

## Quantitatív fluoreszcens polimeráz láncreakcióval kimutatható magzati chromosoma-rendellenességek

**BÁN ZOLTÁN DR., NAGY BÁLINT DR., PAPP CSABA DR.,  
OROSZNÉ NAGY JUDIT, LÁZÁR LEVENTE DR.,  
NAGY GYULA RICHÁRD DR., PAPP ZOLTÁN DR.**

*Semmelweis Egyetem Általános Orvostudományi Kar, I. sz. Szülészeti és Nőgyógyászati  
Klinika (igazgató: Papp Zoltán Dr. egyetemi tanár) közleménye*

**Összefoglalás:** Bevezetés: A magzati chromosoma-rendellenességek kimutatásának megbízható módszere a cytogenetikai vizsgálat, azonban idő- és munkaigényes, valamint érzékeny a környezeti hatásokra. A magzati chromosoma-vizsgálatok iránti fokozódó igény nagy megterhelést ró a cytogenetikai laboratóriumokra, ez igényt teremt egy gyors, automatizálható, költséghatékony módszer iránt. A quantitatív fluoreszcens-PCR (QF-PCR) módszer megfelel e feltételeknek, hátránya azonban, hogy alkalmazása során csak a célzottan vizsgált chromosomák számbeli rendellenességei mutathatók ki. Célkitűzés: Vizsgálatunk célja a QF-PCR módszer megbízhatóságának vizsgálata a gyakori magzati chromosoma-rendellenességek kimutatásában, valamint azon indikációs terület meghatározása volt, amely esetén a QF-PCR vizsgálat biztonságosan alkalmazható a hagyományos cytogenetikai vizsgálat helyett. Anyag és módszer: 4875 magzatvízmintán végeztünk QF-PCR módszerrel vizsgálatot a 21-es, 18-as, 13-as és a nemi chromosomák számbeli rendellenességeinek kimutatására. Eredményeinket összevetettük a párhuzamosan elvégzett cytogenetikai vizsgálatok eredményeivel. Feldolgoztuk az invazív beavatkozások indikációit és elemeztük összefüggéseit a chromosoma-vizsgálatok eredményeivel. Eredmények: A QF-PCR vizsgálatok 98,3%-a volt informatív. A 21-es, 18-as, 13-as chromosomák aneuploidiainak vizsgálata során álpozitív és álnegatív eset nem fordult elő. Valamennyi alkalmazott STR marker heterozigotáságának aránya a vizsgált populációban 80% felettinek bizonyult. A magzatvízminták vizsgálata során 15%-ban fordultak elő olyan klinikailag jelentős chromosoma-rendellenességek, amelyek kimutatására a QF-PCR módszer nem alkalmas. A QF-PCR vizsgálattal nem kimutatható kóros esetek háttérében gyakorlatilag minden esetben ultrahangvizsgálat során észlelt strukturális eltérés állt. Megbeszélés: Megállapítjuk, hogy a QF-PCR vizsgálat a felhasznált markerekkel megbízhatóan alkalmazható a 21-es, 18-as, 13-as és a nemi chromosomák aneuploidiainak kimutatására. A 35 év feletti anyai életkor, az anyai szérum marker szűrés pozitív eredménye és a családban előforduló 21-es, 18-as vagy 13-as trisomia miatt végzett magzati vizsgálat során a QF-PCR módszer önállóan is megbízhatóan alkalmazható, azonban az ultrahangvizsgálattal észlelt strukturális eltérés esetén alkalmazása fokozott körültekintést igényel. Kiegészítő vizsgálatok chromosoma-transzlokációt hordozó szülők esetén cytogenetikai vizsgálat javasolt.

