

# Primjena mikrosatelitskih lokusa u prenatalnoj i postnatalnoj dijagnostici aneuploidija i uniparentne disomije

Kristina Crkvenac Gornik<sup>1</sup>, Ivana Tonković Đurišević<sup>1</sup>, Morana Mikloš<sup>1</sup>,  
Sanda Huljev Frković<sup>2</sup>, Zorana Grubić<sup>3</sup>

*Najveći udio svih kromosomopatija u čovjeka čine Downov (trisomija kromosoma 21), Edwardsov (trisomija kromosoma 18) i Patauov (trisomija kromosoma 13) sindrom. Navedena činjenica uputila je na potrebu uvođenja metoda koje bi omogućile brzu dijagnostiku najčešćih numeričkih kromosomskih poremećaja, što je od osobite važnosti u prenatalnoj dijagnostici. Analiza mikrosatelitskih lokusa ili lokusa STR primjenom metode PCR-STR omogućila je brzu dijagnostiku najčešćih aneuploidija u vremenskom razdoblju od jednog do tri dana. Prednost analize lokusa STR u prenatalnoj i postnatalnoj dijagnostici očituje se i u mogućnosti utvrđivanja podrijetla kromosoma u dijagnostici uniparentne disomije. U KBC-u Zagreb brza prenatalna i postnatalna dijagnostika aneuploidija i uniparentne disomije provedena je primjenom analize mikrosatelitskih lokusa kromosoma 7, 11, 13, 14, 15, 18, 21, X i Y. Cilj rada je prikazati dijagnostičku vrijednost primijenjenih mikrosatelitskih lokusa na navedenim kromosomima. Prenatalnim pretraživanjem 2072 uzorka plodovih voda kod njih 55 (2,65%) otkrivena je promjena u broju kromosoma. Očekivano, u najvećem broju uzoraka (n=35) otkrivena je trisomija kromosoma 21. U uzorku od 54-ero ispitanika sa sumnjom na uniparentnu disomiju kod njih 13-ero nađena je uniparentna disomija kromosoma 15 (UPD15). Rezultati metode PCR-STR bili su u skladu s rezultatima metode klasične citogenetike. Zaključno možemo reći da je kombinacija mikrosatelitskih lokusa koju primjenjujemo dostatno informativna za uspješno određivanje aneuploidije kromosoma 13, 18, 21, X i Y i uniparentne disomije kromosoma 7, 11, 14 i 15.*

**Ključne riječi:** prenatalna dijagnoza; aneuploidija; uniparentna disomija; kromosomski poremećaji

## UVOD

Unapređenje molekularnih metoda za brzo i pouzdano određivanje kromosomskih i genskih abnormalnosti nužno je za napredak prenatalne dijagnostike. Metoda GTG pruganja predstavlja zlatni standard prenatalne dijagnostike kromosomskih poremećaja (1). Temelji se na citogenetskoj analizi stanica iz plodove vode (ili korionskih resica), koja se izvodi na metafaznim kromosomima, a omogućuje prepoznavanje njihove pravilne strukture na temelju rasporeda svjetlije i tamnije obojenih regija uzduž krakova kromosoma. Plodova voda sadrži stanice ploda, koje se kultiviranjem umnažaju te nakon pripreme preparata analiziraju pod mikroskopom. Budući da je broj stanica u plodovoj vodi malen, potrebno je duže vrijeme za dobivanje dovoljnog broja metafaza za ana-

lizu, stoga cijeli postupak traje 3-4 tjedna. U nekim slučajevima kulture stanica ne rastu pa je postupak nužno ponoviti. Približno 80% kromosomskih poremećaja otkriva se prenatalno, u velikom broju slučajeva riječ je o trisomijama

<sup>1</sup> Kabinet za prenatalnu dijagnostiku, Klinika za pedijatriju, KBC Zagreb, Kišpatičeva 12, 10000 Zagreb

