



## KORIŠTENJE STR-QF-PCR METODE U DETEKCIJI RODITELJSKOG PODRIJETLA TRIPLOIDIJE I PISANJE NALAZA

HRVATSKO DRUŠTVO  
ZA HUMANU GENETIKU

### MIŠLJENJE HRVATSKOG DRUŠTVA ZA HUMANU GENETIKU

Osnovna svrha citogenetičke analize stanica pobačenog ploda je utvrđivanje kariotipa pobačenog ploda. Utvrđivanje kariotipa ima za cilj pojašnjenje ili potpuno razjašnjenje uzroka spontanog pobačaja te pravovaljano genetičko savjetovanje za eventualno buduće trudnoće. Nalaz citogenetičke analize pobačenog ploda vrlo često uključuje aberacije kromosoma kako numeričke tako i strukturne.

Numeričke aberacije kromosoma dijele se na aneuploidije i poliploidije, koje najčešće nastaju kao posljedica nepravilnog razdvajanja kromosoma tijekom mejotičke diobe tijekom oogeneze i/ili spermatogeneze, a nerijetko i tijekom mitotičke diobe zigote. Poliploidija, podrazumijeva suvišak kompletne haploidne kromosomske garniture te se razlikuju triploidije, tetraploidije itd. Poliploidije mogu nastati i kao posljedica polispermije, ali i supresije prvog ili drugog polarnog tijela u oogenezi te nerijetko kao posljedica supresije zigote u kojoj se nije dogodila citokineza. Obzirom na mehanizam nastanka poliploidije, plod može imati različiti set majčinih ili očevih kromosoma. Iz znanstvene literature poznato je da postoje razlike u kliničkoj slici ovisno o roditeljskom podrijetlu diploidnog seta kromosoma zbog fenomena genomskog utiskivanja. Razlike se očituju u viabilnosti trofoblasta, veličini placente te preživljavanju ploda do termina trudnoće.

Naime u 85% slučajeva triploidije u čovjeka utvrđen je haploidan set majčinih i diploidan set očevih kromosoma (diandrička triploidija) što se povezuje i s kliničkom slikom parcijalne (djelomične) hidatiformne molarne trudnoće. Ukratko, parcijalnu molaru trudnoću s dva seta očevih kromosoma karakterizira veći volumen posteljice u odnosu na normalnu trudnoću ili trudnoću s dva seta majčinih kromosoma, hiperplazija trofoblasta, a prisutno je i fetalno tkivo koje ostaje u ranoj embrionalnoj fazi, ali može preživjeti do kraja trudnoće. Parcijalna hidatiformna mola smatra se benignom promjenom trofoblasta s nepoznatim rizikom ponovnog javljanja, ali u nekim slučajevima može rezultirati perinatalnim komplikacijama majke kao što je razvoj preeklampsije, hipertireodizma, gestacijske trofoblastne bolesti ili vaginalnog krvarenja.

S druge strane ukoliko je utvrđena triploidija s haploidnim setom očevih i diploidnim setom majčinih kromosoma (diginička triploidija), takva trudnoća ima kliničku sliku koja uključuje malu placentu bez cističnih tvorbi, a u fetusa se uočava asimetrični zastoj rasta i makrocefalija te su prisutne i malformacije više organskih sustava. Triploidija s diploidnim setom majčinih kromosoma ne razvija

Hrvatsko društvo za humanu genetiku  
Hrvatskog liječničkog zbora  
Šubičeva 9, 10000 Zagreb, Hrvatska  
[www.humana-genetika.org](http://www.humana-genetika.org)

#### PREDSJEDNIK:

*prof. dr. sc. Dragan Primorac, dr. med.*  
e-mail: [office@draganprimorac.com](mailto:office@draganprimorac.com)

#### PODPREDSJEDNICA:

*prof. dr. sc. Ingeborg Barišić, dr. med.*  
e-mail: [ingeborg.barisic@kdb.hr](mailto:ingeborg.barisic@kdb.hr)

#### RIZNIČAR:

*Josip Crnjac, prof.*  
e-mail: [josip.crnjac@gmail.com](mailto:josip.crnjac@gmail.com)  
tel: 021 510 187

#### TAJNICA:

*dr. sc. Ljubica Boban, dr. med.*  
e-mail: [ljubica.odak7@gmail.com](mailto:ljubica.odak7@gmail.com),  
tel: 01 4600 103, mob 098 803 836  
fax: 01 4600 160

#### ŽIRO RAČUN:

HRVATSKI LJEČNIČKI ZBOR,  
Hrvatsko društvo za humanu genetiku,  
Šubičeva 9, 10 000 Zagreb  
Zagrebačka banka d.d.  
Savska c. 60, 10 000 Zagreb  
SWIFT: ZABAHR2X,  
IBAN KUNSKI: HR7423600001101214818  
DEVIZNI: HR5423600001500270074  
OIB: 60192951611



molarnu trudnoću.