*Kulcsszavak:* QF-PCR, magzati diagnosztika, aneuploidia, cytogenetikai vizsgálat

A prenatalis diagnosztika egyik legfontosabb területe a magzati chromosoma-rendellenességek szűrése és diagnosztikája. Becslések szerint 13 megfogant embryóból egy chromosoma-rendellenességet hordoz [1], amelyek intrauterin szelekciójának következtében az újszülöttek 0,65%-ában fordul elő klinikailag jelentős chromosomarendellenesség [2]. Az első magzati karyotypizálást 1966-ban végezték [3], és az elmúlt évtizedekben a magzatvízből, valamint a chorionboholymintából végzett cytogenetikai vizsgálat a magzati genetikai diagnosztika alapvető módszerévé vált [4]. A cytogenetikai vizsgálat valamennyi chromosoma számbeli, valamint a mikroszkópikus szinten észlelhető szerkezetbeli eltérésének kimutatására alkalmas. A módszer igen megbízható, azonban költséges és igen munkaigényes, valamint a sejtenyésztes szükségessége miatt a minták kiértékelése mintegy két hetet igényel [5, 6, 7]. Az utóbbi években/évtizedben a fejlett országokban a gyermekvállalás későbbi életkorra történő tolodása, valamint a magzati szűrővizsgálatok (anyai szérumerker és ultrahang) elterjedése miatt megnőtt az igény a magzati cytogenetikai vizsgálatok iránt [6]. Nagy-Britanniában a terhességek mintegy 4%-ában történik invazív mintavétel [7], Olaszországban 2002-ben mintegy 117000 magzati karyotypizálást végeztek, amely az összes terhesség mintegy 20%-ának felel meg. Ez a 2000-es évhez viszonyítva majdnem 30%-os növekedést jelent [8]. A vizsgálatok számának ilyen nagymértékű növekedése túlterheli a cytogenetikai laboratóriumokat, ezért felmerült az igény olyan módszerek iránt, amelyek a karyotypizálást helyettesíthetik. Az 1990-es évek elején jelentek meg molekuláris genetikai vizsgálómódszerek, amelyek lehetővé teszik bizonyos chromosoma-rendellenességek kimutatását. A magzati diagnosztikában a fluoreszcens in situ hybridisatio (FISH) [9] és a kvantitatív fluoreszcens polymeráz láncreakció (QF-PCR) terjedt el [10,11,12], amelyek előnyei és hátrányai a karyotypizálással szemben lényegében hasonlóak. A QF-PCR módszer a FISH módszernél előnyösebb, ugyanis még gyorsabb, automatizálható, és észlelhető általa az anyai vérrel történt kontamináció, amely a FISH vizsgálatnál téves diagnózishoz vezethet [9]. A QF-PCR módszer és a karyotypizálás összehasonlítását az I. táblázat szemlélteti.

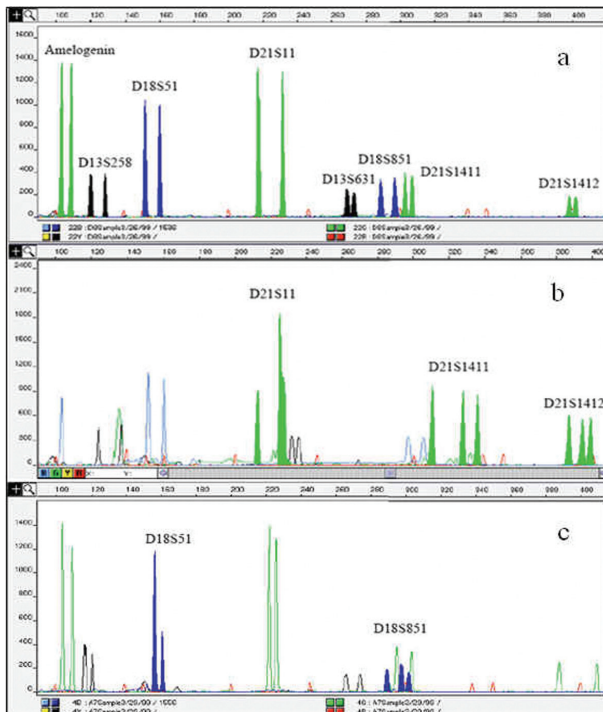
A magzatvízmintákon végzett cytogenetikai vizsgálat, valamint az QF-PCR vizsgálat előnyeinek és hátrányainak összehasonlítása

	Cytogenetikai vizsgálat	QF-PCR
Előny	Komplex információt ad	Eredmény a mintavétel napján lehetséges Nem igényel élő sejteket Minimális mennyiségű mintát igényel (~1 ml) Automatizálható
Hátrány	Eredmény két héttel a mintavétel után Élő, tenyészhető sejteket igényel Nagy mennyiségű mintát igényel (~ 10 ml)	Csak a vizsgált chromosomák számbeli eltéréséről szolgál információval