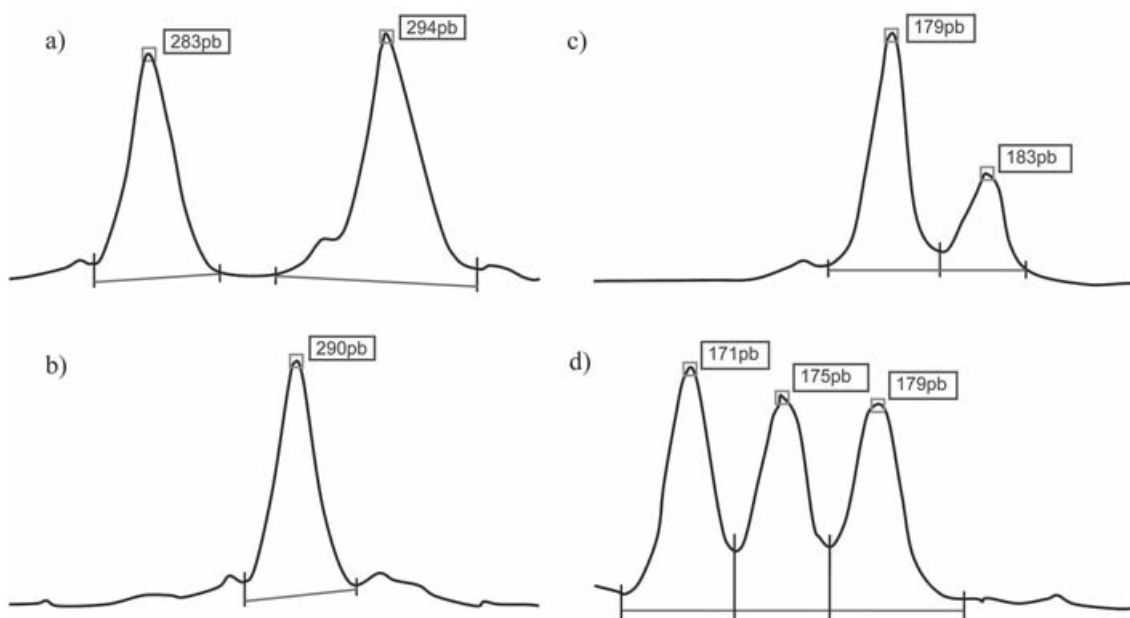
<sup>2</sup> Zavod za genetiku, Klinika za pedijatriju, KBC Zagreb, Kišpatičeva 12, 10000 Zagreb

<sup>3</sup> Klinička jedinica za tipizaciju tkiva, Klinički zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju, KBC Zagreb, Kišpatičeva 12, 10000 Zagreb

### Adresa za dopisivanje:

Dr. sc. Kristina Crkvenac Gornik, dipl. ing. biologije, Kabinet za prenatalnu dijagnostiku, Klinika za pedijatriju, KBC Zagreb, Kišpatičeva 12, 10000 Zagreb, e-mail: kcrkven@kbc-zagreb.hr

Primljeno/Received: 3. 3. 2015., Prihvaćeno/Accepted: 11. 5. 2015.



SLIKA 1. Elektroferogram razdvojenih produkata PCR-a – primjer analize jednog lokusa STR A) zdrava osoba heterozigot, B) zdrava osoba homozigot, C) trisomija – sa dva alela (omjer površina vrškova 2:1) i D) trisomija – sa tri alela (omjer površina vrškova 1:1:1)

kromosoma 13, 18, 21, X i Y, što je uputilo na potrebu uvođenja metoda koje bi omogućile prenatalnu dijagnostiku najčešćih numeričkih kromosomskih poremećaja, kao i veću brzinu dijagnostike (2). Primjena dviju metoda, fluorescentne *in situ* hibridizacije (FISH - engl. *Fluorescent in situ Hybridisation*) i umnažanja mikrosatelitskih lokusa lančanom reakcijom polimeraze (PCR-STR - engl. *Polymerase Chain Reaction - Short Tandem Repeats*) omogućila je brzu dijagnostiku najčešćih aneuploidija u jedan do tri dana (3-5). Mikrosatelitski lokusi ili lokusi STR (engl. *Short Tandem Repeats*) kratka su uzastopna ponavljanja, koja se sastoje od jednostavnih ponavljajućih sljedova nukleotida, veličine od dva do šest parova baza (pb) s ponavljanjima svakih 6 kb uzduž genoma (6). Metode FISH i PCR-STR pokazale su se kao brze i pouzdane u prenatalnoj dijagnostici najčešćih trisomija, no metoda PCR-STR ima dodatnu prednost u odnosu na FISH zbog nekoliko razloga: omogućuje obradu mnogo većeg broja uzoraka i znatno je jeftinija. Osim toga, analiza PCR-STR može se raditi s vrlo malom količinom uzorka ili čak na jednoj stanici, a kako se primjenjuje genomska DNA, za analizu nisu važne kakvoća i vijabilnost stanica te stoga uzorak plodove vode može sadržavati degradirane ili mrtve stanice. Dodatno, usporedbom alela lokusa STR roditelja i ploda može se odrediti podrijetlo prekobrojnog kromosoma, ako plod ima trisomiju određenog kromosoma. Prednost analize lokusa STR u prenatalnoj i postnatalnoj dijagnostici očituje se i u mogućnosti utvrđivanja podrijetla kromosoma u dijagnostici uniparentne disomije (UPD), kojeg nije moguće utvrditi FISH-om i metodama klasične citogenetike (7). Cilj ovog rada bio je dokazati dijagnostičku vrijednost pri-

