч после сбора [22]. Если кровь собрана в пробирки со стабилизатором вкДНК, то ее обработка проводится не позднее, чем через 14 дней после венепункции, в соответствии с рекомендациями производителя. Образцы плазмы с гемолизом или хилезом исключаются из коллекции. Количество аликвот, условия пробоподготовки и хранения представлены в таблице 1.

Для НИПТ используется одна аликвота плазмы крови. Выделение ДНК проводится с помощью набора реагентов "MagMAX Cell-Free DNA Isolation Kit" ("Thermo Fisher Scientific Inc.", США) согласно рекомендациям производителя. НИПТ проводится методом полногеномного высокопроизводительного секвенирования вкДНК на приборе Ion GeneStudio S5 (Thermo Fisher Scientific Inc, США) или на приборе DNBSEQ-G50 (MGI, Китай) с последующим применением ранее разработанного биоинформатического алгоритма<sup>2</sup>. У женщин с высоким риском по результатам НИПТ осуществляется сбор информации о результатах ИПД (или о результатах кариотипирования материала плода после завершения беременности). В случае низкого риска, а также при пролонгировании беременности в случае высокого риска осуществляется сбор данных о течении, исходах беременности и состоянии новорожденных после родоразрешения.

Для учета образцов, клинических и геномных данных используются таблицы Excel. Все сведения об образцах хранятся с соблюдением условий конфиденциальности — каждому образцу присваивается уникальный идентификационный номер. Результаты секвенирования хранятся в виде файлов в формате bam для прибора Ion GeneStudio S5 или в виде fastq — для прибора DNBSEQ-G50.

Статистическая обработка данных проведена с помощью программы Jamovi (version 2.3.26). Для показателей, характеризующих качественные признаки, указано абсолютное значение и относительная величина в процентах. Для количественных переменных рассчитывали

<sup>1</sup> <https://ott.ru/science/structure/bioresursnaya-kollekciya-reproduktivnoe-zdorov-e-cheloveka/> (01 июля 2023).

<sup>2</sup> Козюлина П. Ю., Вашукова Е. С., Глотов А. С. и др. Способ неинвазивного пренатального скрининга анеуплоидий плода. Номер патента: RU 2712175 C1. Дата публикации: 24.01.2020.



среднее и стандартное отклонение от среднего (все переменные имели нормальное распределение согласно критерию Шапиро-Уилка).

## Результаты

Количество образцов в коллекции по состоянию на 01.07.2023г представлено в таблице 2. Работа по сбору биообразцов и созданию коллекции продолжается. Для формирования коллекции используются две группы биообразцов.

В первом случае используются образцы крови беременных, которые направлены в ФБНУ "НИИ АГиР им. Д.О. Отта" для проведения ИПД в связи с риском рождения ребенка с анеуплоидией. В коллекцию включаются образцы крови всех женщин. После ИПД осуществляется сбор сведений о кариотипировании материала плода. Преимуществами такого подхода являются непосредственное определение кариотипа плода и возможность формирования контрольных выборок. С помощью этого подхода на 01.07.2023г собраны образцы крови от 322 беременных (таблица 3). Средний возраст женщин составляет  $29,6 \pm 5,44$  лет (20-47 лет). Сроки беременности находятся в пределах от 9 до 32 нед. гестации (среднее значение  $13,4 \pm 2,6$  нед.). Нормальный кариотип определен в 241 случае, из них 52,3% (126) случаев — плоды мужского пола и 47,7% (115) случаев — плоды женского пола. У 67 плодов выявлены анеуплоидии (таблица 3). Для 200 женщин проведено полногеномное секвенирование вкДНК.

Вторую группу составляют образцы крови женщин, направленных на НИПТ. При выявлении высокого риска по результатам НИПТ женщина направляется на ИПД для цитогенетического исследования материала плода. Если результаты НИПТ и ИПД совпадают, образец включается в коллекцию. В случае низкого риска по результатам НИПТ образец хранится до завершения беременности родами, после чего осуществляется сбор данных о течении и исходах беременности. К достоинствам этого подхода можно отнести полногеномное секвенирование вкДНК образцов всех женщин, возможность отбора образцов с редкими хромосомными аномалиями, возможность сбора биоматериала до клинических проявлений осложнений беременности и формирования выборок женщин в зависимости от гестационных патологий.