A QF-PCR vizsgálat során rutinszerűen (a FISH vizsgálatához hasonlóan) a 21-es, 18-as és a 13-as, valamint a nemi chromosomák vizsgálata történik [8]. A vizsgálat alapja a chromosomákon elhelyezkedő STR (small tandem repeat) markerek PCR amplifikációja fluoreszcens jelöléssel ellátott primerekkel [13]. Az STR markerek négy nukleotid ismétlődő egységeiből állnak, amelyekben az ismétlődések száma igen változatos. Az STR markerek polymorphismusa miatt a legtöbb egyén az adott STR markerre nézve heterozygota, azaz a homológ chromosomák száma a keletkezett PCR termékek számából, illetve mennyiségéből meghatározható. Az I. ábra az euploid, valamint a trisomiás minták jellegzetes QF-PCR képét szemlélteti.

Előnyös tulajdonságai miatt a QF-PCR alkalmazása a hagyományos cytogenetikai vizsgálat kiegészítéseként egyre szélesebb körben elterjed [7,14]. A karyotypizálással párhuzamosan végzett QF-PCR vizsgálat a következő előnyökkel rendelkezik:

- Alkalmas arra, hogy a gyors eredmény a vizsgálat okozta szülői aggodalmat csökkentse.
- A sejtenyésztes és ezáltal a cytogenetikai vizsgálat sikertelensége esetén elkerülhető az invazív vizsgálat megismétlése
- A cytogenetikai vizsgálat kontrolljául szolgálhat



1. ábra: Normál és trisomiás minták QF-PCR vizsgálata. Felül (a) egy 46,XY karyotipusú fiúmagzat vizsgálati eredménye látható. Valamennyi vizsgált STR marker esetén a homológ csúcsok alatti területek aránya 1:1. Az amelogenin gén vizsgálatával mind az X, mind az Y chromosoma kimutatható. Középen (b) egy 47,XX,+21 karyotipusú leánymagzat vizsgálati eredménye látható. Az első 21-es STR marker diallélikus (1:2), a másik két STR marker triallélikus mintázatot (1:1:1) mutat, azaz három csúcs ábrázolódot. Az amelogenin gén vizsgálatával csak az X chromosoma mutatható ki. Alul (c) egy 47,XY,+18 karyotipusú fiúmagzat vizsgálati eredménye látható. Az első STR marker esetén diallélikus mintázat, azaz két csúcs látható, amelyek területi aránya 2:1, a második marker triallélikus mintázatot (1:1:1) mutat

A QF-PCR vizsgálat önálló szerephez is juthat a következő esetekben:

- gyorsasága miatt alkalmazható olyan esetekben, amikor a magzatvízvizsgálatra megkésve (22. terhességi hét után) jelentkező terheseknél a hagyományos cytogenetikai vizsgálat elvégzésére nincsen idő, ezáltal elkerülhető a kockázatos chordocentesis
- nem igényel élő sejteket, ezért post-mortem (fetopathológiai), illetve fagyasztott minták vizsgálatára is alkalmas

A QF-PCR módszerrel nyert tapasztalatok növekedésével az elmúlt években merült fel a kérdés, hogy a QF-PCR módszer alkalmazható-e önállóan a rutin magzati vizsgálatok során, tehát alkalmas-e a magzati cytogenetikai vizsgálat helyettesítésére [8,15]. A szakirodalomban

talált vélemények ellentmondásosak e kérdésben, ezért feldolgoztuk az elmúlt öt év során szerzett tapasztalatainkat a QF-PCR vizsgálat alkalmazásával kapcsolatban.

Jelen vizsgálatunk célja a QF-PCR módszer megbízhatóságának vizsgálata a gyakori chromosoma-rendellenességek magzatvízsejtekből történő kimutatásában, valamint azon indikációs területek meghatározása volt, amelyben a magzatvíz minták QF-PCR vizsgálata biztonságosan alkalmazható a cytogenetikai vizsgálat helyett.