mijenjenih mikrosatelitskih lokusa na kromosomima 13, 18, 21, X i Y kroz prikaz rezultata analize lokusa STR u Kabinetu za prenatalnu dijagnostiku Klinike za pedijatriju KBC-a Zagreb u 9-godišnjem razdoblju.

## ISPITANICI I METODE

Tijekom 9- godišnjeg razdoblja u Kabinetu za prenatalnu dijagnostiku radi prenatalnog pretraživanja numeričkih promjena kromosoma 13, 18, 21, X i Y analizirana su 2072 uzorka plodove vode trudnica. One su bile upućene na analizu zbog životne dobi (iznad 38 godina), ultrazvučno uočenih malformacija ploda ili povišenog rizika biokemijskim probirom. Analizirana su ukupno 54 uzorka krvi ispitanika sa sumnjom na uniparentnu disomiju: 30 uzoraka UPD 15, pet uzoraka UPD 14, 11 uzoraka UPD11 i 8 sa sumnjom na UPD 7. Kriterij za određivanje UPD 15 bio je negativna FISH analiza na deleciju regije 15q11-q13.

Iz 5 mL plodove vode i 200  $\mu$ L krvi ispitanika izolirana je DNA komercijalnim setom za izolaciju (Nucleospin, Macherey Nagel, Duren, Njemačka). Uzorci humane genomske DNA rabljeni su za umnažanje fragmenata točno željene veličine PCR-om te analizirani elektroforezom na 6%-tnom poliakrilamidnom gelu u automatskom sekvenceru (ALFexpress sekvencer, Pharmacia Biotech, Uppsala, Švedska) Korištena metoda je "in house" s početnicama opisanim u literaturi (8, 9). Radi očitavanja u automatskom sekvenceru sve 5' početnice obilježene su fluorescentnom bojom Cy-5 na svom 5' kraju. Određivanje dužine fragmenata DNA-a provedeno je uz pomoć računalnog programa AlleleLocator (Amersham Phar-

TABLICA 1. Lokusi STR koji se primjenjuju u Kabinetu za prenatalnu dijagnostiku KBC-a Zagreb

X	Kromosom						
	7	11	13	14	15	18	21
DXS6803	D7S519	D11S29	D13S317	D14S68	D15S11	D18S51	D21S11
DXS6810	D7S796	D11S1751	D13S634	D14S617	D15S18	D18S386	D21S211
DXS9895	D7S809	D11S1979	D13S742	D14S990	D15S127	D18S535	D21S267
GATA172D05	D7S820	D11S1981	D13S631	D14S1434	D15S131	D18S858	D21S1411
HPRTB	D7S1804	D11S1984	D13S797		D15S211		D21S1414
	D7S2846	D11S1985			D15S541		D21S1432
		D11S1986			D15S542		D21S1433
		D11S2000			D15S642		D21S1435
		D11S2362			D15S646		D21S1442
		D11S2365			D15S659		D21S1914
		TH01			D15S817		
					D15S822		
					D15S974		
					D15S1007		
					D15S1035		
					D15S1513		
					HUMFES/FPS		

macia, Uppsala, Švedska). Zdrave osobe na pojedinim lokusima STR mogu imati dva alela s međusobnim omjerom 1:1 i tada kažemo da je osoba heterozigot za taj lokus (slika 1a). Osobe koje su homozigoti za određeni lokus imaju samo jedan alel (slika 1b). Osobe s trisomijom imaju dva alela (slika 1c), od kojih jednog alela ima dvostruko više nego drugog (što nazivamo trisomijom s dva alela) ili tri različita alela (slika 1d), s omjerom veličine 1:1:1, što nazivamo trisomijom s tri alela (10). U tablici 1 navedeni su lokusi STR, koji se primjenjuju u Kabinetu za prenatalnu dijagnostiku KBC-a Zagreb.