Od izuzetne kliničke važnosti je razlikovati molarnu trudnoću od nemolarne, odnosno klasificirati kompletnu i parcijalnu hidatiformnu molarnu trudnoću stoga što se razlikuju prema riziku za razvoj gestacijske trofoblastne bolesti kao i riziku ponovnog javljanja. Triploidija u fetusa koja nije povezana s molarnom placentom nastaje sličnim mehanizmima koji dovode i do triploidne parcijalne molarne trudnoće. Razlika u fenotipu može se objasniti genomskim utiskivanjem koje ima važnu ulogu u razvoju placentarnog i embrionalnog tkiva. Stoga je u slučajevima triploidije vrlo važno odrediti i roditeljsko podrijetlo diploidnog seta kromosoma. Naime, informacija o roditeljskom podrijetlu triploidije omogućuje dodatnu potvrdu nalaza ultrazvuka ali i histološke analize parcijalne hidatiformne mole, naročito u slučajevima dvojbenih nalaza.

Validirana metoda za utvrđivanje roditeljskog podrijetla kromosomskih promjena pa tako i u slučajevima triploidije je analiza mikrosatelitnih lokusa odnosno kratkih ponavljajućih sekvenci (engl. Short tandem repeats – STR) kvantitativnom fluorescentnom reakcijom polimerazom (**STR-QF-PCR**).

Obzirom da lokusi mogu biti različitih veličina i heterozigotnosti, potrebna je DNA barem jednog biološkog roditelja. U prenatalnoj dijagnostici je to najčešće uzorak majke stoga što se na taj način isključuje i kontaminacija majčinim stanicama u uzorku uzetom ili biopsijom korionskih resica ili amniocentezom (Association for Clinical Cytogenetics, Professional guidelines for clinical cytogenetics and clinical molecular genetics, QF\_PCR for the diagnosis of aneuploidy best practice guidelines, 2007). Ističemo važnost analize STR lokusa u dijagnostici parcijalnih hidatiformnih mola koje se imunohistološkim metodama ne mogu razlikovati od nemolarnih trudnoća ili kompletno molarnih trudnoća kao i činjenicu da su razvijeni i validirani postupnici za interpretaciju i validaciju rezultata (Murphy KM, McConnell TG, Hafez MJ, Vang R, Ronnett BM. Molecular genotyping of hydatidiform moles: analytic validation of a multiplex short tandem repeat assay. *J Mol Diagn.* 2009;11(6):598-605). Valja naglasiti da se kod analize STR lokusa u svrhu utvrđivanja roditeljskog podrijetla triploidije ne analizira uzorak oca pa ne postoje etičke dvojbe oko otkrivanja lažnog očinstva.

U prenatalnoj dijagnostici uobičajeno je analizirati kariotip roditelja ukoliko se u ploda utvrdi nebalansirana strukturna promjena s ciljem utvrđivanja podrijetla nastale strukturne promijene te pravovaljanog genetičkog savjetovanja za buduće trudnoće. Podrijetlo strukturne promijene mora se naglasiti u formuli kariotipa kao i opisati u nalazu te povezati s indikacijom (Association for Clinical Cytogenetics, Professional guidelines for clinical cytogenetics, 2007).

Utvrđivanje roditeljskog podrijetla kromosomskih promjena na temelju STR lokusa od presudne je važnosti za razumijevanje i povezivanje kliničke slike s kariotipom odnosno genotipom što u slučajevima triploidije doprinosi



HRVATSKO DRUŠTVO  
ZA HUMANU GENETIKU

Hrvatsko društvo za humanu genetiku  
Hrvatskog liječničkog zbora  
Šubičeva 9, 10000 Zagreb, Hrvatska  
[www.humana-genetika.org](http://www.humana-genetika.org)

PREDSJEDNIK:

*prof. dr. sc. Dragan Primorac, dr. med.*  
e-mail: [office@draganprimorac.com](mailto:office@draganprimorac.com)

PODPREDSJEDNICA:

*prof. dr. sc. Ingeborg Barišić, dr. med.*  
e-mail: [ingeborg.barisic@kdb.hr](mailto:ingeborg.barisic@kdb.hr)

RIZNIČAR:

*Josip Crnjac, prof.*  
e-mail: [josip.crnjac@gmail.com](mailto:josip.crnjac@gmail.com)  
tel: 021 510 187

TAJNICA:

*dr. sc. Ljubica Boban, dr. med.*  
e-mail: [ljubica.odak7@gmail.com](mailto:ljubica.odak7@gmail.com),  
tel: 01 4600 103, mob 098 803 836  
fax: 01 4600 160

ŽIRO RAČUN:

HRVATSKI LJEČNIČKI ZBOR,  
Hrvatsko društvo za humanu genetiku,  
Šubičeva 9, 10 000 Zagreb  
Zagrebačka banka d.d.  
Savska c. 60, 10 000 Zagreb  
SWIFT: ZABAHR2X,  
IBAN KUNSKI: HR7423600001101214818  
DEVIZNI: HR5423600001500270074  
OIB: 60192951611





