**Свободная β-субъединица хорионического гонадотропина человека как маркер синдрома Дауна**

Семенова Д. В. (dianna@yandex.ru), магистр техники и технологии, выпускница 2003 г. СПбГПУ, факультет медицинской физики и биоинженерии, кафедра физико-химических основ медицины.

В последнее десятилетие широко обсуждалась возможность проведения пренатального скрининга синдрома Дауна в первом триместре беременности. Было предложено несколько сывороточных маркеров этой патологии, однако наиболее информативными из них оказались свободная β-субъединица хорионического гонадотропина и ассоциированный с беременностью белок плазмы А. В настоящий момент в России оценить риск рождения ребенка с синдромом Дауна можно только во втором триместре беременности. Это объясняется новизной и высокой стоимостью теста.

**Free β-subunit of human chorionic gonadotropin as Down’s syndrome marker.**

Semenova D. V. (dianna@yandex.ru), magister of technology (2003), Saint Petersburg State Polytechnical University.

**Key words:** free β-subunit of human chorionic gonadotropin, prenatal screening, Down’s syndrome.

In the past decade the possibility of Down’s syndrome prenatal screening in the first trimester of pregnancy was broadly discussed. Several markers were suggested, but the most informative of them were appeared free β-subunit of human chorionic gonadotropin and pregnancy-associated plasma protein A. To this moment in Russia to evaluate the risk for Down’s syndrome affected pregnancy is possible only in the second trimester of pregnancy, because of cost and test newness.

**Введение**

Синдром Дауна – одно из наиболее часто встречающихся врожденных заболеваний, вызванное трисомией по 21 хромосоме. По данным ВОЗ, из 1000 новорожденных генетические патологии имеют 16 детей [1], из которых 1-2 рождаются с болезнью Дауна [2]. Высокая частота и тяжесть этого заболевания определяет необходимость широкого применения пренатальной диагностики.

Пренатальная диагностика синдрома Дауна включает в себя два этапа:

Скрининговое исследование с помощью различных маркеров, предназначенное для оценки риска рождения больного ребенка.

Диагностическая процедура, направленная на выяснение кариотипа ребенка для точной постановки диагноза [3].

Клетки плода для картирования хромосом получают путем амниоцентеза (забора амниотической жидкости, содержащей некоторое количество клеток плода) или пункции хориона. Обе эти процедуры повышают риск спонтанного аборта – на 0,2 % в случае амниоцентеза и на 0,5–0,8% в случае биопсии хориона [4]. Поэтому такие процедуры требуют высокой квалификации персонала и, прежде всего, полной обоснованности ее проведения. Направление на диагностическую процедуру определяется риском наличия патологии плода, который оценивается с помощью маркеров.

В 80-х годах прошлого века была установлена целесообразность измерения концентраций α-фетопротеина и хорионического гонадотропина в сыворотке крови беременных женщин во втором триместре [5, 6]. Это исследование позволяло выявлять 70% случаев синдрома Дауна у развивающегося ребенка на этом сроке беременности [7]. Позже пытались применять их для пренатального скрининга в первом триместре, но информативность анализа резко снижалась [8].

Были найдены другие маркеры синдрома Дауна первого триместра: свободная субъединица β-ХГЧ (хорионического гонадотропина человека) и белок РАРР-А, а также ультразвуковой маркер – толщина воротниковой зоны (nuchal translucency), которые при совместном использовании позволяют выявлять до 80% случаев при 5% ложно-положительных результатов [8, 9].

В кровоток матери свободная β-ХГЧ поступает вследствие секреции клетками трофобласта, а также как один из продуктов распада ХГЧ. Измерение концентрации свободной β-ХГЧ вместе с ассоциированным с беременностью белком плазмы А (РАРР-А) и ультразвуковое измерение толщины воротникового пространства позволяют выявить до 90% случаев синдрома Дауна в первом триместре беременности. Кроме того, свободная β-ХГЧ также продуцируется опухолевыми клетками различного происхождения.