## REZULTATI I RASPRAVA

Primjenom analize lokusa STR provedeno je prenatalno pretraživanje 2072 uzorka plodovih voda. U 55 (2,65%) uzoraka otkrivena je promjena u broju kromosoma (tablica 2). Iz tablice 2 vidljivo je da je u najvećem broju uzoraka (1,69%) otkrivena trisomija kromosoma 21. Ni u jednom uzorku nismo otkrili trisomiju kromosoma 13.

U analizu su bili uključeni i sukrvavi uzorci plodove vode (10%). Rezultati dobiveni analizama lokusa STR potvrđeni su

metodom klasične citogenetike i u potpunosti su se podudarali s dobivenim kariotipovima.

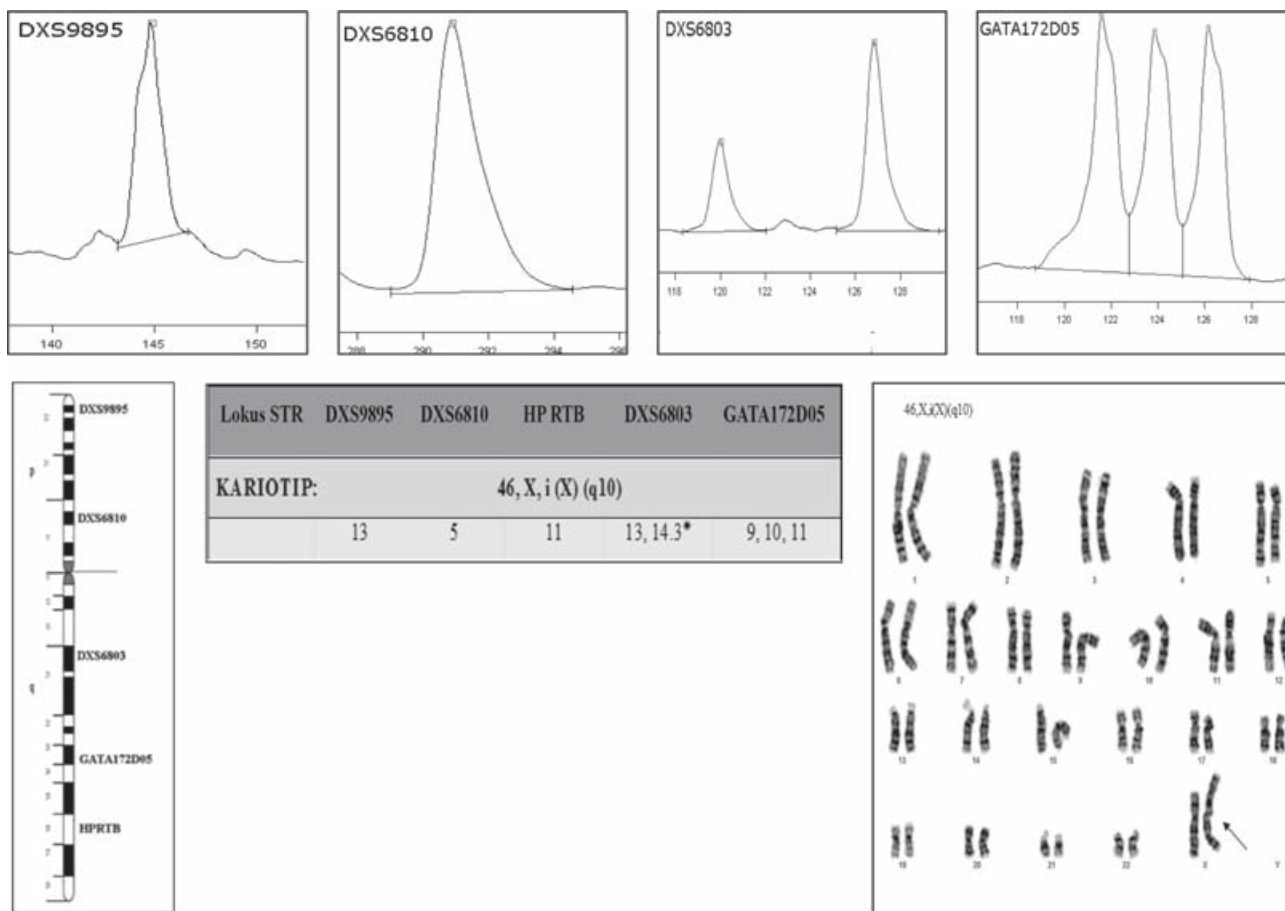
Nedostatak metode PCR-STR je nemogućnost razlikovanja stanica majke od stanica fetusa kod uzoraka plodovih voda zagađenih stanicama majke što katkad može dati lažno pozitivne rezultate. Stoga smatramo da su znanje i iskustvo biologa nužni za ispravno tumačenje takvog nalaza. Naime, nakon izolacije DNA iz uzorka plodove vode količina DNA ploda mnogo je veća nego ona izolirana iz majčinih stanica. Tada je potrebna usporedba lokusa STR ploda i majke. Rezultat reakcije PCR bit će mnogo veća količina umnoženog alela lokusa STR ploda u odnosu na količinu umnoženog alela lokusa STR majke. Analiza zagađenog uzorka u uređaju za automatsko očitavanje rezultata uputit će na postojanje dva ili tri alela čiji međusobni omjer neće biti u granicama normale, a isto tako će se razlikovati i od omjera (1:1:1 ili 2:1) karakterističnog za trisomiju kromosoma.