## Anyag és módszer

A Semmelweis Egyetem I. sz. Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika Genetikai Tanácsadásán 1999 januártól 2004 júliusig 4850 terhesnél végzett 4875 amniocentesis során nyert magzatvíz mintán (25 ikerterhesség) végeztünk cytogenetikai vizsgálatot és QF-PCR vizsgálatot. A terhesek átlagéletkora az amniocentesis időpontjában  $36,1 \pm 2,5$  év, az átlagos terhességi kor  $18,2 \pm 2,7$  hét volt. A terhesek a beavatkozás és a vizsgálat előtti részletes tájékoztatást követően a beavatkozásra vonatkozó „Kérelem és beleegyező nyilatkozat”-ot írtak alá.

### Karyotipizálás

A magzatvízsejtek tenyésztése 10 ml magzatvíz mintából in situ módszerrel történt. G-sávozást követően a kiértékelést Leica DMLB mikroszkóppal (Leica Imaging AG, Wetzlar, Germany) segítségével végeztük.

### QF-PCR

A DNS izolálás 1 ml magzatvíz mintából Ready-Amp® Genomic DNA Purification System (Promega, Madison, WI, USA) felhasználásával történt. A PCR két-két csőben történt, amely során az előzőleg már ismerttetett, a nemi chromosomák, valamint a 21-es, 18-as és 13-as trisomia kimutatására alkalmazott kvantitatív multiplex fluoreszcens-PCR módszerrel végeztük [16,17,18], A nemmeghatározást az amelogenin gén kimutatásával végeztük és a IV. táblázatban felsorolt STR markereket [21] vizsgáltuk. A reakcióelegy összetétele a következő volt: 2,5 µl izolált DNS, 200 µM minden egyes dNTP-ből, 5 pmol minden egyes primerből, 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>, és 0,6 U AmpliTaq Gold (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). A PCR során a kezdeti 10 perces 95°C-on történő denaturálás után 32 ciklusban denaturációs (95°C; 30 sec), annealing (56°C; 45 sec) és extenziós lépések (72°C; 60 sec) következtek, majd 30 percig 60°-on, végül 4°C-on inkubáltuk az elegyet. A termékek kapilláris gél electrophoresisét ABI 310 Genetic Analyzer-en (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) végeztük, a termékek vizsgálata GeneScan 2.0 Analysis Software (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) felhasználásával történt, amely lehetővé teszi a PCR termékek méretének pontos meghatározását és mennyiségének összehasonlítását.

## Eredmények

A QF-PCR módszer alkalmazása során 4791 magzatvízmintán (98,3%) bizonyultak a vizsgált STR markerek valamennyi vizsgált chromosoma esetén informatívnak. Az alkalmazott STR markerek heterozygotasága az általunk vizsgált populációban valamennyi STR marker esetében 80% felettinak bizonyult. A vizsgált STR markerek jellemzőit a *II. táblázat* foglalja össze.

A QF-PCR vizsgálatok eredményeit a cytogenetikai vizsgálatok eredményeivel összehasonlítva álpozitív eredményt nem figyeltünk meg, amennyiben diallélikus minták esetén a csúcsok területének arányainál a „cut-off” értéket 1,7-nek vettük. A vizsgált STR markerek 84 magzatvízminta (1,7%) esetében homozygota formában voltak jelen valamelyik vizsgált chromosomán, tehát az adott chromosomára vonatkozóan nem informatív eredményt adtak. A nem informatív eredmények előfordulása az adott chromosoma valamennyi markere esetén a 21-es chromosomán 0,3%, a 18-as chromosomán 0,6%, a 13-as chromosomán 0,8% volt. A cytogenetikai vizsgálat során ezen minták egyike sem bizonyult az adott chromosomára nézve rendellenesnek. Anyai vérrel történő kontamináció miatt 17 minta kiértékelhetősége volt korlátozott. Az eredménytelen QF-PCR és a cytogenetikai vizsgálatokat a *III. táblázat* foglalja össze.