В связи с этим молекула свободной β-субъединицы ХГЧ широко изучалась. Картированы ее гены, изучена аминокислотная последовательность и содержание углеводов, а также методом рентгеноструктурного анализа получено представление о ее трехмерной структуре. Имеется большое количество данных о метаболизме ХГЧ, в ходе которого образуется свободная β-субъединица.

Для определения содержания свободной β-ХГЧ были получены и исследованы моноклональные антитела к ней. На поверхности β-ХГЧ имеется несколько эпитопов, образующих четыре антигенных домена, только два из которых выявляются на свободной форме β-субъединицы ХГЧ. Это создает трудности при разработке систем иммунохимической диагностики, так как в крови содержится несколько дериватов ХГЧ, выступающих в роли кросс-реактантов, причем их соотношение со свободной β-ХГЧ составляет 97:3.

В России пренатальный скрининг синдрома Дауна в первом триместре находится на стадии апробации и оценки его диагностической значимости и до сих пор не внедрен в широкую лабораторную практику. Это объясняется новизной анализа и высокими ценами на наборы регентов для иммунометрического определения сывороточных маркеров, которые производят зарубежные компании. В нашей стране впервые начата разработка иммуноферментной тест-системы для определения концентрации свободной β-ХГЧ в сыворотке крови беременных в первом триместре.

**Структура β-субъединицы ХГЧ и кодирующие ее гены.**

ХГЧ, синтезирующийся плацентой, относится к тому же семейству гликопротеиновых гормонов, что и лютеинизирующий (ЛГ), фолликулостимулирующий (ФСГ) и тиреотропный (ТТГ) гормоны, продуцируемые передней долей гипофиза. Все они являются димерными белками, состоящими из двух неодинаковых гликопротеидных субъединиц, связанных нековалентно. Общая у всех четырех гормонов α– субъединица, кодируемая одним геном, состоит из 92 аминокислот и содержит два N-связанных углеводных комплекса; β-субъединица у всех гормонов разная и содержит от 114 до 145 аминокислотных остатков и 1–6 N- и O-связанных углеводных радикалов [10]. Аминокислотная последовательность первых 114 аминокислот β-субъединицы ХГЧ гомологична ЛГ на 85%, ФСГ на 36% и ТТГ на 46%. Высокая гомология между ЛГ и ХГЧ определяет общность их биологической функции, так как они взаимодействуют с одним рецептором.

β-субъединица ХГЧ состоит из 145 аминокислот, в том числе 12 цистеинов, образующих 6 дисульфидных связей в положениях 9-57, 38-90, 34-88, 23-72, 26-110 и 93-100, причем первые три образуют «цистиновый узел» (cystine knot). Пространственная конформация и стабильность молекулы β-субъединицы в значительной мере определяется дисульфидными связями (рис. 1), что характерно и для α-субъединицы, имеющей очень схожую пространственную конформацию [11]. «Цистиновый узел» был также найден у трех ростовых факторов: nerve growth factor (NGF) [12], transforming growth factor β2 (TGF- β2) [13] и platelet-derived growth factor- β (PDGF-β) [14].

Изображение пространственной конформации β-субъединицы ХГЧ, полученное методом рентгеноструктурного анализа. В молекулярной структуре выделяют две «петли-шпильки», связанные дисульфидной связью 23-72, одну длинную петлю, гидрофобную коровую область, включающую в себя «цистиновый узел», и С-терминальный пептид, называемый «seat-belt» (ремнем безопасности), который охватывает α-субъединицу, и его положение фиксируется дисульфидной связью 26-110. Дисульфидные связи показаны красным цветом.

В нативной молекуле ХГЧ β-субъединица содержит два N-связанных олигосахарида, присоединенных к остаткам аспарагина в положениях 13 и 138, а также четыре O-связанных с остатками серина олигосахарида в положениях 121, 127, 132 и 138. Углеводы составляют 34% от всей массы молекулы ХГЧ и выделяют его из всего семейства как наиболее тяжело гликозилированный гормон [15].