На 01.07.2023г с помощью НИПТ обследованы образцы плазмы крови от 5554 пациенток. Для 5492 женщин получен результат. Средний возраст этих женщин составил  $33,5 \pm 3,21$  лет (19-47 лет), средний срок беременности при взятии крови —  $12 \pm 1,4$  нед. (9-34 нед.).

Высокий риск хромосомных нарушений у плода по результатам НИПТ определен в 254 наблюдениях, 201 случай хромосомных аномалий был подтвержден в результате ИПД (таблица 4). Важно

Таблица 2

Количество образцов,  
включенных в коллекцию на 01.07.2023г

Показатель	Количество
Направлены на НИПТ	5554
— низкий риск	5238
— высокий риск	254
НИПТ не выполнен	65***
Направлены на ИПД	541
В связи с высоким риском по результатам НИПТ	219
— нормальный кариотип	18***
— хромосомные аномалии	201
Направлены сразу на ИПД	322
— нормальный кариотип	241
— хромосомные аномалии	81
— выполнено полногеномное секвенирование вкДНК (НИПТ)	200
Всего	
— нормальный кариотип	241
— хромосомные аномалии	282
Проведен сбор информации об исходах беременности	635
Получена информация о беременности	590
— большие акушерские синдромы*	212
— неосложненной течение беременности**	378
Получение данных не представлялось возможным	45***

Примечание: \* — включены следующие патологии: гипертензия беременных, преэклампсия, гестационный сахарный диабет, преждевременные роды и задержка развития плода, \*\* — подразумевается отсутствие перечисленных патологий, \*\*\* — исключены из коллекции, вкДНК — внеклеточная ДНК, ИПД — инвазивная пренатальная диагностика, НИПТ — неинвазивное пренатальное тестирование.

отметить, что в случае редких хромосомных аномалий исследование кариотипа плода было выполнено только у 12 женщин, 6 случаев были подтверждены результатами ИПД. Среди них два случая трисомии по хромосоме 2, один случай трисомии по хромосоме 22, один случай моносомии хромосомы 18 (у плода выявлена делеция длинного плеча хромосомы 18), два случая трисомии по хромосоме 16. Все эти образцы включены в коллекцию.

Низкий риск хромосомных нарушений у плода с помощью НИПТ был определен в 5238 наблюдениях. На 01.07.2023г у 635 женщин после завершения беременности родами осуществлен сбор данных о течении и исходах беременности. Для 45 женщин получение сведений не представлялось возможным, их образцы были исключены из коллекции; в то же время для 590 женщин информация была получена. У всех этих женщин было получено фенотипическое подтверждение отсутствия анеуплоидий и пола плода. Основные клинические данные представлены в таблице 5. Средний возраст в этой когорте женщин составил  $34,0 \pm 5,18$  лет (20-46 лет). Средний срок беременности при сборе крови составил  $14 \pm 1,6$  нед. (9,5-34 нед.). У большинства женщин (552 (93,6%)) взятие крови осу-

Таблица 3

Результаты кариотипирования материала плодов беременных, чьи образцы крови включены в биоресурсную коллекцию на 01.07.2023г (n=322)

Кариотип/результат FISH*	Кариотипирование
Норма	
46,XX	113
46,XY	124
46,XX,9ph	2
46,XY,9ph	2
Всего	241
Сбалансированные перестройки	
46,XY,t(15;16)(q15;q22)pat	1
46,XY,t(4;5)(p16;q31)pat	1
45,XX,der(14;21)(q10;q10)mat	1
46,XX,inv(8)(p21;q22)	1
46,XX,t(6;10)(q25;p15)mat [15]	1
Всего	5
Патологии	
Анеуплоидии	
47,XX,+21	21
47,XY,+21	22
47,XX,+18	5
47,XY,+18	9
47,XY,9ph,+18	1
47,XX,+13	2
47,XY,+13	1
45,X	4
47,XXX	1
47,YYY	1
Всего	67
Мозаицизм	
47,XX,+21 [25]/48,XX,+20,+mar [4]	1
48,XY,+18,+20 [12]/47,XY,+18 [5]	1
47,XY,+7 [1]/46,XY [22]	1
Всего	3
Структурно несбалансированные перестройки	
47,XY,add(10)(q26),+21 (FISH:47,XY,+21. ish der (10)t(10;13)(q25;q22) (wcp10+,wcp13+,RB1-)	1
47,XX,der(13;13)(q10;q10),+13+21 [15]/47,XX,+21 [14]	1
47,XX,+marpat	1
46,XX,add(16)(p13.3)	1
46,XX,rec(8)dup(8q)(p21;q22) dpat	1
46,XY,der [6]	1
Всего	6

Примечание: \* — биоматериал для инвазивного исследования соби-  
рался методом хорионбиопсии, плацентобиопсии или кордоцентеза  
в зависимости от срока беременности.