### II. táblázat

#### Az STR markerek jellemzői a magyar populációban

Marker	Termékek mérete (bp)	A csúcsok területeinek arányai normál mintákban ( $\pm$ SD)	A csúcsok területeinek arányai diallélikus trisomiás mintákban ( $\pm$ SD)	Heterozygotaság
D21S11	208-286	1,114 $\pm$ 0,122	1,922 $\pm$ 0,191	86%
D21S1411	273-328	1,132 $\pm$ 0,151	1,961 $\pm$ 0,211	87%
D21S1412	368-429	1,146 $\pm$ 0,161	1,895 $\pm$ 0,182	83%
D18S51	120-169	1,125 $\pm$ 0,132	1,974 $\pm$ 0,213	88%
D18S851	270-326	1,163 $\pm$ 0,150	1,923 $\pm$ 0,202	81%
D13S258	116-140	1,122 $\pm$ 0,149	1,974 $\pm$ 0,153	86%
D13S631	220-292	1,164 $\pm$ 0,157	1,913 $\pm$ 0,125	87%

4875 magzatvízminta feldolgozása során a cytogenetikai vizsgálat során 198, QF-PCR vizsgálatnál 153 chromosoma-rendellenességet mutattunk ki. A nem-mozaik 21-es, 18-as és 13-as trisomia kimutatásában a cytogenetikai és QF-PCR vizsgálatok eredményei megegyeztek, tehát a QF-PCR vizsgálat 100%-os szenzitivitást és specificitást mutatott. A QF-PCR vizsgálat során alacsony fokú (10-20%) mozaik trisomia és a markerek diallélikus mintázata esetén a csúcsok aránya a határértéken volt, amelyet három esetben figyeltünk meg. A cytogenetikai vizsgálat 46 esetben mutatott ki olyan chromosoma-eltérést, amely kimutatására a QF-PCR módszer a vizsgált markerekkel nem alkalmas. A QF-PCR vizsgálatnál nem kimutatható chromosoma-eltérések közül a kiegyensúlyozott transzlokációk esetében a fenotípusban nem várható eltérés. A 47,XXX karyotypus szintén enyhe fenotípus eltérésekkel jár így a QF-PCR vizsgálatnál fel nem ismert, klinikailag jelentős chromosoma-rendellenességek száma 27. A 27 rendellenes karyotypus között 10 esetben szerepel 45,X, 6 esetben egyéb aneuploidia, 3 esetben alacsony fokú mozaik trisomia és 8 kiegyensúlyozatlan transzlokáció. A kimutatott rendellenességeket és a két módszer eredményeit a *IV. táblázat* hasonlítja össze.

A magzatvíz-mintavétel indikációjának és a QF-PCR vizsgálatnál kimutatható és nem kimutatható chromosoma-rendellenességek előfordulásának összefüggéseit az *V. táblázat* foglalja össze.

### III. táblázat

#### A cytogenetikai vizsgálatok és a QF-PCR vizsgálatok sikertelenségeinek előfordulása magzatvízminták esetén

	Cytogenetikai vizsgálat (n=4875)	QF-PCR (n=4875)
Nem informatív	–	84 (1,72%)
Technikai hiba	75 sikertelen sejtenyészítés	17 anyai vérrel kontaminált
	14 anyai vérrel erősen kontaminált	(0,35%)
Összesen	89 (1,83%)	101 (2,07%)

#### IV. táblázat

A magzatvízmintákon végzett cytogenetikai és QF-PCR vizsgálatok eredményeinek összehasonlítása

	Cytogenetikai vizsgálat	QF-PCR	A QF-PCR hatékonysága
21-es trisomia	92	92	100%
18-as trisomia	26	26	100%
13-as trisomia	12	12	100%
Triploidia	3	3	100%
47,XXY	9	9	100%
47,XYY	6	6	100%
Mozaik (21-es és 18-as trisomia)	8	5	62,5%
45,X	10	–	0%
47,XXX/48,XXXX	6	–	0%
Egyéb aneuploidia*	6	–	0%
Kiegyensúlyozott transzlokáció	12	–	0%
Kiegyensúlyozatlan transzlokáció*	8	–	0%
Összesen	198	153	77,3%
*Klinikailag jelentős eltérések	184	153	83,2%