Najmanje dva lokusa STR moraju biti informativna za pojedini kromosom. U našem laboratoriju određivanje aneuploidija provodi se analizom mikrosatelitskih lokusa, koji su se u hrvatskoj populaciji pokazali kao najinformativniji (11, 12). Stoga su po tri takva lokusa STR smještena na kromosomima 13, 18 i 21, pet lokusa na kromosomu X i jedan za određivanje spola primijenjena za dijagnostiku aneuploidija. Ako analizirani lokusi za određeni uzorak nisu bili informativni, analizirani su dodatni STR lokusi.

Ograničenja metode PCR-STR su nemogućnost otkrivanja većine strukturnih poremećaja kod ciljanih kromosoma kao i abnormalnosti kromosoma koji nisu obuhvaćeni analizom. Isto tako nije moguće određivanje niske razine mozaicizma. Primjenom ove metode moguće je odrediti mozaik aneuploidije ako je prisutna u najmanje 25% stanica. Postavljanje

TABLICA 2. Prikaz rezultata analize lokusa STR na uzorcima plodove vode (N=2072)

Kromosomski poremećaj	Broj
Trisomija 21	35
Trisomija 18	6
Trisomija 13	0
Mozaik trisomije 18	1
Sindrom trostrukog kromosoma X	4
Sindrom Klinefelter	3
46,X,i(X)(q10)	1
Triploidija	5
<b>Ukupno</b>	<b>55</b>



Legenda: \*- alel s dvostruko jačim signalom u odnosu na drugi alel što ukazuje na dvostruku dozu tog alela

SLIKA 2. Analiza lokusa DXS9895, DXS6810, HPRTB, DXS6803 i GATA172D05 u uzorku osobe s i(X)

sumnje na strukturnu promjenu kromosoma moguće je ako se umnaža veliki broj lokusa STR smještenih cijelom dužinom kromosoma. Zbog navedenih ograničenja metode pouzdanost se postiže kombiniranjem dviju različitih metoda, odnosno kombiniranjem kariotipizacije s metodom PCR-STR ili FISH (4).

U dijagnostici spolnih kromosoma metoda PCR-STR primjenjuje se za određivanje spola te kao dijagnostički test za otkrivanje numeričkih promjena spolnih kromosoma (11, 12). Primjer složene analize spolnog kromosoma bio je uzorak kod kojeg je analiza lokusa STR smještenih na kromosomu X uputila na monosomiju kratkoga kraka i trisomiju dugoga kraka kromosoma X (46,X,i(X)(q10)) (Slika 2). Na lokusima DXS9895 i DXS6810, koji su smješteni na kratkom kraku kromosoma X, uočen je jedan alel, što je kod ispitanika odgovaralo nalazu X p monosomije. Od preostalih triju lokusa koji se nalaze na dugom kraku kromosoma X, informativni su bili lokusi DXS6803 (utvrđena dvostruka doza jednog alela u odnosu na drugi) i GATA172D05 (uočena tri različita alela). Metodom klasične citogenetike utvrđeno je da je riječ o strukturnoj promjeni kromosoma X – izokromo-

som X (i(X)). Važno je istaknuti da u slučaju sumnje na prisutnost strukturnih promjena kromosoma X, koje za rezultat imaju duplikaciju i/ili deleciju, u analizu PCR-STR nužno je uključiti više lokusa raspoređenih duž cijelog kromosoma X.