Кластер генов, кодирующих β-субъединицы ХГЧ и ЛГ, локализован на 19-й хромосоме в области 13.3 длинного плеча [16, 17]. В нем содержится шесть копий гена β-ХГЧ, расположенных друг за другом в прямой и обратной последовательности [16] и один ген β-ЛГ на правом конце кластера. Присутствие нескольких активных генов β-ХГЧ определяет высокий уровень продукции ХГЧ в начале беременности.

**Свободная β-субъединица и другие метаболические формы ХГЧ в кровотоке**

Молекула ХГЧ и ее свободные α- и β-субъединицы секретируются клетками трофобласта в ходе его нормального развития и при трофобластических заболеваниях, клетками опухолей различного происхождения, а также в небольших количествах гипофизом [17]. Секреция свободных субъединиц происходит либо вследствие независимой регуляции синтеза субъединиц, либо из-за их несостоявшейся ассоциации. Существуют данные, подтверждающие обе эти причины. В пользу первой говорит то, что соотношение количеств α- и β-субъединиц ХГЧ изменяется в процессе развития плаценты, что позволяет предполагать существование разных путей физиологической регуляции синтеза двух субъединиц ХГЧ. Имеются данные о том, что в плаценте в первом триместре беременности уровень мРНК α-субъединицы был в 2 раза выше, чем мРНК β-субъединицы ХГЧ. Это коррелировало с уровнем α- и β-субъединиц, доказывая то, что продукция ХГЧ контролируется на претрансляционном уровне. В плаценте конца беременности наблюдалось заметное снижение уровней мРНК обеих субъединиц, но соотношение субъединиц α : β возрастало до 12 : 1 [18]. Таким образом, регуляция продукции субъединиц ХГЧ происходит независимо, но в целом они продуцируются в количестве, достаточном для обеспечения возможности образования биологически активного гетеродимера. Однако имеются данные, указывающие на существование механизмов, препятствующих образованию димера ХГЧ. Одним из путей нарушения взаимодействия субъединиц является гипергликозилирование α-субъединицы, что мешает ее способности вовлекаться в образование полной молекулы ХГЧ [19].

Катаболизм молекулы хорионического гонадотропина – это другой путь поступления свободной β-субъединицы в кровоток. Деградация ХГЧ начинается с одиночного расщепления между 47 и 48 аминокислотами β-субъединицы [20]. Это приводит к резкой потере функциональной активности ХГЧ и ее стабильности в крови (с 1300 часов до 22) [21]. ХГЧ с расщепленной β-субъединицей не способен взаимодействовать с рецепторами ЛГ/ХГ клеток желтого тела и стимулировать продукцию прогестерона, и, возможно, выступает в роли антагониста нативного гормона [22]. Расщепление ХГЧ связывают с плацентарными макрофагами, лейкоцитарная эластаза которых чувствительна к определенному строению длинной петли β-ХГЧ: последовательность гидрофильных аминокислот сменяется последовательностью гидрофобных аминокислот (рис.2). В связи с этим появление свободной β-ХГЧ в крови может зависеть от количества или активности плацентарных макрофагов [12].

После распада субъединиц, расщепленная молекула β-ХГЧ теряет С-терминальный пептид (область 93-145 аминокислот) и деградирует до конечного продукта распада ХГЧ – β-кор-фрагмента (два участка β-субъединицы, 6-40 и 55-92, соединенные четырьмя дисульфидными связями) (рис.3). Катаболизм ХГЧ приводит к появлению в крови только расщепленной β-ХГЧ.

Все эти процессы приводят к тому, что в плазме и моче беременных женщин обнаруживается большое количество дериватов (метаболических форм и предшественников) хорионического гонадотропина. Эта группа включает в себя нативный ХГЧ, ХГЧ с расщепленной β-субъединицей, ХГЧ без С-терминального выступа, свободную -субъединицу, свободную гипергликозилированную α-субъединицу, свободную β-субъединицу, расщепленную свободную β-субъединицу и β-кор-фрагмент [23].