#### V. táblázat

A magzatvíz-mintavétel indikációinak vizsgálata a kórosnak talált esetekben

	Összesen	QF-PCR-rel kimutatható	QF-PCR-rel nem kimutatható
Rendellenes UH lelet	95	60 (63,2%)	35 (36,8%)
35 év feletti anyai életkor*	52	50 (96,2%)	2 (3,8%)
Pozitív serum marker vizsgálat*	40	40 (100%)	–
Előző gyermek Down szindrómája	3	3 (100%)	–
Valamelyik szülő kiegyensúlyozott transzlokáció hordozó	8	–	8 (100%)
Összesen	198	153	45 (77,3%)

\* társuló rendellenes UH lelet nélkül

Amennyiben a magzatvíz-mintavétel indikációja a családban előforduló trisomia, illetve a szérumban marker vizsgálat eredménye volt, a háttérben álló chromosoma-rendellenesség valamennyi esetben kimutatható volt. Az anyai életkor miatt végzett vizsgálatok esetében a QF-PCR vizsgálat egy esetben nem mutatta ki a háttérben álló chromosoma-rendellenességet. Az ultrahangvizsgálat során észlelt strukturális magzati rendellenesség esetén a QF-PCR vizsgálattal a rendellenes esetek 22,7%-a nem volt kimutatható, amennyiben pedig a vizsgálat indikációja valamelyik szülőben előforduló kiegyensúlyozott translocatio volt, az esetleges magzati kiegyensúlyozatlan translocatio kimutatására a QF-PCR módszer nem alkalmas.

### Megbeszélés

A klinikánkon alkalmazott 7 STR marker felhasználásával a QF-PCR módszer megbízhatóan alkalmazható a gyakori magzati aneuploidiak kimutatására magzatvízmintákból, amelyet 4875 magzatvízminta vizsgálatával támasztottunk alá.

A QF-PCR módszer kiválóan alkalmas a cytogenetikai vizsgálat kiegészítésére. Amennyiben az amniocentesis során levett magzatvízből a karyotypizálással párhuzamosan 1-1,5 ml mintát QF-PCR módszerrel vizsgálunk, a gyors vizsgálatnak köszönhetően negatív eredmény esetén a házaspár az előzetes eredmény birtokában megnyugtatható. A párhuzamosan vizsgált minta a cytogenetikai vizsgálat számára kontrollt jelent, illetve a tenyésztés problémái és a cytogenetikai vizsgálat kiértékelésének gondjai esetén elkerülhető az ismételt amniocentesis. Ebből a célból a cytogenetikai vizsgálat céljára levett magzatvízmintákból 1 ml minta lefagyasztása javasolható QF-PCR vizsgálat céljára.

A klinikailag jelentős chromosoma-rendellenességek 99%-át a 21-es, 18-as, 13-as és a nemi chromosomák aneuploidiai okozzák [2]. A nemzetközi irodalomban megjelent közlések szerint a QF-PCR módszerrel nem kimutatható chromosoma-rendellenességek a vizsgált esetek 18-30%-ában voltak megfigyelhetőek [7, 8, 15]. Saját megfigyeléseink szerint a QF-PCR vizsgálattal nem kimutatható magzati chromosoma-rendellenességek aránya 18,8%, de ezek előfor-

dulása a különböző indikációk esetén igen eltérő. Az irodalmi adatokhoz hasonlóan, vizsgálataink során az anyai életkor, illetve a szérumban marker szűrővizsgálat pozitív eredménye esetén a QF-PCR módszer hatásosan alkalmazható, azonban ultrahangvizsgálattal észlelt magzati strukturális rendellenességek esetén a QF-PCR vizsgálattal nem kimutatható chromosoma-eltérések kockázata magas [8,15]. Jelen tanulmányban a „rendellenes ultrahanglelet” csoport magába foglalta a strukturális elváltozásokat és a „soft markereket” is. Ezek részletes vizsgálatával Beke és mtsai közleménye foglalkozik [19], információt szolgáltatva arról, hogy melyek azok az ultrahanggal észlelhető elváltozások, amelyek a QF-PCR módszerrel kimutatható chromosoma-rendellenességekre utalnak, és melyek azok, amelyek kimutatásához a cytogenetikai vizsgálat elvégzése szükséges. Amennyiben valamelyik szülő kiegyensúlyozott transzlokáció-hordozó, a QF-PCR módszer nem alkalmazható, ezekben az esetekben karyotypizálás vagy specifikus molekuláris vizsgálat végzendő.