Određivanje spola bitno je za prenatalnu dijagnostiku, posebno u obiteljima u kojima postoje spolno vezane bolesti ili je poznato da je majka prenositeljica mutiranoga gena na kromosomu X. Primjena metode PCR-STR kao dijagnostičkog testa za otkrivanje numeričkih promjena spolnih kro-

TABLICA 3. Prikaz rezultata utvrđivanja podrijetla kromosoma u dijagnostici uniparentne disomije primjenom lokusa STR (N=54)

Uniparentna disomija	Rezultat	Broj
UPD 15 (N=30)	Prader Willi sindrom	12
	Angelman sindrom	1
	Normalan nalaz	17
UPD 14 (N=5)	Uniparentna disomija	0
	Normalan nalaz	5
UPD 11 (N=11)	Uniparentna disomija	0
	Normalan nalaz	11
UPD 7 (N=8)	Uniparentna disomija	0
	Normalan nalaz	8

mosoma trenutno je ograničena, jer na kromosomu X ne postoji mnogo polimorfnih genskih biljega koji imaju visoku heterozigotnost. Istraživanje stupnja heterozigotnosti mikrosatelita ima važnu ulogu u dobivanju uvida u njihovu informativnost i primjenjivost u prenatalnoj dijagnostici (13). U Kabinetu za prenatalnu dijagnostiku za otkrivanje numeričkih promjena spolnih kromosoma primjenjuje se set od pet mikrosatelitskih lokusa smještenih duž kromosoma X (DXS9895 i DXS6810 na p kraku kromosoma X, a HPRTB, DXS6803 i GATA172D05 na q kraku kromosoma X). Prema dobivenim rezultatima može se zaključiti da je kombinacija od pet mikrosatelitskih lokusa analiziranih u ovom radu dostatno informativna, odnosno njihovom primjenom uspješno su određene promjene u broju kromosoma X.

Na temelju naših rezultata pokazala se potreba provođenja sljedećeg postupka radi prenatalnog otkrivanja uzoraka s promjenom broja kromosoma X. Prvi korak u takvim analizama trebao bi biti određivanje djetetovog spola, primjerice metodom PCR, pri čemu se umnaža nopolimorfni mikrosatelit AMXY. Navedeni mikrosatelit ima samo dva alela različite duljine – alel duljine 106 pb nalazi se na kromosomu X, a alel duljine 112 pb na kromosomu Y. U sljedećem koraku nužno je analizirati barem dva visokopolimorfna lokusa STR, po mogućnosti raspoređena na različitim krajevima kromosoma X (primjerice lokus DXS9895 i lokus DXS6803). U slučaju da je riječ o muškom djetetu, a umnažanjem navedenih lokusa se dobiju dva različita alela za testirane lokuse STR, može se zaključiti da je riječ o Klinefelterovom sindromu. U slučaju ženskog djeteta prisutnost triju različitih alela u približnom omjeru 1:1:1 ili dvostruke doze jednog alela u odnosu na drugi upućuje na sindrom trostrukog kromosoma X. Analiza minimalno pet lokusa STR na kromosomu X također je potrebna za uspješno određivanje Turnerovog sindroma, jer je vrlo mala vjerojatnost da žensko dijete bude homozigot za svih pet analiziranih lokusa STR. Stoga prisutnost samo jednog alela na svakom od testiranih lokusa upućuje na monosomiju kromosoma X.

Prednost analize lokusa STR u prenatalnoj i postnatalnoj dijagnostici očituje se i u mogućnosti utvrđivanja podrijetla kromosoma u dijagnostici uniparentne disomije, koje nije moguće utvrditi metodom klasične citogenetike. U uzorku od 54-ero ispitanika sa sumnjom na uniparentnu disomiju kod njih 13-ero nađena je uniparentna disomija kromosoma 15 (UPD15), od kojih je 12-ero ispitanika naslijedilo oba kromosoma 15 od majke (Prader-Willijev sindrom), dok je jedan ispitanik naslijedio oba kromosoma 15 od oca (Angelmanov sindrom) (tablica 3). Uputna dijagnoza pacijenata analiziranih na UPD 7,11, 14 i 15 bila je njihov klinički fenotip, za UPD 7 sumnja na Russell-Silverov sindrom (RSS), UPD 11 sumnja na Beckwith Wiedemannov sindrom (BWS) te kod UPD 15 na Prader-Willijev (PW) ili Angelmanov sindrom

(AS). UPD14 analizirana je kod pacijenata upućenih na obradu zbog niskog rasta i preuranjenog puberteta te kliničkog fenotipa sličnog PWS-u. Negativni rezultati analize UPD 7 i 11 u skladu su s genetičkom heterogenošću RSS-a i BWS-a. Naime, samo kod 7-10% osoba s kliničkom slikom RSS-a prisutna je majčina uniparentna disomija kromosoma 7, dok je očeva uniparentna disomija kromosoma 11 (kromosomska regija 11p15) uzrok BWS-a kod 10-20% pacijenata (14, 15).