Содержание свободной β-субъединицы ХГЧ в биологических жидкостях в норме и при патологии

Концентрации ХГЧ – нативного и с расщепленной β-субъединицей – в плазме крови и моче возрастают в первом триместре беременности, удваиваясь каждые 48 часов, и достигают пика около десятой недели беременности [24]. Концентрация нативного ХГЧ снижается с десятой по шестнадцатую недели беременности, достигая приблизительно 20% от пиковой концентрации, и остается около этого уровня до конца беременности [25]. В среднем ХГЧ с расщепленной β-субъединицей составляет около 9% от всех дериватов ХГЧ в плазме на втором нормальной месяце беременности и возрастает в среднем до 21% на девятом месяце. Несмотря на в среднем низкое содержание расщепленного ХГЧ, индивидуально оно может очень сильно меняться [26]. Изменения концентрации гормона в течение беременности отражают его основную функцию – поддержание продукции прогестерона желтым телом до того как плацента не возьмет эту функцию на себя [27].

Концентрация свободной β-ХГЧ в сыворотке крови беременных очень низка: около десятой недели беременности оно максимально (1-3% от всех дериватов ХГЧ), а к девятому месяцу понижается до 0,5%. Более высокое содержание свободной β-субъединицы наблюдается в моче, где достигает 9% от общего количества дериватов [20].

Содержание в крови и моче ХГЧ с расщепленной β-субъединицей, свободной β-субъединицы и β-кор-фрагмента значительно изменяется при синдроме Дауна у плода, беременности, осложненной преэкламсией (поздним токсикозом) и при трофобластических заболеваниях (пузырном заносе, трофобластических опухолях и хориокарциноме) [28-31, 34].

В пренатальной диагностике корреляция концентрации какого-либо маркера, в том числе свободной β-субъединицы ХГЧ, с патологией оценивается статистически – по вкладу в вероятность рождения больного ребенка, рассчитываемую на основании нескольких факторов. Все факторы риска, биохимические и ультразвуковые, оценивают в единицах МoМ (multiplies of median, кратности медиане). Затем с помощью специальных статистических программ рассчитывается вероятность рождения ребенка с синдромом Дауна с учетом возрастного риска [32, 33].

С 1993 года были проведены скрининговые исследования, в которых была установлена целесообразность использования свободной β-ХГЧ для скрининга синдрома Дауна в первом триместре [8]. Данные этих исследований представлены в табл. 1.

Таблица 1

Содержание свободной β-субъединицы ХГЧ в крови женщин в первом триместре беременности при наличии синдрома Дауна у плода.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Авторы** | **Количество случаев синдрома Дауна** | **Среднее значение (МоМ)** |
| Macri e.a. [34] | 38 | 2.20 |
| Macintosh e.a. [35] | 21 | 2.10 |
| Kranz e.a. [8] | 22 | 2.09 |
| Haddow e.a. [36] | 48 | 2.13 |

Таким образом, при синдроме Дауна концентрация свободной β-ХГЧ в 2 с лишним раза выше, чем значение для выборки в целом.

**Характеристика эпитопов β-субъединицы ХГЧ**

Развитие высокоспецифичных и чувствительных иммунохимических методов для определения свободной β-ХГЧ в крови основано на отборе моноклональных антител, способных отличать свободную β-ХГЧ от остальных метаболитов гормона. Антитела, специфически связывающие свободную β-субъединицу, впервые были получены в 1981 г. [37]. После этого было описано большое количество антител, однако четкое представление о расположении антигенных областей β-ХГЧ появилось только после изучения ее кристаллической структуры. Многочисленные исследования методами биохимической, в т.ч. энзиматической модификации, изучение кросс-реактивности в конкурентных иммуноанализах, с помощью искусственных синтетических пептидов и рентгеноструктурного анализа привели к выяснению эпитопной карты β-ХГЧ, свободной β-субъединицы и продуктов ее деградации.