#### Köszönetnyilvánítás:

Köszönetünket fejezzük ki Tóth Anikó és Gnotek Edit asszisztenseknek a laboratóriumi munkáért.

### Irodalom

- [1] Munné S, Bahce M, Sandalinas M, Escudero T, Marquez C, Velilla E, Colls P, Oter M, Alikani M, Cohen J. Differences in chromosome susceptibility to aneuploidy and survival to first trimester. *Reprod Biomed Online* 2004; 8: 81–90.
- [2] Ferguson-Smith MA, Jates JRW. Maternal age specific rates for chromosome aberrations and factors influencing them: Report of a collaborative European study on 52,965 amniocenteses. *Prenat Diagn* 1985; 4: 5–12.
- [3] Steele MW, Breg WR. Chromosome analysis of human amniotic fluid cells. *Lancet* 1966; 1: 383.
- [4] Papp C, Tóth-Pál E, Beke A, Bán Z, Joó JG, Szigeti Z, Csaba A, Oroszné NJ, Papp Z. Chorionbohamintavétel és genetikai amniocentesis: invazív beavatkozások és kockázataik a magzati diagnosztika gyakorlatában. *Orv Hetil.* 2004; 145: 315–321.
- [5] Hsu LYF. Prenatal diagnosis of chromosomal abnormalities through amniocentesis. In: *Genetic Disorders and the Fetus*, 4th edition 1998; Ed. A. Milunsky. Johns Hopkins University Press, Baltimore and London
- [6] Salk D, Distche C, Stenchever MR. Routine use of Chang medium for prenatal diagnosis improved growth and increased chromosomal breakage. *Am J Hum Genet* 1983; 35: 151.
- [7] Hultén MA, Dhanjal S, Pertl B. Rapid and simple prenatal diagnosis of common chromosome disorders: advantages and disadvantages of the molecular methods FISH and QF-PCR. *Reproduction* 2003; 126: 279–297.
- [8] Nicolini U, Lalatta F, Natacci L, Curcio C, Bui TH. The introduction of QF-PCR in prenatal diagnosis of fetal aneuploidies: time for reconsideration. *Hum Reprod Update* 2004; 10: 541–548.
- [9] Spathas DH, Divane A, Maniatis GM, Ferguson-Smith ME, Ferguson-Smith MA. Prenatal detection of trisomy 21 in uncultured amniocytes by fluorescence in situ hybridisation: a prospective study. *Prenat Diagn* 1994; 14: 1049–1054.
- [10] Leung WC, Waters JJ, Chitty L. Prenatal diagnosis by rapid aneuploidy detection and karyotyping: a prospective study of the role of ultrasound in 1589 second-trimester amniocenteses. *Prenat Diagn* 2004; 24: 790–795.
- [11] Mann K, Fox SP, Abbs SJ, Yau SC, Scriven PN, Docherty Z, Ogilvie CM. Development and implementation of a new rapid aneuploidy diagnostic service in the UK National Health Service and implications for the future of prenatal diagnosis. *Lancet* 2001; 358: 1057–1061.
- [12] Mansfield ES. Diagnosis of Down syndrome and other aneuploidies using quantitative polymerase chain reaction and small tandem repeat polymorphisms. *Hum Mol Genet* 1993; 2: 43–50.
- [13] Findlay I, Tóth T, Matthews P, Marton T, Quirke P, Papp Z. Rapid trisomy diagnosis (21, 18, and 13) using fluorescent PCR and short tandem repeats: applications for prenatal diagnosis and preimplantation genetic diagnosis. *J Assist Reprod Genet* 1998; 15:266–275.
- [14] Ogilvie CM, Donaghue C, Fox SP, Docherty Z, Mann K. Rapid prenatal diagnosis of aneuploidy using quantitative fluorescence-PCR. *J Histochem Cytochem* 2005; 53: 285–288.
- [15] Leung WC, Lau ET, Lao TT, Tang MH. Can amniopolymerase chain reaction alone replace conventional cytogenetic study for women with positive biochemical screening for fetal Down syndrome? *Obstet Gynecol* 2003; 101: 856–861.
- [16] Nagy B, Bán Z, Tóth-Pál E, Papp Cs, Oroszné Nagy J, Beke A, Csaba Á, Papp Z. A leggyakoribb számbeli chromosomaaberrációk kimutatása fluorescens PCR és DNS fragmens analysis segítségével. *Magyar Nőorvosok Lapja* 2000; 63: 227-232
- [17] Bán Z, Nagy B, Papp Cs, Beke A, Oroszné Nagy J, Papp Z. Családban ismétlődő 21-es trisomia és uniparentalis disomia. *Magyar Nőorvosok Lapja* 2003; 66: 109–112.
- [18] Bán Z, Tóth-Pál E, Papp Cs, Oroszné Nagy J, Lotz T, Nagy B, Papp Z. A számfeletti kromoszómaszerelvény eredetének molekuláris genetikai bizonyítása triploidiában. *Magyar Nőorvosok Lapja* 2001; 64: 41–44.
- [19] Beke A, Papp C, Tóth-Pál E, Mezei G, Oroszné Nagy J, Joó JG, Csaba Á, Papp Z. Ultrahangvizsgálattal észlelt magzati anomáliák citogenetikai feltárása. *Orv Hetil* 2004; 145: 2123–2133.