Na temelju dobivenih rezultata možemo zaključiti da je analiza lokusa STR brza, jednostavna i pouzdana metoda koja nam omogućuje brzo otkrivanje aneuploidija i uniparentne disomije, što je od osobite važnosti u prenatalnoj dijagnostici.

#### **Kratice:**

GTG pruganje – G pruganje kromosoma primjenom tripsina i gimze

FISH – fluorescentna *in situ* hibridizacija

PCR-STR – umnažanje mikrosatelitskih lokusa lančanom reakcijom polimeraze

STR – kratka uzastopna ponavljanja ili mikrosatelitski lokusi

UPD – uniparentna disomija

#### **NOVČANA POTPORA/FUNDING**

Nema/None

#### **ETIČKO ODOBRENJE/ETHICAL APPROVAL**

Nije potrebno/None

#### **DOPRINOSI AUTORA/DECLARATION OF AUTHORSHIP**

Svi autori jednako su doprinijeli izradi rada/All authors have equally contributed to a manuscript writing

#### **SUKOB INTERESA/CONFLICT OF INTEREST**

Autori su popunili the *Unified Competing Interest form* na [www.icmje.org/coi\\_disclosure.pdf](http://www.icmje.org/coi_disclosure.pdf) (dostupno na zahtjev) obrazac i izjavljuju: nemaju potporu niti jedne organizacije za objavljeni rad; nemaju financijsku potporu niti jedne organizacije koja bi mogla imati interes za objavu ovog rada u posljednje 3 godine; nemaju drugih veza ili aktivnosti koje bi mogle utjecati na objavljeni rad./All authors have completed the *Unified Competing Interest form* at [www.icmje.org/coi\\_disclosure.pdf](http://www.icmje.org/coi_disclosure.pdf) (available on request from the corresponding author) and declare: no support from any organization for the submitted work; no financial relationships with any organizations that might have an interest in the submitted work in the previous 3 years; no other relationships or activities that could appear to have influenced the submitted work.

#### **LITERATURA**

1. Nicolini U, Lalatta F, Natacci F, Curcio C, Bui H. The introduction of QF-PCR in prenatal diagnosis of fetal aneuploidies: time for reconsideration. *Hum Reprod Update*. 2004;10:541–8. doi:10.1093/humupd/dmh046
2. Leung WC, Lau ET, Lau WL, et al. Working group on prenatal diagnosis and counselling, hospital authority: rapid aneuploidy testing (knowing less) versus traditional karyotyping (knowing more) for advanced maternal age: what would be missed, who should decide? *Hong Kong Med J*. 2008;14:6–13.
3. Witters I, Devriendt K, Legius E, et al. Rapid prenatal diagnosis of trisomy 21 in 5049 consecutive uncultured amniotic fluid samples by fluorescence *in situ* hybridisation (FISH). *Prenat Diagn*. 2002;22:29–33. doi: 10.1002/pd.225