HRVATSKO DRUŠTVO  
ZA HUMANU GENETIKU

Hrvatsko društvo za humanu genetiku  
Hrvatskog liječničkog zbora  
Šubićeva 9, 10000 Zagreb, Hrvatska  
[www.humana-genetika.org](http://www.humana-genetika.org)

PREDSJEDNIK:

*prof. dr. sc. Dragan Primorac, dr. med.*  
e-mail: [office@draganprimorac.com](mailto:office@draganprimorac.com)

PODPREDSJEDNICA:

*prof. dr. sc. Ingeborg Barišić, dr. med.*  
e-mail: [ingeborg.barisic@kdb.hr](mailto:ingeborg.barisic@kdb.hr)

RIZNIČAR:

*Josip Crnjac, prof.*  
e-mail: [josip.crnjac@gmail.com](mailto:josip.crnjac@gmail.com)  
tel: 021 510 187

TAJNICA:

*dr. sc. Ljubica Boban, dr. med.*  
e-mail: [ljubica.odak7@gmail.com](mailto:ljubica.odak7@gmail.com),  
tel: 01 4600 103, mob 098 803 836  
fax: 01 4600 160

ŽIRO RAČUN:

HRVATSKI LJEČNIČKI ZBOR,  
Hrvatsko društvo za humanu genetiku,  
Šubićeva 9, 10 000 Zagreb  
Zagrebačka banka d.d.  
Savska c. 60, 10 000 Zagreb  
SWIFT: ZABAHR2X,  
IBAN KUNSKI: HR7423600001101214818  
DEVIZNI: HR5423600001500270074  
OIB: 60192951611



razumijevanju razvoja placente i fetusa ali i omogućuje precizniji genetički savjet za buduće trudnoće.

Iz svega navedenog, smatramo i zaključujemo da je utvrđivanje roditeljskog podrijetla triploidija važno za razumijevanje povezanosti s kliničkom slikom te da se rezultati STR-QF-PCR metode moraju precizno i u potpunosti opisati u nalazu koji je prvenstveno namijenjen kliničaru. Ističemo važnost poznavanja podrijetla diploidnog seta kromosoma u triploidija, jer ono omogućuje pravovaljano postupanje u praćenju pacijentica.

Reference:

- Bynum J, Batista D, Xian R, Xing D, Eshleman JR, Ronnett BM, Zheng G.J Tetraploid Partial Hydatidiform Moles: Molecular Genotyping and Determination of Parental Contributions. *Mol Diagn.* 2020;22(1):90-100.
- Ronnett BM. Hydatidiform Moles: Ancillary Techniques to Refine Diagnosis. *Arch Pathol Lab Med.* 2018;142(12):1485-1502.
- Colgan TJ, Chang MC, Nanji S, Kolomietz E. DNA Genotyping of Suspected Partial Hydatidiform Moles Detects Clinically Significant Aneuploidy. *Int J Gynecol Pathol.* 2017 ;36(3):217-221.
- Murphy KM, McConnell TG, Hafez MJ, Vang R, Ronnett BM. Molecular genotyping of hydatidiform moles: analytic validation of a multiplex short tandem repeat assay. *J Mol Diagn.* 2009;11(6):598-605
- Association for Clinical Cytogenetics ,Professional guidelines for clinical cytogenetics and clinical molecular genetics, QF\_PCR for the diagnosis of aneuploidy best practice guidelines, 2007.
- Association for Clinical Cytogenetics, Professional guidelines for clinical cytogenetics, 2007.

**Službeno mišljenje izradila:**

Doc.dr.sc. Jadranka Vraneković, članica Upravnog odbora HDHG

**Mišljenje odobrili:**

Prof.dr.sc. Dragan Primorac, predsjednik HDHG  
Prof.dr.sc. Ingeborg Barišić, podpredsjednica HDHG  
Dr.sc. Ljubica Boban, tajnica HDHG  
Prof.dr.sc. Ivo Barić, član Upravnog odbora HDHG  
Dr.sc. Kristina Crkvenac Gornik, članica Upravnog odbora HDHG  
Prof.dr.sc. Irena Drmić Hoffman, članica Upravnog odbora HDHG  
Doc.dr.sc. Bernarda Lozić, članica Upravnog odbora HDHG  
Doc.dr.sc. Saša Missoni, član Upravnog odbora HDHG  
Prof.dr.sc. Jasminka Pavelić, članica Upravnog odbora HDHG  
Dr.sc. Ivona Sansović, članica Upravnog odbora HDHG  
Prof.dr.sc. Feodora Stipoljev, članica Upravnog odbora HDHG  
Prof.dr.sc. Jasenka Wagner, članica Upravnog odbora HDHG