Z. Bán, B. Nagy, Cs. Papp, L. Lázár, Gy.R. Nagy, Z. Papp: *Prenatal diagnosis of aneuploidy using QF-PCR*

Traditional karyotyping is the gold standard of the prenatal detection of chromosomal abnormalities, however it is time and work consuming and also sensitive to environmental factors. The increasing need for prenatal diagnosis puts a great burden on the cytogenetic laboratories and there is a growing need for a rapid, robust and cost-effective method. The quantitative fluorescence polymerase chain reaction (QF-PCR) meets these requirements, but it has its limitation, as unfortunately it cannot detect some fetal chromosomal disorders of clinical importance. The aim of this study was to test the reliability of QF-PCR for prenatal diagnosis of the common aneuploidies and to determine the indications where QF-PCR can safely be applied as a stand-alone test in prenatal diagnosis. Concomitant QF-PCR and karyotyping of 4875 amniotic fluid samples were performed. The results of QF-PCR were compared to those obtained by the karyotyping. We compared the presence of chromosomal abnormalities detectable and undetectable by QF-PCR with respect of the indication of the invasive fetal sampling. 98.3% of the QF-PCR results were informative without false-negative and false-positive results. The rate of heterozygosity was over 80% in all investigated STR markers in the Hungarian population. 15% of the clinically significant chromosomal abnormalities detected by karyotyping were undetected by QF-PCR. In the majority of these cases the indication for amniocentesis was a structural abnormality found upon prenatal ultrasound examination. We applied a reliable, simple and cost-effective QF-PCR proto-

col using 7 STRs for the prenatal diagnosis of common fetal aneuploidies. All but 2 cases of chromosomal abnormalities of clinical significance were detected in case of maternal age over 35 years, positive serum screening results and positive family history of aneuploidy. The highest number of chromosomal abnormalities, non-detectable by QF-PCR were seen in cases of structural fetal abnormalities, detected by ultrasound. Prenatal QF-PCR diagnosis for trisomies 21, 18, 13 and sex chromosomal anomalies is a reliable alternative to cytogenetic analysis of fetal samples if the indication of sampling is advanced maternal age, positive serum screening results and positive family history of aneuploidy. In cases of structural fetal abnormalities detected by ultrasound, however the application alone should carefully be considered. If a parent is a known carrier of a balanced translocation, prenatal karyotyping should be performed.

*Key words:* QF-PCR, prenatal diagnosis, aneuploidy, karyotyping

---

Levelezési cím:

**DR. BÁN ZOLTÁN**

Semmelweis Egyetem Általános Orvostudományi Kar  
I. sz. Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika  
1088 Budapest, Baross u. 27.

Tel.: 267-1007, Fax.: 317-6174

E-mail: banz@noi1.sote.hu

---