4. Caine A, Maltby AE, Parkin CA, Waters JJ, Crolla JA. Prenatal detection of Down's syndrome by rapid aneuploidy testing for chromosomes 13, 18, and 21 by FISH or PCR without a full karyotype: a cytogenetic risk assessment. *Lancet* 2005;366:123-8. doi: 10.1016/S0140-6736(05)66790-6
5. Tsujie T, Takemura M, Kimura T, et al. Rapid detection of trisomy 21 by gene dosage analysis using quantitative real-time polymerase chain reaction. *J Obstet Gynaecol Res.* 2006;32:368-72. doi: 10.1111/j.1447-0756.2006.00428.x
6. Goldstein DB, Schlotterer C. *Microsatellites: Evolution and Applications.* 1<sup>st</sup> ed. New York: Oxford University; 1999.
7. Castro Varela M, Fridman C, Priszkulnik Koiffmann C. Diagnosis of patients with Prader-Willi and Angelman syndromes: the importance of an overall investigation. *Genet Mol Biol.* 2002;25:7-12. doi.org/10.1590/S1415-47572002000100003
8. Adinolfi M, Pertl B, Sherlock J. Rapid detection of aneuploidies by microsatellite and the quantitative fluorescent polymerase chain reaction. *Prenat Diagn.* 1997;17:1299-311. doi: 10.1002/(SICI)1097-0223(199712)17:13<1299::AID-PD297>3.0.CO;2-H
9. Crkvenac Gornik K, Grubić Z, Štingl K, Tonković Đurišević I, Begović D. Application of microsatellite loci on the chromosome X for rapid prenatal detection of the chromosome X numerical abnormalities. *Croat Med J.* 2011;52:392-5. doi: 10.3325/cmj.2011.52.392
10. Crkvenac-Gornik K, Grubić Z, Štingl K, Mužinić D, Brkljačić-Kerhin V, Begović D. Rapid prenatal diagnosis of numerical aberrations of chromosome 21 and 18 by PCR-STR method. *Coll Antropol.* 2007;31:859-62.
11. Xie X, Liang Q. Establishment of a 10-Plex quantitative fluorescent-PCR assay for rapid diagnosis of sex chromosome aneuploidies. *PLoS ONE* 2014; 9: e106307. doi:10.1371/journal.pone.0106307
12. Plaseski T, Noveski P, Trivodalieva S, Efreimov GD, Plaseska-Karanfilska D. Quantitative fluorescent-PCR detection of sex chromosome aneuploidies and AZF deletions/duplications. *Genet Test.* 2008;12:595-605. doi:10.1089/gte.2008.0068
13. Quaife R, Wong LF, Tan SY, et al. QF-PCR-based prenatal detection of aneuploidy in a southeast Asian population. *Prenat Diagn.* 2004;24:407-13. doi: 10.1002/pd.826
14. Kim Y, Kim SS, Kim G, Park S, Park IS, Yoo HW. Detection of maternal uniparental disomy at the two imprinted genes on chromosome 7, GRB10 and PEG1/MEST, in a Silver-Russell syndrome patient using methylation-specific PCR assays. *Clin Genet.* 2005;67:267-9. doi: 10.1111/j.1399-0004.2004.00387.x
15. Cooper WN, Luharia A, Evans GA, et al. Molecular subtypes and phenotypic expression of Beckwith-Wiedemann syndrome. *Eur J Hum Genet.* 2005;13:1025-32. doi:10.1038/sj.ejhg.5201463

## SUMMARY

## Use of microsatellite loci in prenatal and postnatal diagnosis of aneuploidy and uniparental disomy

K. Crkvenac Gornik, I. Tonković Đurišević, M. Mikloš, S. Huljev Frković, Z. Grubić

*The largest proportion of all chromosomal anomalies in humans are syndromes Down (trisomy of chromosome 21), Edwards (trisomy of chromosome 18) and Patau (trisomy of chromosome 13). This fact has revealed the need to introduce methods that would allow rapid diagnosis of the most common numerical chromosomal abnormalities, which is of special importance in prenatal diagnosis. Analysis of the microsatellite or STR locus with the PCR-STR method has given us the possibility of fast diagnosis of the most frequent aneuploidies within one to three days. The advantage of the analysis of STR loci in prenatal and postnatal diagnosis lies in the ability to determine the origin of chromosomes in the diagnosis of uniparental disomy. At the Zagreb University Hospital Centre, rapid prenatal and postnatal diagnosis of aneuploidy and uniparental disomy was performed using analysis of the microsatellite loci of chromosomes 7, 11, 13, 14, 15, 18, 21, X and Y. The purpose of the work was to show diagnostic value of the microsatellite loci on the above listed chromosomes. On prenatal screening of 2072 amniotic fluid samples, 55 (2.65%) showed change in the number of chromosomes. As expected, the largest number of samples (n=35) showed trisomy of chromosome 21. Uniparental disomy of chromosome 15 (UPD15) was demonstrated in 13 of 54 subjects with suspicion of uniparental disomy. The results of the PCR-STR method were in accordance with the results of conventional cytogenetics. In conclusion, the combination of STR loci that we use is considered good enough to determine aneuploidy of chromosomes 13, 18, 21, X and Y, and uniparental disomy of chromosomes 7, 11, 14 and 15.*

**Keywords:** prenatal diagnosis; aneuploidy; uniparental disomy; chromosome aberrations