ществуялось до 20 нед. беременности: у 280 (47,5%) беременных — до 13 нед. и у 272 (46,1%) беремен-  
ных — между 14 и 20 нед. Только у 38 (6,4%) био-  
материал был получен после 20 нед. В 212 случаях

Таблица 4

Результаты неинвазивного пренатального  
тестирования и подтверждающей инвазивной  
диагностики на 01.07.2023г (n=5492)

Результат НИПТ*	Высокий риск по НИПТ	Подтверждено по ИПД
Норма		
Норма, девочка	2499	—
Норма, мальчик	2739	—
Всего	5238	
Основные трисомии		
Трисомия 21, девочка	63	61
Трисомия 21, мальчик	92	91
Всего	155	152
Трисомия 18, девочка	14	12
Трисомия 18, мальчик	10	9
Всего	24	21
Трисомия 13, девочка	9	7
Трисомия 13, мальчик	7	5
Всего	16	12
Аномалии половых хромосом		
Моносомия X, девочка	9	7
Трисомия X, девочка	3	1
Дисомия Y, мальчик	3	2
Всего	15	10
Редкие патологии		
Редкие патологии, девочка	28	3
Редкие патологии, мальчик	16	3
Всего	44	6

Примечание: \* — НИПТ выполнен методом полногеномного сек-  
венирования вкДНК беременных на приборе Ion GeneStudio S5  
(Thermo Fisher Scientific Inc, США), оценка хромосомных аномалий  
проведена в соответствии с разработанным биоинформатическим  
алгоритмом<sup>2</sup>, под нормой подразумевается отсутствие анеуплоидии;  
вкДНК — внеклеточная ДНК, ИПД — инвазивная пренатальная диа-  
гностика, НИПТ — неинвазивное пренатальное тестирование.

беременность осложнилась "большими акушерски-  
ми синдромами": гестационный сахарный диабет  
на диетотерапии был диагностирован у 62 (10,5%)  
женщин, на инсулинотерапии — у 17 (2,9%) бере-  
менных, гипертензия беременных — у 23 (3,9%),  
преэклампсия — у 49 (8,3%), преждевременные ро-  
ды — у 25 (4,2%) женщин, задержка развития плода  
была установлена в 36 (6,1%) случаях.

Всего, по состоянию на 01.07.2023г в коллекции  
содержатся образцы плазмы крови и лейкоцитарной  
пленки от 5814 беременных. Для 5692 женщин вы-  
полнено полногеномное секвенирование вкДНК.  
Данные о цитогенетическом исследовании материа-  
ла плода после ИПД собраны у 522 женщин, данные  
о течении и исходах беременности — у 590 женщин.

В настоящей работе образцы коллекции были  
использованы для апробации и валидации ранее раз-  
работанного биоинформатического алгоритма НИПТ  
методом высокопроизводительного секвенирования

Таблица 5

Клинические данные о течении беременности и состоянии новорожденных, ассоциированные с образцами, собранные на 01.07.2023г (n=590)