Установлено, что свободная β-ХГЧ имеет четыре пространственно разделенных антигенных домена [38]. Два из них локализованы в С-терминальной области β-ХГЧ и являются небольшими слабо иммуногенными областями, состоящими каждая из одного эпитопа (113-116 и 137-144 аминокислотные остатки) [39]. Третий домен также представлен одним эпитопом, локализованным вблизи от «цистинового узла» с аргинином в положении 60 в качестве главной детерминанты, и является также слабо иммуногенным. Четвертый домен демонстрирует высокую иммуногенную активность и представлен четырьмя эпитопами в области β-кор-фрагмента. Кроме того, к этому домену также относится один из двух эпитопов, специфичных только для свободной β-ХГЧ (табл. 2) [40].

Таблица 2

Распределение эпитопов на дериватах ХГЧ.

«+» – присутствие эпитопа на молекуле, «–» – отсутствие.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Эпитоп** | **ХГЧ** | **Свободная**  **β-ХГЧ** | **β-кор-**  **фрагмент** |
| β1 | + | + | + |
| β2 | + | + | + |
| β3 | + | + | + |
| β4 | + | + | + |
| β5 | + | + | + |
| β6 | - | + | + |
| β7 | - | + | + |
| β8 | + | + | - |
| β9 | + | + | - |
| β10 | - | - | + |
| β11 | - | - | + |
| β12 | - | - | + |
| β13 | - | - | + |

Из этих данных видно, что на свободной β-ХГЧ выявляются только два эпитопа (β6 и β7), антитела к которым не взаимодействуют с молекулой ХГЧ.

Коммерческие тест-системы для определения содержания свободной β-субъединицы ХГЧ в сыворотке крови

Из вышесказанного ясно, что сложность создания иммунометрической тест-системы для определения концентрации свободной β-ХГЧ связана с большим количеством метаболических форм ХГЧ, содержащихся в крови, и перекрестной реакцией антител с ними. В связи с тем, что β-ХГЧ составляет не более 3% от всех дериватов ХГЧ, для конструирования одностадийной системы необходимы высокочувствительные и специфичные только к свободной β-субъединице антитела [23]. По последним данным, охарактеризовано всего два антитела, специфически связывающиеся со свободной β-ХГЧ (табл. 2).

При обзоре коммерческих тест-систем (табл. 3), оказалось, что только в одной из них используются два антитела, специфичные к свободной β-ХГЧ, что позволило производителю (Wallac OY, Финляндия) [41] создать одностадийный вариант анализа. Все остальные компании предлагают двустадийный анализ. Можно предположить, что во всех этих системах только нижнее антитело имеет специфичность к свободной β-субъединице, а верхнее – к полной молекуле ХГЧ.

Таблица 3

Аналитические характеристики коммерческих тест-систем для определения концентрации свободной β-субъединицы ХГЧ в сыворотке крови («–» означает, что данные не найдены)

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Комания** | **Антитела** | **Метод анализа** | **Диапазон,**  **чувствительность,**  **хук-эффект (мМЕ/мл)** |
| Wallac OY, Финляндия | Оба к свободной  β-ХГЧ | Одностадийный флуороиммуно-  метрический | 0-200  0,2  2000 |
| DPC, США | Только нижнее к свободной β-ХГЧ | Двустадийный ИФА | до 80  0,04  нет |
| IBL, Германия | - | Двустадийный ИФА | до 50  0,5  нет |
| Genemed Biotechnologies, США | - | Двустадийный ИФА | 0-250  –  – |

**Список литературы**

Айламазян Э. К. Антенатальная диагностика и коррекция нарушений развития плода// Российский вестник перинаталогии и педиатрии. 1999. №3. с. 6-11.

Гинзбург Б. Г. Динамика частоты синдрома Дауна в разных регионах. //Российский вестник перинаталогии и педиатрии. 2000; №3: с.58.

Wald N. J, Cuckle H. S, Densem J. W. et al. Maternal serum screening for Downs syndrome in early pregnancy // BMJ. 1988; 297: 883-7.