Категории показателей	Показатели	n=590	
		Абс.	%
Настоящая беременность	Одноплодная	590	100,0%
	Беременность ЭКО	57	9,7%
Паритет родов и осложнения беременности в анамнезе	Первородящие	206	34,9%
	Повторнородящие	384	65,1%
	Невынашивание в анамнезе	148	25,1%
	Преэклампсия в анамнезе	33	5,6%
	Гестационный сахарный диабет (диетотерапия) в анамнезе	23	3,9%
	Гестационный сахарный диабет (инсулинотерапия) в анамнезе	4	0,7%
	Преждевременные роды в анамнезе	12	2,0%
	Задержка развития плода в анамнезе	2	0,3%
	Преждевременная отслойка плаценты	6	1,0%
	Синдром поликистозных яичников	15	2,5%
Гинекологические заболевания	Наружный генитальный эндометриоз	45	7,6%
	Аденомиоз	6	1,0%
	Миома матки	84	14,2%
	Хронический эндометрит	17	2,9%
	Киста яичника	56	9,5%
	Полип эндометрия	18	3,1%
	Гиперплазия эндометрия	1	0,2%
	Ожирение >30 кг/м <sup>2</sup>	53	9,0%
Экстрагенитальные заболевания	Избыток >25-30 кг/м <sup>2</sup>	148	25,1%
	Дефицит массы тела <18 кг/м <sup>2</sup>	9	1,5%
	Сахарный диабет 1 типа	4	0,7%
	Сахарный диабет 2 типа	1	0,2%
	Гепатоз	4	0,7%
	Гипертоническая болезнь	11	1,9%
	Антифосфолипидный синдром	4	0,7%
	Варикозная болезнь	82	13,9%
	Хронический пиелонефрит	71	12,0%
	Патология щитовидной железы	67	11,4%
	Патологическая прибавка веса	136	23,1%
Гестационные осложнения	Анемия беременных	138	23,4%
	Угрожающие преждевременные роды	25	4,2%
	Гестационный сахарный диабет (диетотерапия)	62	10,5%
	Гестационный сахарный диабет (инсулинотерапия)	17	2,9%
	Отеки	38	6,4%
	Гипертензия беременных	23	3,9%
	Преэклампсия	49	8,3%
	HELLP-синдром	1	0,2%
	Гепатоз беременных	14	2,4%
	Многоводие	30	5,1%
	Маловодие	26	4,4%
Течение родов и осложнения	Роды самостоятельные	350	59,3%
	Преждевременное излитие околоплодных вод	107	18,1%
	Преждевременные роды	25	4,2%
Оперативное родоразрешение	Роды оперативным путем	240	40,7%
	Плановое кесарево сечение	219	37,1%
	Экстренное кесарево сечение	21	3,6%

Таблица 5. Продолжение

Категории показателей	Показатели	n=590	
		Абс.	%
Показания к оперативному родоразрешению	Рубец на матке	74	12,5%
	Преэклампсия	14	2,4%
	Отсутствие оптимальной готовности к родам родовых путей	27	4,6%
	Экстрагенитальная патология	15	2,5%
	Осложнения, связанные с сахарным диабетом	3	0,5%
	Отслойка плаценты	4	0,7%
	Отягощенный акушерский и гинекологический анамнез	14	2,4%
	Внутриутробная гипоксия плода	8	1,4%
	Неправильное положение плода	24	4,1%
	Узкий таз	7	1,2%
	Преждевременное излитие околоплодных вод	4	0,7%
	Размер плода	5	0,8%
	Резус-конфликт	2	0,3%
	Нарушение маточно-плацентарного кровотока	6	1,0%
Фетальные осложнения	Задержка развития плода	36	6,1%
	Диабетическая фетопатия	3	0,5%
	Гипербилирубинемия	73	12,4%
	Внутриутробная инфекция	2	0,3%

Примечание: вкДНК — внеклеточная ДНК, ЭКО — экстракорпоральное оплодотворение; HELLP-синдром: H — hemolysis (гемолиз), EL — elevated liver enzymes (повышение в крови уровня печеночных ферментов), LP — low platelet count (тромбоцитопения).

на приборе DNBSEQ-G50 (MGI, Китай). В качестве контроля использовали аликвоты плазмы крови 50 беременных плодов с нормальным кариотипом. Для валидации НИПТ использовали аликвоты плазмы крови других 150 женщин: 100 беременных плодов с нормальным кариотипом и 50 образцов беременных плодов с хромосомными патологиями. Во всех случаях результаты, полученные как цитогенетическим методом, так и при использовании НИПТ, совпали. Отсутствие анеуплоидий у плода после анализа вкДНК было определено в 100 наблюдениях, патология кариотипа была определена в 50 наблюдениях (таблица 6). Все патологии были определены верно. Таким образом, специфичность метода соответствовала ожидаемой и составила >99,9%. Чувствительность метода — 100%.

## Обсуждение

Биоресурсные коллекции являются важным инструментом для проведения научных исследований, создания более совершенных диагностических тестов, разработки новых подходов к лечению и профилактике различных заболеваний человека.

В последние годы в России стали появляться стандартизированные коллекции биообразцов, которые собираются в период беременности. Так, в ФГБНУ "НИИ АГиР им. Д. О. Отта" ведутся работы по созданию уникальной коллекции биоматериала женщин на разных сроках гестации. В эту коллекцию входят образцы венозной крови, мочи, пуповинной крови и плацентарной ткани от женщин

с различной акушерской патологией и с неосложненным течением беременности. На сегодняшний день собрано >400 образцов, и сбор продолжается. Основные области использования этой коллекции связаны с поиском ранних молекулярно-генетических маркеров наиболее распространенных осложнений беременности [23]. В то же время такая важная область медицины, как пренатальная диагностика осталась без внимания. В настоящей работе мы приступили к формированию биоресурсной коллекции, ориентированной на разработку новых методов неинвазивной пренатальной диагностики на основе анализа вкДНК.