Пренатальная диагностика в акушерстве: современное состояние, методы, перспективы. Методическое пособие под ред. Э.К. Айламазяна. СПб.: Изд-во Н-Л. 2002.

Merkatz I. R. , Nitowsky H. M. , Macri J. N., Johnson W. E. An Association between low maternal serum α-fetoprotein (AFP) and fetal chromosomal abnormalities.//Am. J. Obstet. Gynecol.1984; 148: 886-94.

Bogart H. M., Pandian M. R., Jones O. W. Abnormal maternal serum chorionic gonadotropin levels in pregnancies with fetal chromosome abnormalities // Prenat. Diagn. 1987; 7: 623-30.

Wald NJ, Watt HC, Hackshaw AK. Integrated screening for downs syndrome based on tests performed during the first and second trimesters. //The New Engl. J. Med. 1999. 341/7: 461-467.

Krantz D.A., Larsen J.W., Buchanan P.D., Macri J.N. First-trimester Down syndrome screening: Free β-human chorionic gonadotropin and pregnancy-associated plasma protein A // Am. J. Obstet. Gynecol. 1996; 174: 612-6.

Miller S. M., Isabel J. M. Prenatal screening tests facilitate risk assessment // MlO. 2002. 2: 8-19.

Розен В. Б. Основы эндокринологии. М.: Изд-во МГУ, 1994. с. 89.

Lapthorn A. J., Hariris D. C., Littlejohn A. et al. Crystal structure of human chorionic gonadotropin. // Nature. 1994. 369.9: 455-61.

McDonald N. Q., Lapatto R., Murray-Rust J. et al. New protein fold revealed by 2.3 A resolution crystal structure of nerve growth factor // Nature. 1991. 354: 411-14.

Schlunegger M. P., Grutter M. G. An unusual feature reveal to end by the crystal structure at 2.2 A resolution of human transforming growth factor-β2. // Nature. 1992. 358: 430-34.

Oefner C., Darey A., Winkler F. K. et al. Crystal structure of human platelet-derived growth factor B. // EMBO J. 1992. 11: 3921-26.

Elliot M., Kardana A., Lustbader J. W., Cole L. A. Carbohydrate and peptide structure of the α- and β-subunits of human chorionic gonadotropin from normal and aberrant pregnancy and choriocarcinoma.// Endocrine. 1988. 5: 2221-33.

Boorstein W. R., Vamvakopoulos N. C., Fiddes J. C. Human chorionic gonadotropin β-subunit is encoded by at least eight genes arranged in tandem, inverted pairs. // Nature. 1982. 300: 419-22.

Policastro P., Ovitt C. E., Hoshina M. et al. The β-subunit of human chorionic gonadotropin is encoded by multiple genes. // JBC. 1983. 258: 11492-99.

Boothby M., Kukowska J., Boime I. Imbalanced of human choriogonadotropin alpha, beta subunits reflects the steady state levels of the corresponding mRNAs. // JBC. 1983. 258: 9250-53.

Blithe D. L., Iles R. K. The role of glycosylation in regulating the glycoprotein hormone free alpha-subunit and free beta-subunit combination in the extraembryonic coelomic fluid of early pregnancy. // Endocrinology. 1995. 136: 903-910.

Cole L. A., Kardana A., Park S-Y., Braustein G. D. The deactivation of hCG by nicking and dissociation.// J. of clin. End. and Metab. 1993; 76(3): 704-10.

Spencer K., Macri J. N., Carpenter P. et al. Stability of intact chorionic gonaotropin in serum. Liquid whole blood and dried whole-blood filter-paper. // Clin. Chem. 1993. 39/6: 1064-68.

Cole L. A, Kardana A., Andrade-Gordon P. et al. The heterogeneity of hCG: III. The occurence, biological and immunological activities of nicked hCG. // Endocrinology. 1991. 129: 1559-67.