В качестве первичного биоматериала была выбрана цельная кровь, собранная в пробирки с K<sub>2</sub>-ЭДТА или со стабилизатором вкДНК. Экспериментальные исследования показали, что наиболее подходящим биоматериалом для выделения вкДНК является плазма крови [24], а оптимальным вариантом для взятия крови является ее забор в пробирки с K<sub>2</sub>-ЭДТА [24]. Однако этот тип пробирок пригоден только для кратковременного хранения при комнатной температуре до центрифугирования из-за разрушения клеток и контаминации геномной ДНК. Для длительного хранения до центрифугирования подходят пробирки, содержащие стабилизатор, защищающий клетки крови от деградации [24]. Важно отметить, что оба типа пробирок подходят для сбора лейкоцитов, содержащих геномную ДНК беременных женщин, которую можно использовать для поиска генов предрасположенности



Таблица 6

Результаты тестирования образцов вкДНК беременных методом полногеномного секвенирования на приборе DNBSEQ-G50 (MGI, Китай) (n=150)

Кариотип/ результат FISH	Кариотипирование	НИПТ*
Норма		
46,XX	50	50 (норма, девочка)
46,XY	50	50 (норма, мальчик)
Всего	100	100
Анеуплоидии		
47,XX,+21	10	10 (трисомия 21, девочка)
47,XY,+21	10	10 (трисомия 21, мальчик)
47,XX,+18	6	6 (трисомия 18, девочка)
47,XY,+18	6	6 (трисомия 18, мальчик)
47,XX,+13	5	5 (трисомия 13, девочка)
47,XY,+13	5	5 (трисомия 13, мальчик)
47,XXX	1	1 (трисомия X, девочка)
47,XX,+2	1	1 (трисомия 2, девочка)
47,XY,+16	1	1 (трисомия 16, мальчик)
47,XX,+22	1	1 (трисомия 22, девочка)
45,X	3	3 (моносомия X, девочка)
47,YYY	1	1 (дисомия Y, мальчик)
Всего	50	50

Примечание: \* — НИПТ выполнен методом полногеномного секвенирования вкДНК беременных на приборе DNBSEQ-G50 (MGI, Китай), оценка хромосомных аномалий проведена в соответствии с разработанным биоинформатическим алгоритмом<sup>2</sup>, под нормой подразумевается отсутствие анеуплоидии; вкДНК — внеклеточная ДНК, НИПТ — неинвазивное пренатальное тестирование.

к осложнениям беременности. Также образцы геномной ДНК беременных в ряде подходов НИПТ используются в качестве контроля [3], что обусловило необходимость сбора лейкоцитов крови.

Для анализа вкДНК беременных используют различные молекулярно-генетические методы. Одним из наиболее успешных и перспективных методов является высокопроизводительное секвенирование [3]. Поэтому в 2017г в ФГБНУ "НИИ АГиР им. Д.О. Отта" был начат сбор образцов крови беременных женщин, направленных на ИПД, с целью разработки технологии НИПТ хромосомных аномалий методом высокопроизводительного секвенирования. Эти образцы составили основу представленной коллекции, которая сформирована из двух групп: образцы от женщин, беременных плодами с хромосомными аномалиями, и образцы беременных плодами без хромосомных патологий.

В 2019г на базе собранных образцов была выполнена апробация технологии НИПТ хромосомных аномалий на основе ионного полупроводникового секвенирования на приборе Ion GeneStudio S5 (Thermo Fisher Scientific Inc, США). Для этого был разработан оригинальный биоинформатический

протокол оценки риска хромосомных патологий у плода. Были использованы аликвоты плазмы крови от 185 женщин с одноплодной беременностью. При исследовании 145 образцов анеуплоидий у плода обнаружено не было, что соответствовало результатами цитогенетического исследования. В 40 случаях были выявлены хромосомные аномалии. Все 40 анеуплоидий, обнаруженных с помощью НИПТ, соответствовали результатам ИПД [25, 26].