Cole L. A. Immunoassay of human chorionic gonadotropin, its free subunits, and metabolites. // Clin Chem. 1997; 43(12): 2233-43.

Pittaway D. E , Reiosh R. L. , Wentz A. C. Doubling times of human chorionic ginadotropin increase in early viable intrauterine pregnancies. // Am. J. Obstet. Gynecol. 1985. 152: 299-302.

Aspillaga M. O., Whittaker P. G., Taylor A., Lind T. Some new aspects of the endocrinological response to pregnancy. // Br. J. Obstet. Gynecol. 1983. 90: 596-603.

Cole L. A., Seifer D. B., Kardana A., Braunstein G. D. Selecting human chorionic gonadotropin immunoassays: consideration of cross-reacting molecules in first-trimester pregnancy serum and urine. //Am. J. Obstet. Gynecol. 1993; 168: 1580-6.

Rao C. V., Griffin L. P., Carman F. R. Gonadotorpin receptors in human corpora lutea of the menstrual cycle and pregnancy. // Am. J. Obstet. Gynecol. 128: 146-153.

Macri N., Kasturi R. V. , Krantz D. A. et al. Maternal serum Down syndrome screening: free beta-protein is a more effective marker than human chorionic gonadotropin. // Am. J. Obstet. Gynecol. 1990; 163: 1248-53.

Cuckle H. S., Iles R. K., Chard T. Urinary β-core human chorionic gonadotropin: a new approach to Downs syndrome screening. Prenat. Diagn. 1994; 14: 953-8.

Cole L. A. New perspectives in measuring human chorionic gonadotropin levels for measuring and monitoring trophoblast disease. // J. Reprod. Med. 1994; 74: 212-6.

Berkowitz R., Ozturk M., Goldstein D. et al. Human chorionic gonadotropin and free subunits serum levels in patients with partial and complete hydatidiform moles. // Obstet. Gynecol. 1989; 74: 212-6.

Leshin L. Prenatal testing for Down syndrome. At http://www.ds-health.com/prenatal.html

Кащеева Т. К., Полынцев Д. Г., Шаповалов В. В. и др. Опыт использования автоматизированной системы расчета риска патологии плода // Terra Medica. 2002; 1: 20-22.

Macri J. N., Spencer K., Aitken D. et al. First trimester free beta (hCG) screening for Down syndrome. Prenat. Diagn. 1993; 13: 557-62.

Macintosh M. C, Iles R., Teisner B. et al. Maternal serum human chorionic gonadotropin and pregnancy-associated plasma protein A, markers for fetal Down syndrome. Prenat. Diagn. 1994; 14: 203-8.

Haddow J. E., Palomaki G. E , Knight G. J. et al. Screening of maternal serum for fetal Downs syndrome in the first trimester. // The New Engl. J. of Med. 1998; 338 (14): 955-61.

Khasaeli M. B., England B. G, Dieterle R. C. et al. Development and characterisation of a monoclonal antibody which distinuishes the β-subunit of human chorionic gonadotropin in the presence of hCG. // Endocrin. 1981; 109: 1290.

Ong C. Y., Liao A. W., Spencer K. et al. First trimester maternal serum free β human chorionic gonaditropin and pregnancy associated plasma protein A as predictors of pregnancy complications. BJOG 2000; 107: 1265-70.

Dirnhofer S., Klieber R., DeLeeuw R. et al. Functional and immunological relevance of the COOH-terminal extension of human horionic gonadotropin β: implications for the WHO birth vaccine. // Faseb. J. 1993. 7, 1381-85.

Berger P., Klieber R., Panmoung W. et al. Monoclonal antibodies against the free subunits of human chorionic gonadotropin. // J. Endocrinol. 1990; 125: 301-9.

Qin Q., Christiansen M., Lovgren T. et al. Dual-label time-resolved immunofluorometric assay for simultaneous determination of pregnancy-associated plasma protein A and free β-subunit of human chorionic gonadotropin. // J. Immunol. Meth. 1997; 205: 169-175.