С 2020г разработанный вариант НИПТ внедрён в клиническую практику ФГБНУ "НИИ АГиР им. Д.О. Отта". На сегодняшний день этим методом протестировано >5000 образцов беременных женщин [27], что позволило значительно увеличить количество образцов с хромосомными аномалиями и расширить спектр патологий, входящих в коллекцию.

В 2022г на базе коллекции было проведено тестирование разработанного биоинформатического алгоритма НИПТ с использованием технологии высокопроизводительного секвенирования, предложенной китайской компанией MGI. Результаты апробации, представленные в настоящей работе, свидетельствуют об успешном тестировании протокола НИПТ для прибора DNBSEQ-G50 (MGI, Китай). С декабря прошлого года эта технология применяется в ФГБНУ "НИИ АГиР им. Д.О. Отта", к настоящему времени проанализировано >1500 образцов плазмы крови беременных женщин.

Электронный каталог коллекции включает информацию о результатах раннего пренатального скрининга, что позволяет проводить дополнительные исследования. Так, на основе тестирования 4272 образцов коллекции исследована эффективность разработанного варианта НИПТ в клинической практике. Проведенные исследования показали, что прогностическая ценность НИПТ для трисомий по хромосомам 21, 18 и 13 значительно выше, чем у раннего пренатального скрининга, что соответствует данным других исследователей [27]. Показано, что предложенный вариант НИПТ позволяет с высокой точностью выявлять регулярные трисомии, анеуплоидии по половым хромосомам, а также "редкие находки" [27].

Преимуществом созданной коллекции является то, что для большинства образцов вкДНК проведено полногеномное секвенирование. Это открывает широкие возможности для научных исследований.

Исследования, проведенные на основе имеющейся геномной информации, показали, что в образцах плазмы крови беременной можно обнаружить фрагменты ДНК вирусов, способных негативно влиять на течение беременности, таких как Varicella zoster, Human betaherpesvirus 5 (CMV) и Human parvovirus B19 [26]. Также было показано, что во вкДНК содержится достаточное количество мтДНК для анализа последней. Продемонстрировано, что вкмтДНК в плазме крови беременных может быть использована для поиска нуклеотидных

вариантов и определения гаплогрупп мтДНК. Показано, что уровень мтДНК в плазме крови может служить дополнительным маркером качества биообразцов, направляемых на НИПТ [10]<sup>3</sup>.

Особо перспективной представляется возможность поиска на базе коллекции ранних ДНК-маркеров осложнений гестации. Во-первых, большинство образцов получены проспективно до возникновения акушерских осложнений. Во-вторых, в процессе формирования коллекции собираются данные о течении беременности. При этом клиническая аннотация биообразцов содержит подробную информацию о фоновых и гинекологических заболеваниях, а также об особенностях течения настоящей беременности. Эта информация позволяет формировать стратифицированные группы беременных в зависимости от целей исследования.

В настоящее время на базе коллекции проводятся исследования, связанные с оценкой клинической значимости детекции ДНК-вирусов в крови беременной, разработкой подходов к выявлению микроперестроек, созданием неинвазивных методов пренатального скрининга моногенных заболеваний и хромосомных патологий на основе таргетного секвенирования, а также поиском ДНК-маркеров осложнений беременности.

## Заключение

Созданная коллекция, а также ассоциированные с ней клинические и геномные данные являются ценным ресурсом для фундаментальных

<sup>3</sup> Моршнева А. В., Козюлина П. Ю., Вашуква Е. С. и др. Способ анализа митохондриальной ДНК для неинвазивного пренатального тестирования. Номер патента: RU 2 772 912 С1. Дата публикации: 27.05.2022.

## Литература/References

1. Prenatal diagnosis of hereditary diseases: state and prospects. V.S. Baranov, T.V. Kuznetsova, T.K. Kashcheeva, et al. SPb.: Izd-vo Eco-Vector, 2020. 503 p. (In Russ.) Пренатальная диагностика наследственных болезней. Состояние и перспективы. Баранов В.С., Кузнецова Т.В., Кашеева Т.К. и др. СПб.: Изд-во Эко-Вектор, 2020. 503 с. ISBN: 978-5-907201-24-8.
2. Lo YM, Corbetta N, Chamberlain PF, et al. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum. *Lancet*. 1997;350(9076):485-87. doi:10.1016/S0140-6736(97)02174-0.
3. Kalashnikova EA, Glotov AS, Andreyeva EN, et al. Current relevance of non-invasive prenatal study of cell-free fetal DNA in the mother's blood and prospects for its application in mass screening of pregnant women in the Russian Federation. *Journal of Obstetrics and Women's Diseases*. 2021;70(1):19-50. (In Russ.) Калашникова Е.А., Глотов А.С., Андреева Е.Н. и др. Современное значение неинвазивного пренатального исследования внеклеточной ДНК плода в крови матери и перспективы его применения в системе массового скрининга беременных в Российской Федерации. *Журнал акушерства и женских болезней*. 2021;70(1):19-50. doi:10.17816/JOWD56573.
4. Gracheva MI, Kan NE, Krasniy AM. Role of cell-free fetal DNA in the early diagnosis of pregnancy complications. *Akusherstvo i Ginekologiya/Obstetrics and Gynecology*. 2016;(10):5-10. (In Russ.) Грачева М.И., Кан Н.Е., Красный А.М. Роль внеклеточной фетальной ДНК в ранней диагностике осложнений беременности. *Акушерство и гинекология*. 2016;10:5-10. doi:10.18565/aig.2016.10.5-10.
5. AbdelHalim RM, Ramadan DI, Zeyada R, et al. Circulating Maternal Total Cell-Free DNA, Cell-Free Fetal DNA and Soluble Endoglin Levels in Preeclampsia: Predictors of Adverse Fetal Outcome? A Cohort Study. *Mol Diagn Ther*. 2016;20(2):135-49. doi:10.1007/s40291-015-0184-x.
6. Kwak DW, Kim SY, Kim HJ, et al. Maternal total cell-free DNA in preeclampsia with and without intrauterine growth restriction. *Sci Rep*. 2020;10:11848. doi:10.1038/s41598-020-68842-1.
7. Farina A, LeShane ES, Romero R, et al. High levels of fetal cell-free DNA in maternal serum: a risk factor for spontaneous preterm delivery. *Am J Obstet Gynecol*. 2005;193(2):421-5. doi:10.1016/j.ajog.2004.12.023.
8. van Boeckel SR, Davidson DJ, Norman JE, Stock SJ. Cell-free fetal DNA and spontaneous preterm birth. *Reproduction*. 2018;155(3):R137-45. doi:10.1530/REP-17-0619.
9. Chesnais V, Ott A, Chaplais E, et al. Using massively parallel shotgun sequencing of maternal plasmatic cell-free DNA for cytomegalovirus

- DNA detection during pregnancy: a proof of concept study. Rep. 2018;8:4321. doi:10.1038/s41598-018-22414-6.
10. Morshneva A, Kozyulina P, Vashukova E, et al. Pilot Screening of Cell-Free mtDNA in NIPT: Quality Control, Variant Calling, and Haplogroup Determination. Genes. 2021;12(5):743. doi:10.3390/genes12050743.
11. Tong X, Yu X, Du Y, et al. Peripheral Blood Microbiome Analysis via Noninvasive Prenatal Testing Reveals the Complexity of Circulating Microbial Cell-Free DNA. Microbiol Spectr. 2022;10(3):e0041422. doi:10.1128/spectrum.00414-22.
12. Qiu C, Hevner K, Enquobahrie DA, Williams MA. A case-control study of maternal blood mitochondrial DNA copy number and preeclampsia risk. Int J Mol Epidemiol Genet. 2012;3(3):237-44.
13. McCarthy C, Kenny LC. Therapeutically targeting mitochondrial redox signalling alleviates endothelial dysfunction in preeclampsia. Sci Rep. 2016;6:32683. doi:10.1038/srep32683.
14. Marschalek J, Wohlrab P, Ott J, et al. Maternal serum mitochondrial DNA (mtDNA) levels are elevated in preeclampsia — A matched case-control study. Pregnancy Hypertens. 2018;14:195-9. doi:10.1016/j.preghy.2018.10.003.
15. Williamson RD, McCarthy FP, Khashan AS, et al. Exploring the role of mitochondrial dysfunction in the pathophysiology of preeclampsia. Pregnancy Hypertens. 2018;13:248-53. doi:10.1016/j.preghy.2018.06.012.
16. Busnelli A, Lattuada D, Ferrari S, et al. Mitochondrial DNA copy number in peripheral blood in the first trimester of pregnancy and different preeclampsia clinical phenotypes development: a pilot study. Reprod Sci. 2018;26(8):1054-61. doi:10.1177/1933719118804410.
17. Ozeki A, Tani K, Takahashi H, et al. Preeclamptic patient-derived circulating cell-free DNA activates the production of inflammatory cytokines via toll-like receptor 9 signalling in the human placenta. J Hypertens. 2019; 37:2452-60. doi:10.1097/HJH.0000000000002208.
18. McElwain C, McCarthy CM. Investigating mitochondrial dysfunction in gestational diabetes mellitus and elucidating if BMI is a causative mediator. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2020; 251:60-5. doi:10.1016/j.ejogrb.2020.04.037.
19. Colleoni F, Lattuada D, Garretto A, et al. Maternal blood mitochondrial DNA content during normal and intrauterine growth restricted (IUGR) pregnancy. Am J Obstet Gynecol. 2010; 203(4):365.e1-6. doi:10.1016/j.ajog.2010.05.027.
20. Linthorst J, Baksi MMM, Welkers MRA, Sistermans EA. The cell-free DNA virome of 108,349 Dutch pregnant women. Prenat Diagn. 2023;43(4):448-56. doi:10.1002/pd.6143.
21. Dryllis G, Liakou P, Politou M. Genetic Polymorphisms Implicated in Major Pregnancy Complications: a Review. Folia Med (Plovdiv). 2020;62(2):230-7. doi:10.3897/folmed.62.e47831.
22. Biobanking. National Guidelines. Ed. A. N. Meshkova, A. S. Glovtova, S. V. Anisimova. National association of Biobanks and biobanking specialists. M.: Izd-vo Triumf, 2022. 308 p. il. (In Russ.) Биобанкирование. Национальное руководство. Под редакцией А. Н. Мешкова, А. С. Глотова, С. В. Анисимова. Национальная ассоциация биобанков и специалистов по биобанкированию. М.: Изд-во Триумф, 2022. 308 с. ил. ISBN: 978-5-93673-322-2.
23. Pachulia OV, Illarionov RA, Vashukova ES, et al. Bioresource collection of biosamples from pregnant women at different gestational ages for the search for early biomarkers of pregnancy complications and potential for its use in research. Cardiovascular Therapy and Prevention. 2022;21(11):3399. (In Russ.) Пачулия О.В., Илларионов Р.А., Вашукова Е.С. и др. Характеристика биоресурсной коллекции биообразцов от беременных женщин на разных сроках гестации для поиска ранних биомаркеров осложнений беременности и перспективы ее научного использования. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2022;21(11):3399. doi:10.15829/1728-8800-2022-3399.
24. Kondratskaya VA, Pokrovskaya MS, Doludin YuV, et al. Influence of preanalytical variables on the quality of cell-free DNA. Biobanking of cell-free DNA material. Cardiovascular Therapy and Prevention. 2021;20(8):3114. (In Russ.) Кондрацкая В.А., Покровская М.С., Долудин Ю.В. и др. Влияние преаналитических переменных на качество внеклеточной ДНК. Биобанкирование материала для выделения внеклеточной ДНК. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2021;20(8):3114. doi:10.15829/1728-8800-2021-3114.
25. Ivashchenko TE, Vashukova, ES, Kozyulina, PY, et al. Noninvasive prenatal testing using next generation sequencing: pilot experience of the D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology. Russian Journal of Genetics. 2019;55(10):1208-13. doi:10.1134/S1022795419100053.
26. Kozyulina PY, Vashukova ES, Morshneva AV, et al. Application of nipt by ngs sequencing in D.O. Ott research institute for obstetrics, gynaecology and reproductology. Medical Genetics. 2020;19(3):71-3. (In Russ.) Козюлина П.Ю., Вашукова Е.С., Моршнева А.В. и др. Опыт применения NGS секвенирования для проведения НИПТ на базе ФГНУ "НИИ АГиР им. Д. О. Отта". Медицинская генетика. 2020;19(3):71-3. doi:10.25557/2073-7998.2020.03.71-73.
27. Tarasenko OA, Vashukova ES, Kozyulina PYu, et al. Experience of using high-throughput sequencing (NGS) for noninvasive prenatal screening of fetal aneuploidy at the D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproduction. Akusherstvo i Ginekologiya /Obstetrics and Gynecology. 2022;10:37-49. (In Russ.) Тарасенко О.А., Вашукова Е.С., Козюлина П.Ю. и др. Опыт применения высокопроизводительного секвенирования (NGS) для проведения неинвазивного пренатального скрининга анеуплоидий плода на базе ФГБНУ "НИИ АГиР им. Д. О. Отта". Акушерство и гинекология. 2022;10:37-49. doi:10.18565/aig.2022.10.37-49.